กรมวิชาการเกษตร
Department of Agriculture
แหล่งความรู้ แหล่งพัฒนา แหล่งก้าวหน้า

รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี ๒๕๔๗

เล่มที่ ๑

ลำดับเลขที่ 21/2548 ISBN: 974-436-538-2

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ส่วนบริหารโครงการวิจัย
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
รับที่.....
วันที่ 15 พ.ค. 49

คำนำ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เป็นหน่วยงานของกรมวิชาการเกษตร ที่มีบทบาทสำคัญในงานวิจัยด้านการอารักขาพืช นักวิจัยภายใต้หน่วยงานฯ ซึ่งประกอบด้วยนักวิจัยจากกลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยวัชพืช และกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ได้ดำเนินงานวิจัยด้านอารักขาพืชตั้งแต่งานวิจัยขั้นพื้นฐาน ประยุกต์ และพัฒนา โดยงานวิจัยในปี 2547 มุ่งเน้นงานวิจัยตามนโยบายของกรมวิชาการเกษตร เพื่อนำไปสู่การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสินค้าเกษตร การพัฒนาเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อพัฒนาคุณภาพมาตรฐานของผลผลิตและผลิตภัณฑ์ให้ปลอดภัยจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ตลอดจนองค์ความรู้พื้นฐานด้านจุลินทรีย์ แมลง สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ ที่ได้จากความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย จัดเป็นทรัพยากรที่มีคุณค่ามหาศาลที่ควรศึกษา เก็บรวบรวม และอนุรักษ์ไว้เพื่อการใช้ประโยชน์ในอนาคต

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงได้รวบรวมผลงานวิจัยเรื่องเต็ม ที่ได้ดำเนินงานในปี 2547 ซึ่งประกอบด้วยงานวิจัยจำนวน 121 เรื่อง ภายใต้ 3 แผนงานหลัก 8 กรอบโครงการวิจัยของกรมวิชาการเกษตร นำมารวบรวมและจัดพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิจัยของสำนักฯ สู่สาธารณะ เพื่อเป็นองค์ความรู้ทางวิชาการที่สามารถสืบค้นและนำไปประยุกต์ พัฒนา และต่อยอดขยายผลสู่ภาคการเกษตร และธุรกิจการเกษตร เอกสารทางวิชาการฉบับนี้จึงเป็นข้อมูลและ/หรือองค์ความรู้ด้านอารักขาพืช ที่จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

(นายศุภชัย แก้วมีชัย)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ตุลาคม 2547

สารบัญ

หน้า

แผนงานหลัก 1.3 เทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชเศรษฐกิจ

: กรอบโครงการวิจัย 1.3.1 การเขตกรรม เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืช และการขยายพันธุ์พืชเชิงพาณิชย์

กิจกรรม 03-01-47-21

การทดลอง 03-01-47-2102

- การป้องกันกำจัดไรดีดในเห็ดนางรม.....1

โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ

: กรอบโครงการวิจัย 1.3.2 การวิจัยการผลิตพืชเศรษฐกิจใหม่ที่มีศักยภาพในการแข่งขัน

กิจกรรม 03-02-47-01

การทดลอง 03-02-47-0105

- การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในลองกอง.....2

โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

กิจกรรม 03-02-47-06

การทดลอง 03-02-47-0602

- การอารักขาศัตรูมะนาวนอกฤดู
  - การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟและ.....5
    หนอนชอนใบในมะนาว

โดย นางสาวสราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

การทดลอง 03-02-47-0603

- การศึกษาการใช้ชีววิทยาวิธีกับมะนาว
  - การควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวโดยชีววิธี.....12

โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

แผนงานหลัก 3.1 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ขยายพันธุ์พืช พิสูจน์พันธุ์ ตรวจสอบพืช ศัตรูพืช จุลินทรีย์ และการอนุรักษ์พันธุ์

: กรอบโครงการวิจัย 3.1.1 เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ขยายพันธุ์และพิสูจน์พันธุ์

กิจกรรม 05-01-47-08

การทดลอง 05-01-47-0803

หน้า

- การตรวจยีนโพลีกาแลคตูโลเนสของเชื้อ *Ralstonia solanacearum*.....21
สาเหตุโรคเหี่ยวหรือแง่งเน่าของขิงโดยเทคนิคพีซีอาร์
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
การทดลอง 05-01-47-0805
- การตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรค anthracnose ของพริกโดยเทคนิค PCR.....38
โดย นางสาวศรีสุข พูนผลกุล และคณะ
การทดลอง 05-01-47-0806
- การตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งของส้มโดยเทคนิค PCR.....43
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ
การทดลอง 05-01-47-0807
- การตรวจสอบหาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชด้วยคุณสมบัติของ.....49
aminolipidprofile โดยเทคนิค TLC
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ
กิจกรรม 05-01-47-09
การทดลอง 05-01-47-0901
- การพัฒนาวิธีการ Lateral flow test ในการตรวจสอบเชื้อ CyMV และ ORSV.....55
ในกล้วยไม้เชิงพาณิชย์
โดย นางสุรภี กีรติยะอังกูร และคณะ
การทดลอง 05-01-47-0902
- วิจัยและพัฒนาเทคนิคทางเซรุ่มวิทยาในการตรวจสอบเชื้อไวรัส.....65
สาเหตุโรคปื้นดำบนกล้วยไม้
โดย นางสุรภี กีรติยะอังกูร และคณะ
การทดลอง 05-01-47-0906
- การวิจัยเทคนิคการผลิตชุดตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง.....71
จากดินและน้ำในแปลงเพาะปลูก
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ
การทดลอง 05-01-47-0908
- วิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของอ้อย.....74
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

หน้า

กิจกรรม 05-01-47-11

การทดลอง 05-01-47-1102

- การทดสอบความปลอดภัยด้านอาหาร

●ทดสอบความปลอดภัยจากการบริโภคมะละกอดัดแปลงพันธุกรรม……..……..……79

ของหนูนอรเว (*Rattus norvegicus*) สายพันธุ์ Wistar

โดย นางสาวพวงทอง บุญทรง และคณะ

: กรอบโครงการวิจัย 3.1.2 อนุรักษ์พันธุกรรมพืช จุลินทรีย์ แมลง เห็ด สาหร่าย และไหม

กิจกรรม 05-02-47-07

การทดลอง 05-02-47-0701

- สำรวจ รวบรวม จำแนก และอนุรักษ์สายพันธุ์เห็ด *Coprinus spp*……..……81

จากแหล่งวัสดุต่าง ๆ

โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ

กิจกรรม 05-02-47-08

การทดลอง 05-02-47-0801

- จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร……..……..91

● การจำแนก คัดเลือกราและการใช้ประโยชน์จากราสกุล *Rhizoctonia*

โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

●การคัดเลือกเชื้อราที่มีประโยชน์กับการเจริญเติบโตของเห็ดสกุลนางรม……..……..101

โดย นางสาววรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ

การทดลอง 05-02-47-0802

- จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืช

●อนุกรมวิธานเชื้อราสาเหตุโรคพืช Class Ascomycetes……..……116

โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

● การเก็บรักษาเชื้อราสกุล *Phytopthora*……..……129

โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

● อนุกรมวิธานราสนิมสาเหตุโรคพืช…..……..……..……..……..152

โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

● อนุกรมวิธาน และการเก็บรักษาเชื้อราสาเหตุโรคพืชชั้น……..……161

Hyphomycetes สกุล *Cercospora, Pseudocercospora*

โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

- จำแนกลักษณะสายพันธุ์และประเมินคุณค่าเชื้อพันธุกรรมจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช
  : อนุกรมวิธานเชื้อราสาเหตุโรคพืชสกุล *Bipolaris*……169
  โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ
- ชีววิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรมเชื้อ……173
  Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria ด้วย Rep-PCR
  โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์
- ศึกษาการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชกลุ่ม *Xanthomonas*……196
  โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
- เทคนิคการเก็บรักษาเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืช……210
  โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ
- การเก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อราสนิมกาแฟบนใบกาแฟอาราบิก้า……215
  โดย นายศุภชัย ลีจีรจำเนียร และคณะ

กิจกรรม 05-02-47-09

การทดลอง 05-02-47-09 (01-03)

- อนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติเพื่อการใช้ประโยชน์……222
  โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

กิจกรรม 05-02-47-10

การทดลอง 05-02-47-1003

- สำรวจ รวบรวม จำแนกตัวอย่างแมลงศัตรู ศัตรูธรรมชาติ และการเก็บรักษา
  ในพิพิธภัณฑ์
  - ชนิดเขตการแพร่กระจาย และพืชอาศัยของแมลงหวี่ขาว……236
    โดย นายสมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ
  - อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus*……239
    โดย นางชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ
  - อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis*……241
    โดย นางลักขณา บำรุงศรี และคณะ
  - อนุกรมวิธานด้วงในวงศ์ C*urculionidae*……243
    โดย นางพรรณเพ็ญ ชโยภาส และคณะ
  - อนุกรมวิธานของมวนในวงศ์ Reduviidae……264
    โดย นางรัตนา นชะพงษ์ และคณะ

- การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในข้าวอินทรีย์……..…..266

  โดย นางวิภาดา วังศิลาบัตร และคณะ

- การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในมะม่วง……..268

  โดย นางวิภาดา วังศิลาบัตร และคณะ

การทดลอง 05-02-47-1004

- สำรวจ รวบรวม จำแนกตัวอย่างสาเหตุโรคพืช และการเก็บรักษา……..……...270 ในพิพิธภัณฑ์

  โดย นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และคณะ

การทดลอง 05-02-47-1005

- สำรวจ รวบรวม จำแนก ตัวอย่างวัชพืช และการเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์

- สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างวัชพืชในนาข้าว……....279

  โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

- สำรวจวัชพืชต่างถิ่นในประเทศไทย (ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่พืชต่างถิ่นชนิดรุกราน)…..283

  โดย นางสาวศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

แผนงานหลัก 4.1 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการป้องกันและกำจัดโรคพืช แมลงศัตรูพืชและวัชพืช ตลอดจนการใช้ปุ๋ยและสารเคมีทางการเกษตร

: กรอบโครงการวิจัย 4.1.1 เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน (IPM)

กิจกรรม 06-01-47-01

การทดลอง 06-01-47-0101

- การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง โดยใช้สารเคมี……..……..…..299

  โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ

- การป้องกันกำจัดโรคสแคปของส้ม โดยใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช……..……..311

  โดย นายวุฒิศักดิ์ บุตรธนู และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0102

- ชนิดและปริมาณแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักสวนครัวส่งออก 3 ชนิด……..319 (กะเพรา โหระพา และผักชีฝรั่ง)

  โดย นางสาวเตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธ์ และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0103

- การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืช

หน้า

● ศึกษาการใช้สารกำจัดวัชพืชในหน่อไม้ฝรั่ง.....327

โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

● ศึกษาการใช้สารกำจัดวัชพืชในพริก.....351

โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

● การวิจัยการใช้อนินทรีย์และน้ำหมักในการกำจัดวัชพืช.....367

โดย นายไชยยศ สุพัฒนกุล

● ทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทคุมและฆ่าในนาข้าว...378

โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

● ทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทคุมและฆ่าในนาข้าว
: ประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทคุมและคุมฆ่าในข้าวหอมพันธุ์ต่าง ๆ.....387

โดย นางสาวเพ็ญศรี นันทสมสราญ และคณะ

● เทคนิคการพ่นสารกำจัดวัชพืชในข้าวโพดฝักอ่อน.....397

โดย นายทวี แสงทอง และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0104

- การทดสอบช่วงเวลาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะสม

● การหาช่วงเวลาและอัตราสารกำจัดวัชพืชที่เหมาะสมในการควบคุมวัชพืช.....413
ในกระเจี๊ยบเขียว

โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0105

- ผลกระทบของสารฆ่าแมลง buprofezin ต่อศัตรูธรรมชาติในนาข้าว.....422

โดย นายสุวัฒน์ รวยอารีย์ และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0106

- วิจัยและพัฒนาการใช้สารสกัดธรรมชาติในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

● ประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชและน้ำมันปิโตรเลียม.....436
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในกระเจี๊ยบเขียว

โดย นายสมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ

● ศึกษาการใช้สารไคโตซานในการควบคุมโรคราน้ำค้างข้าวโพด.....441
และโรคเน่าดำกล้วยไม้

โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

หน้า

● การใช้ไคโตซานและเฟอร์ฟูรัลควบคุมโรคใบไหม้และโรครากปม……455
ของมันฝรั่ง
โดย นายมนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

กิจกรรม 06-01-47-02

การทดลอง 06-01-47-0203

- ศึกษาระบบการเตือนภัยโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง Blight Cast System
เพื่อพยากรณ์การเกิดโรค

● ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมทางอุตุนิยมวิทยากับการแพร่ระบาด……463
ของโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง
โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

กิจกรรม 06-01-47-03

การทดลอง 06-01-47-0302

- การจัดการฟางข้าว และวิธีการควบคุมวัชพืชในนาหว่านข้าวแห้งโดย……469
ไม่เตรียมดิน
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0305

- ศึกษาการสร้างความต้านทานโรคราสนิมบนใบกาแฟอาราบิก้า……482
โดย นายศุภัย ลีจีรจำเนียร และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0307

- ผลของ intermediate stock ต่อความรุนแรงของโรคกรีนนิ่งบนส้มเขียวหวาน……487
ที่มีภูมิต้านทานไวรัสทริสเทซ่า
โดย นายไมตรี พรหมมินทร์ และคณะ

กิจกรรม 06-01-47-04

การทดลอง 06-01-47-0401

- การใช้ประโยชน์จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุมเชื้อ
Ralstonia solanacearum สาเหตุโรคเหี่ยวในมันฝรั่ง ขิง และมะเขือเทศ

● การใช้ประโยชน์จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุม……497
เชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ

หน้า

● การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ……..…..507

โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0402

- การใช้เชื้อไวรัสเอ็นพีวี ควบคุมแมลงศัตรูหอมแดงและกล้วยไม้

● โครงการสังเคราะห์เทคโนโลยีการใช้ไวรัสเอ็น พี วี ควบคุมหนอนกระทู้หอม…..…526
ศัตรูหอมแดง

โดย นายจารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

● การใช้ไวรัสเอ็นพีวี ของหนอนกระทู้หอม และบีทีควบคุมหนอนกระทู้หอม……...551
ในกล้วยไม้สกุลหวาย

โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0405

- การวิจัยการใช้เหยื่อโปรโตซัวในการลดประชากรหนูศัตรูพืช

● ศึกษาระยะเวลาและจำนวนครั้งการวางเหยื่อโปรโตซัวในการลดประชากรหนู……554
ในสวนปาล์มน้ำมัน

โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

● ศึกษาผลของเหยื่อโปรโตซัวที่ใช้กำจัดหนูต่อนกแสกในสวนปาล์มน้ำมัน……..555

โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

● การศึกษาชีววิทยาและการเพิ่มประชากรนกแสก……556
เพื่อควบคุมหนูในสวนปาล์มน้ำมัน

โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

● การเพิ่มประชากรนกแสก เหยื่อโดยการใช้รังเทียมเพื่อควบคุมหนู……..……..1182
ในสวนปาล์มน้ำมัน

โดย นายเกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรม 06-01-47-05

การทดลอง 06-01-47-0502

- เทคโนโลยีการจัดการศัตรูกล้วยไม้โดยวิธีผสมผสาน……...558

โดย นางปิยรัตน์ เขียนมีสุข และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0503

- เทคโนโลยีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสาน……575

โดย นางวัชรา ชุณหวงศ์ และคณะ

หน้า

กิจกรรม 06-01-47-06

การทดลอง 06-01-47-0601

- การจัดการแมลงวันผลไม้ในฝรั่ง

● การศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้และศัตรูธรรมชาติในแหล่งปลูกฝรั่ง……..584

โดย นางสาววิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

● การศึกษาชีววิทยาแมลงวันผลไม้ *Bactrocera correcta* (Bezzi)……..……1198

การระบาดและการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในฝรั่ง

โดย นางวรัญญา มาลี และคณะ

● การพัฒนาการเพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera correcta* (Bezzi)…...1201

โดย นางวรัญญา มาลี และคณะ

● การศึกษาประสิทธิภาพการกินแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* Hendel…...588

ของแมงมุมตาหกเหลี่ยม *Oxyopes lineatipes* (C.L. Kach) (Arancae : Oxyopidae)

โดย นางวิภาดา วังศิลาบัตร และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0602

- การจัดการเพลี้ยแป้งในมังคุด

● การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง……...601

ศัตรูมังคุดในสภาพสวน

โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

● การกำจัดเพลี้ยแป้งในมังคุดหลังการเก็บเกี่ยว……..……..…615

โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

● การวิจัยและพัฒนาการควบคุมเพลี้ยแป้งทำลายมังคุดโดยชีววิธี……..……..626

โดย นายรุจ มรกต และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0603

- การจัดการโรคกุ้งแห้งของพริก……...630

โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ

การทดลอง 06-01-47-0605

- การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของขิง……..639

โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์และคณะ

หน้า

การทดลอง 06-01-47-0606

- การทดสอบและพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการวัชพืชในนาข้าว.....646

โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

: **กรอบโครงการวิจัย** 4.1.2 **วิจัยการกักกันพืช**

กิจกรรม 06-02-47-01

การทดลอง 06-02-47-0101

- การจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า

● การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา ของศัตรูพืชนำเข้า (ส้ม องุ่น แอปเปิ้ล).....652

โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

● การศึกษาชนิดของโรคองุ่นเพื่อการนำเข้า.....657

โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม

● การศึกษาชนิดของโรคหอมหัวใหญ่เพื่อการนำเข้า.....672

โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

● การศึกษาชนิดของโรคกระเทียมเพื่อการนำเข้า.....685

โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

● การศึกษาชนิดของโรคมันฝรั่งเพื่อการนำเข้า.....691

โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ

● การศึกษาชนิดของโรคหอมแดงเพื่อการนำเข้า.....708

โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

● การศึกษาชนิดของโรคแอปเปิ้ลและพืชสกุลใกล้เคียง.....718
แอปเปิ้ลเพื่อการนำเข้า

โดย นายศุภชัย ลีจีรจำเนียร และคณะ

● ชีววิทยา นิเวศวิทยาของเชื้อราสนิมสาเหตุโรคข้าวโพด.....724

โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

การทดลอง 06-02-47-0102

- การจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชเพื่อการส่งออก

● การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา แมลงศัตรูพืชที่สำคัญของไม้ผลส่งออก.....730

โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

● การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของไม้ผลส่งออก.....740

โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

หน้า

● การศึกษาชนิดโรคพืชเพื่อการส่งออก

: การศึกษาชนิดของโรคลิ้นจี่เพื่อการส่งออก……..747

โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

: การศึกษาชนิดของโรคลำไยเพื่อการส่งออก……..……...758

โดย นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และคณะ

: การศึกษาชนิดของโรคหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก……..……..…771

โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

: การศึกษาชนิดของโรคมะขามหวานเพื่อการส่งออก……...788

โดย นางสาวศรีสุข พูนผลกุล และคณะ

: การศึกษาชนิดโรคข้าวเพื่อการส่งออก……..……794

โดย นายวุฒิศักดิ์ บุตรธนู และคณะ

: การศึกษาชนิดของโรคพริกเพื่อการส่งออก……..……...…806

โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ

: การศึกษาชนิดของโรคมังคุดเพื่อการส่งออก……..……...…832

โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

: การศึกษาชนิดของโรคทุเรียนเพื่อการส่งออก……..852

โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

: การศึกษาชนิดของโรคสับปะรดเพื่อการส่งออก……..871

โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

: การศึกษาชนิดของโรคฝรั่งเพื่อการส่งออก……..…887

โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

● ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อราโรคพืชส่งออก

: ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อราโรคฝักเน่าของมะขาวหวาน……..898

โดย นางสาวศรีสุข พูนผลกุล และคณะ

● การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดโรคที่สำคัญ
ของพืชเพื่อการส่งออก

: ชีววิทยา นิเวศวิทยาของเชื้อรา *Phytophthora* สาเหตุโรคเน่าลำไย……...903

โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

● การจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อวัชพืชเพื่อการส่งออก

: ศึกษาชนิดวัชพืชสำคัญในขิง……...914

โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

: ศึกษาชนิดวัชพืชสำคัญในหน่อไม้ฝรั่ง……...919

โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

การทดลอง 06-02-47-0103

- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชนำเข้า

● การศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช…...……...925

สำหรับการนำเข้าส้มจากต่างประเทศ

โดย นางณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ

● การศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับนำเข้าหัวพันธุ์……..942

มันฝรั่งจากต่างประเทศ

โดย นางสาวปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และคณะ

● การศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช สำหรับการ…...…..……...979

นำเข้ามะเขือเทศจากต่างประเทศ

โดย นางสาวชลธิชา รักใคร่ และคณะ

กิจกรรม 06-02-47-02

การทดลอง 06-02-47-0208

ผลกระทบของสับปะรดตัดจุกหลังการรมด้วย Methyl bromide……1011

โดย นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และคณะ

: กรอบโครงการวิจัย 4.1.4 การวิจัยสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อความปลอดภัยต่อชีวิตและสิ่งแวดล้อม

กิจกรรม 06-04-47-01

การทดลอง 06-04-47-0107

- ศึกษาการสลายตัวและพิษตกค้างสารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย……...1017

oxamyl ในหัวมันฝรั่ง

โดย นายมนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

กิจกรรม 06-04-47-04

การทดลอง 06-04-47-0401

- ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลมะม่วง……1030

โดย นางสาวสราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

: **กรอบโครงการวิจัย 4.1.5 การวิจัยหาสารสกัดจากพืช และสารชีวภาพ**
เพื่อทดแทนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

กิจกรรม 06-05-47-01

การทดลอง 06-05-47-0103-01

- การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชเพื่อควบคุม……..…..……..…1037
โรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวาย

โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

กิจกรรม 06-05-47-02

การทดลอง 06-05-47-0201

- วิจัยและพัฒนาการผลิตและการใช้ *Bacillus thuringiensis* เพื่อประโยชน์
ทางการเกษตร

● การทำสูตรสำเร็จ *Bacillus thuringiensis* ผสมกับไวรัส NPV…...……..……...1050
สูตรแขวนลอยเข้มข้น เพื่อควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูกะหล่ำ

โดย นางสาวอัจฉรา ตันติโชดก และคณะ

●การผลิต *Bacillus thuringiensis* สูตรผงละลายน้ำด้วยเครื่องทำผงแห้ง…..…...…...1059
ด้วยลมร้อน

โดย นางสาวอัจฉรา ตันติโชดก และคณะ

การทดลอง 06-05-47-0202

- วิจัยและพัฒนาการผลิตและใช้เชื้อไวรัสโรคแมลงเพื่อใช้ประโยชน์ทางการเกษตร

● ศึกษาวิธีการควบคุมโปรโตซัวที่เข้าทำลายระบบการเลี้ยงหนอน……1070
กระทู้หอมเพื่อผลิตไวรัส *Nuclear Polyhedrosis Virus*

โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ

● ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและประสิทธิภาพการเกิดโรคของไวรัส NPV……..……...1076
หนอนกระทู้ผักในประเทศไทย

โดย นายจารุวัตถ์ แต้กุล และคณะ

● การเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้หอมจากเอ็มบริโอ……..……..……..1091

โดย นางสาวสุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

หน้า

● การทดสอบประสิทธิภาพเซลล์หนอนกระทู้ผักเพาะเลี้ยงในการ……..……..1097
สร้างผลึกโปรตีน SINPV
โดย นางสาวสุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ
การทดลอง 06-05-47-0203
- วิจัยและพัฒนาการผลิตและใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อประโยชน์ทางการเกษตร
● พัฒนากระบวนการผลิตและใช้ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงให้คุณภาพสูง……..……1102
และการทำสูตรสำเร็จเพื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย
โดย นางวัชรี สมสุข และคณะ
● ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดต่าง ๆ ในการควบคุม……..……..1109
หนอนเจาะลำต้นและหนอนเจาะฝักข้าวโพด
โดย นายสาทิพย์ มาลี และคณะ
: การเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย *Steinernema siamkayai*……...1118
Stock, Somsook and Reid สายพันธุ์ท้องถิ่นด้วยอาหารเทียม
โดย นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ
● ผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลง……..……..1128
ของไส้เดือนฝอย
โดย นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ
●เทคโนโลยีการผลิตชีวภัณฑ์ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง……..……1139
Heterorhabditis sp. Thai isolate ในระดับการค้า
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
การทดลอง 06-05-47-0204
- วิจัยและพัฒนาการผลิตและใช้แมลงเบียนเพื่อประโยชน์ทางการเกษตร
● พัฒนาเทคนิคการผลิตขยายและการใช้แตนเบียน *Cotesia flavipes*……1149
เพื่อควบคุมหนอนกออ้อย
โดย นางอัมพร วิโนทัย และคณะ
●พัฒนาเทคนิคการผลิตขยายแตนเบียนไข่ *Trichogramma sp*……..……..1160
ด้วยอาหารเทียม
โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ

หน้า

การทดลอง 06-05-47-0206

- วิจัยและพัฒนาการผลิตและใช้โปรโตซัวเพื่อประโยชน์ทางการเกษตร

- วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตขยายโปรโตซัว *Sarcocystis*……1168
  singaporensis เพื่อใช้ควบคุมหนูศัตรูพืช
  โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

การทดลอง 06-05-47-0207

- วิจัยและพัฒนาการผลิตและใช้เชื้อราโรคแมลงเพื่อประโยชน์ทางการเกษตร

- พัฒนาการผลิตเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เพื่อเป็น……1170
  พื้นฐานในเชิงการค้า
  โดย นางเสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

รหัสทะเบียนวิจัยเลขที่ 4411004008

- ปฏิกิริยาของถั่วเหลืองบางสายพันธุ์ต่อโรคแอนแทรคโนส……1189
  โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

รายงานผลงานวิจัยปี 2547

รหัสกิจกรรม	03 – 01 – 47 - 2102

47 / สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช / กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

1. **ชื่อ แผนงานหลัก** 1.3 เทคโนโลยีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชเศรษฐกิจ
2. **ชื่อ กรอบโครงการวิจัย** 1.3.1 การเขตกรรม เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืชและการขยายพันธุ์พืชเชิงพาณิชย์
3. **ชื่อ กิจกรรม** 21 วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการขยายพันธุ์เห็ด
4. **ชื่อ การทดลอง** 02 การป้องกันกำจัดไรดีดในเห็ดนางรม

   Control of Mushroom Mite Pest,*Formicomotes heteromorphus* Magowski on Oyter Mushroom, *Pleurotus ustreatus* (Jack. ex Fr.) Kumm.

   4.1 **ชื่อ การทดลองย่อย** -
5. **พืช / สาขาวิชา / สาขาวิชาย่อย** เห็ด/สัตววิทยา/การป้องกันกำจัดโดยสารเคมี
6. **ประเภทงานวิจัย (พื้นฐาน/ประยุกต์/พัฒนา)** พัฒนา
7. **ผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้า เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์

   ผู้ร่วมงาน วิภาดา วังศิลาบัตร มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์
8. **ระยะเวลา เริ่มต้น** ตุลาคม 2546 **สิ้นสุด** กันยายน 2548
9. **รายงานความก้าวหน้า**

ไรดีดเป็นศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งของเห็ดนางรม โดยเฉพาะเห็ดนางรมฮังการีเป็นเห็ดที่เกษตรกรนิยมเพาะมากชนิดหนึ่ง มันชอบทำลายเห็ดในระยะที่เส้นใยกำลังเจริญอยู่ในถุงก้อนเชื้อ โดยดูดกินเส้นใยเห็ดจนเหลือแต่วัสดุที่ใช้เพาะ ทำให้เห็ดไม่ออกดอก ได้มีการดำเนินการทดลองเพื่อป้องกันกำจัดไรดีดระยะก่อนท้องและระยะท้องบนหัวเชื้อเห็ดนางรมฮังการีในขวดแบนโดยการรม ด้วยสารฟอสฟีน จำนวน 0,1 และ 2 เม็ด โดยใช้ระยะเวลารมนาน 24, 36, และ 48 ชั่วโมง ในภาชนะที่มีปริมาตร 0.5 ลูกบาศก์เมตร จากผลการทดลองพบว่า การใช้สารรมฟอสฟีน 1 และ 2 เม็ด รมเป็นระยะเวลา 24, 48, และ 72 ชั่วโมง จะให้ผลในการป้องกันกำจัดไรดีดทั้งในระยะก่อนท้องและระยะท้องได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามจะต้องศึกษาผลของสารรมฟอสฟีนต่อเส้นใยเห็ดนางรม การฟอร์มดอกและผลผลิต เพื่อหาอัตราและระยะเวลาในการรมของสารฟอสฟีนที่เหมาะสมต่อไป

10. **คำค้น** (Keywords) ไรดีด (*Formicomotes heteromorphus* Magowski) เห็ดนางรม (*Pleurotus ustreatus* (Jack. ex Fr.) Kumm.) การป้องกันกำจัด (Control)

การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในลองกอง

Studies on Biology, Ecology of Mealybugs in Longgong and Their Controls

ศรุต สุทธิอารมณ์ **สัญญาณี ศรีคชา**

วิภาดา ปลอดครบุรี **เกรียงไกร จำเริญมา**

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช**

---

1. **คำนำ** ลองกองเป็นไม้ผลเมืองร้อนที่เจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดีในสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิเฉลี่ย 25 – 30^{0}C ความชื้น 70 – 80%RH เป็นพืชชอบร่มเงา ไม่ชอบลมแรง ลองกองที่มีคุณภาพดีจึงอยู่ในเขตภาคใต้ และภาคตะวันออก เนื่องจากลองกองมีศักยภาพสูงที่จะเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในอนาคต เกษตรกรได้ขยายพื้นที่ปลูกออกไปเป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตามไม้ผลสกุลนี้มีแมลงศัตรูหลายชนิด เช่น หนอนกินใต้เปลือกลองกอง เพลี้ยแป้ง ผีเสื้อมวนหวาน แมลงวันผลไม้ หนอนชอนใบ และหนอนกินใบชนิดต่าง ๆ เป็นต้น เพลี้ยแป้ง เป็นแมลงศัตรูที่พบทำความเสียหายต่อลองกอง ทำให้ผลลองกองแคระแกรน นอกจากนี้มูลหวาน (Honeydew) ที่ขับออกมาจากเพลี้ยแป้งทำให้เชื้อราดำเข้าทำลายซ้ำ คุณภาพผลลองกองเสีย ซึ่งทำให้ขายไม่ได้ราคา และอาจมีผลต่อตลาดในอนาคตในกรณีมีการส่งออก โดยเฉพาะการแข่งขันในตลาดต่างประเทศ แต่ปัจจุบันมักพบปัญหาของเพลี้ยแป้งที่จะติดไปกับช่อลองกอง ในลองกองและลางสาดซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับลองกองมีเพลี้ยแป้งหลายชนิด แต่ที่มีรายงานคือ *Cataenococcus hispidus*, *Planococcus minor*, *Rastrococcus invadens, Planococcus lilacinus* (บุปผา และ ชลิดา, 2543 และ ชลิดา และคณะ, 2545) ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับ ชนิด ชีววิทยา และนิเวศวิทยาของเพลี้ยแป้งที่ระบาดในลองกอง และศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดที่เหมาะสมเพื่อลดปัญหาเพลี้ยแป้ง เป็นการเพิ่มคุณภาพให้ผลผลิตลองกอง

รหัสทะเบียนวิจัย 4

2. วิธีดำเนินการ

การศึกษาชนิด ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเพลี้ยแป้งในลองกองเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งชนิดต่าง ๆ ในลองกอง ตามแหล่งปลูกที่สำคัญ พร้อมบันทึกลักษณะการทำลาย ความหนาแน่น ช่วงฤดูการระบาด นำเพลี้ยแป้งที่เก็บได้มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 28 0C ความชื้น 80%RH โดยใช้ฟักทองเป็นพืชอาหาร และเลี้ยงในกล่องพลาสติก เมื่อเพลี้ยแป้งวางไข่ ซึ่งไข่จะอยู่ในถุงไข่ใต้ท้อง เมื่อฟักเป็นตัวอ่อนแยกเลี้ยงในหลอดแก้ว หลอดละ 1ตัว ชนิดละ 20 ตัว บันทึกการพัฒนาของเพลี้ยแป้งจนเป็นตัวเต็มวัย

การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งบนลองกองในสภาพสวน ศึกษาในสวนลองกองซึ่งอยู่ในระยะติดผล เมื่อพบมีเพลี้ยแป้งระบาด วางแผนการทดลองแบบ RCB 7 กรรมวิธี พ่นสารฆ่าแมลง ประกอบด้วยสาร carbaryl, carbosulfan, malathion, etofenprox, imidacloprid และ Petroleum Spray Oil อัตรา 60 กรัม, 50, 50, 10, 10 และ 60 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับการพ่นน้ำเปล่า ใช้พืช 1 ต้นต่อซ้ำ ตรวจนับปริมาณเพลี้ยแป้งบนช่อผล โดยการสุ่ม 10 ช่อ/ต้นรอบทรงพุ่ม ก่อนพ่นและหลังพ่น 1, 3 และ 7 วัน นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบทางสถิติ ต่อไป

3. ผลงานที่ได้ปฏิบัติมาแล้ว

การศึกษาชนิด ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเพลี้ยแป้งในลองกอง พบเพลี้ยแป้งระบาดในลองกอง 3 ชนิด ได้แก่ *Cataenococcus hispidus* (Morrison) *Planococcus lilacinus* (Cockerell) และ *Rastrococcus invadens* (Williams) ซึ่งมีปริมาณการระบาดแตกต่างกันไป เพลี้ยแป้งมีการเคลื่อนย้ายจากพื้นดินขึ้นบนต้นลองกองตั้งแต่ช่วงลองกองแทงตาดอก และระบาดไปจนถึงผลลองกองแก่ นอกจากนี้พบว่าเพลี้ยแป้งมีมดเป็นพาหะพาไปยังส่วนต่างๆ ของต้นลองกองทำให้เกิดการกระจายของเพลี้ยแป้งเพิ่มขึ้น ได้นำเพลี้ยแป้งที่เก็บได้มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาชีวประวัติ และอยู่ระหว่างหาวิธีการเลี้ยงที่เหมาะสม

การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งบนลองกองในสภาพสวน ไม่สามารถดำเนินการได้เนื่องจากการระบาดของเพลี้ยแป้งมีระดับความรุนแรงไม่มากและไม่สม่ำเสมอในระดับที่สามารถดำเนินการทดลองได้ แม้จะได้ทำการระบาดเทียมโดยนำเพลี้ยแป้งที่เลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการจนได้ปริมาณเพลี้ยแป้งเพียงพอและนำไปปล่อยบนช่อผลลองกองแล้ว ก็ไม่สามารถทำให้เกิดการระบาดได้ จึงต้องดำเนินการทดลองซ้ำในปีต่อไป

4. สรุปผลการทดลอง พบเพลี้ยแป้งระบาดในลองกองทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Cataenococcus hispidus* (Morrison) *Planococcus lilacinus* (Cockerell) และ *Rastrococcus invadens* (Williams) ส่วนการศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งบนลองกองในสภาพสวน ไม่สามารถดำเนินการได้

5. **ปัญหาและอุปสรรค** การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งบนลองกองในสภาพสวน ไม่สามารถดำเนินการได้เนื่องจากการระบาดของเพลี้ยแป้งอยู่ในระดับต่ำ หรือไม่มีการระบาดเลย ทำให้ไม่สามารถดำเนินการทดลองได้ ถึงแม้จะมีการทำการระบาดเทียมแล้วก็ไม่สามารถทำให้เกิดการระบาดได้เลย จึงไม่สามารถดำเนินการทดลองได้

6. **แนวทางการแก้ไข** ปรับปรุงวิธีการทำการระบาดเทียมเพื่อเตรียมไว้ในกรณีที่เพลี้ยแป้งไม่ระบาดถึงระดับที่จะทำการทดลองได้

7. **งานที่จะดำเนินการต่อไป**

- ดำเนินการศึกษาชนิด ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเพลี้ยแป้งในลองกอง ในระยะดอก และผล เพิ่มเติมอีกหนึ่งฤดูกาล
- สำรวจการระบาดของเพลี้ยแป้งในลองกองเพื่อหาสวนที่เหมาะสมในการทดลองประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งบนลองกองในสภาพสวน

การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยาและการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟและหนอนชอนใบในมะนาว

Biology and Ecology of Thrip and Citrus leaf Miner and their Control in Lime

สราญจิต ไกรฤกษ์ ศรีจำนรรจ์ พิชิตสุวรรณชัย สัญญานี ศรีคชา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

เก็บตัวอย่างแมลงศัตรูมะนาวในแหล่งปลูกที่ อ.ท่ายาง และ อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี พบเพลี้ยไฟ ในระยะใบอ่อน ระยะดอก ระยะผลอ่อน และหนอนชอนใบ ในระยะใบอ่อน แมลงศัตรูมะนาวที่พบมีหลายชนิดแต่ที่สำคัญและพบการระบาด ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis* Hood) หนอนชอนใบส้ม (*Phyllocnistis citrella* Stainton) หนอนแก้วส้ม (*Papilio demoleus* Wallace) เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย และเพลี้ยแป้ง แมลงศัตรูธรรมชาติพบว่ามีแตนเบียนหลายชนิดคอยทำลายหนอนชอนใบส้มในระยะหนอนและดักแด้ ซึ่งจะได้สำรวจเพิ่มเติมและศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนชอนใบ และจะได้ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดโดยวิธีอื่นที่เหมาะสมต่อไป เช่นเดียวกับการศึกษาความเสียหายจากการทำลายของหนอนแก้วส้ม ส่วนการระบาดของเพลี้ยไฟ จะเก็บตัวอย่างชนิดของเพลี้ยไฟที่พบในแต่ละแหล่งปลูก รวมถึงการป้องกันกำจัดด้วยวิธีที่เหมาะสม

รหัสกิจกรรม 03-02-47-0602-01

คำนำ

มะนาวเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยม และเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคภายในประเทศค่อนข้างสูง ถึงแม้ในปัจจุบันจะยังคงประสบปัญหาในเรื่องคุณภาพของผลผลิต อันมีสาเหตุมาจากแมลงศัตรูมะนาว แมลงศัตรูมะนาวที่สำคัญส่วนใหญ่พบว่าเป็น เพลี้ยไฟ และหนอนชอนใบ การเข้าทำลายของแมลงขึ้นกับระยะการพัฒนาการของพืช เช่น เมื่อมะนาวอยู่ในระยะแตกยอดอ่อน ระยะแตกใบอ่อน ระยะดอก ซึ่งเป็นระยะที่สำคัญของการให้ผลผลิต

แมลงศัตรูมะนาวที่พบมีหลายชนิดแต่ที่สำคัญและพบการระบาด ได้แก่ หนอนชอนใบส้ม (*Phyllocnistis citrella* Stainton) หนอนแก้วส้ม (*Papilio demoleus* Wallace) เพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis* Hood) เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย และเพลี้ยแป้ง เป็นต้น ความสำคัญของแมลงที่เป็นศัตรูมะนาวจะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับพื้นที่ปลูกนั้นๆ การทำลายของหนอนชอนใบส้มทำความเสียหายให้กับใบมะนาวในระยะใบอ่อน หนอนกัดกินในลักษณะชอนใบในระหว่างผิวใบ บริเวณที่กัดกินจะเห็นเป็นฝ้าขาวเป็นทางวกวนไปมา ทิศทางไม่แน่นอน ทำให้ใบบิดเบี้ยวและแห้งรอยแผลจากการกัดกินเป็นช่องทางทำให้โรคสะเก็ดแห้ง (canker) เข้าทำลายในเวลาต่อมา หากการระบาดรุนแรงอาจพบการทำลายที่กิ่งอ่อนและผลอ่อนได้ (สุวรินทร์ 2533 ; ชลิดา 2534) จากการรายงานของพิมลพร (2545) ได้ศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติพบว่ามีแตนเบียน 17 ชนิดคอยทำลายหนอนชอนใบส้มในระยะหนอนและดักแด้ ชนิดที่พบเสมอและมีปริมาณมาก ได้แก่ *Tetrastichus* sp., *Cirropilus ingenuus* Gahan และ *Ageinaspis citricola* Logvinovskaya และการใช้สารสกัดจากเมล็ดสะเดา (alc. neem extract 5%) ทุกๆ 5 วัน ติดต่อกัน 4ครั้ง สามารถป้องกันกำจัดหนอนชอนใบส้มได้ประมาณ 90% สารที่สกัดได้มีผลทางเป็นสารยับยั้งการวางไข่ (oviposition deterent) ได้นาน 8 วัน (ขวัญชัย และ พรชัย , 2535) สำหรับเพลี้ยไฟ พบเป็นปัญหาในการปลูกส้มทุกชนิด และพบการระบาดทุกแหล่งปลูกทั่วประเทศ จากการสุ่มเคาะและใช้กับดักกาวเหนียวพบว่ามีเพลี้ยไฟหลายชนิด (พนมกร และ ศิริณี 2533) จึงจำเป็นต้องศึกษาถึงชนิดและปริมาณของแมลงศัตรูมะนาวและศัตรูธรรมชาติซึ่งจะได้สำรวจเพิ่มเติมและศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูแต่ละชนิด และทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีเปรียบเทียบกับน้ำมันธรรมชาติ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับเป็นแนวทางการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูชนิดที่สำคัญของมะนาวที่เหมาะสม เพื่อลดความเสียหาย ลดพิษตกค้างในผลผลิต ลดการเกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ส่งเสริมคุณภาพของผลผลิตและเป็นแนวทางการวิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดศัตรูมะนาวโดยวิธีผสมผสานร่วมกับการจัดการด้านเขตกรรม การปรับปรุงพันธุ์ และวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว ตลอดจนก่อให้เกิดการสร้างมูลค่าเพิ่มของผลผลิตทั้งจากการควบคุมเพื่อการบริโภคสด และจากความสามารถในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่สนองต่อความต้องการของตลาด

วิธีดำเนินการ

แบ่งการดำเนินการเป็น 2 ส่วน ได้แก่

ก. ศึกษาชีววิทยา และนิเวศน์วิทยาของแมลงศัตรูมะนาว

(เริ่มทดลอง ตุลาคม 2546 - กันยายน 2547)

ข. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมะนาวโดยวิธีที่เหมาะสม

(เริ่มทดลอง ตุลาคม 2547 - กันยายน 2549)

อุปกรณ์

1. สวนมะนาวอายุ 5 - 10 ปี 3 แปลงๆละ 3 ไร่
2. ขวดเก็บตัวอย่าง (Vial)
3. น้ำยาดองเพลี้ยไฟ AGA (Alcohol 60%: Glycerine : Gracial acid 1:1:1)
4. น้ำยาและอุปกรณ์ทำสไลด์ถาวร
5. แผ่นพลาสติกสีเหลือง ขนาด 10 x 12 นิ้ว จำนวน 10 แผ่น
6. กล่องเก็บตัวอย่างแมลง
7. ถุงพลาสติกใส ขนาด 10 x 12 นิ้ว และ 20x 24 นิ้ว
8. ถุงผ้าคลุมช่อดอก
9. สวิงโฉบแมลง
10. กล้องจุลทรรศน์ แบบ Stereo microscope และ Compound microscope
11. พู่กัน
12. ปากกาเมจิก ปากกาเขียนแผ่นใส
13. คีมคีบ
14. เข็มเขี่ย
15. ที่นับแมลง
16. ถังแช่เย็น
17. น้ำแข็งแห้ง

วิธีการ

เก็บตัวอย่างแมลงศัตรูมะนาวจากแหล่งที่มีการระบาดในแหล่งปลูกมะนาว ในระยะการเจริญเติบโตระยะต่างๆได้แก่ ระยะใบอ่อน ระยะดอก ระยะผลอ่อน และผลแก่ โดยการตรวจนับต้นละ 10 จุด จากต้นมะนาว 20 ต้น โดยให้กระจายรอบสวน เพื่อนำมาบันทึกลักษณะ และปริมาณการทำลาย ตลอดจนลักษณะการทำลายของแมลงศัตรูชนิดต่างๆ

การเก็บข้อมูล

- บันทึกระยะการเจริญเติบโตของแมลงแต่ละชนิด
- บันทึกระยะที่มะนาวถูกทำลาย
- บันทึกเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย แต่ละระยะของมะนาว
- บันทึกสภาพสวนที่พบการระบาด

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2546 สิ้นสุด กันยายน 2549 รวม 3 ปี

เริ่มทดลอง ตุลาคม 2546 - กันยายน 2547

ณ แปลงมะนาว อ.ท่ายาง และ อ.ชะอำ จ. เพชรบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แมลงศัตรูมะนาวที่พบมีหลายชนิดแต่ที่สำคัญและพบการระบาด ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis* Hood) หนอนชอนใบส้ม (*Phyllocnistis citrella* Stainton) หนอนแก้วส้ม (*Papilio demoleus* Wallace) เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย และเพลี้ยแป้ง แมลงศัตรูธรรมชาติพบว่ามีแตนเบียนหลายชนิดคอยทำลายหนอนชอนใบส้มในระยะหนอนและดักแด้ จากการสำรวจแปลงมะนาวในแหล่งปลูกที่ อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ – มีนาคม 2547 พบว่ามะนาวอยู่ในระยะใบอ่อน 5% พบเพลี้ยไฟ ในระยะใบอ่อน ระยะดอก พบมากที่สุด 43% ในระยะดอกเริ่มบานมากขึ้น จนถึงระยะผลอ่อน และ หนอนชอนใบพบในระยะเริ่มแตกใบอ่อน 20.25% จนกระทั่งใบอ่อนเริ่มหมดลง และยังพบแตนเบียนบางชนิด 2.5% ซึ่งจะได้สำรวจเพิ่มเติมและศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนชอนใบและศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดโดยวิธีอื่นที่เหมาะสมต่อไป นอกจากนี้พบการทำลายของหนอนแก้วส้ม 1.5% เพลี้ยอ่อน 0.5-2.5% เพลี้ยหอย 0.5-3.0% เพลี้ยแป้ง 1.5% ยังพบหนอนกินดอกและใบ และหนอนเจาะสมอฝ้าย (ตารางที่ 1)

การสำรวจแปลงมะนาวที่ อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี จากตารางที่ 2 พบการเข้าทำลายของหนอนชอนใบ 6.5% เมื่อมะนาวเริ่มแตกใบอ่อน 12% พบเพลี้ยไฟเข้าทำลายตั้งแต่ 3.0-20.0% ในระยะมะนาวแตกใบอ่อนและระยะดอก นอกจากนี้ยังพบแมลงศัตรูชนิดอื่นๆ ได้แก่ หนอนแก้วส้ม เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง และหนอนเจาะสมอฝ้าย ส่วนแตนเบียนของหนอนชอนใบพบเพียง 0.5%

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลอง สรุปได้ว่า แมลงศัตรูมะนาวที่พบมีหลายชนิดแต่ที่สำคัญและพบการระบาด ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis* Hood) หนอนชอนใบส้ม (*Phyllocnistis citrella* Stainton) หนอนแก้วส้ม (*Papilio demoleus* Wallace) เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย และเพลี้ย

แป้ง แมลงศัตรูธรรมชาติพบว่ามีแตนเบียนหลายชนิดคอยทำลายหนอนชอนใบส้มในระยะหนอนและดักแด้ซึ่งจะได้เก็บตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ขวัญชัย สมบัติศิริ และ พรชัย อานันท์นิตย์. 2535. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาที่มีต่อหนอนชอนใบส้ม (*Phyllocnistis citrella* Staint.) รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 30 วันที่ 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2535 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 219-224.

ชลิดา อุณหวุฒิ. 2534. แมลงศัตรูส้ม. ใน แมลงศัตรูไม้ผล. เอกสารวิชาการประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรแมลง-สัตว์ ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 6 วันที่ 17-28 มิถุนายน 2534 ณ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 71-101.

พนมกร วีระวุฒิ และ ศิริณี พูนไชยศรี. 2533. การใช้กับดักกาวเหนียวในสวนผลไม้. แมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2533. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 7 วันที่ 20 มิถุนายน 2533. ณ ห้องประชุมกรมวิชาการเกษตร ตึกกสิกรรม บางเขน กรุงเทพฯ. หน้า 297-325.

พิมลพร นันทะ. 2545. ศัตรูธรรมชาติหัวใจของ IPM. เอกสารวิชาการของกองกีฏและสัตววิทยา ปี 2545 กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 37-41.

สุวรินทร์ บำรุงสุข. 2533. แมลงศัตรูส้มโอที่สำคัญและการป้องกันกำจัด. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 8 (2) : 7-14.

ตารางที่ 1 แสดงชนิดและปริมาณแมลงศัตรูมะนาวที่สำรวจใน อำเภอท่ายาง จังหวัดเพชรบุรี เดือนกุมภาพันธ์ – กันยายน 2547

เดือน	ระยะการเจริญเติบโต (%)				แมลงศัตรูที่พบ (%) *								
	ใบอ่อน	ดอก	ผลอ่อน	ผลแก่	หนอนชอนใบส้ม	หนอนแก้ว	เพลี้ยไฟ	เพลี้ยอ่อน	เพลี้ยหอย	เพลี้ยแป้ง	หนอนกินใบ & ดอก	หนอนเจาะสมอฝ้าย	แมลงชนิดอื่นๆ
ก.พ. 47	5.00	2.00	0.00	0.00	0	0	0	0	0.5	0	0	0	
มี.ค. 47	5.00	5.00	0.00	0.00	0	0	2.0	0	0	0	0	0	
เม.ย. 47	10.00	5.00	0.00	0.00	0	0	20.5	0.5	0	1.5	0	0.5	
พ.ค. 47	20.25	10.50	0.25	0.50	5.5	0	43.0	2.5	2.5	0	0	0	แตนเบียน 2.5%
มิ.ย. 47	32.50	35.25	20.50	15.50	9.0	1.5	15.5	0	3.0	0	0	2.5	
ก.ค. 47	26.25	30.00	20.75	40.25	12.5	0	11.5	0	0	0	3.0	0	แตนเบียน 2.5%
ส.ค. 47	15.00	28.75	35.00	60.00	0	0	1.5	0	0	0	0	0	
ก.ย. 47	12.00	25.00	20.25	65.00	0	0	16.5	0	0	0	0	0	

* จากการสำรวจมะนาว 20 ต้นๆละ 10 ยอด

ตารางที่ 2 แสดงชนิดและปริมาณแมลงศัตรูมะนาวที่สำรวจใน อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี เดือนกุมภาพันธ์ – กันยายน 2547

เดือน	**ระยะการเจริญเติบโต (%)**				แมลงศัตรูที่พบ (%) *								
	ใบอ่อน	ดอก	ผลอ่อน	ผลแก่	หนอนชอนใบส้ม	หนอนแก้ว	เพลี้ยไฟ	เพลี้ยอ่อน	เพลี้ยหอย	เพลี้ยแป้ง	หนอนกินใบ & ดอก	หนอนเจาะสมอฝ้าย	แมลงชนิดอื่นๆ
ก.พ. 47	5.00	2.00	0.00	0.00	0	0	0	0	0.5	0	0	0	
มี.ค. 47	1.00	0.00	0.00	0.00	0	0	3.0	0	0	2.0	0	0	
เม.ย. 47	12.00	0.00	0.00	0.00	6.5	0	10.5	0	0	0	0	0.5	
พ.ค. 47	20.25	5.50	0.50	0.50	0	0	20.0	0	0	0	0	0	
มิ.ย. 47	22.50	20.25	10.25	15.50	4.0	0	10.5	0	0	0	0	2.5	
ก.ค. 47	35.25	10.00	16.25	20.50	7.5	0	3.5	0	0	0	0	0	แตนเบียน 0.5%
ส.ค. 47	12.00	15.75	20.50	40.00	5.5	0	1.0	0	0	0	0	0	
ก.ย. 47	20.00	11.00	10.00	52.00	0	0	10.5	0	0	0	0	0	

* จากการสำรวจมะนาว 20 ต้นๆละ 10 ยอด

การควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวโดยชีววิธี

Controlling in Canker Disease of Lime by Biological Control

นลินี ศิวากรณ์ **สุรางค์ เธียรหิรัญ**
สุพัตรา อินทวิมลศรี **รุ่งนภา คงสุวรรณ์**
เพลินพิศ สงสังข์
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การศึกษาการควบคุมโรคแคงเกอร์ของมะนาวโดยชีววิธีด้วยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จากไม้ยืนต้น ใบมะนาว ใบทานตะวัน น้ำปุ๋ยหมัก และเมล็ดถั่วเหลืองในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อราวงศ์ Xylariaceae จำนวน 13 ไอโซเลทและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 8 ไอโซเลทสามารถสร้างสารปฏิชีวนยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของมะนาว ทำให้เกิดวงใสขนาด 1-10 มม. โดยมีเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท 5113, 5112, 5114, 5012 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Xac*. บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้เช่นเดียวกับปฏิชีวนสาร Kanker-X ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด

รหัสกิจกรรม 03-02-47-0603

คำนำ

โรคแคงเกอร์ของมะนาวมีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* โรคนี้นับเป็นโรคเก่าแก่คู่มากับพืชตระกูลส้ม โดยเฉพาะมะนาวนับว่ามีความอ่อนแอต่อโรคนี้มาก ลักษณะอาการของโรคที่พบเห็นทั่วไปเป็นแผลสะเก็ดสีน้ำตาลบนใบ กิ่ง ก้าน และผล ทำให้ใบร่วง การเจริญเติบโตช้า กิ่งก้านแห้งตาย หากเกิดบนผลทำให้ผลมีตำหนิไม่เป็นที่ต้องการตลาด คุณภาพ และราคาของผลผลิตต่ำ โรคนี้พบแพร่ระบาดกว้างขวางทั่วโลกโดยเฉพาะแหล่งที่ปลูกพืชตระกูลส้มในแถบเอเชีย ทางใต้ของอเมริกา และทางใต้ของรัฐฟลอริด้า โดยทั่วไปพบโรคระบาดในสภาพภูมิอากาศแถบเมดิเตอร์เรเนียน แหล่งกำเนิดของโรคคาดว่าเป็นพื้นที่เขตร้อนชื้นของเอเชีย เช่น จีน อินโดนีเซีย และอินเดีย ซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดของพืชตระกูลส้ม ต่อมาปี 1910 ได้แพร่ระบาดเข้าไปในยุโรป และอเมริกา และพื้นที่ปลูกพืชตระกูลส้มอื่นๆ ของโลก ถึงแม้ว่าโรคนี้มีรายงานว่าถูกกำจัดเผาทำลายอย่างถอนรากถอนโคนในอเมริกาเมื่อปี 1949 แต่ก็ยังมีรายงานเกิดขึ้นใหม่ในช่วงปี 1984 และก็ได้มีการดำเนินการกำจัดโรคนี้อีกครั้ง (Singh,) แบคทีเรียที่ทำให้เกิด canker มีหลายสายพันธุ์ สายพันธุ์ที่มีมากที่สุดเป็นพวก Asiatic canker (canker A) พบระบาดในเอเชีย แอฟริกา หมู่เกาะในหมาสมุทรแปซิฟิก อินเดีย และในอเมริกาใต้ โดยมีความรุนแรงมากกับพืชตระกูลส้มหลายชนิด cankerB พบระบาดในอาร์เจนตินา อุรุกวัย และปารากวัย เกิดกับพวกมะนาวหวาน cankerC พบระบาดในบราซิล เกิดกับมะนาวMaxican lime (Whiteside et al 1991) การป้องกันกำจัดโรคนี้ มีทั้งการใช้วิธีการเขตกรรม การกักกันโรคมิให้แพร่ระบาดเข้ามาในแหล่งปลูก การเผาทำลาย การใช้กิ่งพันธุ์ปลอดโรค รวมทั้งการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดราจำพวกคอปเปอร์ เพื่อป้องกันการติดเชื้อและต้องทำอย่างสม่ำเสมอ ทำให้เกษตรกรมีความจำเป็นต้องพึ่งพิงสารคอปเปอร์ในการปลูกมะนาวตลอดเวลา และยังไม่มีสารเคมีชนิดใดที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุนี้

ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษา เพื่อหาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการป้องกันกำจัด และลดการเกิดโรคแคงเกอร์ เพื่อทดแทนการใช้สารเคมี และเพื่อหาเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคอย่างยั่งยืน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างใบมะนาวที่เป็นโรคแคงเกอร์ ต้นมะนาวและดินปลูก
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ PSA, PSB, PDA,PDB และ malt ager

3. ใบมะนาว ใบทานตะวัน น้ำปุ๋ยหมัก และเมล็ดถั่วเหลือง

4. วัสดุ และอุปกรณ์วิทยาศาสตร์

วิธีการ

1 การแยกเชื้อและเตรียมแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของมะนาว

1.1 เก็บตัวอย่างโรคแคงเกอร์ของมะนาวจากแหล่งปลูกของเกษตรกรในจังหวัดเพชรบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร และนครปฐม

1.2 นำใบ กิ่ง ก้าน ผล ของมะนาวที่เป็นโรคแคงเกอร์มาแยกเชื้อสาเหตุ *X. axonopodis* pv *citri* บนจานอาหาร PSA ด้วยวิธี streak plate และบ่มไว้เป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นคัดเลือกลักษณะโคโลนีเดี่ยวที่เป็นสาเหตุโรคแคงเกอร์ของมะนาวมาเลี้ยงในหลอดอาหาร PSA

1.3 นำเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์มาเลี้ยงในหลอดอาหาร PSA และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 ^{0}ซ เมื่อเชื้อเจริญเติบโตเต็มผิวหน้าอาหารจึงเทพาราฟินออยล์ปิดทับ นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 18 ^{0}ซ

1.4 นำเชื้อแบคทีเรียสาเหตุที่แยกได้มาเลี้ยงในหลอดอาหาร PSA เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 10 มล. เทผสมกับเชื้อแล้วนำไปปั่นด้วยเครื่อง vortex mixer ต่อมานำสารละลายเชื้อ 2 มล. ใส่จานอาหาร PSA แล้วเอียงจานอาหารให้สารละลายของเชื้อปกคลุมทั่วผิวหน้าอาหาร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเพื่อเตรียมทดสอบต่อไป

2. การแยกเชื้อราปฏิปักษ์

เก็บตัวอย่างพืชที่มีเชื้อรา Ascomycetes เจริญเติบโตนำมาแยกบนหาร PDA ด้วยวิธี tissue transplanting และเลี้ยงขยายบนอาหาร malt ager (MA) เพื่อเตรียมทดสอบต่อไป

3. การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

3.1 นำตัวอย่างใบมะนาว ใบทานตะวัน น้ำปุ๋ยหมัก และเมล็ดถั่วเหลืองมาทำการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยวิธี streak plate และ tissue transplanting

3.2 คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ให้ลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน หรือแสดงปฏิกิริยายับยั้งเชื้ออื่นๆ ที่ขึ้นปะปนบนอาหารเลี้ยงเชื้อมาเลี้ยงในหลอดอาหาร PSA

3.3 นำเชื้อแบคทีเรียที่ได้มาทำให้ความเข้มข้นเจือจางในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5} – 10^{-7} แล้วทำการ spread plate บนจานอาหาร PSA และคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวๆ จากนั้นนำมาเลี้ยงในหลอดอาหารPSAและเก็บรักษาเชื้อในหลอดอาหารPSAที่ปิดทับด้วยพาราฟินออยล์

3.4 นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้มาเลี้ยงในหลอดอาหาร PSA เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ1.4

4.ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคแคงเกอร์

4.1 ตัดใบมะนาวใต้น้ำแล้วพันสำลีรอบก้านใบด้วยวิธีตัดชำใบ (detached leaf technique) จากนั้นนำมาใส่ในกล่องพลาสติกที่มีกระดาษฟางรองให้ความชื้น และนำมาวางใต้แสงฟลูออเรสเซนต์

4.2 ทำการปลูกเชื้อบนใบมะนาวในห้องปฏิบัติการ และในเรือนทดลองตามกรรมวิธีต่างๆ ดังนี้

4.2.1 ปลูกเชื้อด้วยวิธีทำแผลจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโดยตรง โดยนำเข็มที่อบฆ่าเชื้อแล้วไปแตะกับตัวเชื้อโดยตรงในจานอาหารที่เลี้ยงไว้ในข้อ 1.4 แล้วนำไปเจาะทำแผลบนใบมะนาวที่เตรียมไว้ในข้อ 4.1

4.2.2 ปลูกเชื้อด้วยวิธีทำแผลจากสารละลายของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ โดยนำเชื้อที่เลี้ยงในข้อ 1.4 มาผสมในน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออัตรา 1 จานอาหารต่อน้ำ 100 มล. แล้วนำเข็มที่อบฆ่าเชื้อแล้วไปจุ่มลงในสารละลายของเชื้อสาเหตุ จากนั้นนำไปเจาะทำแผลบนใบมะนาวที่เตรียมไว้ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีตัดชำและในเรือนทดลอง

4.2.3 ปลูกเชื้อด้วยวิธีฉีดพ่นด้วยสารละลายของเชื้อ โดยนำเชื้อที่เลี้ยงในข้อ 1.4 มาผสมในน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออัตรา 1 จานอาหารต่อน้ำ 100 มล. แล้วนำมาฉีดพ่นบนใบมะนาวที่เตรียมไว้ในในห้องปฏิบัติการด้วยวิธีตัดชำและในเรือนทดลอง

4.3 ตรวจลักษณะของแผลจุดโดยเปรียบเทียบกับ control ที่ใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อเป็นมาตรฐาน และตรวจนับแผลจุดที่เกิดขึ้นบนใบมะนาว

5. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xac.* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของมะนาวด้วยวิธี antagonistic reaction ในห้องปฏิบัติการ

5.1 ทดสอบปฏิกิริยาของเชื้อราวงศ์ Ascomycetes ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Xac.* โดยเทอาหาร PSAในจานอาหารเป็นชั้นที่1 (basal layer) นำน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 10 มล. ผสมกับเชื้อ *Xac.* ที่เลี้ยงในหลอดอาหาร PSA แล้วนำไปปั่นเพื่อให้สารละลายของเชื้อกระจายตัวสม่ำเสมอ จากนั้นนำไปเทผสมในขวดอาหาร PSA ที่หลอมละลายอัตรา1:100 แล้วเททับอาหารชั้นล่างที่เตรียมไว้ เป็นอาหารที่ผสมเชื้อในชั้นบน(upper layer) จากนั้นนำ cock borer ขนาด 5 มม. เจาะบนขอบโคโลนีของเชื้อรา Ascomycetes ที่เลี้ยงไว้ในข้อ 2 แล้วนำมาวางในตำแหน่งที่กำหนดไว้บนจานอาหารที่มีเชื้อ *Xac.* ผสมอยู่ จากนั้นนำไปเก็บบ่มไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28-30^{0}ซ เป็นเวลา 1-7 วัน บันทึกปฏิกิริยา ขนาด และคำนวณค่าปฏิกิริยาการยับยั้งดังนี้

ปฏิกิริยาการยับยั้ง =

$$\frac{\text{ศ ก.ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกับวงใส - ศก.ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์}}{2} \text{ มม.}$$

5.2 ทดสอบปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ สารเคมีและสารปฏิชีวนที่จำหน่ายในท้องตลาดต่อเชื้อ *Xac*. โดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Xac*. จากการคัดเลือกแล้วในข้อ 5.1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างปฏิชีวนะสาร โดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาเลี้ยงในขวดอาหารเหลว PSB แล้วนำเข้าเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 150-155 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน นำกระดาษ (paper disc) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มม.ที่อบฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในอาหารที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยทดสอบเปรียบเทียบกับกรรมวิธีสารเคมี คอปเปอร์ ออกซีคลอไรด์ 62% WP อัตรา 3,000 ppm. และสารปฏิชีวนทีมีจำหน่ายในท้องตลาดสเตร็พโตมัยซิน ซัลเฟต+ออกซีเททราไซคลิน ไฮโดรคลอร์ไรด์ มีชื่อการค้า Kanker-X อัตรา 100 ppm. อัตราส่วนตามที่ระบุในฉลากยา จากนั้นนำไปวางบนจานอาหาร PSA ที่มีชั้นอาหารที่เตรียมไว้ตามกรรมวิธีในข้อ 5.1 แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28-30^{0} ซ. เป็นเวลา 1 วันจึงทำการวัดปฏิกิริยาการยับยั้งต่อเชื้อ *Xac*.

เวลาและสถานที่

- เดือนมกราคม – กันยายน 2547
- กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของมะนาวให้โคโลนีกลมนูน เป็นเมือก สีเหลืองบนอาหาร PSA ให้ปฏิกิริยาแกรมลบเมื่อทดสอบกับ KOH 3% จากการปลูกเชื้อลงบนใบมะนาวที่ตัดชำด้วยวิธี detached leaf ในห้องปฏิบัติการและบนต้นมะนาวในเรือนทดลอง โดยใช้เข็มทำแผลปลูกเชื้อ และใช้ฉีดพ่น พบว่าวิธีการใช้เข็มทำแผลปลูกเชื้อทั้งจากชื้อโดยตรงหรือจากสารละลายของเชื้อสามารถทำให้เกิดโรคบนจุดที่ทำแผลปลูกเชื้ออย่างรวดเร็วภายใน 4 วันต่อมาแผลแคงเกอร์จะกระจายออกไปบนใบ ลักษณะอาการในระยะแรกบริเวณที่ทำแผลปลูกเชื้อจะเป็นขุยฟูนูนสีขาวครีม ต่อมาจะเป็นจุดสะเก็ดสีน้ำตาลทั้งด้านหน้า และด้านหลังใบ ส่วนการฉีดพ่นเชื้อบนใบโดยไม่ทำแผลทำให้เกิดโรคแคงเกอร์ได้น้อยและช้าเพียง 1-2 จุดต่อใบหลังจากพ่นเชื้อ 12 วัน และจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์มีปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นสามารถจัดแบ่งออกได้เป็น 3 ลักษณะคือ

1. เชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์ *Xac*. เจริญเติบโตรวดเร็วกว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
2. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เจริญเติบโตได้รวดเร็วกว่าเชื้อ *Xac*.
3. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สร้างสารปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Xac*.

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา Ascomycetes จำนวน 72 ไอโซแลทที่ได้จากไม้ในป่าธรรมชาติซึ่งร่วมกับกรมป่าไม้ กระทรวงทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม พบว่าเชื้อราวงศ์ Xylariaceae

มีความผันแปรเปลี่ยนรูปร่างได้ง่าย ทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่แน่นอนและขนาดวง clear zone ไม่ใสและเล็ก จากการทดสอบมีจำนวน 13 ไอโซเลท สามารถให้ปฏิกิริยายับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xac*. โดยให้บริเวณวงใสรอบเชื้อรารัศมีขนาด 1 - 6 มม. ได้แก่ ไอโซเลท 2472, 2432, 2504, 2400, 2500, 2506, 2508, 2325, 2475, 2461, 2507, 2430, และ 2498 (ตารางที่ 1) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จำนวน 35 ไอโซเลทต่อเชื้อ *Xac*. พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 8 ไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Xac*. โดยมีวงใสที่กว้างขนาดรัศมี 2-10 มม. ได้แก่ ไอโซเลท 5115, 5111, 5031, 5211, 5113, 5114, 5112 และ 5012 กรรมวิธีการใช้ปฏิชีวนสาร Kanker-X สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Xac*. โดยให้วงใสรอบ paper disc ขนาดรัศมี 7.5 มม. และสารเคมีคอปเปอร์ ออกซีคลอไรด์ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Xac*. (ตารางที่2)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Xac*. สาเหตุโรคแคงเกอร์ของมะนาวสามารถทำให้เกิดโรคได้จากการทำแผลปลูกเชื้อและการฉีดพ่นทั้งในห้องปฏิบัติการและในเรือนทดลอง วิธีการทำแผลปลูกเชื้อจะเกิดโรคได้รวดเร็วกว่าการฉีดพ่น ดังนั้นในการทดลองควรใช้วิธีการทำแผลร่วมกับการฉีดพ่น เพื่อให้การทำแผลเป็นแหล่งของเชื้อบนต้นมะนาวทำให้เพิ่มปัจจัยอันเหมาะสมในการทำให้เกิดโรคอย่างรวดเร็วบนต้นมะนาว จึงเหมาะที่จะนำไปใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนต้นมะนาวทั้งในห้องปฏิบัติการและในเรือนทดลอง จากการทดลองปฏิกิริยาของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อ *Xac*. ในห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อราวงศ์ Xylariaceae จำนวน 13 ไอโซเลทและเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 8 ไอโซเลทสามารถสร้างปฏิชีวนสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Xac*. โดยมีแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5113, 5114, 5112, 5012 ให้ปฏิกิริยายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Xac*. ดีเช่นเดียวกับปฏิชีวนสาร Kanker-X ที่จำหน่ายในท้องตลาด นอกจากนี้ยังมีปฏิกิริยาของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เกิดขึ้นในลักษณะแข่งขันการเจริญเติบโตกับเชื้อ *Xac*. ทำให้เชื้อปฏิปักษ์กลุ่มนี้ไม่แสดงปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อ *Xac*. ดังนั้นกลุ่มของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ให้ลักษณะปฏิกิริยาแบบแข่งขันและแบบยับยั้งจะเป็นกลุ่มที่ได้รับการคัดเลือกนำไปทดสอบหาปฏิชีวนสารจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Singh,R.S. 2000. Diseases of Fruit Crops. Science Publishers, Inc. Enfield New Hampshire, USA. 310 pp.

Whiteside,J.O.; S.M.Garnsey and L.W.Timmer.1988.Compendium of Citrus Diseases. The American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota. USA. 80 pp.

ตารางที่ 1 แสดงปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราวงศ์ Xylariaceae ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xac.* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของมะนาว

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยขนาดรัศมีวงใส (มม.)
2472	1.00
2432	1.00
2504	1.50
2400	2.00
2510	2.00
2506	3.00
2508	3.50
2325	3.50
2475	4.00
2461	4.50
2507	5.00
2430	5.50
2498	6.30

ตารางที่ 2 แสดงปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xac.* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของมะนาว

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยขนาดรัศมีของวงใส (มม.)
5115	3.00
5111	3.50
5031	5.00
5211	5.00
5113	7.00
5114	8.00
5112	8.50
5012	10.00
Kanker-X	7.50
คอปเปอร์ ออกซีคลอไรด์	0

การตรวจยีนโพลีกาแลคตูโลเนสของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวหรือแง่งเน่าของขิง โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์

Detection of Polygalactulonase Gene of *Ralstonia solanacearum* Causing Ginger Rhizome rot Disease by PCR Technique

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ **ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล**
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (RS) สาเหตุโรคเหี่ยวหรือแง่งเน่าของขิงด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบจากยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์โพลีกาแลคตูโลเนส (polygalacturonase gene) pehA#3 (5'-CAGCAGAACCCGCGCCTGATCCAG-3') และ pehA#6 (5'-ATCGGACTTGATGCGCAGG CCGTT-3') พบว่าปฏิกิริยาพีซีอาร์สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 500 base pairs จากดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ RS ทั้ง 4 ไบโอวาร์ แบบไม่เจาะจงพืชอาศัย และไม่สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอจากซาโปรไฟท์ที่แยกจากแง่งขิง โดยมีความไว (sensitivity) ในการตรวจเชื้อ RS ที่ความเข้มข้นต่ำสุดของดีเอ็นเอ และเซลล์แขวนลอยเชื้อเท่ากับ 10 พิโคกรัม และ 10^6 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml) ตามลำดับ เมื่อทำการทดสอบความไวของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ RS ในน้ำสกัดจากเนื้อเยื่อของขิงอ่อน และขิงแก่ พบว่ามีความไวในการตรวจเชื้อเท่ากับ 10^6 cfu/ml และ 10^7 cfu/ml ตามลำดับ

คำนำ

ขิง (ginger) เป็นพืชที่จัดอยู่ในยุทธศาสตร์พืชส่งออกของประเทศไทย ขิงมีลำต้นอยู่ใต้ดินเรียกว่าแง่ง (rhizome) ซึ่งเป็นส่วนที่นำมาใช้ปลูกขยายพันธุ์ และใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางเพื่อการอุปโภคและบริโภค ขิงจึงเป็นพืชที่เป็นที่ต้องการของตลาดมาก ทั้งภายในประเทศและเพื่อส่งออกจำหน่ายต่างประเทศ แต่ในปัจจุบันพื้นที่ปลูกขิงประสบปัญหาโรคเหี่ยวหรือโรคแง่งเน่าจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi (Yabuuchi และคณะ, 1995) ซึ่งเชื้อสาเหตุโรคดังกล่าว สามารถแพร่ระบาดโดยติดไปกับส่วนขยายพันธุ์แง่งขิง ดิน และน้ำ ทำความเสียหายให้กับ

รหัสกิจกรรม 05-01-47-0803

พื้นที่ปลูกขิงทั่วประเทศไทย ได้แก่ ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย เพชรบูรณ์ เลย ประจวบคีรีขันธ์ และชุมพร แบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวมีพืชอาศัยกว้าง สามารถก่อให้เกิดโรคเหี่ยวกับพืชมากกว่า 200 ชนิด ใน 44 วงศ์ เช่น มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง ยาสูบ ถั่วลิสง กระชาย และในไม้ดอกไม้ประดับ เช่น ปทุมมา บานชื่นดาวเรือง เป็นต้น (วนิดา, 2542; Hayward, 1991) การจัดจำแนกเชื้อตามการเข้าทำลายพืชอาศัยแบ่งออกเป็น 5 race (Buddenhagen และคณะ, 1962; Pegg และ Moffett, 1971; He และคณะ, 1983) และจัดแบ่งตามคุณสมบัติการใช้น้ำตาลโพลิแซคคาไรด์ และน้ำตาลแอลกอฮอล์ได้ 5 ไบโอวาร์ (Hayward, 1964; He และคณะ, 1983) เชื้อที่พบในประเทศไทยส่วนใหญ่จำแนกอยู่ใน race 1 ไบโอวาร์ 3 และ 4 (วนิดา, 2542)

เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถอยู่ในดินและน้ำ ได้เป็นเวลานาน พื้นที่ปลูกขิงที่ประสบปัญหาโรคเหี่ยว จึงไม่สามารถปลูกพืชซ้ำที่เดิมได้เป็นเวลาหลายปี ปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพหรือวิธีการป้องกันกำจัดที่ได้ผลดี และไม่มีพันธุ์ขิงที่ต้านทานต่อโรค จากการที่ขิงเป็นพืชที่ขยายพันธุ์จากส่วนขยายพันธุ์ที่อยู่ใต้ดิน เรียกว่าแง่ง เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจึงสามารถแพร่ระบาดไปได้อย่างรวดเร็ว เมื่อมีการขนย้ายส่วนขยายพันธุ์ที่มีการติดเชื้อไปปลูกในที่ต่าง ๆ การตรวจเชื้อในส่วนขยายพันธุ์ก่อนนำไปปลูก เป็นวิธีที่สามารถลดการแพร่กระจายเชื้อไปยังพื้นที่ปลูกใหม่ได้ เทคนิคการตรวจเชื้อโดยเซรุ่มวิทยา มีข้อจำกัดของความจำเพาะของเซรุ่ม และการตรวจเชื้อที่ติดมากับส่วนขยายพันธุ์ในปริมาณต่ำ จากการศึกษาของ Roncal และคณะ (1999) และ Thammakijjawat และ (2001) โดยการใช้เทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR) ด้วยไพรเมอร์ 759f/760r (Opina และคณะ, 1997) ในการตรวจเชื้อ *R. solanacearum* พบว่าสามารถตรวจเชื้อในปริมาณต่ำได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ ในเวลาอันสั้น

การวิจัยและพัฒนาเทคนิคในการตรวจเชื้อที่ติดมากับแง่งขิง เพื่อการตรวจท่อนพันธุ์ขิงก่อนปลูก จะช่วยลดปัญหาการแพร่ระบาดของเชื้อในพื้นที่ปลูกใหม่ และเทคนิคดังกล่าวอาจนำไปพัฒนา ตรวจสอบแง่งขิง เพื่อรับรองการส่งออกได้ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อ *Ralstonia solanacearum* และการเก็บรักษาเชื้อ

ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวจากต้นขิง โดยตัดส่วนลำต้นที่มีอาการเหี่ยวเหนือแง่งขิงประมาณ 2 นิ้ว ล้างดินบริเวณรอบต้นด้วยน้ำสะอาด จุ่มแช่ในหลอดทดลองที่บรรจุน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที จะมีสายแบคทีเรียไหลออกจากรอยตัด ใช้ลูปลนไฟฆ่าเชื้อแตะไปลากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิดคือ tetrazolium chloride medium (TZC) (Kelman, 1954) และ mSM-1 (Granada, 1983; ปิยรัตน์, 2542) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง เลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะเยิ้มสีขาว

ขุ่นตรงกลางโคโลนีมีสีชมพูอ่อน แตะเชื้อไปลากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC อีก 1-2 ครั้ง เพื่อเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ ส่วนการแยกเชื้อจากแง่งขิง โดยทำการล้างดินบริเวณผิวนอกด้วยน้ำสะอาด ตัดขิงเป็นท่อนขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์นิ้ว จุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วลนผ่านไฟโดยเร็ว เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวนอก จากนั้นทำการปอกผิวรอบนอกออก แล้วใช้มีดตัดเนื้อเยื่อขิงผ่านส่วนที่เป็นท่อลำเลียงน้ำและอาหาร เป็นชิ้นเล็กขนาดประมาณ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร แช่ในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ทิ้งไว้ 5 นาที ใช้ลูปลนไฟฆ่าเชื้อแตะไปลากบนอาหารเลี้ยงเชื้อและแยกเชื้อบริสุทธิ์เช่นเดียวกับวิธีการข้างบน

เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร TTC (ไม่ใส่สารปฏิชีวนะ 2,3-5 tetrazolium chloride) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อ 1 ลูปเต็มใส่ในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง หรือเก็บในกลีเซอรอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ –20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาในลำดับต่อไป

2. การสกัดดีเอ็นเอ

เตรียมเชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรีย *R. solanacearum* บนอาหาร TZC (Kelman, 1954) ใช้ลูปแตะโคโลนีเดี่ยว ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลว modified YP (3 กรัม yeast extract และ 5 กรัม peptone ในน้ำกลั่น 1 ลิตร) บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่า (Orbit shaker : LAB-Line Instruments Inc. , ILL) ความเร็ว 125 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ดูดเซลล์แขวนลอยของเชื้อในอาหารเหลว ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองพลาสติก (eppendorf tube) ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นตกตะกอนเซลล์ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich (Universal 32, Germany) ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ทิ้งส่วนใส ล้างตะกอนเซลล์ เพื่อกำจัดโพลีแซคคาไรด์ ด้วยน้ำเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85 เปอร์เซ็นต์ 3 ครั้ง เก็บตะกอนเซลล์ นำไปสกัดดีเอ็นเอ ด้วยชุดสกัด Puregene kit (Invitrogen Inc., Minneapolis, MN) ตามกรรมวิธีของชุดสกัด ดังนี้ เติมสารละลายเซลล์ (cell lysis solution) ในหลอดตะกอนเซลล์ ปริมาณ 300 ไมโครลิตร ดูดขึ้นลงด้วยไปเปตให้ตะกอนเซลล์กระจาย บ่มหลอดที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียสลาย ทิ้งให้เย็น แล้วเติม 1.5 ไมโครลิตร Rnase A เพื่อกำจัด RNA บ่มหลอดไว้ในน้ำอุ่น 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ทิ้งให้เย็นลง ตกตะกอนโปรตีน โดยเติมสารละลาย protein precipitation 100 ไมโครลิตร ปั่นอย่างแรงด้วยเครื่องผสมสาร นาน 20 วินาที แล้วหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ 14000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที ตกตะกอนดีเอนเอ โดยดูดสารส่วนใส ใส่หลอดใหม่ที่บรรจุ isopropanol 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการพลิกหลอดกลับไปมา จากนั้นหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนดีเอ็นเอที่ความเร็วรอบ 14000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ล้างตะกอนดีเอนเอด้วย 70 % เอทธานอล 3 ครั้ง นำไประเหยแอลกอฮอล์ในตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นลายตะกอนดีเอ็นเอ ด้วยบัฟเฟอร์ (TE 0.1 M pH 7.0) ปริมาณ 30 ไมโครลิตร วัดปริมาณความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอ ที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องสเปกโตโฟ

โตมิเตอร์ (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA) และเจือจางดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ให้มีความเข้มข้น 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร เพื่อนำไปทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์

3. ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ ด้วยไพรเมอร์ pehA#3 และ pehA#6 โดยใช้ดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ *R. solanacearum* ไบโอวาร์ 1, 2, 3 และ 4 ชนิดละ 2 สายพันธุ์ ปริมาตรรวมของปฏิกิริยา 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

สารประกอบในปฏิกิริยาพีซีอาร์	ปริมาตร (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย
10 X บัฟเฟอร์	2.5	1 X
$MgCl_2$	1.5	1.5 mM
dNTPs 2.5 mM	2	0.2 mM
ไพรเมอร์ pehA#3 25 pM	1	25 pM
ไพรเมอร์ pehA#6 25 pM	1	25 pM
Taq DNA polymerase 5 U/ ul	0.25	1.25 U
ดีเอ็นเอต้นแบบ 50 นาโนกรัม	0.5	25 ng
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	16.25	-

สังเคราะห์ไพรเมอร์ pehA#3 (5'-CAGCAGAACCCGCGCCTGATCCAG-3') และ pehA#6 (5'-ATCGGACTTGATGCGCAGGCCGTT-3') ที่ออกแบบจากส่วนของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์โพลีกาแลคตูโลเนส โดย Huang and Schell (1990) จากบริษัท QIAGEN Operon (QIAGEN, Cologne, Germany) นำมาทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ PE 2400 thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA) โดยใช้อุณหภูมิและเวลา ในปฏิกิริยาการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ ดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ (°C)	เวลา	
1.แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น (initial denaturation)	94	1 นาที	
2.แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturation)	94	30 วินาที	30 รอบ
3.เริ่มต้นจับคู่ไพเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing)	70	1 นาที	

4.สังเคราะห์สายดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอแม่แบบ(extension)	72	30 วินาที
5.สังเคราะหดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	65	6 นาที

ทำปฏิกิริยาซ้ำในขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ 30 รอบ และหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ขนาดของสายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ โดยนำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ 6 ไมโครลิตร ผสมกับ loading dye (Promega,Madison, WI) 1 ไมโครลิตร แยกขนาดของสายดีเอ็นเอด้วยอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟริซิส ใช้ 2% อะกาโรส ใน 0.5X TBE บัฟเฟอร์ ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักดิ์ 100 โวลต์ นาน 40 นาที ย้อมอะกาโรสเจล ด้วยเอทธิเดียมโบรไมด์ 5 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวี และถ่ายภาพ ด้วย ultraviolet transiluminator model GDS 7500 (UVP, Upland, CA)

4. ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

ทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ โดยทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ ตามกรรมวิธีเช่นเดียวกับในข้อ 3 ใช้ดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ *R. solanacearum* จำนวน 23 สายพันธุ์ ที่แยกจากพืชอาศัยต่างๆ และทดสอบปฏิกิริยากับเชื้อซาโปรไฟท์ (saprophyte) ที่แยกจากแง่งขิง จำนวน 2 ไอโซเลท

ทดสอบความไวของปฏิกิริยาในการตรวจเชื้อแบคทีเรียในระดับดีเอ็นเอ โดยใช้ดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ *R. solanacearum* จากขิงจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ CR-1 และ PB-1 ทำการเจือจางดีเอ็นเอให้มีความเข้มข้น 10 ระดับ ตั้งแต่ 50 นาโนกรัม ถึง 1 เฟมโตกรัม ใช้ดีเอ็นเอดังกล่าวเป็นต้นแบบ เพื่อทดสอบความไวของปฏิกิริยาพีซีอาร์ เช่นเดียวกับวิธีในข้อ 3 โดยใช้ตัวอย่างละ 1 ไมโครลิตร

การทดสอบความไวของปฏิกิริยาในการตรวจเชื้อในระดับเซลล์ โดยเตรียมเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร TTC บ่มไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อ 1 ลูปเต็มละลายในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อในหลอดทดลอง 9 มิลลิลิตร นำมาเจือจาง ครั้งละ 10 เท่า ให้มีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อตั้งแต่ 10 ถึง 10^7 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/ml) นำมาทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้ตัวอย่างละ 1 ไมโครลิตร ใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเป็นตัวเปรียบเทียบ การทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ ใช้อุณหภูมิและเวลาในการสังเคราะห์เช่นเดียวกับข้างต้น โดยเพิ่มเวลาสำหรับแยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น initial denature นาน 5 นาที และเวลาในการลอกสายดีเอนเอ (extension) เพิ่มเป็น 1 นาที ตรวจวิเคราะห์ขนาดของสายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณ ด้วยเทคนิคอิเลคโตรโฟริซิส บน 2% อะกาโรส เช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น

5. ความไวของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในน้ำสกัดจากเนื้อเยื่อขิงแก่ และขิงอ่อน

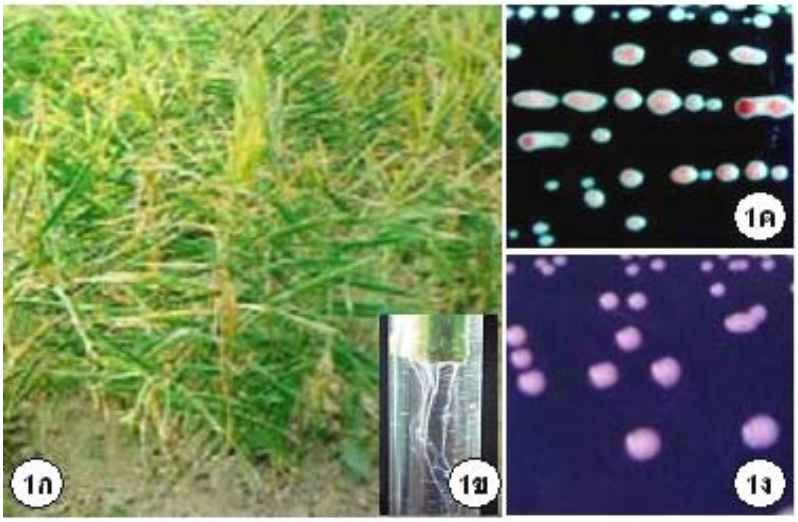
ทดสอบความไวของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *R. solanacearum* ในน้ำสกัดจากเนื้อเยื่อขิง โดยการเตรียมน้ำแช่เนื้อเยื่อขิงจากทั้งขิงอ่อน (Figure 1d) และขิงแก่ (Figure 1e) ที่ปลอดเชื้อ โดยทำการตัดเนื้อเยื่อขิง ให้มีขนาดประมาณ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร 20 ชิ้น ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ใส่น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ 20 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่อง rotary shaker ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที นาน 2 ชั่วโมง ดูดน้ำแช่เนื้อเยื่อขิงด้วยไปเปต ใส่ในหลอดทดลองพลาสติก (eppendorf tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดละ 900 ไมโครลิตร เตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อเช่นเดียวกับในข้อ 4 แล้วนำมาเจือจางในน้ำแช่เนื้อเยื่อขิงครั้งละ 10 เท่า ให้มีความเข้มข้นเซลล์แขวนลอยเชื้อตั้งแต่ 10 ถึง 10^7 cfu/ml ใช้เป็นตัวอย่างในการทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ เช่นเดียวกับวิธีในข้อ 3 ใช้น้ำสกัดเนื้อเยื่อขิงที่ไม่ใส่เชื้อเป็นการทดลองเปรียบเทียบ การทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ใช้อุณหภูมิและเวลาในการสังเคราะห์เช่นเดียวกับกรรมวิธีการตรวจเชื้อจากเซลล์ ที่เพิ่มเวลาสำหรับ initial denature นาน 5 นาที และเวลาในการลอกสายดีเอนเอ (extension) นาน 1 นาที ตรวจวิเคราะห์ขนาดของสายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ เช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การแยกเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

ลักษณะอาการโรคเหี่ยวของขิง ใบล่างพืชจะแสดงอาการเหลือง เหี่ยวและห่อม้วน (ภาพที่ 1 ก) เมื่อตัดขวางลำต้น จุ่มแช่ในน้ำ ทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที จะพบมีสายของแบคทีเรียไหลออกจากบริเวณแผลที่ตัด (ภาพที่ 1ข) เมื่อผ่าแง่งขิงตัดขวาง เนื้อเยื่อด้านในจะมีรอยช้ำน้ำหรือมีลักษณะเนื้อใส เรียกว่าลักษณะเนื้อแก้ว หรือไส้ซึม

ลักษณะแบคทีเรีย *R. solanacearum* บนอาหาร TZC มีลักษณะโคโลนีสีขาวครีมเยิ้ม รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดไม่แน่นอน โดยเฉลี่ย 1-5 มิลลิเมตร บริเวณกลางโคโลนีมีสีชมพูอ่อน (ภาพที่ 1ค) ซึ่งเป็นลักษณะ typical โคโลนี ที่เชื้อมีคุณสมบัติในการก่อให้เกิดโรค (Kelman, 1954) บนอาหาร mSM-1 เชื้อจะเจริญหลังบ่มเชื้อไว้นาน 3-5 วัน ลักษณะโคโลนีคล้ายกับบนอาหาร TZC มีรูปร่างไม่แน่นอน ขนาดเฉลี่ย 2-5 มิลลิเมตร โคโลนีนูน เยิ้ม ขอบโคโลนีสีน้ำนมขุ่น กลางโคโลนีมีสีแดงอมชมพูถึงแดงอมม่วง (ภาพที่ 1ง) ผลการแยกเชื้อพบว่าบนอาหาร mSM-1 จะมีซาโปรไฟท์เจริญน้อยกว่าบนอาหาร TZC ทั้งนี้เนื่องจากอาหารดังกล่าวมีสาร crystal violet และ polymicin ß sulfate ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียอื่นๆมากกว่าบนอาหาร TZC เช่นเดียวกับรายงานการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมา ซึ่งแนะนำให้ใช้อาหาร mSM-1 ในการแยกเชื้อจากส่วนขยายพันธุ์ที่อยู่ใต้ดิน (ปิยรัตน์, 2542)



ภาพที่ 1 ลักษณะอาการโรคเหี่ยวขิงและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
1ก, ลักษณะอาการโรคเหี่ยวของขิง ใบแก่ด้านล่างเหี่ยวเหลืองและม้วนเป็นหลอดต่อมาลามสู่ด้านบน ใบเหี่ยวม้วนทั้งต้น และต้นจะแห้งตาย
1ข, เมื่อตัดส่วนลำต้นแช่ในน้ำจะมีสายแบคทีเรีย (Ooze) ไหลออกจากท่อลำเลียงของพืช
1ค, ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* บนอาหาร TZC มีลักษณะโคโลนีสีขาวครีมเยิ้ม รูปร่างค้อนข้างกลม ขนาดไม่แน่นอน กลางโคโลนีมีสีชมพูอ่อน
1ง, ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* บนอาหาร m-SM-1 ลักษณะโคโลนีมีนูนเยิ้ม ขอบสีน้ำนมขุ่น กลางโคโลนีมีสีแดงอมชมพูถึงแดงม่วง

2. การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

ดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัด มีปริมาณความเข้มข้น โดยเฉลี่ยตั้งแต่ 0.2-0.7 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตรต่อตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณมากพอสำหรับใช้ในการทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ และคุณภาพของดีเอ็นเอ จากคำนวณด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ A260 และ A280 โดยเฉลี่ยเท่ากับ 1.6-1.7 ซึ่งมีคุณภาพดีพอสำหรับใช้ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์

สกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวขิง และพืชอื่นๆ ได้แก่ ข่า พุทธรักษา มะเขือเทศ และดาวเรือง และเลือกตัวอย่างดีเอ็นเอบางส่วน จากงานวิจัยเดิมของ Thammakijjawat (2002) จำนวน 23 สายพันธุ์ และเชื้อซาโปรไฟท์จากขิง 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

3. การทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

จากการสังเคราะห์ไพรเมอร์ pehA#3 มีค่า Tm= 71.4°C และไพรเมอร์ pehA#6 มีค่า Tm= 67.98°C เมื่อทำการทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้อุณหภูมิในการจับคู่ไพรเมอร์กับสายดีเอ็นเอ (annealing) ที่ 70 °C พบว่าปฏิกิริยาพีซีอาร์สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอจากดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ *R. solanacearum* ทั้ง 4 ไบโอวาร์ แบบไม่จำเพาะต่อพืชอาศัย ได้สายดีเอ็นเอ (DNA fragment) ที่มีขนาดประมาณ 500 bp (ขนาดสายดีเอ็นเอที่คาดหวังไว้ 504 pb) เช่นเดียวกับรายงานของ Gillings และคณะ (1993) (ภาพที่ 2)

เมื่อทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อโดยใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อแทนการใช้ดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดเป็นต้นแบบ พบว่าปฏิกิริยาพีซีอาร์สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอ ขนาดประมาณ 500 bp จากแบคทีเรีย *R. solanacearum* เช่นเดียวกับการใช้ดีเอ็นเอต้นแบบ ทั้งนี้สามารถลดเวลาและค่าใช้จ่ายในขั้นตอนการสกัดดีเอนเอ เพียงแต่เพิ่มเวลาของการแยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น initial denaturation ในการสลายผนังเซลล์แบคทีเรียให้ดีเอ็นเอหลุดออกมาจากเซลล์จากเดิม 1 นาที เป็น 5 นาที และเพิ่มเวลาในการคัดลอกสายดีเอนเอขั้นตอนละ30 วินาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

จากการตรวจและจำแนกเชื้อ *R. solanacearum* โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ ด้วยไพรเมอร์ Y2 และ OLI1 ที่ออกแบบจากส่วน 16S rDNA (Seal และคณะ, 1992) พบว่าใช้ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์นานถึง 50 รอบ และการใช้คู่ไพรเมอร์ 759f และ 760r (Opina และคณะ, 1997) นอกจากสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอจากเชื้อ *R. solanacearum* แล้วยังเกิดปฏิกิริยาเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอขนาดเดียวกัน จากแบคทีเรียสาเหตุโรค blood disease bacterium และจากเชื้อ *Pseudomonas syzigii*

ตารางที่ 1 สายพันธุ์ และแหล่งที่มา race และ ไบโอวาร์ ของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (RS) ที่ใช้ในการศึกษา และผลของปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ pehA#3 และ pehA#6

พืชอาศัย	สายพันธุ์	สถานที่เก็บ	Race	ไบโอวาร์	แหล่งเชื้อ[1/]	ปฏิกิริยา PCR[2/]

ขิง	CR-1	เชียงราย	1	4	3	+
	CR-2	เชียงราย	1	4	3	+
	PB-1	เพชรบูรณ์	1	4	3	+
	PB-2	เพชรบูรณ์	1	4	3	+
	PB41-1	เพชรบูรณ์	1	4	2	+
	PB41-3	เพชรบูรณ์	1	4	2	+
	LL41-1	เลย	1	4	2	+
	LL41-2	เลย	1	4	2	+
ปทุมมา	Cu9501	นครปฐม	1	4	2	+
	Cu9705	เชียงใหม่	1	4	2	+
มะเขือเทศ	To-4	เชียงใหม่	1	3	2	+
	To-NK	หนองคาย	1	3	3	+
	FC228	สหรัฐอเมริกา	1	1	2	+
ยาสูบ	PS102	สหรัฐอเมริกา	1	1	2	+
พริก	Pe-UD	อุดรธานี	1	3	2	+
	Pe-BK	กรุงเทพมหานคร	1	3	2	+
มันฝรั่ง	Po1156	เชียงใหม่	3	2	1	+
	MB12	เนปาล	3	2	2	+
งา	Se 9801	อุบลราชธานี	1	3	1	+
	Se9802	อุบลราชธานี	1	3	1	+
ข่า	BR-1	บุรีรัมย์	nt	nt	1	+
ดาวเรือง	Mg9803	ปทุมธานี	1	3	1	+
พุทธรักษา	Ca-1	ฉะเชิงเทรา	nt	nt	1	+
ขิง (ซาโปรไฟท์)	SP-1	เชียงราย	-	-	1	-
	SP-2	เพชรบูรณ์	-	-	1	-

[1/] แหล่งที่มาของเชื้อ 1, กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร; 2, ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.; 3, เชื้อที่รวบรวมในการศึกษานี้

[2/] ผลปฏิกิริยาพีซีอาร์, + positive เกิดแถบดีเอนเอขนาด 504 bp , - negative ไม่เกิดแถบดีเอนเอ

nt= not test

3. ทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

ผลการทดสอบความจำเพาะของปฏิกิริยาพีซีอาร์ กับดีเอ็นเอของเชื้อ *R. solanacearum* จำนวน 23 สายพันธุ์ และเชื้อซาโปรไฟท์ 2 ไอโซเลท พบว่าปฏิกิริยาพีซีอาร์สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอหนึ่งเส้นขนาดประมาณ 500 pb ของเชื้อ *R. solanacearum* ทุกสายพันธุ์ แบบไม่จำเพาะเจาะจงต่อพืชอาศัย

และไบโอวาร์ของเชื้อ แต่ไม่ทำปฏิกิริยาต่อซาโปรไฟท์ที่แยกจากขิงทั้ง 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) เช่นเดียวกับรายงานของ Gillings และคณะ (1993) ที่ทำการเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอของเชื้อ *R. solanacearum* ด้วยไพรเมอร์ชนิดเดียวกัน และแต่เมื่อตัดชิ้นดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ *Hae* III สามารถแบ่งกลุ่มของเชื้อออกเป็น 6 กลุ่ม โดยเชื้อไบโอวาร์ 3 และ 4 จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันคือ pehA 2 ทั้งนี้ไม่มีรายงานการทดสอบความไวของปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ

ความไวของปฏิกิริยาในการตรวจเชื้อ *R. solanacearum* ด้วยคู่ไพรเมอร์ pehA#3 และ pehA#6 สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอนเอ จำนวนหนึ่งเส้น ขนาดประมาณ 500 bp โดยเชื้อสายพันธุ์ CR-1 และ PB-1 มีความไวในการตรวจเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดของดีเอ็นเอเท่ากัน คือที่ 10 พิโคกรัม (ตารางที่; ภาพที่ 3) ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำสุดของเซลล์แขวนลอยเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่ตรวจได้คือ 10^6 cfu/ml (ตารางที่ 3)

6. ความไวของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในน้ำสกัดจากเนื้อเยื่อขิงอ่อน และขิงแก่

ความไวของปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ CR-1 และ PB-1 ในน้ำสกัดเนื้อเยื่อขิงอ่อน คือ 10^6 cfu/ml (ภาพที่ 4) และ 10^3 cfu/ml ตามลำดับ ในขณะที่ความไวของปฏิกิริยาในการตรวจเชื้อในน้ำสกัดขิงแก่เท่ากัน คือ 10^7 cfu/ml (ตารางที่ 4; ภาพที่ 5) ทั้งนี้เนื่องจากในน้ำสกัดจากขิงแก่จะมีสารในส่วนน้ำมันหอมระเหย น้ำมันไข สารเรซิน และสารจินเจอรอล (gingeral) ที่อาจมีผลในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาพีซีอาร์มากกว่าในน้ำสกัดจากขิงอ่อน ทั้งนี้ความ จำเพาะของปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ ขึ้นอยู่กับชนิดของไพรเมอร์ที่ทดสอบ ความไวในการตรวจเชื้อขึ้นอยู่กับจำนวนชุด (copy number) ของสายดีเอนเอที่ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ เช่นเดียวกับการการตรวจเชื้อจากหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยไพรเมอร์ OLI1 และ Y2 (Seal และคณะ, 1993) มีความไวของปฏิกิริยาการตรวจเชื้อได้ที่ 10^6 cfu/ml แต่เมื่อเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อบนอาหาร SMSA แล้วนำมาทดสอบพีซีอาร์ พบว่ามีความไวเพิ่มขึ้นเป็น 10^4 cfu/ml (Elphinstone และคณะ, 1997)

ทั้งนี้การนำปฏิกิริยาพีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ดังกล่าวไปใช้ในการตรวจเชื้อที่ติดมากับแง่งพันธุ์ขิงจะต้องพัฒนาให้มีความไวในการตรวจเชื้อมากขึ้น โดยใช้เทคนิคการเพิ่มปริมาณเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ก่อนนำไปทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ เรียกว่าเทคนิค BIO-PCR

ตารางที่ 2 ปฏิกิริยาความไว (Sensitivity) ของพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในระดับดีเอนเอ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ pehA#3 และ pehA#6

ปริมาณความเข้มข้นของดีเอนเอ	ผลของปฏิกิริยาพีซีอาร์[1/]	
	RS สายพันธุ์ PB-CR	RS สายพันธุ์ PB-PB
50 นาโนกรัม	+	+
25 นาโนกรัม	+	+

5 นาโนกรัม	+	+
1 นาโนกรัม	+	+
100 พิโคกรัม	+	+
10 พิโคกรัม	+	+
1 พิโคกรัม	-	-
100 เฟมโตกรัม	-	-
10 เฟมโตกรัม	-	-
1 เฟมโตกรัม	-	-
น้ำ	-	-

[1/] ผลปฏิกิริยาพีซีอาร์, + positive เกิดแถบดีเอนเอขนาด 504 bp , - negative ไม่เกิดแถบดีเอนเอ

ตารางที่ 3 ปฏิกิริยาความไว (Sensitivity) ของพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในระดับเซลล์ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ pehA#3 และ pehA#6

ปริมาณความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยเชื้อ (cfu/ml)	ผลของปฏิกิริยาพีซีอาร์[1/]	
	RS สายพันธุ์ PB-CR	RS สายพันธุ์ PB-PB
10^7	+	+
10^6	+	+
10^5	-	-
10^4	-	-
10^3	-	-
10^2	-	-
10	-	-
น้ำ	-	-

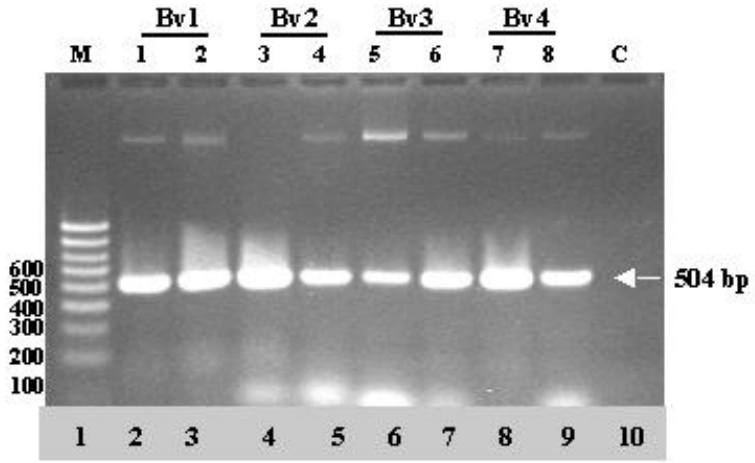
[1/] ผลปฏิกิริยาพีซีอาร์, + positive เกิดแถบดีเอนเอขนาด 504 bp , - negative ไม่เกิดแถบดีเอนเอ

ตารางที่ 4 ปฏิกิริยาความไว (Sensitivity) ของพีซีอาร์ ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในน้ำสกัดจากเนื้อเยื่อขิงอ่อนและขิงแก่ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ pehA#3 และ pehA#6

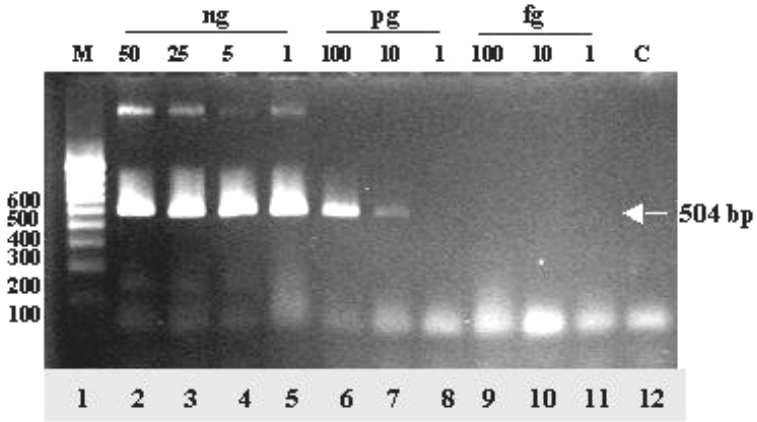
น้ำแช่สกัดเนื้อเยื่อขิง/ปริมาณความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยเชื้อ (cfu/ml)	ผลของปฏิกิริยาพีซีอาร์[1/]			
	ขิงแก่		ขิงอ่อน	
	RS CR-1	RS PB-1	RS CR-1	RS PB-1

10^7	+	+	+	+
10^6	-	-	+	+
10^5	-	-	-	+
10^4	-	-	-	+
10^3	-	-	-	+
10^2	-	-	-	-
10	-	-	-	-
น้ำสกัดเนื้อเยื่อขิง-ไม่ใส่เชื้อ	-	-	-	-

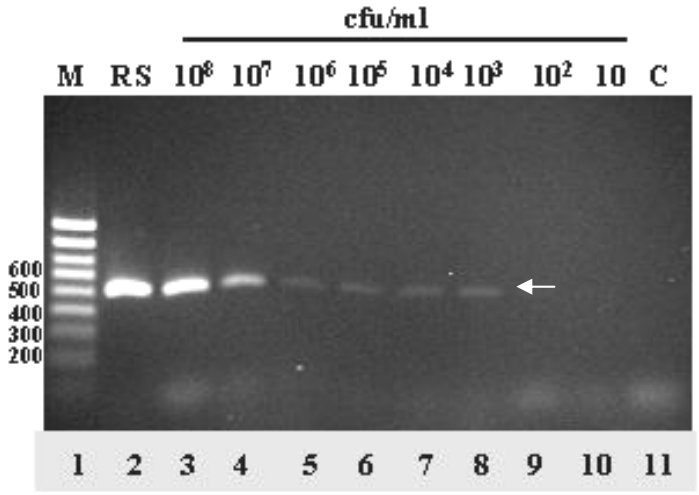
1/ ผลปฏิกิริยาพีซีอาร์, + positive เกิดแถบดีเอนเอขนาด 504 bp , - negative ไม่เกิดแถบดีเอนเอ



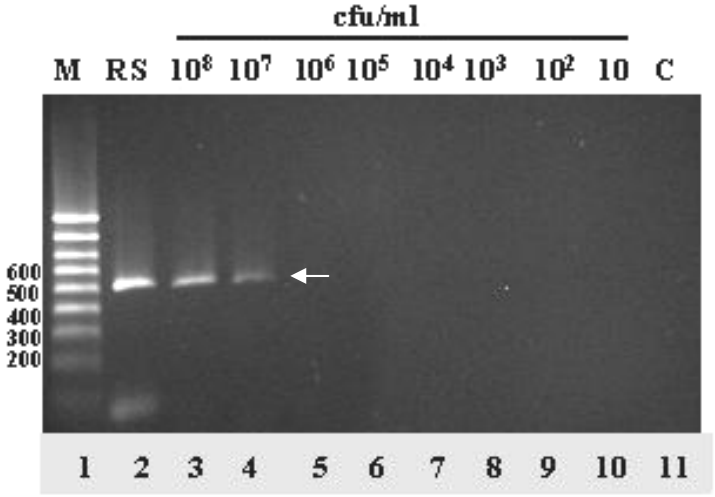
ภาพที่ 2 แสดงปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (RS) ได้สายดีเอ็นเอขนาด 504 bp เลนที่1, 100 bp ladder, เลนที่ 2 และ 3 ดีเอ็นเอเชื้อ RS ไบโอวาร์ 1, เลนที่ 4 และ 5 ดีเอ็นเอเชื้อ RS ไบโอวาร์ 2, เลนที่ 6 และ 7 ดีเอ็นเอเชื้อ RS ไบโอวาร์ 3, เลนที่ 8 และ 9 ดีเอ็นเอเชื้อ RS ไบโอวาร์ 4, เลนที่ 10 น้ำ



ภาพที่ 3 แสดงความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในระดับดีเอ็นเอ เลนที่ 1, 100 bp ladder, เลนที่ 2 ดีเอ็นเอ 50 นาโนกรัม, เลนที่ 3 ดีเอ็นเอ 25 นาโนกรัม, เลนที่ 4 ดีเอ็นเอ 5 นาโนกรัม, เลนที่ 5 ดีเอ็นเอ 1 นาโนกรัม, เลนที่ 6 ดีเอ็นเอ 100 พิโคกรัม, เลนที่ 7 ดีเอ็นเอ 10 พิโคกรัม, เลนที่ 8 ดีเอ็นเอ 1 พิโคกรัม, เลนที่ 9 ดีเอ็นเอ 100 เฟมโตกรัม, เลนที่10 ดีเอ็นเอ 10 เฟมโตกรัม, เลนที่ 11 ดีเอ็นเอ 1 เฟมโตกรัม, เลนที่12 น้ำ



ภาพที่ 4 แสดงความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (RS) สายพันธุ์ PB-1 ในน้ำสกัดจากเนื้อเยื่อขิงอ่อน; เลนที่ 1 100 bp ladder, เลนที่ 2 RS-DNA 25 นาโนกรัม,เลนที่ 3 RS 10^8 cfu/ml, เลนที่ 4 RS 10^7 cfu/ml, เลนที่ 5 RS 10^6 cfu/ml, เลนที่ 6 RS 10^5 cfu/ml, เลนที่ 7 RS 10^4 cfu/ml, เลนที่ 8 RS 10^3 cfu/ml, เลนที่ 9 RS 10^2 cfu/ml, เลนที่ 10 RS 10 cfu/ml, เลนที่11 น้ำ



ภาพที่ 5 แสดงความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (RS) สายพันธุ์ PB-1 ในน้ำสกัดจากเนื้อเยื่อขิงแก่ เลนที่1 100 bp ladder, เลนที่ 2 RS-DNA 25 นาโนกรัม, เลนที่ 3 RS 10^8 cfu/ml, เลนที่4 RS 10^7 cfu/ml, เลนที่ 5 RS10^6 cfu/ml, เลนที่ 6 RS10^5 cfu/ml, เลนที่ 7 RS 10^4 cfu/ml, เลนที่ 8 RS 10^3 cfu/ml, เลนที่ 9 RS 10^2 cfu/ml เลนที่ 10 RS 10 cfu/ml, เลนที่ 11 น้ำ

สรุปผลการทดลอง

ปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยคู่ไพรเมอร์ pehA#3 และ pehA#6 จากส่วนของยีนโพลีกาแลคตูโลเนส สามารถใช้ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว *Ralstonia solanacearum* ได้ ทั้งในระดับดีเอ็นเอ และเซลล์แขวนลอยเชื้อ โดยความไว (sensitivity) ในการตรวจเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดของดีเอ็นเอ เท่ากับ 10 พิโคกรัม และความเข้มข้นต่ำสุดของเซลล์แขวนลอยเชื้อที่ตรวจได้คือ 10^6 cfu/ml ความไวของปฏิกิริยาในการตรวจเชื้อ *R. solanacearum* ในน้ำสกัดจากเนื้อเยื่อขิงอ่อน และขิงแก่คือ 10^6 cfu/ml และ 10^7 cfu/ml ตามลำดับ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ กลุ่มงานบักเตรีวิทยา และ รศ. ดร. นิพนธ์ ทวีชัย ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ขอบคุณ คุณพนิดา ปรีเปรมโมทย์ ผู้ช่วยในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ นิพนธ์ ทวีชัย อำไพวรรณ ภราดร์นุวัฒน์ สุรวิทย์ วรรณไกรโรจน์ และสุรางค์ สุธิราวุธ. 2542. โรคหัวเน่าจากแบคทีเรียของปทุมมาและการตรวจเชื้อที่ติดมากับหัวพันธุ์. รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 37 สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2542. หน้า 295-302.

วนิดา ฐิตะฐาน. 2542. โรคเหี่ยวของพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 151 หน้า.

Buddenhagen, I. W., Sequeira, L., and Kelman, A. 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. Phytopathology 52:162 (Abstract).

Elpninstone, J.G., Stanford, H. M., and Stead, D. E. 1997. Detection of *Ralstonia solanacearum* in potato tubers, *Solanum dulcamara* and associated irrigation water. Pp. 133-139. Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects. P.H. Prior, C. Allen, and J.G. Elphinstone, eds. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Gillings, M. R., Fahy, P., and Davies, C. 1993. Restriction analysis of an amplified polygalacturonase gene fragment differentiates strains of the phytopatho- genic bacterium *Pseudomonas solanacearum*. Letters in Applied Microbiology. 17:44-48.

Granada, G. A. and Sequeira, L. 1983. A new selective medium for *Pseudomonas solanacearum*. Plant Dis. 67: 1084-1088.

Hayward, A. C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. J. Appl. Bacteriol. 27: 265-277.

Hayward, A. C. 1991. biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annu. Rev. Phytopathol. 29: 65-87.

He, L. Y., Sequeira, L. and Kelman, A. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. Plant Dis. 67: 1357-1361.

Huang, J. H. and Schell, M. A. 1990. DNA sequence analysis of pglA and mechanism of export of its polygalacturonase product from *Pseudomonas solanacearum*. J. Bacteriology. 172 (7): 3879-3887.

Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. Phytopathology. 44: 693-695.

Opina, N., Tavner, F., Hollway, G., Wang, J.-F., Li, T.-H., Maghirang, R., Fegan, M., Hayward, A. C., Krishnapillai, V., Hong, W. F., Holloway, B. W., and Timmis, J. N. 1997. A novel method for development of species and strain-specific DNA probes and PCR primers for identifying *Berkholderia solanacearum* (Formerly *Pseudomonas solanacearum*) . As. Pac. J. Mol. Biol. biotechnol. 5(1): 19-30.

Pegg, K. and Moffet, M. 1971. Host range of the ginger strain of *Pseudomonas solanacearum* in Queensland. Aust. J. Exp. Agric. Anim. husb. 11:690-696.

Roncal, J., Gutarra, L., Priou, S. 1999. Rapid differentiation of strains of *Ralstonia solanacearum* by restriction analysis of PCR-amplified fragments. Bacterial Wilt Newsletter, pp. 7-10.

Seal, S. E., Jackson, L. A., and Daniels, M. J. 1992. Use of tRNA consensus primers to indicate subgroups of *Pseudomonas solanacearum* by polymerase chain reaction amplification. Appl. Environ. Microbiol. 58(11) 3759-3761.

Seal, D. E., Jackson, L.A., Young, J.P.W., and Daniels, M.J. 1993. Differentiation of *Pseudomonas solanacearum, Pseudomonas syzygii*, *Pseudomonas pickettii* and the blood disease bacterium by partial 16S rRNA sequencing: construction oligonucleotide primers for sensitive detection by polymerase chain reaction. J. Gen. Microbiol. 139: 1587-1594.

Thammakijjawat, P., Thaveechai, N., Kositratana, W., Chunwongse, J., Frederick, R. D., and Schaad, N. W. 2001. Genetic analysis of *Ralstonia solanacearum* strains from different hosts in Thailand using PCR-restriction fragment length polymorphism. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 35:397-408.

Thammakijjawat, P. 2002. Molecular characterization, fingerprinting and identification of the bacterial wilt pathogen (*Ralstonia solanacearum*) from Thailand and Asia. Ph. D. Thesis. Kasetsart University, Bangkok, Thailand. 158 p.

Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., and Nishiuchi Y. 1995. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. Microbiol. Immuno. 39:897-904.

การตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรค anthracnose ของพริกโดยเทคนิค PCR

Detection Technique of the Anthracnose of Chili pepper Pathogens

ศรีสุข พูนผลกุล อภิรัชต์ สมฤทธิ์ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของพริกโดยเทคนิค PCR ได้ดำเนินการเก็บรวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อราแอนแทรคโนส *Colletotrichum* spp สาเหตุโรคจากพืชชนิดต่าง ๆ ในแหล่งปลูกที่มีการระบาดของโรคได้แก่ จังหวัด นครสวรรค์ นครราชสีมา ปทุมธานี เพชรบุรี พิจิตร เชียงใหม่ และเชียงราย ได้เชื้อราทั้งสิ้น 24 สายพันธุ์ ทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จำแนกชนิดของเชื้อราได้เป็น *Colletotrichum gloeosporioides* จำนวน 11 ไอโซเลท และ *C. capsici* จำนวน 13 ไอโซเลท ทำการตวจสอบความสามารถในการเกิดโรคบนพริกที่ใช้ทดสอบจำนวน 3 สายพันธุ์ ผลการทดสอบพบว่า พริกสายพันธุ์ PBC 80 และ PBC 81 อ่อนแอต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ส่วนพริกสายพันธุ์ 932 ต้านทานต่อเชื้อรา *C. gloeosporioides*

การเพิ่มปริมาณเส้นใยเชื้อราโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วย้ายเส้นใยของเชื้อราไปเลี้ยงบนอาหารเหลว V-8 blot เป็นเวลา 7 วัน กรองเส้นใย และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อหลาย ๆ ครั้ง ผึ่งเส้นใยให้แห้ง เก็บไว้ในตู้อุณหภูมิต่ำ นำเส้นใยไปสกัดดีเอ็นเอ (Murrey, *et al.*) เก็บดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณด้วย specific primers ซึ่งจากการสืบค้นพบว่า specific primer สำหรับใช้ตรวจสอบเชื้อรา *Colletotrichum acutatum* ได้แก่ 5’- GGC GCC GGC CCC CAC CAC GGG GA -3’ 5’- GGG GAA GCC TCT CGC GG -3’ เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*, ได้แก่ 5’- GGC CTC GGC CGC CTC CGC GGC GG-3’ 5’- GGC CTC CCG CCT CCG GGC GG -3’ และ เชื้อรา *Colletotrichum capsici* ได้แก่ 5’-GTC TCC GGC GCC CCT CTC GGG CA-3’ 5’ – TCT CCC CGT CCG CGG GTG G - 3’ โดยใช้ reverse primer คือ 5’- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC -3 สำหรับการจำแนกและตรวจสอบเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ต่อไป

รหัสกิจกรรม 05-01-47-0805

คำนำ

อาการของโรคกุ้งแห้งหรือแอนแทรคโนส จะพบอาการได้ชัดเจนบนผลพริกตั้งแต่ระยะผลอ่อนถึงแก่ใกล้เก็บเกี่ยว โดยทั่วไป อาการที่พบจะเห็นรอยช้ำเป็นวงกลมสีน้ำตาลบนผล เนื้อเยื่อของผลพริกลึกบุ๋มลงไปเล็กน้อย จุดช้ำสีน้ำตาลจะค่อย ๆ ขยายออกเป็นวงกว้าง ลักษณะวงกลมหรือวงรีรูปไข่ ต่อมาจะมองเห็นจุดแผลเล็ก ๆ สีดำของเชื้อราเป็นวงกลมซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ซึ่งภายในจุดแผลนี้จะมีสปอร์หรือส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อราอยู่มากมาย ถ้าอากาศชื้นสปอร์จะมีสีส้มอ่อน ๆ เป็นเมือกเยิ้มไหลออกมาปกคลุมผิวบริเวณแผลนั้น บางครั้งอาจมองเห็นเส้นใยของเชื้อราเส้นสั้น ๆ ปรากฏกระจายอยู่ระหว่างจุดสีดำในบริเวณแผล ซึ่งเส้นใยสั้น ๆ เหล่านี้จะเป็นลักษณะที่ช่วยจำแนกชนิดของเชื้อราได้ เชื้อราที่เกิดขึ้นบนผลพริกจะเจริญเข้าไปอาศัยภายในในเมล็ดพริก ซึ่งเมื่อนำเมล็ดพริกไปปลูกเชื้อราจะทำความเสียหายให้กับต้นกล้าพริก โดยทำให้เมล็ดพริกไม่งอก หรืองอกต่ำมาก

สาเหตุของโรคกุ้งแห้งนี้เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* หลายสปีชี่ ที่มักพบเสมอและเป็นสปีชี่ที่รุนแรงได้แก่ *Colletotrichum acutatum* อาการรอยแผลสีอ่อน ขนาดใหญ่ แผลบุ๋มลึก พบเสมอบนผลแก่ และนอกจากนี้สปีชี่ที่พบทั่วไปคือ *Colletotrichum gloeosporioides* พบมากบนผลอ่อน รอยแผลคล้ายอาการที่เกิดจากเชื้อราสปีชี่แรก แต่ไม่มีเส้นใยสั้น ๆ ของเชื้อรา ปรากฏในรอยแผล และ *Colletotrichum capsicum* อาการแผลช้ำ ไม่มีขอบแผลที่แน่นอน ขนาดของแผลใหญ่มาก (Pernezny,2003)

การคัดเลือกแหล่งของความต้านทานในพันธุ์พริกต่าง ๆ จะต้องรู้ถึงกลไกการต้านทานและความต้านทานที่เกิดขึ้นมาจากเชื้อราสปีชี่ใดและสายพันธุ์ใดจึงจะได้พันธุ์ที่มีความต้านทานตามที่ต้องการ ซึ่งเชื้อราสปีชี่ที่แสดงอาการรุนแรงมากคือ *Colletotrichum gloeosporioides* เพราะทำให้ผลพริกร่วงตั้งแต่ยังเป็นผลอ่อน แต่ในธรรมชาติสายพันธุ์ที่พบมากและบ่อยครั้งกว่าคือสายพันธุ์ของสปีชี่ *Colletotrichum acutatum* เมื่อนักปรับปรุงพันธุ์ต้องการสร้างพันธุ์พริกที่ต้านทานต่อโรคกุ้งแห้งและคำนึงถึงเชื้อสาเหตุหลักที่เป็นปัญหา จะต้องมีการจำแนกให้ชัดเจนว่าเป็นเชื้อราสายพันธุ์ใดและจากสปีชี่ใด ในปัจจุบันการใช้เทคนิคด้านชีวโมเลกุลสามารถนำมาประกอบการคัดเลือกดังกล่าวได้เป็นผลดี (Freeman, 2000; Mills, *et al.* 1994) การศึกษานี้จึงมีประโยชน์ต่อนักปรับปรุงพันธุ์และจะทำให้ได้พันธุ์พริกที่ต้านทานต่อโรคแก่เกษตรกรอย่างแท้จริง

วิธีดำเนินการทดลอง

อุปกรณ์

1. เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก
2. สารเคมีในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ สารเคมีที่ใช้ในการสกัดเชื้อรา สารเคมีที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และสารเคมีที่ใช้ในการแยกดีเอ็นเอด้วยเทคนิค electrophoresis
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ได้แก่ เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออัตโนมัติ เครื่องมือในการแยกขนาดดีเอ็นเอ เป็นต้น
4. อุปกรณ์และเครื่องใช้ในเรือนทดลอง ปุ๋ย ดินปลูกพืช และกระถางต้นไม้ เป็นต้น

วิธีการดำเนินการ

1. การรวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อราแอนแทรคโนส

   ทำการเก็บตัวอย่างผลพริกจากแปลงเกษตรกร ในจังหวัดที่ปลูกพริก แยกเชื้อราบริสุทธิ์ จำแนกสปีชี่ของตัวอย่างที่พบ บันทึกเปอร์เซ็นต์ของจำนวนสปีชี่ที่พบ

2. ศึกษา คุณสมบัติของเชื้อราแต่ละไอโซเลท

   2.1 ทดสอบการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค

   2.2 ทดสอบความสามารถในการย่อยสลาย Protease บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

3. ทดสอบปฏิกิริยา PCR โดยใช้ specific primers สำหรับเทคนิค RAPD

   3.1 การสืบค้นข้อมูล และออกแบบ primer

   3.2 สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีของ Murrey, *et al.* และการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ

การแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพิ่มปริมาณเส้นใยของเชื้อราโดยเลี้ยงเส้นใยบนอาหารเหลว V-8 blot (ประกอบด้วย V-8 juice, sucrose, yeast extract, PCNB, rifampicin และ hymexazol) เป็นเวลา 7 วัน กรองเส้นใย ล้างเส้นใยด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อหลาย ๆ ครั้ง ผึ่งเส้นใยให้แห้ง เก็บไว้ในตู้อุณหภูมิต่ำ

การแยก DNA บริสุทธิ์ โดยวิธีการของ Murray โดยใช้ CTAB buffer และ mercaptoethanol เป็นสารสกัด ทำการตกตะกอนด้วย ethyl alcohol 99% นำไปหมุนเหวี่ยงตะกอนดีเอ็นเอที่ได้ จากนั้นล้างตะกอนดีเอ็นเอ ด้วย ethyl alcohol 70% ละลายดีเอ็นเอในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

การสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ โดยใช้ specific primer และเครื่องสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (thermal cycler) โดยมีอุณหภูมิการสังเคราะห์ที่ 94 $^{\circ}$C นาน 1 นาที 35 $^{\circ}$C นาน 1 นาที

และ 72 °C นาน 2 นาที จำนวน 40 รอบ และ 72 °C นาน 7 นาที เก็บผลผลิตที่ได้ในอุณหภูมิ 4 °C

3.3 ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ ด้วยเทคนิค electrophoresis โดยใช้ agarose 1% ในสารละลาย TAE buffer ย้อมสี gel ด้วย ethedium bromide และถ่ายภาพด้วยเครื่องถ่ายภาพ เปรียบเทียบผลของแถบดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม NTSYS.PC

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมสายพันธุ์ของเชื้อราแอนแทรคโนส

เก็บตัวอย่างเชื้อรา *Colletotrichum* spp สาเหตุโรคจากพืชชนิดต่าง ๆ ในแหล่งปลูกที่มีการระบาดของโรคได้แก่ จังหวัด นครสวรรค์ นครราชสีมา ปทุมธานี เพชรบุรี พิจิตร เชียงใหม่ และเชียงราย ได้เชื้อราทั้งสิ้น 24 สายพันธุ์

สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จำแนกชนิดของเชื้อราได้เป็น *Colletotrichum. gloeosporioides* จำนวน 11 ไอโซเลท และ *C. capsici* จำนวน 13 ไอโซเลท

2. ศึกษาคุณสมบัติของเชื้อราแต่ละไอโซเลท

2.1 ทดสอบการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค

การทดสอบปฏิกิริยาความรุนแรงของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ต่อพริก 3 สายพันธุ์ที่ใช้เป็น differential host โดยเทคนิคการปลูกเชื้อด้วย microinjector เตรียมเชื้อราทดสอบโดยเลี้ยงบนอาหาร PDA จนกว่าเชื้อราสร้างสปอร์ เตรียมสปอร์แขวนลอยในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 5 X 10^5 ใช้ microinjector ดูดสปอร์แขวนลอยให้ได้ปริมาตร 50 ไมโครลิตร วาง microinjector ลงบนผลพริกทดสอบ (ผลสีเขียว) กดปุ่มบังคับความแรงของการปลูกเชื้อที่ระดับ 22 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เพื่อให้ microinjector ปล่อยสปอร์แขวนลอยเข้าไปในผลพริกเท่า ๆ กัน บ่มผลพริกในกล่องพลาสติกปิดสนิทเพื่อเก็บความชื้น ที่ 100% ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนเปิดฝากล่องให้ความชื้นลดลงเหลือ 95 % ทำการวัดขนาดของรอยแผลทุก 5 วัน

ผลการทดสอบพบว่า พริกสายพันธุ์ PBC 80 และ PBC 81 อ่อนแอต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ในเวลา 10 วัน วัดขนาดรอยแผลได้ 1.3 และ 1.5 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วน พริกสายพันธุ์ 932 ต้านทานต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* วัดขนาดรอยแผลได้ 0.2 เซนติเมตร

2.2 ทดสอบความสามารถในการย่อยสลาย Protease บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ยังไม่ได้ดำเนินการ

3. ทดสอบปฏิกิริยา PCR โดยใช้ specific primers สำหรับเทคนิค RAPD

3.1 การสืบค้นข้อมูล และออกแบบ specific primers

การออกแบบ primer เพื่อใช้ในการเพิ่มสายดีเอ็นเอ ได้สาย primer จำนวน 3 สาย ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้

Primer สำหรับเชื้อรา	ลำดับเบส
C. acutatum	5'- GGC GCC GGC CCC CAC CAC GGG GA-3'
C. gloeosporioides	5'- GGC CTC GGC CGC CTC CGC GGC GG-3'
C. capsici	5'- GTC TCC GGC GCC CCT CTC GGG CA-3'
Ca INT 2	5'- GGG GAA GCC TCT CGC GG -3'
Cg INT	5'- GGC CTC CCG CCT CCG GGC GG -3'
Cc INT	5' –TCT CCC CGT CCG CGG GTG G - 3'
Reverse Primer	5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC -3'

3.2 สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีของ Murrey, *et al.* และการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ

ผลการศึกษา กำลังดำเนินการ

3.3 ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ เปรียบเทียบผลของแถบดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม NTSYS.PC

ผลการศึกษา กำลังดำเนินการ

เอกสารอ้างอิง

Freeman, S., D. Minz, E. Jurkevitch, M. Maymon, และ E. Shabi, 2000. Molecular analyses of *Colletotrichum* species from almond and other fruits. Phytopathology 90: 608-14.

Mills, P.R.., S. Sreenivasaprasad and A.E. Brown. 1994. Detection of the anthracnose pathogen *Colletotrichum*, p. 183-190. *In*: Schots, A.; F.M. Dewey and R.Oliver. Modern assays for plant pathogenic fungi : identification, detection and quantification, CAB International. Oxford.

Murray, M.G. and W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nuc. Acid Res. 8: 4321-4325.

Pernezny, K. *et al.* 2003. Compendium of Pepper Diseases. APS Press The American Phytopathological Society St. Paul Min. USA.

การตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งของส้มโดยเทคนิค PCR

Detection of Greening Organism Associated with Citrus Greening Disease by PCR

วันเพ็ญ ศรีทองชัย ไมตรี พรหมมินทร์ ดารุณี ปุญญพิทักษ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ต้นส้มพันธุ์ Madam vinous และ ต้นแพงพวยที่เป็นโรคกรีนนิ่ง ซึ่งใช้เป็นแหล่งของเชื้อในการทดลอง ได้จากการปลูกเชื้อโดยวิธี bud inoculation และโดยผ่านทางต้นฝอยทองจากต้นส้มที่แสดงอาการของโรคตามลำดับ จากนั้นนำเฉพาะเส้นกลางใบมาแยกสกัดดีเอ็นเอ ด้วย CTAB บัฟเฟอร์ ใช้ chloroform : isoamyl alcohol ในการแยกเชื้อออกจากส่วนประกอบของพืช และตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย isopropanol ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย และให้ตะกอนดีเอ็นเอซึ่งมีขนาดใหญ่และไม่มีส่วนของคลอโรฟีลล์ของพืชปน จากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณของชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบเพื่อใช้สำหรับตรวจสอบยีนบริเวณ 16S rDNA ได้แก่ OI1: 5' GCGCGTATGCAATACGAGCGGCA 3' และ OI2C: 5' GCCTCGCGACTTCGCAACC CAT 3' และวิเคราะห์ผลใน 1% agarose gel electrophoresis พบว่า มีแถบสีขาว (band) บน gel เฉพาะตัวอย่างส้มและแพงพวยที่เป็นโรค โดยมีน้ำหนักโมเลกุล 1,170 คู่เบส

ขณะนี้กำลังดำเนินการทดสอบไพรเมอร์คู่อื่นๆ ที่สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอของเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่ง ในใบส้มและในเพลี้ยไก่แจ้ส้มซึ่งเป็นพาหะของโรคได้

รหัสกิจกรรม 05-01-47-0806

คำนำ

ปัจจุบันโรคกรีนนิ่ง (greening disease) หรือโรคใบเหลืองต้นโทรม เกิดจากเชื้อคล้ายแบคทีเรีย (Bacterium-like organisms) และมีแมลงเพลี้ยไก่แจ้ส้ม(*Diaphorina citri*) เป็นพาหะ จัดเป็นโรคสำคัญที่ทำความเสียหายให้กับธุรกิจการปลูกส้มของประเทศไทย โดยเนื้อใบมีสีเหลือง แต่เส้นใบยังมีสีเขียวอยู่ ซึ่งคล้ายกับอาการที่เกิดจากการขาดธาตุสังกะสี และบางครั้งพบอาการใบด่างประจุดเขียวคล้ำกระจายอยู่ทั่วไปผลมีขนาดเล็กและบิดเบี้ยว ถ้าเป็นโรครุนแรงใบมีขนาดเล็กเรียวยาว หนากว่าปกติและตั้งชี้ขึ้นส่วนใบแก่มีลักษณะด้าน หนา โค้งงอผิดปกติ กิ่งแห้งตายและต้นทรุดโทรม หลังจากให้ผลผลิตแล้ว 1-2 ปี และมีอายุสั้นเฉลี่ยเพียง 5-6 ปี

สำหรับการตรวจสอบโรคในปัจจุบันใช้วิธีการดูด้วยสายตาและการใช้พืชทดสอบ (Indexing plant) (ไมตรี 2540) แต่เนื่องจากลักษณะอาการของโรคส้มทั่วไปจะแสดงอาการคล้ายกับอาการขาดธาตุอาหาร และ การวินิจฉัยโรคด้วยสายตา อาจจะเกิดการผิดพลาดได้ ส่วนการตรวจสอบด้วยการใช้พืชทดสอบต้องใช้เวลาค่อนข้างนาน 2-3 เดือน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยเทคนิคทางอณูวิทยา เช่น เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) และ เทคนิค hybridization โดยใช้ดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) ทำให้สามรถตรวจหาเชื้อสาเหตุของโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง แม้ปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อจะมีน้อย ซึ่งวิธีทางเซรุ่มวิทยาไม่สามารถตรวจจับได้ (Chippindall และ Whitlock, 1989, Polston และคณะ, 1989) สำหรับการตรวจหาเชื้อสาเหตุของโรคกรีนนิ่ง (greening organism, GO) ได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อ GO โดยสกัดดีเอ็นเอจากเส้นกลางใบของแพงพวยที่เป็นโรคกรีนนิ่ง (Poona strain จากอินเดีย) และโคลนชิ้นของดีเอ็นเอขนาด 2.6 กิโลเบส (In-2.6) จากส่วนของ *rpl*KAJL-*rpo*BC operon และถอดรหัสเป็น ribosomal protein 4 ชนิด จากนั้นนำ In-2.6 มาผลิตเป็นดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) เพื่อใช้ในการตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อโดยวิธี southern blotting หรือ dot hybridization ซึ่งมีประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อ GO ที่ระบาดในทวีปเอเชีย แต่ไม่สามารถใช้กับโรคกรีนนิ่งที่พบทวีปแอฟริกา (Villechanoux และคณะ, 1992 & 1993) ต่อมามีการศึกษาลำดับเบสของยีน 16S rDNA ของ strain จากอินเดีย และแอฟริกา ทำให้ทราบถึงความแตกต่างของทั้งสอง strain และนำไปใช้เป็นข้อมูลในการจัดจำแนก subdivision ของเชื้อสาเหตุของโรคกรีนนิ่งได้ Planet และคณะ (1995) ได้ออกแบบไพรเมอร์และโคลนเข้าในพลาสมิด pUC18 ซึ่งสามารถใช้ตรวจหาเชื้อ GO จากแอฟริกาได้

ดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยเทคนิคทางอณูวิทยา เช่น เทคนิค PCR (Garnier และ Bove, 1995) เพื่อให้การตรวจสอบมีความถูกต้องรวดเร็วและแม่นยำยิ่งขึ้น และเพื่อประโยชน์ในการนำไปใช้ในโครงการผลิตส้มปลอดโรคและการแพร่ระบาดต่อไปด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นส้มที่เป็นโรคกรีนนิ่ง และส้มพันธุ์ Madam vinous
2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนต่างๆของการสกัด DNA ของเชื้อ
3. คู่ primer ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับเชื้อสาเหตุ
4. อุปกรณ์และสารเคมีในการเพิ่มปริมาณ DNA ของเชื้อโดยเทคนิค PCR
5. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์ DNA ที่สังเคราะห์ได้ โดยวิธี gel electrophoresis

วิธีการทดลอง

สุ่มเก็บตัวอย่างส้มที่สงสัยว่าเป็นโรคกรีนนิ่ง และนำมาปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ ได้แก่ ส้มพันธุ์ Madam vinous โดยวิธี bud inoculation หลังจากต้นส้มพันธุ์ Madam vinous แสดงอาการของโรคแล้วจึงนำมาถ่ายทอดเชื้อเข้าสู่แพงพวยโดยผ่านทางต้นฝอยทอง จากนั้นนำตัวอย่างส้มและแพงพวยที่ได้รับการปลูกเชื้อสาเหตุของโรค มาแยกสกัดดีเอ็นเอ โดยตัดเฉพาะเส้นกลางใบ นำมาบดใน CTAB buffer บ่มสารละลายที่ 65 ^{o}C นาน 10 นาที แล้วนำไปแยกออกจากเนื้อเยื่อพืชด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (15,000 รอบต่อนาที, 10 นาที) ที่ 4 ^{o}C จากนั้นเติม chloroform : isoamyl alcohol (24:1) ในส่วนน้ำใสที่แยกได้ ในอัตรา 1:1 เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที, 10 นาที นำส่วนของน้ำใสด้านบนของหลอดทดลองมาผสมกับ isopropanol (1:1) แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที, 5 นาที เพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอซึ่งมีขนาดใหญ่และไม่มีส่วนของคลอโรฟิลล์ของพืชปน จากนั้นล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% เอทธานอล นำมาหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที, 5 นาที ก่อนนำมาทำให้แห้งที่ 37 ^{o}C จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 30 ไมโครลิตร

จากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณของชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบเพื่อใช้สำหรับตรวจสอบยีนบริเวณ 16S rDNA ได้แก่ OI1: 5' GCGCGTATGCAATACGAGCGGCA 3' และ OI2C: 5' GCCTCGCGACTTCGCAACC CAT 3' โดยใช้ปฏิกิริยาดังนี้

10 X PCR buffer	2.5	ไมโครลิตร
2.5 mM dNTPs	2 .0	ไมโครลิตร
Primer OI1 (10 ρmol)	1.0	ไมโครลิตร
Primer OI2C (10 ρmol)	1.0	ไมโครลิตร
Taq DNA polymerase	0.125	ไมโครลิตร
Template	1.0	ไมโครลิตร
dH_2O	17.375	ไมโครลิตร
รวม	25.0	ไมโครลิตร

ทำปฏิกิริยา PCR รวม 42 รอบ ดังนี้

1. 95 °C 2 นาที 1 รอบ
2. 95 °C 40 วินาที, 60 °C 1 นาที, 72 °C 1 นาที 40 รอบ
3. 72 °C 10 นาที 1 รอบ

ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วย 1% agarose gel electrophoresis ที่กระแสไฟฟ้า 100 โวล์ท ใน TAE บัฟเฟอร์ เป็นเวลา 30 นาที

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา - ตุลาคม 2546 – กันยายน 2548

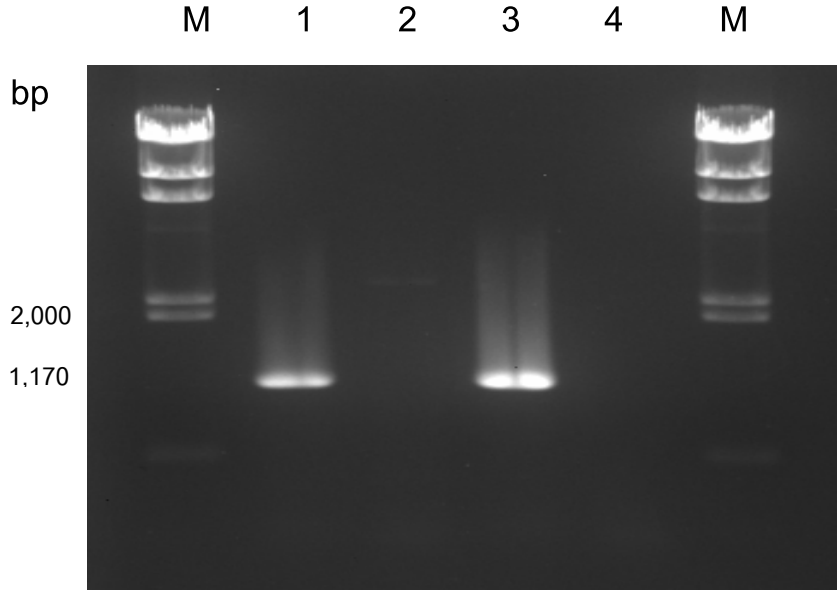
สถานที่ - กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

หลังจากนำตัวอย่างส้มที่สงสัยว่าเป็นโรคกรีนนิ่ง มาปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบ ได้แก่ ส้มพันธุ์ Madam vinous โดยวิธี bud inoculation เป็นเวลา 3-4 เดือน ต้นส้มพันธุ์ Madam vinous จะแสดงอาการด่างเหลืองโดยเส้นใบมีสีเขียวเข้ม เนื้อใบมีสีเขียวอ่อนหรือสีเหลือง ขอบใบม้วนขึ้น ซึ่งเป็นลักษณะอาการของโรคกรีนนิ่ง และการถ่ายทอดโรคโดยผ่านทางต้นฝอยทองเป็นเวลา 3 เดือน ต้นแพงพวยจึงแสดงอาการใบด่างเหลือง โดยเนื้อใบมีสีเหลืองและเส้นใบมีสีเขียวเข้ม ใบยอดมีขนาดเล็ก ซึ่งใช้เป็นแหล่งของเชื้อในการทดลอง

วิธีการแยกสกัดดีเอ็นเอจากเส้นกลางใบของส้มและแพงพวยที่เป็นโรค ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Nakashima และคณะ (1996) เป็นวิธีที่ง่าย และให้ตะกอนดีเอ็นเอซึ่งมีขนาดใหญ่และไม่มีส่วนของคลอโรฟิลล์ของพืชปน

ผลการตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วย 1% agarose gel electrophoresis พบว่า มีแถบสีขาว (band) บน gel เฉพาะตัวอย่างส้มและแพงพวยที่เป็นโรค โดยมีน้ำหนักโมเลกุล 1,170 คู่เบส (ภาพที่ 1) แสดงว่า ไพรเมอร์ OI1 และ OI2C สามารถนำไปใช้ตรวจสอบตัวอย่างส้มที่สงสัยว่ามีเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งหรือไม่ ได้ในเวลาที่รวดเร็วกว่าวิธีการเสียบกิ่ง



ภาพที่ 1 ผลวิเคราะห์การตรวจสอบยีน 16S rDNA ของส้มและแพงพวยที่เป็นโรคกรีนนิ่ง โดยใช้ไพรเมอร์ OI1 และ OI2C

M : ดีเอ็นเอมาตรฐาน (λDNA/*Hind* III)

1 : ส้มเป็นโรค 2 : ส้มปกติ

3 : แพงพวยเป็นโรค 4 : แพงพวยปกติ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้วิธีการแยกสกัดดีเอ็นเอของเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งของส้มจากเส้นกลางใบของส้มและแพงพวย ที่ง่ายและใช้เวลาสั้น ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการแยกสกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างส้มเพื่อให้ปลอดโรค และไพรเมอร์ OI1 และ OI2C ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค PCR หลังจากการตรวจวิเคราะห์ใน 1% agarose gel electrophoresis พบว่า มีแถบสีขาว (band) บน gel เฉพาะตัวอย่างส้มและแพงพวยที่เป็นโรค โดยมีน้ำหนักโมเลกุล 1,170 คู่เบส แสดงว่า การตรวจสอบโดยอาศัยเทคนิค PCR มีความถูกต้อง รวดเร็วและแม่นยำ ซึ่งสามารถนำไปปรับใช้ในโครงการผลิตส้มปลอดโรคและการแพร่ระบาดต่อไป

ขณะนี้กำลังดำเนินการทดสอบไพรเมอร์คู่อื่นๆ ที่สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอของเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งในใบส้มและในเพลี้ยไก่แจ้ส้มได้

เอกสารอ้างอิง

ไมตรี พรหมมินทร์. 2540. โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของส้ม เอกสารวิทยาการส้มทางเลือก ปัจจุบันสู่อนาคต สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ร่วมกับศูนย์วิจัยและพัฒนาไม้ผลเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 7-11 กรกฎาคม 2540 ณ โรงแรมมารวย การ์เด้น กรุงเทพฯ 16 หน้า.

Chippindall, R.J. and V.H. Whitlock 1989. Development of an antiserum to detect greening disease of citrus. *Phytopath.* 79 : 1212 (Abstr.).

Garnier, M and J.M. Bove 1995. Distribution of the greening liberobacter species in fifteen African and Asian countries. *In* Proc. 13th Conf. Int. Org. Citr. Viral. (IOCV) p.103.

Nakashima, K., M. Prommintara, Y. Ohtsu, T. Kano, J. Imada and M. Koizumi. 1996. Detection of 16S rDNA of Thai Isolates of Bacterium-like organisms Associated with Greening Disease of Citrus. *JIRCAS Journal No.3*: 1-8.

Planet, P., Jagoueix, S., Bove′, J.M. and Garnier M. 1995. Detection and characterization of the African citrus greening Liberobacter by amplification, cloning, and sequencing of the *rpl* KAJL-*rpo*BC operon. Curr. Microbiol. 30: 137-141.

Polston, J.E., Dodds, J.A. and Perring,T.M. 1989. Nucleic acid probes for detection and strain discrimination of cucurbit geminiviruses. Phytopathol. 79: 1123-1127.

Villechanoux, S., Garnier, M., Renaudin, J. and Bove, J.M. 1992. Pdetection of several strains of the bacterium-like organism of citrus greening disease by DNA probes. Curr. Microbiol. 24: 89-95.

Villechanoux, S., Garnier, M., Laigret, F., Renaudin, J. and Bove, J.M. 1993. The genome of the non-cultured, bacterial-like organism associated with citrus greening disease contains the *nus*G-*rpl*KAJL-*rpo*BC gene cluster and the gene for a bacteriophage type DNA polymerase. Curr. Microbiol. 26: 161-166.

การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชด้วยคุณสมบัติของ amino lipid profile โดยเทคนิค TLC

Identification of Plant Pathogenic bacteria with Characteristic of Amono-lipid Profile by TLC Technique

วงศ์ บุญสืบสกุล **กิติศักดิ์ กีรติยะ อังกูร**
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล **ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์**
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียจำนวน 83 ตัวอย่าง จากพืช 16 ชนิด ทั่วประเทศไทย แยกเชื้อบริสุทธิ์ตามขั้นตอนทางโรคพืชวิทยา เก็บและรักษาเชื้อไว้ตามมาตรฐานสากลทั้งแบบชั่วคราวเพื่อใช้ในการทดลองและแบบถาวรเพื่อการเก็บรักษาเชื้อ นำเชื้อดังกล่าวทั้งหมดมาจำแนกเชื้อตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและสณฐานวิทยา พบว่าเป็นเชื้อในสกุล *Xanthomonas spp.* 9 ไอโซเลท, *Pseudomonas spp*. 4 ไอโซเลท, *Erwinia spp.* 8 ไอโซเลท และ *Ralstonia sp.* 62 ไอโซเลท นำเชื้อแต่ละไอโซเลทมาสกัด Aminolipid compound จำนวน 42 ไอโซเลท ตามวิธีการของ Matsuyama (1995) และทำให้บริสุทธิ์ตามขั้นตอนของ Buamuyan (1993) ขณะนี้อยู่ในระหว่างการจัดเตรียมการนำแต่ละเชื้อมาทำ TLC บนแผ่น silica gel เพื่อหาคุณสมบัติเฉพาะของเชื้อแต่ละไอโซเลทว่ามีรูปแบบของ Aminolipid chromatogram profile แบบใดเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดต่อไป

คำค้น (Keywords) identification, bacteria, taxonomic, amino-lipid, gram positive bacteria, Fatty acid.

รหัสกิจกรรม 05-01-47-0807

คำนำ

โดยทั่วไปการจำแนกเชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี (biophysical and biochemical properties) ต้องใช้ปฏิกิริยาในการทดสอบ 40-50 ปฏิกิริยา ซึ่งใช้เวลาและค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสูงมาก ทั้งยังจำเป็นต้องใช้บุคลลากรที่มีความชำนาญเฉพาะด้านนี้ ปัจจุบันการจำแนกโดยการวิเคราะห์สารพันธุกรรม(DNA/RNA analyses) ด้วยเทคนิคพีซีอา gel-electrophoresis หรือ base-sequencing technique กำลังเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลาย ขณะที่การวิเคราะห์ชนิดกรดไขมัน (Fatty acid analysis) ด้วยเทคนิค GLC (gas-liquid chromatography) ก็มีการนำใช้ในการจำแนกชนิดแบคทีเรียบ้าง วิธีการเหล่านี้ล้วนต้องอาศัยเครื่องมือพิเศษในการดำเนินงาน เมื่อเร็ว ๆ นี้ Matsuyama และคณะได้รายงานว่ามีเทคนิคใหม่ในการจำแนกเชื้อแบคทีเรียโดยอาศัยคุณสมบัติ fatty acid compound ของเชื้อนั้น ๆ แล้ววิเคราะห์ด้วย TLC chromatogram โดยเทคนิค Tin-layer chromatography (Matsuyama, *et al.,* 1993; 1995a and b).

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียจำนวน 83 ตัวอย่าง จากพืช 16 ชนิด ทั่วประเทศไทย แยกเชื้อบริสุทธิ์ตามขั้นตอนทางโรคพืชวิทยา นำเชื้อดังกล่าวทั้งหมดมาจำแนกเชื้อตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและสัณฐานวิทยา ตามขั้นตอนของ N.W. Schaad (2000) โดยจำแนกเชื้อในระดับสกุล จากนั้นนำเชื้อที่รู้ชนิดสกุลแล้วมาแยกสกัด fatty acid compound ของแต่ละเชื้อ เพื่อหา TLC chromatogram ของแต่ละสกุลว่ามีความแตกต่างกันมากน้อยเพียงไร

วิธีการจำแนกเชื้อโดยเทคนิคทีแอลซี

1. เลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ที่ต้องการทดสอบบนอาหารเอียง King B ที่ 25°ซ เป็นเวลา 3 วัน
2. ถ่ายเชื้อจาก 1 ใส่ในหลอดแก้วขนาดเล็กที่สะอาด 4 ลูปเต็ม ต่อเชื้อ 1 เชื้อ
3. ใส่สารละลายสกัด aminolipid ปริมาตร 1 มล ลงในหลอดแล้วคนด้วยเข็มเขี่ยจากนั้นนำไปปั่นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที จะเกิดการแยกชั้นเป็น 2 ชั้น ชั้นบนเป็นกาก ส่วนชั้นล่างใสมี aminolipid ละลายอยู่ในชั้นของโคลโรฟอร์ม
4. ใช้คาปิลารี่ทิวขนาด 10 ul ดูดสารละลายที่อยู่ในชั้นของโคลโรฟอร์มปริมาตร 5 ul หยดในแผ่น silica gel TLC plate ทั้งหมด 8 ครั้งหรือ 40 ul ระหว่างหยดแต่ละครั้งให้เป่าด้วยเครื่องเป่าผมแบบร้อนเพื่อให้จุดไม่กระจายมากเกินไป
5. ใส่ข้อ 4 ที่ทำเสร็จแล้วลงใน TLC tank ที่ใส่สาร mobile solvent 100-125 มล (ขึ้นอยู่กับภาชนะแต่ให้ท่วม silica gel TLC plate สูงประมาร 0.5-1.0 ซม) และล้อมรอบด้วยกระดาษกรองที่ชุ่ม

ด้วย mobile solvent โดยใช้ไปเปตดูดแล้วฉีดที่กระดาษให้ทั่ว ๆ ทาฝา TLC tank ด้วยขี้ผึ้ง gress ทั้งที่ปากแท็งค์และที่ขอบฝาแล้วปิดฝาให้สนิด เก็บไว้ตู้ 25°ซ เป็นเวลา 90 นาที

6. เอาแผ่น silica gel TLC plate ออกแล้วปล่อยให้แห้งประมาณ 2-3 นาที แล้วเอาไปวางเอียงในตู้ดูดควันพิษแล้วฉีดพ่นด้วยละออง nindydrin spray ให้ทั่วแผ่นแล้วนำไปเข้าตู้อบไมโครเวฟที่ 100°ซ เป็นเวลา 10 นาที จะเห็นสีชมพูแดงปรากฏขึ้น
7. เอาไป scan เข้าเครื่องคอมพิวเตอร์ใช้ soft ware ชื่อ Adobe photoshop 50 EL ปรับแต่งภาพที่ contract 40-60 ความสว่าง 0-10 ขึ้นอยู่กับภาพ
8. เอา unknown profile ที่ได้มาเปรียบเทียบกับ aminolipid standard profile ที่ทำจากเชื้อมาตรฐาน (type culture) ว่าเหมือนกับเชื้ออะไรโดยพิจารณาจาก amino acid field และ aminolipid field.

Extraction solvent

1. ภาชนะที่ใส่ต้องปิดสนิท
2. chloroform – methanol – 0.3% NaCl solution (2:1:0.2, v:v:v) ใส่สารทีละอย่างตามลำดับลงในขวดระวังสาร chloroform เป็นสารอันตรามาก ห้ามสูบดมเข้าไปมาก ๆ จะเป็นพิษกับร่างกาย
3. 0.3% NaCl solution เตรียมโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

Mobile solvent

1. ภาชนะที่ใส่ต้องปิดสนิท
2. chloroform – methanol – 0.2% $CaCl_2.2H_2O$ solution (55:35:8, v:v:v) ใส่สารทีละอย่างตามลำดับลงในขวดระวังสาร chloroform เป็นสารอันตรามาก ห้ามสูบดมเข้าไปมาก ๆ จะเป็นพิษกับร่างกาย
3. 0.2% $CaCl_2.2H_2O$ เตรียมโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

silica gel TLC plate ชื่อการค้าว่า TLC Si60, 25 มม ขนาด 20x20 ซม, 20x10 ซม และ 10x5 ซม.

ผลการทดลอง

จากการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างโรคพืชได้เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช 34 ไอโซเลท ผ่านการทดสอบการจำแนกเชื้อตามคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าเป็นเชื้อในสกุล *Ralstonia* sp. 18 ไอโซเลท,
Xanthomonas spp. 9 ไอโซเลท,
Psaeudomonas spp. 4 ไอโซเลท
Erwinia sp. 3 ไอโซเลท

วิจารณ์ผลการทดลอง

-

เอกสารอ้างอิง

Ash, C., Priest, F.G. and Collins, M.D. 1994. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli using a PCR probe test. *Antonie van Leeuwenhoek*. 64: 253-260.

Bouzar, H., Jones, J.B. and Hodge, N.C. 1993. Differential characterization of *Agrobacterium* species, using carbon-source utilization patterns and fatty acid profile. *Physiology and biochemistry.* 83(7):733-737.

Chase, R.C., Stall, R.E., Hodge, N.C. and Jones, J.B. 1992. Characterization of *Xanthomonas compestris* strains from Aroids, using physiological, pathological and fatty acid analyses. *Phytopathology*. 82(7):754-760.

Cheshire, F.R. and Cheyne, W.W. 1885. The pathogenic history and history under cultivation of a new Bacillus (*B. alvei*), the cause of a disease of the hive bee hitherto known as foul brood. *Journal of the Royal Microscopic Society, series II.* 5:582-601.

De Boer, S.H. and Sasser, M. 1986. Differntiation of *Erwinia carotovora* sp. *carotovora* and sp. *atroseptica* on the basis of cellular fatty acid composition. *Can. J. Microbiology.* 32:796-800.

Fabien, C.T., Vesque, D.L. and Perreault, J.P. 2001. Natural 2', 5'-phosphodiester bonds found at the ligation sites of Peach Latent Mosaic Viroid. *Journal of Virology.* 75(1):19-25.

Folch. 1963. Lipid compound extraction. *In*. Biochemistry 2. edit by Wells M.A. and Dittmer J.C. 1963. American press, New York, USA. p. 1259.

Furuya, N., Masunaga, T., Khan, A.A., Iiyama, K., Matsumoto, M. and Matsuyama, N. 2000. Bacterial wilt of Russell Prairie Gentian caused by *Burkholderia caryophylli. J. Gen. Plant Pathol.* 66:316-322.

Furuya, N., Shimokusuzono, F., Nakamura, Y., Nishimura, K., Takeshita, M., Matsuyama, N., Manabe, K. and Takanami, Y. 2004. Crown gall of tobacco caused by *Agrobacterium tumefaciens* biovar 1 in tobacco field. *J. Gen. Plant Pathol.* 70:39-44.

Khan, A.A. and Matsuyama, N. 1999. A rapid extraction TLC method for differentiation of *Burkholderia* spp., *Ralstonia solanacearum, Herbaspirillum rubrisubalbicans* and *Pseudomonas syringae* pathovars. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 44(1-2):49-58.

Kori, y., Furuya, N., Tsuno, K. and Matsuyama, N. 1992. Differentiation of *Erwinia chrysanthemi* and *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* by the cellular fatty acid analysis. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 37(2):173-178.

Margaret, A.R. 1988. Use of fatty acid for the identification of phytopathogenic bacteria. *Plant disease.* 72(5):460-463.

Matsuyama, N. 1995a. Trials for rapid identification of phytopathogenic bacteria by HPLC and the direct colony TLC. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 40(1-2):87-91.

Matsuyama, N. 1995b. Application of the direct colony TLC for identification of phytopathogenic bacteria (III). Distinction of the Pseudomonads in the rRNA-homology group II (*Burkholderia* spp.). *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 40(1-2):189-196.

Matsuyama, N., Main, I.H., Akanda, A. M. and Furuya, N. 1993. Comparative studies on Thin-Layer Chromatograms of lipids from various phytopathogenic bacteria. *Ann. Phytopath. Soc. Japan.* 59:528-534.

Matsuyama, N., Ueda, Y., Iiyama, K., Furuya, N., Ura, H., Khan, A.A. and Matsumoto, M. 1998. Rapid Extraction-HPLC as a tool for presumptive identification of *Burkholderia gladioli, B. glumae* and *B. plantarii* causal agents of various rice disease. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 42(3-4):265-272.

Matsuyama, N., Khan, A.A., Yoshimura, K., Furuya, N., Manabe, K., Daikohara, M., Suyama, K. and Negishi, H. 2003. Rapid identification of phytopathogenic bacteria by an improved extraction-TLC method. *Proc.8 th. International congress of plant pathology* (*ICPP2003*), Chrischurch, New Zealand. P. 96.

Matsuyama, T., Sogaya, M. Kaneda, K. and Yano, T. 1986. Rapid detection of bacterials lipids by direct colony thin-layer chromatography. *Proc. 23*

rd. international symposium of advances in chromatography, Chiba, Japan. Pp127-128.

Matsuyama, T., Sogaya, M. and Yano, T. 1987. Direct colony Thin-layer chromatography and rapid characterization of *Serratia marcescens* mutants defective in production 0f wetting agents. *Applied and Environmental Microbiology.* 53(5): 1186-1187.

Michael, J.D. 1986. Taxonomy of plant-pathogenic corynefrom bacteria. *Annual Review Phytopathology*. 24:115-150.

Stead, D.E. 1992. Grouping of plant-pathogenic and some other *Pseudomonas* spp. by using cellular fatty acid profile. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42(2): 281-295.

Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun, W. 2000. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria (third edition). APS press. The American phytopathology society, St. Paul, Minnesota pp. 373.

Wells, J.M., Butterfield, J.E. and Revear L.G. 1993. Identification of Bacteria associated with postharvest diseases of fruits and vegetables by fatty acid composition. *Postharvest Pathology and Mycotoxcins.* 83(4):445-447.

Young, J.M., Takikawa, Y., Gardan, L. and Stead, D.E. 1992. Changing concepts in taxonomy of plant pathogenic bacteria. *Annual Review Phytopathology*. 30:67-105.

การพัฒนาวิธีการ Lateral flow test ในการตรวจสอบเชื้อ CyMV และ ORSV ในกล้วยไม้เชิงพาณิชย์

สุรภี กีรติยะอังกูร[1] ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ [1] กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร[2]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิค Gold Labeling IgG Flow Test (GLIFT) เพื่อใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัสในกล้วยไม้ (Cymbidium mosaic virus : CyMV และ Odontoglossum ringspot virus :ORSV) สามารถตรวจสอบได้แม่นยำ ง่าย สะดวกและอ่านผลได้รวดเร็ว โดยอาศัยหลักการทางเซรุ่มวิทยาและหลักการไหลของปฏิกิริยาแบบ cappillaly ด้วยการเลือกใช้อนุภาคของทอง (colloidal gold) มา conjugate กับ IgG ของเชื้อ CyMV และ ORSV ซึ่งให้สีของปฏิกิริยาแดงเข้มกว่าการใช้อนุภาคของ Red Latex เพราะอนุภาคของทองมีคุณสมบัติที่ดีกว่า 3 ประการคือ อนุภาคของทองมีความคงรูปดีกว่า การ conjugate กับ IgG ง่ายกว่า และให้สีของปฏิกิริยาแดงเข้มชัดเจนมากกว่า การใช้ gold labeling IgG ของ CyMV และ ORSV ในปริมาณ 1.5 μl /cm ใช้ IgG ในการทำ Test line ปริมาณ 1 μl /cm ในขั้นตอนการทดสอบเลือกใช้ Nitrocellulose membrane (NCM) ให้มีขนาดช่องในเนื้อแผ่นที่เหมาะสม เพื่อให้กลุ่มของโปรตีนของปฏิกิริยาที่เกาะกันเป็นกลุ่มแล้วไหลผ่านไปได้สมบูรณ์และเกิดปฏิกิริยาสีแดงคมชัดบนเส้น Test line และเมื่อประกอบ GLIFT เป็นชุดตรวจสอบสำเร็จรูป บรรจุลงในตลับพลาสติกพร้อมใช้ สามารถนำไปใช้ตรวจสอบไวรัสกล้วยไม้นอกห้องปฏิบัติการได้อย่างรวดเร็วภายใน 5-10 นาที และกำลังอยู่ระหว่างการทดสอบ IgG ของGoat anti rabbit เปรียบเทียบกับ Mouse anti rabbit เพื่อใช้ทำเส้น control line ผลที่ทดลองครั้งแรกยังให้ผลไม่ชัดเจน

รหัสกิจกรรม 05-01-47-0901

[1] กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

[2] สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร

คำนำ

ประเทศไทยมีการผลิตและส่งออกกล้วยไม้มีมูลค่ามากกว่า 2,000 ล้านบาท และเป็นประเทศที่มีชื่อเสียงและเป็นเสมือนศูนย์กลางของแหล่งผลิตกล้วยไม้ของโลกแห่งหนึ่ง ทั้งยังมีเทคโนโลยีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ที่ก้าวหน้าที่ดีที่สุดประเทศหนึ่งของเอเชีย เทคโนโลยีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ได้มีการถ่ายทอดสู่เกษตรกรถึงระดับผู้เพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวาง แต่การควบคุมโรคไวรัสของประเทศไทยยังไม่สามารถทำได้อย่างกว้างขวางและครอบคลุม เพราะเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงกล้วยไม้ของไทยส่วนใหญ่ยังเข้าไม่ถึงวิชาการด้านการตรวจสอบโรคไวรัสของกล้วยไม้ และที่สำคัญยังไม่มีเครื่องมือในการตรวจสอบไวรัสที่ใช้ง่าย สะดวกรวดเร็ว จึงไม่มีโอกาสที่เลือกซื้อต้นพันธุ์ที่ปลอดโรค และผู้ขายไม่มีโอกาสรู้ว่ากล้วยไม้ที่ขายเป็นโรค ที่ผ่านมาเกษตรกรส่งออกดอกกล้วยไม้เป็นลักษณะไม้ตัดดอก การที่ดอกมีเชื้อไวรัสย่อมไม่ส่งผลกระทบต่อการส่งออก เพราะการส่งดอกกล้วยไม้ไม่มีการตรวจสอบการติดโรคไวรัส เพราะเป็นการใช้แล้วทิ้งเลย ไม่มีการปลูกเลี้ยง แต่การส่งออกต้นกำลังมีมูลค่าเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เพราะนิยมการทำ เป็นไม้กระถาง (pot plant) และประดับตามบริเวณ อาคาร สวน เริ่มมีมากขึ้น ต้นกล้วยไม้ที่มีเชื้อไวรัสจึงเป็นปัญหาการส่งออกต้นกล้วยไม้ไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดและต้องการใบรับรองปลอดโรคไวรัส ซึ่งทางหน่วยงานของกรมวิชาการเกษตรไม่สามารถดำเนินการออกให้ได้ หากการผลิตต้นกล้วยไม้นั้นไม่ได้อยู่ในการดูแลและขบวนการผลิตที่ปลอดเชื้อไวรัสมาตั้งแต่เริ่มต้น บางกรณีเมื่อเกษตรกรส่งไปยังประเทศผู้นำเข้าแล้วถูกตรวจพบการติดเชื้อไวรัสจึงถูกเผาทำลาย และมีระเบียบห้ามนำเข้าต้นกล้วยไม้จากประเทศไทย หากไม่มีใบรับรองปลอดโรคไวรัส จึงเป็นการเสียโอกาสการส่งออกต้นกล้วยไม้ของประเทศไทยที่มีศักยภาพการผลิตสูง ดังนั้นเพื่อให้เกษตรกรและผู้ส่งออกต้นกล้วยไม้ได้มีชุดตรวจสอบซึ่งใช้เป็นเครื่องมือในการตรวจสอบต้นพันธุ์ที่ปลอดเชื้อไวรัสจากผู้ขาย และใช้ตรวจสอบเพื่อคัดเลือกต้นพันธุ์ที่ปลอดเชื้อไวรัสของตนเองก่อนนำไปขยายพันธุ์ เพราะการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ที่ปลอดโรคย่อมให้ผลผลิตที่มีคุณภาพดีกว่าและปริมาณที่มากกว่าต้นเป็นโรคแน่นอน ดังนั้นจึงดำเนินการศึกษาหาแนวคิดที่จะพัฒนาการชุดตรวจสอบไวรัสของกล้วยไม้ ให้มีความสะดวกในการใช้มากกว่าชุด NCM-ELISA kit มาใช้ทดแทน ซึ่งแนวคิดนี้จะเป็นแนวทางที่ทำให้เกษตรกรสามารถเข้าถึงเทคโนโลยีการตรวจสอบโรคไวรัสของกล้วยไม้ได้ด้วยตนเองและใช้ได้อย่างกว้างขวาง ในราคาไม่แพง ใช้ง่าย

เชื้อไวรัส เป็นศัตรูพืชที่ยากต่อการวินิจฉัยโรคด้วยสายตาหรือวิธีการง่ายๆ ต้องใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติตรวจสอบหลายขั้นตอนและใช้เวลาหลายวัน บางครั้งเป็นหลายเดือน ทำให้ไม่สามารถให้บริการตรวจวินิจฉัยโรคได้รวดเร็ว ถึงแม้กลุ่มงานไวรัสวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ได้พัฒนาปรับใช้วิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และพัฒนาผลิตเป็น ELISA KIT สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืชได้ผลิต ELISA KIT ของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอีกหลายชนิด แต่ชุดตรวจสอบดังกล่าวเหล่านี้ยังใช้ไม่สะดวกอย่างแท้จริง เพราะมีหลายขั้นตอน ใช้เวลาในการตรวจอย่างน้อย 3-5 ชั่วโมง และผู้ตรวจต้องมีทักษะและประสบการณ์พอควร ELISA KIT เหล่านี้จึงถูกใช้อยู่ใน

วงจำกัดเพียงบริษัทส่งออกบางบริษัท นักวิชาการที่เกี่ยวข้อง และบริษัทที่ให้บริการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแก่เกษตรกรบางบริษัทเท่านั้น จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาพัฒนาวิธีการตรวจสอบไวรัสของพืชให้สามารถได้รวดเร็วและใช้ง่ายขึ้น ดังเช่นการตรวจไข้หวัดนก ตรวจการตั้งครรภ์ เพื่อให้เกษตรกรนำไปใช้ตรวจได้เองให้กว้างขวาง เพื่อผลของการควบคุมโรคไวรัสของกล้วยไม้ โดยจะนำหลักการของ เซรุ่มวิทยามาใช้ร่วมกับวิธี Lateral flow Test (LFT) มาใช้ เพื่อเป็นการยกระดับการผลิตกล้วยไม้ของประเทศไทย ที่มีเทคโนโลยีการตรวจสอบโรคไวรัสควบคู่ไปกับเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้สามารถผลิตต้นกล้วยไม้ปลอดโรคไวรัสได้อย่างจริงจัง เพื่อแก้ปัญหาการส่งออกต้นกล้วยไม้และเพิ่มมูลค่าการส่งออกกล้วยไม้ของประเทศไทย

วัตถุประสงค์

เพื่อผลิตชุดตรวจสอบเชื้อไวรัส ให้มีความถูกต้อง แม่นยำ สะดวก รวดเร็ว และง่ายต่อการนำไปใช้ เกษตรกรสามารถนำไปใช้ตรวจสอบเองได้ ภายใน 3-5 นาที

อุปกรณ์และวิธีการ

แบ่งขั้นตอนการดำเนินงานออกเป็น 7 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 การสกัด IgG ของ CyMV และ ORSV

การสกัด gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้นของ IgG ของ CyMV และ ORSV ปฏิบัติเช่นเดียวกันคือ นำแอนติซีรัมมาผสมให้เจือจาง ด้วยน้ำกลั่นในอัตรา 1:9 แล้วเติม ammonium sulphate ที่อิ่มตัว ลงไปในปริมาณที่เท่ากับสารละลายแอนติซีรัมที่เจือจางนี้ บ่มปฏิกิริยาไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 rpm(รอบตอนาที) นาน 20 นาที เพื่อตกตะกอนด้วยการ centrifuge ละลายตะกอนที่ได้ด้วยครึ่งเท่าของ phosphate buffer saline (PBS) แล้ว dialyse ใน PBS 1 ลิตร นาน 4 ชั่วโมง 3 ครั้ง วัดความเข้มข้นของ IgG ด้วย Spectrophotometer แล้วปรับให้ได้ความเข้มข้นของโปรตีนเป็น 1 mg/ml

ขั้นตอนที่ 2 เปรียบเทียบการ conjugate IgG กับ Colloidal Gold และ Red Latex

(Anonymous, 2002)

2.1 Colloidal Gold Labeling IgG เป็นการนำเอา IgG ของไวรัสไป conjugate กับอนุภาคของทอง (Colloidal Gold)

2.1.1 การเตรียม Colloidal Gold

เตรียมจาก $HAuCl_4$ ผสมกับ sodium citrate เพื่อให้ได้อนุภาคของทองที่บริสุทธิ์และมีขนาดตามต้องการแล้วนำสารละลายของ Colloidal Gold ไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของไวรัสทั้งสองชนิด

2.1.2 **การเตรียม** Gold labeling IgG

การต่อเชื่อม IgG ของ CyMV และ ORSV เข้ากับ Colloidal Gold เป็น Colloidal Gold conjugated IgG หรือ Gold labeling IgG โดยผสม IgG ของ CyMV และ ORSV ที่มีความเข้มข้นของโปรตีนอย่างละ 1mg/ml กับ Colloidal Gold แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 rpm นาน 40 นาที เพื่อตกตะกอน Colloidal Gold conjugated IgG หรือ Gold labeling IgG แล้วละลายตะกอนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Passive Gold Diluent ควรเตรียมแล้วใช้ทันที

2.1.3 **การเตรียม** Conjugate Release pad (CRP)

ทำการหยอดหรือพ่น Gold labeling IgG ของ CyMV และ ORSV ลงบนแผ่น CRP ซึ่งเป็นวัสดุใยแก้ว (fiber glass) ได้ทำการทดลองหยอด Gold labeling IgG ในปริมาณ 1.5 μl /cm และเตรียม CRP ของเส้น control line ด้วยการทดลองใช้ Gold labeling IgG ของ mouse IgG ในปริมาณ 0.5 μl แล้วนำไปอบแห้งใน ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำ CRP ของ Gold labeling IgG ของทั้ง CyMV ORSV และ mouse IgG มาตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5x0.5 cm ก่อนนำไปประกอบเป็น dipstick และประกอบเป็นชุดตลับตรวจสอบต่อไป

2.2 Red Latex Beads labeling IgG

2.2.1 **การเตรียมอนุภาคของ** Red Latex Beads

ทดลองเลือกใช้ Red Latex Beads (Polystyrene) (RLB) ที่มีความเข้มข้นของ stock เป็น 2.5 % 1 ml นำหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 rpm 10 นาที เพื่อตกตะกอน RLB แล้วล้างตะกอนด้วยการเติม 0.1M Tris buffer pH 7.5 ที่มี 0.85% NaCl และ 0.02% Polyvinyl pyrrolidone เขย่าเบาๆเพื่อทำความสะอาด แล้วหมุนเหวี่ยงอีกทีเพื่อตกตะกอน RLB เทสารละลายทิ้ง แล้วเติม 0.1M Tris buffer pH 7.5 ที่มี 0.85% NaCl และ 0.1 % BSA ทำให้ RLB มีความเข้มข้น เป็น 1 % (Tsuda *et al.* 1992, Tsuda *et al.* 1993) พร้อมนำไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของ CyMV และ ORSV

2.2.2 **การ conjugate อนุภาคของ Red Latex Beads กับ IgG** (Tsuda *et al.* 1992, Tsuda *et al.* 1993)

กวนผสม 1% RLB กับ IgG ของ CyMV และ ORSV ที่มีความเข้มข้น 1 mg/ ml แยกกันอย่างละ 1 ml นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 rpm 10 นาที เพื่อตกตะกอน RLB conjugate แล้วละลายตะกอน ด้วย 0.1M Tris buffer pH 7.5 (ที่มี 0.85% NaCl และ 0.1 % BSA) ควรเตรียม Red Latex Beads labeling IgG แล้วใช้หยอดลงบน Conjugate release pad ทันที

2.2.3 การเตรียม Conjugate release pad (CRP)

ด้วยการหยอด RLB conjugate หรือ Red Latex labeling IgG ของ CyMV และ ORSV ลงบนแผ่นวัสดุใยแก้ว (fiber glass) ในปริมาณ 1 μl /cm และจัดทำ CRP ของเส้น Control line ด้วยการใช้ Red Latex labeling IgG ของ mouse ในปริมาณ 1 μl/cm แล้วนำ CRP ทั้งสองอย่างนี้ไปอบแห้งในตู้อบควบคุมอุณหภูมิ นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำ CRP ของทั้งหมดมาตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5x0.5 cm ก่อนนำไปประกอบเป็น dipstick ใช้ทดลองตรวจสอบตัวอย่างพืชเปรียบเทียบกับการใช้ Gold labeling IgG

ขั้นตอนที่ 3 การเตรียม Test line

ทำการหยอด IgG ด้วย ปากกาหมึกซึม (ขณะทดลองในห้องทดลอง) หรือพ่น IgG ด้วยเครื่องมือ spray ที่สามารถควบคุมแรงดันและปริมาณ ลงบนแผ่น NCM ปริมาณ IgG ของ CyMV และ ORSV ใช้ในอัตรา1.5 μl /cm ให้เป็นเส้นตรง เรียกว่า Test line โดยวาง Test line ให้อยู่ระหว่างกลางของ NCM และถูกประกอบอยู่ตรงกลางของ dip stick และเมื่อใส่ Test line 1 เส้นคือ IgG ของ CyMV และ ORSV ทีละเส้นแยกกันคนละตลับ เพื่อตรวจสอบไวรัสทีละชนิด

ขั้นตอนที่ 4 เปรียบเทียบการใช้ Goat-anti Rabbit (GAR) กับ Goat-anti Mouse (GAM) เป็น Control line

ทำเส้นแสดงปฏิกิริยาควบคุม (Control line) ของการตรวจสอบ ด้วยการหยอดหรือ spray GAM ในอัตรา 1.0 μl/cm ลงบน NCM ในตำแหน่งห่างจาก Test line ขึ้นไปด้านบนของ dip stick 0.5 cm ควรทำในช่วงเวลาเดียวกับการพ่น Test line แล้วนำไปอบแห้งเช่นเดียวกับ Conjugate Release pad (CRP) Control line ทำไว้เพื่อให้ Gold labeling IgG ของ mouse IgG ละลายออกมาแล้วไหลไปจับกับ control line เพื่อเป็นการตรวจปฏิกิริยาการไหลของสารละลายที่ดี นำ Goat-anti Rabbit (GAR) มาปฏิบัติเช่นเดียวกับ GAM เพื่อเปรียบเทียบความชัดเจนของปฏิกิริยา ระหว่างการใช้ GAM และ GAR เพื่อทดลองลดต้นทุนในการเตรียม control line

ขั้นตอนที่ 5 การประกอบ GLIFT เป็น dipstick และตลับตรวจสอบ

มีขั้นตอนตามลำดับคือ

5.1 วาง Plastic Backing polyester ที่ตัดให้มีขนาด 6 X 0.5 cm (No.1)

5.2 วางกระดาษกาว 2 หน้ามีขนาดเท่ากันลงบน Plastic Backing polyester หรือเลือกใช้ Backing ที่มีกาวในตัวเพื่อทำหน้าที่ เป็น adhesive (No.2)

5.3 วางแผ่น NCM (No.3) ที่ไม่ต้องเคลือบสาร blocking (No 4)[1] แต่มี Test line (No.5) และ control line (No.6) ลงบน กระดาษกาว ให้อยู่ระหว่างกลางของกระดาษกาว (Backing)

5.4 วาง แผ่น Conjugate Release pad ของทั้ง IgG ของไวรัส CyMV ORSV และ mouse IgG ทั้ง 3 ชิ้นลงเรียงซ้อนกันทาบเกยบนปลายของ NCM เล็กน้อย (No.7,8)

5.5 ปิดทับ Conjugate Release pad ด้วยแผ่น sample pad ลงไปจนถึงปลายของแผ่น Backing

5.6 วางแผ่น Wicking paper พาดจากปลายด้านบนของ NCM ทาบไปจนสุดปลายของ Backing (No.9)

5.7 บรรจุ dipstick นี้ลงในตลับพลาสติก (No.10) แต่ถ้าใช้ในลักษณะเป็น dipstick ก็คลุมด้านหน้าด้วยกระดาษ พลาสติกเพื่อความสะอาดและเรียบร้อย ก่อนบรรจุเก็บในถุงอลูมินัมที่กันความชื้น

---

[1]=จากการทดลองเคลือบและไม่เคลือบสาร blocking ปฏิกิริยาไม่มีความแตกต่าง

ขั้นตอนที่ 6 การเปรียบเทียบสารละลายบัฟเฟอร์ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช

ยังไม่ได้ทำการทดลอง

ขั้นตอนที่ 7 การผลิตเชิงพาณิชย์

ยังไม่ได้ทำการทดลอง

เวลาและสถานที่

เริ่ม ตุลาคม 2546 – กันยายน 2547

กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลขั้นตอนที่ 1 การสกัด IgG ของ CyMV และ ORSV

1.1 การสกัด gamma-globulin (IgG) และปรับความเข้มข้นของ IgG IgG ที่สกัดออกมาเมื่อวัดความเข้มข้นของโปรตีน ด้วยเครื่อง spectrophotomer ได้ค่าความเข้มข้น IgG ของ CyMV เท่ากับ 11.2 และค่าความเข้มข้น IgG ของ ORSV เท่ากับ 8.6 ปรับให้ IgG มีความเข้มข้นของโปรตีนเป็น 1 mg/ml ที่ OD 260 nm ก่อนนำไป conjugate กับ colloidal Gold

ผลขั้นตอนที่ 2 เปรียบเทียบการ conjugate IgG กับ Colloidal Gold และ Red Latex

2.1 Colloidal Gold Labeling IgG

ภายหลังจากการกวนกับ Sodium citrate จะได้สารละลายของ Colloidal Gold เป็นสี

cherry red มีความไวและคงรูปเมื่อนำไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของไวรัส (Hampton *et al.*,1990) ผลจากการทดลองหยอด Gold labeling IgG ในปริมาณ 1.5 μl

/cm พบว่าให้ปฏิกิริยาของสีที่เส้น Test line ที่ดีสีแดงเข้มเส้นหนา และ มีข้อเสียที่มีปริมาณของ Gold labeling IgG มากเกินไป และจะไหลกลับลงมารบกวน Control line และ Test line ดังนั้นจึงจะต้องทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อไปในการตรวจเชื้อ CyMV และ ORSV ของกล้วยไม้ ส่วน Control line ได้ใช้ Gold labeling IgG ของ mouse IgG ในปริมาณ 0.5 ใช้ได้ แต่ก็ต้องศึกษาเปรียบเทียบกับการใช้ Goat anti rabbit เพื่อการประหยัดลดส่วนประกอบของ Gold labeling IgG ของ mouse IgG

2.2 **Red Latex Beads labeling IgG**

ผลการ conjugate อนุภาคของ Red Latex Beads กับ IgG และหยอดลงบนแผ่นวัสดุใยแก้ว(fiber glass) แผ่น CRP ของ Red Latex labeling IgG ที่ได้มีสีชมพูอ่อน และเมื่อใช้เปรียบเทียบกับ CRP ของ Gold labeling IgG ในความเข้มข้นเดียวกัน คือ 1 μl/cm พบว่า CRP ของ Gold labeling IgG ให้สีของปฏิกิริยาที่ Test line แดงเข้มชัดเจนกว่ามาก

เปรียบเทียบการ conjugate IgG กับอนุภาคของทอง (Colloidal Gold) กับการ conjugate IgG กับอนุภาคของ Red Latex สรุปได้ดังนี้คือ

- การ conjugate colloidal Gold กับ IgG ปฏิบัติได้ง่ายกว่า
- Colloidal Gold มีความคงตัวของอนุภาคดีกว่า Red Latex Beads
- และ colliodal Goldให้สีของปฏิกิริยาบนTest line และ Control line แดงเข้มชัดเจนมากกว่า Red Latex Beads

ผลขั้นตอนที่ 3 การเตรียม Test line

พบว่าการใช้ IgG ของ CyMV และ ORSV spray เป็น Test line ปริมาณความเข้มข้นที่ 1.5 μl / cm ให้ผลของสีคมชัด ดี แต่จะต้องทดลองใช้ในปริมาณที่น้อยกว่านี้เพื่อหาปริมาณที่ประหยัด แต่ให้ผลของปฏิกิริยาคมชัด บนแผ่น NCM ดี เท่า 1.5 μl / cm

ผลขั้นตอนที่ 4 เปรียบเทียบกับการใช้ Goat-anti Rabbit (GAR) กับ Goat-anti Mouse (GAM) เป็น control line

การใช้ GAM ให้เส้น control line มีความชัดเจนดีกว่า เพราะใช้แผ่น conjugate release pad ของ Mouse IgG เพิ่มเข้าไปในส่วนประกอบอีกชิ้น เพื่อเข้าไปทำปฏิกิริยากับ Control line โดยเฉพาะ จึงให้ผลของปฏิกิริยาเข้มกว่าการใช้ Goat anti-rabbit ทำเป็น Control line เพราะแผ่น conjugate release pad ของ IgG หรือ Gold labeling IgG ของ CyMV

และ ORSV ต้องเฉลี่ยไปทำปฏิกิริยากับทั้ง Test line ก่อนส่วนที่เหลือจึงไปทำปฏิกิริยาที่ Control line จึงทำให้ปฏิกิริยามีสีที่อ่อนลง แต่อย่างไรจะต้องทดลองอีกหลายครั้งกับตัวอย่างพืชที่มีเชื้อหลายๆตัวอย่างเพื่อผลที่แน่นอน ว่าปริมาณไวรัสที่มีในตัวอย่างมีผลต่อการให้สีของcontrol line หรือไม่ ต้องทดลองต่อไป

ผลขั้นตอนที่ 5 การประกอบ GLIFT เป็น dipstick และตลับใช้ตรวจสอบ

การประกอบวัสดุส่วนประกอบของ GLIFT ในการทดลองขั้นต้นนี้ ประกอบเพื่อทดสอบดูปฏิกิริยาคร่าวๆก่อน ด้วยการประกอบมือ การตัดด้วยมือและประกอบจึงไม่ค่อยสม่ำเสมอ ไม่เรียบและอาจไม่แน่นหนา ทั้งยังไม่สวยงาม ไม่เรียบร้อย และช้ามาก แตกต่างจากการประกอบวัสดุที่ยังไม่ได้ตัดให้เสร็จเรียบร้อยแล้วจึงนำไปตัดด้วยเครื่องตัด จึงดูสวยงามเรียบร้อยและสม่ำเสมอ ทั้งยังสามารถทำได้รวดเร็ว ถ้าต้องบริการเป็นเชิงพาณิชย์ต้องใช้เครื่อง spray สารและเครื่องตัดและประกอบจึงจะสวยงามและรวดเร็ว แต่การศึกษาทดสอบอย่างประหยัดต้องประกอบด้วยมือก่อน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในการทดลองผลิตชุดตรวจสอบนี้อาจให้ชื่อเรียกว่า GLIFT ซึ่งมาจากตัวอักษรแรกของคำว่า Gold Labeling IgG Flow Test เพราะจากการทดสอบ Gold labeling IgG ให้ผลของปฏิกิริยาดีกว่าการใช้ Red Latext Labeling IgG โดยใช้หลักการทางเซรุ่มวิทยา (Serology) จับอนุภาคของไวรัสในน้ำคั้นตัวอย่างกล้วยไม้ที่เป็นโรคชนิดเดียวกับ IgG แล้วพากันไหลผ่านไปบนแผ่น NCM ชนิดที่มีช่องว่างในแผ่นขนาดที่เหมาะสม ไหลไปพบกับ แถบ IgG ของไวรัส ที่วางแนวดักไว้ด้านบนของแผ่น NCM โดยห่างจากปลายด้านล่างของแผ่น NCM นั้น เกิดเป็นลักษณะของปฏิกิริยาลูกโซ่แบบแซนวิช ที่จับติดบนแผ่น NCM ตรงแนวของแถบ IgG ที่วางไว้ จึงมองเห็นเป็นแนวเส้นตรงของปฏิกิริยาสีแดงอมส้มของอนุภาคทอง

การค้นคว้าประดิษฐ์ชุด GLIFT ตรวจสอบเชื้อ CyMV และ ORSV นี้ใช้สะดวกมากกว่า NCM-ELISA KIT ใช้เป็นเครื่องมือภาคสนาม ที่เกษตรกรสามารถนำไปใช้ตรวจไวรัสของกล้วยไม้ได้สะดวก จึงจะทำการทดลองปรับส่วนต่างๆให้มีความเหมาะสมดียิ่งขึ้น ก่อนจะผลิตบริการเป็นลักษณะเชิงพาณิชย์ได้ซึ่งจะมีราคาไม่แพงและใช้ง่าย เพียงนำซองมาฉีก หยิบตลับชุดตรวจออกมา แล้วบดตัวอย่างกล้วยไม้ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ในถุงพลาสติกที่มีเตรียมไว้ให้ในชุดตรวจ แล้วหยดน้ำคั้นพืชลงในตลับ 3 หยด อ่านผลได้ใน 3-5 นาที ทำให้เกษตรกรสามารถตัดสินใจคัดเลือกต้นพันธุ์ปลอดโรคได้ทันที เป็นการควบคุมการแพร่ระบาดโรคไวรัสในกล้วยไม้ และใช้ตรวจเพื่อการออกใบรับรองปลอดไวรัสให้กับเกษตรกรที่ส่งออกกล้วยไม้ไปยังต่างประเทศให้อย่างรวดเร็วยิ่งขึ้น เพื่อส่งเสริมการส่งออกต้นกล้วยไม้ และยังเป็นการช่วยยกระดับคุณภาพของวงการกล้วยไม้ของประเทศไทยให้มีทั้งเทคโนโลยีด้านการผลิตและการอารักขากล้วยไม้ที่สมบูรณ์แบบยิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

โครงการนี้ดำเนินไปได้ด้วยดี และจะส่งผลที่มีคุณประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ และวงการกล้วยไม้ของประเทศไทย ให้ได้มีเครื่องมือตรวจสอบที่ทันสมัย สะดวก และราคาไม่แพง และสามารถผลิตขึ้นใช้เองในประเทศในเชิงพาณิชย์ต่อไป เพื่อใช้ในการควบคุมโรคไวรัสของกล้วยไม้ เป็นการช่วยยกระดับคุณภาพของกล้วยไม้ไทยได้ในครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณ คุณนิลวรรณ เพรชรัตน์บูรณิน (พี่แขก) เป็นอย่างสูง ในการให้คำแนะนำและให้ความช่วยเหลือเอื้อเฟื้อในเรื่องสารเคมีบางอย่างในการทดลองเปรียบเทียบ ทำให้ไม่ต้องซื้อมาทั้งหมดในราคาสูงแล้วไม่ได้ใช้อีกเพราะสารนั้นไม่เหมาะสมในการใช้ ตลอดจนอนุญาตให้ใช้เครื่องมือและห้องปฏิบัติการของบริษัท แฟซิฟิกไบโอเทค จังหวัดเพชรบูรณ์ ในการทดลองพัฒนาการผลิต GLIFT เพื่อมีโอกาสผลิตเป็นเชิงพาณิชย์ได้ในอนาคต และขอขอบใจน้องๆในห้องปฏิบัติการของบริษัท แฟซิฟิกไบโอเทค ทุกๆคนที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรภี กีรติยะอังกูร และ นวลจันทร์ ดีมา 2532. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจสอบเชื้อ PVX, PVY ด้วยวิธี EM, IEM และ ELISA. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 103-109.

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรภี กีรติยะอังกูร และ นวลจันทร์ ดีมา 2535. การตรวจหาเชื้อ PVX ด้วยวิธี NCM-ELISA.รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2535. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 17-22.

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร และ นวลจันทร์ ดีมา. 2532. การผลิต ELISA KIT เพื่อใช้ในการตรวจสอบไวรัสของมันฝรั่ง. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 1-8.

ทิพวรรณ บุญกอง. 2547 . การควบคุมคุณภาพของชุดการติดเชื้อเอชไอวี “ Bioline HIV ½” . Thai : Medical Technologist Letter; ข่าวสารเพื่อสมชิกในกลุ่มบริษัทเบรีย.ปีที่15 :เมษายน-มิถุนายน 2547. ISSN 0858-0251.

สุดา ลุยศิริโรจนกุล สนทนา ศริรตันติกร และ ระวิวรรณ ขันหยก. 2547. การตรวจวินิจฉัยไข้หวัดนกของห้องปฏิบัติการ. Thai : Medical Technologist Letter; ข่าวสารเพื่อสมชิกในกลุ่มบริษัทเบรีย. ปีที่ 15 :กรกฎาคม-กันยายน 2547. ISSN 0858-0251.

สุรภี กีรติยะอังกูร กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร นวลจันทร์ ดีมา. 2534. การผลิตแอนติซีรัมและการตรวจสอบเชื้อ TMV-O ของกล้วยไม้พันธุ์หวายลูกผสมและสาวน้อยเต้นระบำ. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2534. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 1-8.

สุรภี กีรติยะอังกูร กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร นวลจันทร์ ดีมา. 2533. การผลิตแอนติซีรัมและการตรวจสอบโรค Cymbidium mosaic virus ของหวายลูกผสมและสาวน้อยเต้นระบำ. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 115-122.

สุรภี กีรติยะอังกูร กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร นวลจันทร์ ดีมา. 2534. เครื่องมือสนามสำหรับตรวจไวรัสของกล้วยไม้. หนังสือพิมพ์กสิกร ปีที่ 64 ฉบับที่ 4 หน้า 367-371.

Anonymous. 2002. Introductory Workshop on Rapid Diagnostic Tests. BGM Company. . Bangkok Thailand .180 pp

Banttarri,E.E., and Goodwin,P.H.1985. Detection of Potato Viruses S , Xand Y by Enzyme-linked Immunosorbent Assay on Nitrocellulose Membrane (Dot-ELISA). Plant Disease. 69:202-205.

Beisiegel, U. 1986. Protein Blotting. Electrophoresis 7:1-18.

Hampton, H., E. Ball, and S. De Boer. 1990. Serological Methods for Detection and Identification of Viral and Bacterial Plant Pathogens. 389 pp.

Hsu,Y.H. 1984. Immunogold for detection of antigen on Nitrocellulose paper. Annual Biochem. 142: 221-226

Gershoni,J.M. and G.E. Palade. 1983. Protein Blotting: Principles and Application. Annual Biochem. 131:1-15.

Ninlawan Pichayayothin. 2001. Pacific Biotech Co.,Ltd. (Thailand). Website: www.pacific-biotech.com

Oberfelder, R. 1989. Immunoblotting: Comparison of Detection methods. Focus 11:1-5.

Towbin, H., and J. Gordon. 1984. Immnoblotting and Dot Immunobinding Current Status and Outlook. Journal Immunological Methods. 72:313-340.

Tsuda, S., M. Kameya-Iwaki, K. Hanada, Y. Konda, M. Hikata, and K. Tomaru, 1992. A Novel Detection and Identification Technique for Plant Virus : Rapid Immunofilter paper Assay (RIPA) . Plant Disease 76:466-469.

Tsuda, S., M. Kameya-Iwaki , K. Hanada, I. Fujisawa, And K. Tomaru. 1993. Simultaneous Diagnosis for Plant Infected with Multiple Viruses Employing Rapid Immunofilter Paper Assay (RIPA) with two step Method; Multi RIPA. Annaul Phytopathology Society. Japan 59:200-203.

เรื่อง วิจัยและพัฒนาเทคนิคทางเซรุ่มวิทยาในการตรวจสอบเชื้อไวรัสสาเหตุโรคปื้นดำบนกล้วยไม้

Research and development serological technique to detect virus causal agent of black scar on orchid

สุรภี กีรติยะอังกูร ทัศนาพร ทัศคร ไมตรี พรหมมินทร์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจเก็บตัวอย่างโรคปื้นดำของกล้วยไม้พันธุ์ต่างๆจากรังกล้วยไม้ รวมทั้งสิ้นจำนวน 45 ตัวอย่างนำมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทัศน์อิเล็กตรอน พบว่าอาการปื้นดำส่วนใหญ่เกิดจาก พบอนุภาคของเชื้อไวรัสชนิดท่อนตรงมีขนาดยาวประมาณ 300 nm ของ Odontoglossum ring spot virus ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคจุดประดำจำนวน 25/45 ตัวอย่าง พบเชื้อรา Phyllostictina pyriformis Cash&Watson เชื้อสาเหตุโรคขี้กรากราชบุรี 9/45 ตัวอย่างและพบอนุภาคไวรัสชนิดท่อนยาวคด มีขนาดยาวประมาณ 750 nm จำนวน 11/45 ตัวอย่าง นำตัวอย่างกล้วยไม้เป็นโรคปื้นดำ มาเตรียมน้ำคั้นปลูกเชื้อลงบนกล้วยไม้พันธุ์ หวายลูกผสมบอม 16 (Dendrobium) Vanda แคททรียา และพืชทดสอบ *Chenopodium amaranticolor, C. quinoa , Datura mettel* และยาสูบใบใหญ่ (Nicotiana tabacum) ตรวจอาการของโรคเป็นเวลา 2 เดือน ไม่พบการถ่ายทอดลงบนพืชทดสอบทั้ง 4 ชนิด ตรวจอาการบนกล้วยไม้ที่ปลูกเชื้อไว้ ไม่พบอาการ แต่ตรวจด้วยวิธี ELISA พบปฏิกิริยาเป็นบวก 3 ต้นจาก 10 ต้นบน กล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium หรือ หวายลูกผสมบอม 16 แต่ไม่พบการถ่ายทอดบน Vanda และ Cattlya เมื่อตรวจสอบตัวอย่างกล้วยไม้ทั้ง 45 ตัวอย่างกับแอนติซีรัม 4 ชนิด คือ ORSV CyMV CMV และ PVY ด้วยวิธี NCM-ELISA พบว่า 25/45 ตัวอย่างให้ปฏิกิริยาเป็นบวกกับแอนติซีรัมของ ORSV ส่วนอีก 20 ตัวอย่างไม่มีปฏิกิริยา กับแอนติซีรัมทั้ง 4 ชนิด ทดลองสกัดแยกเชื้อไวรัสจากตัวอย่างกล้วยไม้ที่มีอาการปื้นดำ 300 กรัม ที่ตรวจพบอนุภาคขนาด 750 nm ด้วย buffer Tris HCl pH 76 ที่มีส่วนผสมของ 0.02 % 2-mercapto ethernal , เพื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยการหมุนเหวี่ยงความเร็วต่ำสลับความเร็วสูง ทดลองจับอนุภาคไวรัสด้วย PEG 6000 +1% Triton X 100 รวมทั้งการกรองแยกผ่านชั้นของน้ำตาล ผลการทดลองแยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างกล้วยไม้เป็นโรคปื้นดำพบว่าได้

รหัสกิจกรรม 05 01 47 0902

ปริมาณของเชื้อไวรัสไม่มากพอและมีโปรตีนของพืชปะปนอยู่ ต้องปรับสารและวิธีการใหม่ทดลองสูตรอาหารและวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้พันธุ์สาวน้อยเต้นระบำ (Oncidium) เพื่อให้ได้ต้นปลอดโรคไวรัสด้วยสูตรอาหาร Vacin and Went (1949) และ Murashige and Skoog (1962) รวมทั้งเปรียบเทียบการเลี้ยงเป็นอาหารแข็งกับเป็นอาหารชนิดเหลว เพื่อให้ปลอดเชื้อไวรัสทุกชนิด ใช้เป็นพืชอาศัยของเชื้อไวรัสและทดสอบการเกิดโรค พบว่าวิธีการเพาะเลี้ยงที่ให้ผลในการเพิ่มปริมาณแคลลัสรวดเร็วและจำนวนมาก บนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) ชนิดแข็ง และเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีใน 3 เดือน บน Murashige and Skoog (1962) แบบแข็ง

คำนำ

โรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัสยากที่จะกำจัดหรือใช้สารเคมีในการรักษาให้หายได้ แต่ใช้แนวทางในการควบคุมโรคที่เกิดจากไวรัสด้วยการใช้พันธุ์ต้านทาน พันธุ์ปลอดโรค และการควบคุมพาหะของโรคควบคู่ไป สำหรับการควบคุมโรคไวรัสในกล้วยไม้ในระยะสั้นจึงเป็นการใช้พันธุ์ปลอดโรค ในระยะยาวควรเป็นการใช้พันธุ์ต้านทาน การใช้พันธุ์ปลอดโรคเป็นวิธีการควบคุมการระบาดของโรคได้ดีวิธีหนึ่ง ดังนั้นวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัสเพื่อคัดเลือกต้นพันธุ์ปลอดโรคจึงเป็นหัวใจสำคัญอย่างยิ่งในขบวนการผลิตกล้วยไม้ปลอดโรค ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสสาเหตุโรค จะต้องใช้คุณลักษณะเฉพาะของเชื้อมาตรวจวิเคราะห์เสมอ มีเชื้อไวรัสที่สามารถเข้าทำลายกล้วยไม้ได้มากกว่า 25 ชนิด ดังจะเห็นว่าเชื้อไวรัสหลายชนิดทำให้กล้วยไม้บางพันธุ์เกิดอาการปื้นดำได้ ได้แก่ เชื้อไวรัสกลุ่ม Potyviruses ทำให้ Dendrobium ลูกผสมบางพันธุ์มีอาการด่างและเป็นแผลดำ (Chang. 1985) Rhabdoviruses ทำให้กล้วยไม้หลายพันธุ์มีอาการ เป็นแผลตายและเปลี่ยนเป็นสีดำ (Law son,1986) รวมทั้งเชื้อ Odontoglossum ring spot Virus (ORSV) ก็ทำให้ Vanda เกิดอาการแผลจุดดำบนใบที่คล้ายกัน (สุรภี , 2534) จากการตรวจอาการปื้นดำบนกล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium ที่พบจากแหล่งปลูกบางแหล่งในประเทศไทยไม่ได้มีสาเหตุมาจากเชื้อ ORSV จึงไม่สามารถใช้ชุดตรวจสอบ ELISA ของเชื้อ ORSV ในการตรวจวินิจฉัย โรคปื้นดำทำให้กล้วยไม้พันธุ์ Dendrobium เป็นปื้นดำของเนื้อเยื่อที่ตายเป็นแผลต่อเนื่อง ใบมีอาการดำเป็นปื้นโดยเฉพาะใบแก่ทำให้ขายต้นไม่ได้ จึงจำเป็นต้องศึกษาจำแนกเชื้อ สาเหตุของโรค เพื่อผลิตแอนติซีรัมและพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัส ไว้ตรวจสอบเพื่อวินิจฉัยโรคและตรวจคัดเลือกต้นพันธุ์ปลอดโรคไวรัส ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

แบ่งการทดลองเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้คือ

ขั้นตอนที่ 1 การจำแนกชนิดไวรัส เชื้อสาเหตุโรคปื้นดำ

1.1 ศึกษาลักษณะสัณฐานของเชื้อไวรัส

สำรวจเก็บตัวอย่างโรคปื้นดำของกล้วยไม้พันธุ์ต่างๆจากรังกล้วยไม้ ครั้งที่ 1 จำนวน 25 ตัวอย่าง ครั้งที่ 2 จำนวน 20 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้นจำนวน 45 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทัศน์อิเล็กตรอน ด้วยการบดตัวอย่างเป็นโรคในสารละลาย phosphotungstic acid 2% pH 6.8 ใช้แผ่นกริดที่มีขนาดของช่องในตระแกรง ขนาด 300 mesh ที่เคลือบที่หน้ากริดด้วย colloidient เคลือบทับด้วยผง carbon บริสุทธิ์ วางผึ่งจนกริดที่จับตัวอย่างแห้งแล้วจึงนำไปตรวจสอบอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทัศน์อิเล็กตรอน

1.2 ศึกษาการถ่ายทอดโรคและพืชทดสอบ

นำน้ำคั้นของตัวอย่างกล้วยไม้เป็นโรคปื้นดำ มาปลูกเชื้อลงบนกล้วยไม้พันธุ์ หวาย ลูกผสมบอม 16 Vanda แคททรียา และพืช*ทดสอบ Chenopodium amaranticolor, C. quinoa* , *Datura mettel* และยาสูบใบใหญ่ (Nicotiana tabacum) ที่มีใบ 3-5 ใบ โดยบดตัวอย่างเป็นโรคในสารละลาย 0.1 M Sodium phosphate buffer pH 7.5 ที่มี 0.2% Sodium sulphyte แล้วไปทาลงบนใบพืชแต่ละชนิดที่โรยผง celite ตรวจอาการของโรคเป็นเวลา 2 เดือน ในกรงกันแมลง

ทดลองสูตรอาหารและวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้พันธุ์สาวน้อยเต้นระบำเพื่อให้ได้ต้นปลอดโรคไวรัส ด้วยสูตรอาหาร Vacin and Went (1949) และ Murashige and Skoog (1962) รวมทั้งเปรียบเทียบ การเลี้ยงเป็นอาหารแข็งกับเป็นอาหารชนิดเหลว เพื่อผลิตต้นกล้วยไม้ปลอดโรคนำมาใช้เพิ่มปริมาณไวรัส

1.3 ศึกษาสมบัติทางเซรุ่มวิทยา

ตรวจสอบตัวอย่างทั้ง 45 ตัวอย่างกับแอนติซีรัม 4 ชนิด คือ ORSV CyMV CMV และ PVY (กิตติศักดิ์, 254) ตรวจสอบด้วยวิธี NCM-ELISA ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้คือ

1.3.1 แบ่งตัวอย่างใบพืชที่ต้องการตรวจสอบบดละเอียดในถุงพลาสติกด้วย Extraction buffer 1 ml

1.3.2 วางรูปแบบของแผ่น NCM ด้วยการทำเครื่องหมายที่ตัวแผ่น NCM หัวท้ายเพื่อเรียงตัวอย่างจาก 1-45 ถึงตัวอย่างสุดท้ายได้ชัดเจนตรงตารางที่เขียนขึ้น

1.3.3 แช่แผ่น NCM พร้อมกับวางกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ตัดให้มีขนาดพอดีกับแผ่น NCM แช่ลงใน TBS นาน 5 นาที

1.3.4 คีบแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 ขึ้นมาพร้อมกับแผ่น NCM ที่ได้แช่ไว้ วางลงบนแผ่นกระดาษกรองเบอร์แผ่นใหม่ที่แห้งและมีขนาดใหญ่กว่า ใช้ pasture pipet ที่สะอาดรีดแผ่น NCM ให้แนบติดกับกระดาษกรอง

1.3.5 หยดตัวอย่างน้ำคั้นของพืช 1-2 หยด หรือประมาณ 25 ul ลงในช่องตารางบนแผ่น NCM ตามรูปแบบที่วางไว้ไม่ให้สับสน เพราะจะมีผลต่อการวินิจฉัยโรคผิดตัวอย่างด้วย เมื่อหยดตัวอย่างเสร็จแล้วคีบแผ่น NCM ออกมาวางบนกระดาษสะอาดทิ้งไว้

ประมาณ 10-20 นาที (แผ่นตัวอย่างนี้สามารถเก็บใส่ถุงพลาสติกแช่ตู้เย็นไว้ได้นาน 2-3 สัปดาห์)

1.3.6 นำแผ่นตัวอย่างที่แห้งแล้ว แช่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมที่มี blocking solution อยู่ 10 ml (TBS 20 ml + นมพร่องไขมันเนย + 0.8 ml 25% titon X100) แช่นาน 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 27-30°C

1.3.7 เท blocking solution ออก ใส่ส่วนผสมของ IgG ของ ORSV CyMV CMV และ PVY ใน buffer TBS + 2% นมพร่องไขมันเนย หรือ blocking solution นั้นเอง ในอัตรา 40 ul ต่อ 10 ml TBS + 2% milk แช่นาน 1 ชั่วโมง ในสภาพ เช่นเดียวกับข้อ 6

1.3.8 ล้างแผ่น NCM ด้วย T-TBS 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที

1.3.9 เทส่วนผสม GAR 140 ul ใน 10 ml TBS+2% นมพร่องไขมันเนย บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง เช่นเดียวกับข้อ 6 แล้วล้างเช่นเดียวกับข้อ 8

1.3.10 เทส่วนผสม substrate รอดูผลประมาณ 5-30 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาสีชมพูเข้มตามต้องการแล้ว เท substrate ออก เทน้ำกลั่นลงแทน เป็นการล้างเพื่อหยุดปฏิกิริยา

1.4 การแยกเชื้อไวรัสบริสุทธิ์

ทดลองสกัดแยกเชื้อไวรัสจากตัวอย่างกล้วยไม้ที่มีอาการปื้นดำ 300 กรัม ที่ตรวจพบอนุภาคขนาด 750 nm บดเนื้อเยื่อพืช ด้วย buffer 0.3 M Tris HCl pH 7.6 ที่มีส่วนผสมของ 0.02 % 2 -mercapto ethernal ในสัดส่วน 1:3 กรองด้วยผ้ากรอง นำน้ำคั้นพืชไปกวนกับ Chloroform +CCl4 (1:1) ในอัตราส่วน 25% ของน้ำคั้น ตกตะกอนที่ 3000 g 30 นาที นำน้ำใสที่ได้มากวนกับ 5% PEG 6000 + 1% triton X-100 นาน 1 ชั่วโมง ถ่ายใส่ในขวดหรือหลอด centrifuge (low speed) incubated 1 hr ในเครื่องปั่นในสภาพพร้อมปั่น แล้วจึง ปั่น 8,000 g นาน 30 นาที เก็บตะกอนมาละลาย ด้วย 0.1M NaPB pH 7.5 ด้วยการ homogenize ด้วย homogenizer หรือเครื่องปั่นตี เพื่อละลายไวรัสออก แล้วปั่นตกตะกอนที่ 3,000 g นาน 10 นาที นำน้ำใสที่ได้ มาหมุนเหวี่ยง 30,000 g นาน 1 hr โดยรองก้นหลอด centrifuge ชนิดใสมองเห็น band ได้ ด้วย sucrose เข้มข้น 40 % ใน buffer 0.1M NaPB pH 7.5 ดึง ชั้นของ band ที่คาดว่าเป็นไวรัส ออกมาละลายด้วย buffer 0.1M NaPB pH 7.5 ปั่น หมุนเหวี่ยงตกตะกอนไวรัสลงด้วยความเร็ว 30,000 g นาน 2 ชั่วโมง แล้วละลายตะกอนที่ได้ด้วย buffer 0.01M NaPB pH 7.5 ปริมาณ 1 ml ตรวจดูอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทัศน์

ขั้นตอนที่จะดำเนินการในปี 2548

1.5 การผลิตแอนติซีรัม

-ผลิตแอนติเจนของเชื้อไวรัสที่ปริมาณเพียงพอ

-ฉีดกระต่าย

-เจาะเลือดกระต่าย และเก็บแอนติซีรัม

-ทดสอบและปรับคุณภาพของแอนติซีรัม

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาและทดสอบวิธีการตรวจสอบที่เหมาะสม

ขั้นตอนที่ 3 พัฒนาเป็นชุดตรวจสอบที่สะดวกใช้ทั้งในและนอกห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

ปีงบประมาณ ตุลาคม 2546- กันยายน 2548

กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงปลูกกล้วยไม้ของเกษตรกร จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การจำแนกชนิดไวรัส เชื้อสาเหตุโรคปื้นดำ

1.1 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานของเชื้อไวรัส

พบว่าอาการแผลดำส่วนใหญ่เกิดจาก เชื้อไวรัส Odontoglossum ring spot virus หรือโรคจุดประดำ 25/45 ตัว พบอนุภาคของเชื้อขนาดยาว 300 nm และเชื้อรา Phyllostictina pyriformis Cash&Watson หรือที่เรียกว่าโรคขี้กรากราชบุรี 9/45 และพบว่าอาการที่เป็นแผลดำต่อเนื่องเกิดจากไวรัสท่อนยาวคด ขนาด 750 nm 11/45 ตัวอย่าง และเป็นตัวอย่างที่พบจากราชบุรีเท่านั้น

1.2 ผลการศึกษาการถ่ายทอดโรคและพืชทดสอบ

ไม่พบการถ่ายทอดลงบนพืชทดสอบทั้ง 4 ชนิด ซึ่งเป็นเพราะไม่ใช่พืชอาศัยของเชื้อ ตรวจอาการบนกล้วยไม้ที่ปลูกเชื้อไว้ ยังไม่พบอาการของโรค แต่ตรวจด้วยวิธี ELISA พบปฏิกิริยาเป็นบวก 3 ต้นจาก 10 ต้นบน Dendrobium หรือ หวายลูกผสม ส่วนบน Vanda และ Cattlya ยังไม่พบอาการ

1.3 ผลการศึกษาสมบัติทางเซรุ่มวิทยา

เมื่อตรวจสอบตัวอย่างกล้วยไม้ทั้ง 45 ตัวอย่างกับแอนติซีรัม 4 ชนิด คือ ORSV CyMV CMV และ PVY ด้วยวิธี NCM-ELISA พบว่า 25/45 ตัวอย่างให้ปฏิกิริยาเป็นบวกกับแอนติซีรัมของ ORSV ส่วนอีก 20 ตัวอย่างไม่มีปฏิกิริยา กับแอนติซีรัมทั้ง 4 ชนิด

1.4 ผลการแยกเชื้อไวรัสบริสุทธิ์

ผลการทดลองแยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างกล้วยไม้เป็นโรคปื้นดำพบว่าได้ปริมาณของเชื้อไวรัสในปริมาณต่ำ ไม่มากพอและมีโปรตีนของพืชปะปนอยู่ด้วยบางส่วน ซึ่งการใช้กล้วยไม้ที่เป็นโรคมาแยกเชื้อในการนำไปเป็นแอนติเจนผลิตแอนติซีรัมที่จะกลับมาตรวจสอบไวรัสในกล้วยไม้ ย่อมเสี่ยงต่อการปนเปลื้อนโปรตีนจากกล้วยไม้ แต่การทดลองนี้เป้นแต่เพียงทดสอบวิธีการว่ามีความเหมาะสมในการใช้แยกเชื้อไวรัสชนิดนี้หรือไม่ ซึ่งก็พบว่าวิธีการยังไม่เหมาะสม จึงต้องปรับสารและวิธีการ รวมทั้งทดสอบหาพืชอาศัยที่เหมาะในการเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสได้ดีที่จะใช้ในการเตรียมแอนติเจน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองนี้ยังไม่เสร็จสิ้น แต่จากผลการทดลอง ที่ได้ดำเนินการไปเป็นเวลา 1 ปี สรุปได้ในเบื้องต้นว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้กล้วยไม้หลายพันธุ์มีอาการปื้นดำ เพราะเนื้อเยื่อตายและเปลี่ยนเป็นสีดำเป็นแผลบนใบของกล้วยไม้เกิดจากเชื้อไวรัสได้มากกว่า 1 ชนิด ชนิดแรกที่พบและมีการศึกษาแล้วคือ Odontoglossum ringspot virus และอีกชนิดที่พบเป็นเชื้อไวรัสชนิดท่อนยาวคด ขนาดความยาวประมาณ 750 nm ที่ยังไม่พบพืชอาศัยในตระกูลอื่น และถ่ายทอดได้ยากด้วยวิธีการปลูกเชื้อด้วยน้ำคั้นพืช ดังนั้นในในการทดลองต่อไปจึงต้องทดสอบหาพืชอาศัยที่เหมาะสมและทำการทดลองแยกเชื้อบริสุทธิ์ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร 2536. เชื้อ PVY สาเหตุโรคใบด่างของมันฝรั่งและแนวทางแก้ไขปัญหา. เอกสารเผยแพร่วิชาการโรคพืชและจุลชีววิทยา . ประจำปี 2534. หน้า 107-122.
2. สุรภี กีรติยะอังกูร กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร และนวลจันทร์ ดีมา. 2534. เครื่องมือสนามสำหรับตรวจไวรัสของกล้วยไม้ กสิกร ปี 64(4): 367-371.
3. Chang, M.U. 1985 . Studies on the Infection of Virus in Orchids. 2. Spiranthes mosaic Virus. J. Nat. Sci. 5:211 – 220.
4. Lawson, R.H. and Brannigan, M . 1986. Virus Diseases of Orchids . Pages 2 – 49 in: Handbook on Orchid Pests and Diseases . American Orchid Society. West Plan Beach ,FL .

วิจัยเทคนิคการผลิตชุดตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่งจากดินและน้ำในแปลงเพาะปลูก

Production of Indirect ELISA kit for Detection of *Ralstonia solanacearum* from Soil and Irrigation System

วงศ์ บุญสืบสกุล **ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล**
รุ่งนภา คงสุวรรณ **ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์**
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจจำลอง (ELISA test kit Model) โดยการตรวจหาเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากดินและน้ำที่ปลูกเชื้อโดยวิธี artificial inoculation เปรียบเทียบระหว่างการหาประชากรเชื้อโดยวิธี counter plate กับการตรวจด้วยวิธี indirect ELISA บนแผ่น nitrocellulose membrane พบว่าองค์ประกอบหลัก ๆ ของชุดตรวจจำลอง (model ELISA kit) ได้แก่ การหาความเข้มข้นของ primary antiserum ที่เหมาะสม, ชนิดของ substrate และ enzyme ที่เหมาะสม , เวลาของแต่ละช่วงของการทำ ELISA, ภาชนะที่เหมาะสมที่ใช้ในการบรรจุสารเคมีต่าง ๆ โดยไม่มีผลกระทบต่อปฏิกิริยาของสารเคมีนั้น ๆ และค่ามาตรฐานในการประเมินค่าของปฏิกิริยาที่อ่านได้จากการประเมินด้วยสายตา พบว่าสามารถตรวจหาเชื้อได้ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^4 cfu/g (ดิน) และ 10^5 cfu/ml (น้ำ) ซึ่งจะต้องมีการปรับปรุงชุดจำลองดังกล่าวอีกโดยเฉพาะในส่วนที่เกี่ยวข้องกับอาหารกึ่งจำเพาะ SMSA เนื่องจากเมื่อนำไปตรวจจากตัวอย่างของจริงที่เก็บจากแปลงที่มีการระบาดของโรคดังกล่าวจำนวน 19 ตัวอย่าง พบว่าสามารถตรวจได้ที่10^6 cfu/g (ดิน) และ 10^7 cfu/ml (น้ำ) ซึ่งนับว่ายังสูงมาก ระหว่างนี้อยู่ในช่วงของการหาค่าอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับอาหาร SMSA สำหรับเพิ่มปริมาณเชื้อจากตัวอย่างน้ำและดิน เมื่อสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อได้ดีแล้วจะได้นำชุดตรวจจำลองดังกล่าวไปใช้ตรวจทดสอบในภาคสนามต่อไป

คำค้น(Keywords) *Ralstonia solanacearum*, potato bacterial wilt, serology detection, Indirect ELISA, ELISA test kit.

รหัสกิจกรรม 05 –01-47-0906

คำนำ

เชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวทำลายพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่สุดของโลกเชื้อหนึ่ง ปัจจุบันยังไม่พบสารเคมีใดที่ใช้ควบคุมโรคนี้ได้ ดังนั้นแนวทางในการตรวจหาเชื้อ (Detection) จึงเป็นกลยุทธ์ที่เหมาะสมในการป้องกันโรคนี้ และเนื่องจากเชื้อนี้สามารถแพร่ระบาดไปกับน้ำและสามารถอาศัยอยู่ในดินได้ ดังนั้นการตรวจสอบเชื้อนี้จากดินและน้ำจึงเป็นสิ่งสำคัญที่ช่วยในการป้องกันโรคนี้ได้ดี ในการทดลองนี้จะได้พัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อนี้จากดินและน้ำ ซึ่งผู้ดำเนินการได้วิจัยไว้แล้ว โดยอาศัยการทำงานร่วมกันระหว่าง อาหารกึ่งจำเพาะสำหรับเชื้อ *R. solanacearum* เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อให้มีความเข้มข้นของเชื้อที่อยู่ในขีดความสามารถของแอนติซีรัมที่มีปฏิกิริยาทางเซรุ่มวิทยาจำเพาะต่อเชื้อนี้ สามารถตรวจหาได้ทำให้สามารถทราบได้ว่าดินหรือน้ำนั้นมีเชื้อ *R. solanacearum* อยู่หรือไม่ และจะขยายผลต่อยอดการวิจัยโดยพัฒนาวิธีการดังกล่าวให้อยู่ในรูปแบบของชุดตรวจสอบ ที่สามารถนำไปใช้นอกสถานที่ได้สะดวกและมีประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อดังกล่าวได้ถูกต้อง รวดเร็วและแม่นยำ

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ปลูกเชื้อลงในดินและในน้ำที่ประชากรต่าง ๆ
2. หาความเข้มข้นของอาหาร SMSA ต่อปริมาตรดินและน้ำ
3. เตรียมชุดตรวจสอบจำลอง (NCM ELISA TEST KIT model) และปรับสภาพการทำงานและปริมาตรบรรจุให้เหมาะสมกับอาหาร SMSA
4. เก็บตัวอย่างดินและน้ำจากพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคจริงมาตรวจในส่วนกลาง
5. นำชุดตรวจสอบไปตรวจนอกพื้นที
6. สรุปและรายงานผลการวิจัย

ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจจำลอง (ELISA test model kit) เปรียบเทียบกับการหาประชากรเชื้อโดยวิธี counter plate กับการตรวจด้วยวิธี indirect ELISA บนแผ่น nitrocellulose membrane พบว่าองค์ประกอบหลัก ๆ ของชุดตรวจสอบจำลอง (model ELISA kit) พบว่าชุดตรวจ

จำลอง สามารถตรวจหาเชื้อได้ตั้งแต่ความเข้มข้น 10^4 cfu/g (ดิน) และ 10^5 cfu/ml (น้ำ) ซึ่งจะต้องมีการปรับปรุงชุดจำลองดังกล่าวอีกโดยเฉพาะในส่วนที่เกี่ยวข้องกับอาหารกึ่งจำเพาะ SMSA เนื่องจากเมื่อนำไปตรวจจากตัวอย่างของจริงที่เก็บจากแปลงที่มีการระบาดของโรคดังกล่าวจำนวน 19 ตัวอย่าง พบว่าสามารถตรวจได้ที่ 10^6 cfu/g (ดิน) และ 10^7 cfu/ml (น้ำ) ซึ่งนับว่าประสิทธยังไม่ดีพอ ระหว่างนี้อยู่ในช่วงของการหาค่าอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับอาหาร SMSA สำหรับเพิ่มปริมาณเชื้อจากตัวอย่างน้ำและดิน เมื่อสามารถเพิ่มปริมาณเชื้อได้ดีแล้วจะได้นำชุดตรวจสอบจำลองดังกล่าวไปใช้ทดสอบในภาคสนามต่อไป

วิจารณ์ผลการทดลอง

-

เอกสารอ้างอิง

วงศ์ บุญสืบสกุล. 2545. การตรวจหาเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในน้ำด้วยวิธี ELISA. รายงานประจำปี 2546 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร จัตุจักร กรุงเทพฯ 16 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล 2544. วิธีการตรวจหาเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยวิธี ELISA เพื่อพัฒนาเป็นชุดตรวจสอบ. รายงานประจำปี 2545. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร จัตุจักร กรุงเทพฯ 22 หน้า.

Granada, G.A. and L. Sequeira. 1983. Suruival of *Ralstonia solanacearum* in soil. *Can. J. Microbial* 29:433-440.

Elphinstone, J.G. and S. Seal. 1994. Advances identification and detection of *Pseudomonas solanacearum* in soil. Pages 145-182. *In* : Bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* . A.C. Hayward and G.L. Hartman (eds.). CAB. International, London, U.K. 312 pp.

Priou, S. 1998. NCM ELISA KIT for the detection of *Ralstonia solanacearum* in potato. International potato center (CIP), Lima, Peru. 23 pp.

Wong Boonsuebsakul 2001. Detection of *Ralstonia solanacearum* from soil. Annual report CIP 2001. Lima, Peru p.21.

วิจัยและพัฒนาชุดตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวของอ้อย

Research and Development of Serological Test Kit Production for Phytoplasma Detection on Sugarcane White Leaf Disease

วันเพ็ญ ศรีทองชัย เยาวภา ตันติวานิช สิทธิศักดิ์ แสไพศาล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

นำตาข้างของท่อนพันธุ์อ้อยที่เป็นโรคใบขาวและอ้อยปกติ มาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ใน 1% ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มีผงถ่าน 0.3% ผสมอยู่ สามารถชักนำให้ตาข้างของอ้อยเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าสูตรอาหาร MS อย่างเดียวภายในเวลา 6 สัปดาห์ ต้นอ่อนของอ้อยปกติเจริญได้ดี สามารถแตกขยายเป็นต้นอ่อนพร้อมรากในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในเวลา 4 สัปดาห์ แต่ต้นอ่อนของอ้อยที่เป็นโรคใบขาวมีการเจริญช้ากว่าอ้อยปกติ หลังจากตาข้างพัฒนาเป็นกลุ่มต้นอ่อนอ้อยจึงทำการขยายปริมาณกลุ่มต้นอ่อนเหล่านี้ ทุก 30 วัน เพื่อใช้เป็นแหล่งของเชื้อไฟโตพลาสมาในขั้นตอนของการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Sarindu & Clark (1993) ต้นอ่อนของอ้อยเป็นโรคใบขาวที่สามารถนำมาใช้ในการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ควรมีอายุ 5-6 เดือน เพราะมีการแตกกอช้ากว่าอ้อยปกติ เมื่อแยกได้ปริมาณเชื้อไฟโตพลาสมาเพียงพอ จึงนำไปฉีดกระต่ายทุกสองสัปดาห์เพื่อผลิตแอนติซีรัมต่อไป

รหัสกิจกรรม 05-01-47-0908

คำนำ

โรคใบขาว (white leaf disease) เป็นโรคสำคัญโรคหนึ่งของอ้อย (*Saccharum officinarum*) พบระบาดทำความเสียหายในแหล่งปลูกทั่วไปของประเทศไทย (Chen, 1974) โรคนี้มีสาเหตุมาจากเชื้อไฟโตพลาสมา ระบาดโดยติดไปกับท่อนพันธุ์ และโดยเพลี้ยจักจั่นสีน้ำตาล (*Matsumuratettix hiroglyphicus*) เป็นพาหะ (Yang & Pan, 1970; Maramorosch *et al.,* 1975) ลักษณะอาการที่เด่นชัดคือ ใบสีขาว การแตกกอน้อยและแตกเป็นฝอย ไม่ย่างปล้อง ถ้าเป็นรุนแรงต้นจะแคระแกรนและตายในที่สุด (Sarindu & Clark, 1993) การตรวจวินิจฉัยโรคนี้ด้วยวิธีการทางเซรุมวิทยา คือ วิธี ELISA ซึ่งเป็นวิธีที่ปฏิบัติได้ง่าย ให้ผลดีและรวดเร็ว Sarindu และ Clark (1993) ได้แยกเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยจากเส้นกลางใบของอ้อย โดยใช้ glycine buffer และ sepharose 4B column และฉีดเชื้อเข้ากระต่ายเพื่อผลิตแอนติซีรัม จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของแอนติซีรัมโดยวิธี $F(ab')_2$ indirect ELISA (Clark *et al.,* 1988) ซึ่งสามารถใช้ตรวจสอบท่อนพันธุ์อ้อยในห้องปฏิบัติการก่อนที่จะนำไปปลูก เพื่อคัดเลือกเฉพาะท่อนพันธุ์ที่ปราศจากเชื้อไฟโตพลาสมา อันเป็นการป้องกันกำจัดโรคที่ได้ผลวิธีหนึ่ง

ในปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยโรคของพืชเศรษฐกิจและสารพิษที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ ได้มีการพัฒนาให้ง่ายและสะดวกต่อการใช้ โดยผลิตเป็นชุดตรวจสอบอาศัยเทคนิคทางเซรุ่มวิทยา เช่น ELISA หรือ dot immunobinding assays ซึ่งสามารถนำไปใช้ตรวจสอบทั้งในและนอกห้องปฏิบัติการ ในประเทศไทยมีการผลิตชุดตรวจสอบเชื้อไวรัสในกล้วยไม้ (สุรภีและคณะ, 2534) และแบคทีเรียในปทุมมา (ณัฏฐิมาและคณะ, 2543) โดยวิธี dot immunobinding assays ใช้กระดาษ nitrocellulose membrane, Tris buffer saline (TBS) และ substrate ที่ใช้ คือ 5 bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (BCIP) และ nitro blue tetrazolium (NBT) สำหรับสารพิษแอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในผลิตผลเกษตร ตรวจสอบโดยใช้ชุดตรวจสอบ ELISA test kit วิเคราะห์ผลโดยวิธี competitive ELISA และ substrate ที่ใช้ คือ 3, 3′, 5, 5′ tetramethyl benzidine dihydrochloride (TMB) (อมรา, 2539)

ฉะนั้นควรมีการผลิตชุดตรวจสอบโรคใบขาวอ้อย เพื่อนำไปใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคใบขาวในภาคสนามได้อย่างสะดวก ถูกต้อง แม่นยำและรวดเร็ว โดยเฉาะการคัดเลือกท่อนพันธุ์ที่ไม่เป็นโรคไปปลูก เป็นการป้องกันไม่ให้โรคระบาด และทำให้ผลผลิตของอ้อยมีคุณภาพดีขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นอ้อยที่เป็นโรคใบขาว
2. อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อย
3. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนต่างๆของการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์
4. กระต่าย อุปกรณ์และสารเคมีในการผลิตแอนติซีรัม

5. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา
6. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ

วิธีการทดลอง (ปี 2547)

1. การเตรียมแหล่งของเชื้อสาเหตุ

ดัดแปลงจากวิธีของนงลักษณ์ และคณะ (2537) โดยการนำตาข้างของท่อนพันธุ์อ้อยที่เป็นโรคใบขาวและอ้อยปกติ มาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ใน 1% ของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) และสูตร MS ที่มีผงถ่าน 0.3% ผสมอยู่ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารสูตรต่างๆ หลังจากตาข้างพัฒนาเป็นกลุ่มต้นอ่อนอ้อย จึงทำการขยายปริมาณกลุ่มต้นอ่อนเหล่านี้ในอาหารสังเคราะห์สูตรเดิม ทุก 30 วัน เพื่อใช้เป็นแหล่งของเชื้อไฟโตพลาสมาในขั้นตอนของการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ จำนวน 6 ครั้งๆละ 5 กรัม

2. การเตรียมแอนติเจน

ดัดแปลงจากวิธีของ Sarindu และ Clark (1993) โดยบดใบอ้อยและรากของต้นอ้อยอายุ 4-6 เดือน ใน GM buffer pH 8 (0.3 M glycine, 0.05 M $MgCl_2$, 0.1 M NaCl, sucrose 50 กรัม/ลิตร และเติม 0.2%sodium mercaptoacetate) ในอัตรา 5 กรัม / 50 มิลลิลิตร กรองด้วยผ้าขาวบาง และนำน้ำคั้นมาหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 2,000 g นาน 5 นาที เทตะกอนทิ้งและนำน้ำใสมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 g นาน 20 นาที เก็บส่วนน้ำใสมาผสมกับ polyethylene glycol (PEG, MW 6,000) ในปริมาณ 6% ของน้ำคั้น ผสมให้เข้ากันและแช่ไว้ในน้ำแข็งนาน 1 ชั่วโมง ก่อนนำมาหมุนเหวี่ยงที่ ความเร็ว 12,000 g นาน 30 นาที จากนั้นนำตะกอนมาละลายใน phosphate buffer saline (PBS) pH 7.3 (ประกอบด้วย NaCl 8 กรัม KCl 0.2 กรัม KH_2SO_4 0.2 กรัมและ $NA_2HPO_4.2H_2O$ 1.44 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร) แล้ว de-salt บน Sepharose 4 B column ซึ่งปรับสภาพด้วย PBS pH 7.3 ที่เจือจางเป็น 1:10 เท่า เก็บสารแขวนลอยสีเขียวส่วนแรกที่ผ่าน column ออกมา แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 g นาน 5 นาที แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 63,000 g นาน 40 นาที จากนั้นละลายตะกอนที่ได้ด้วย 1/10 PBS pH 7.3 เพื่อใช้เป็นแอนติเจนสำหรับฉีดกระต่ายต่อไป

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา -ตุลาคม 2546 – กันยายน 2549

สถานที่ - กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเตรียมแหล่งของเชื้อสาเหตุ

ผลปรากฏว่าอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่มีผงถ่าน (activated charcoal) 0.3 % ผสมอยู่ สามารถชักนำให้ตาข้างของอ้อยเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าสูตรอาหาร MS อย่างเดียวภายในเวลา 6 สัปดาห์ เพราะผงถ่านช่วยให้การพัฒนาเป็นต้นอ่อนมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ต้นอ่อนของอ้อยปกติเจริญได้ดี สามารถแตกขยายเป็นต้นอ่อนพร้อมรากในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายในเวลา 4 สัปดาห์ แต่ต้นอ่อนของอ้อยที่เป็นโรคใบขาวมีการเจริญช้ากว่าอ้อยปกติ เป็นผลจากการที่เชื้อแพร่กระจายอยู่ในท่ออาหารของเซลล์พืช ทำให้เป็นอุปสรรค์ต่อการลำเลียงธาตุอาหารจากรากขึ้นสู่ยอดอ่อน โดยต้นอ่อนของอ้อยที่เป็นโรคเริ่มแสดงอาการใบเขียวหรือมีลักษณะใบขาวเล็กน้อยในระยะ1-2 เดือนแรก ต่อมาใบเปลี่ยนเป็นสีขาวเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 5-6 และได้มีการทดลองแล้วว่า ต้นอ้อยที่เป็นโรคใบขาวที่เพิ่มปริมาณในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีปริมาณของเชื้อไฟโตพลาสมาสูงกว่าในต้นอ้อยที่ปลูกในดิน (นงลักษณ์ และคณะ 2537) ฉะนั้นจึงใช้ต้นอ้อยที่เลี้ยงขยายในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นแหล่งของเชื้อสำหรับใช้ในการผลิตแอนติซีรัม

2. การเตรียมแอนติเจน

สารแขวนลอยของเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวที่ได้จากการแยกเชื้อแบบกึ่งบริสุทธิ์ (partial purification) มีสีเขียวอ่อน แสดงว่าอาจมีโปรตีนของพืชปะปนอยู่ ฉะนั้นหลังจากนำไปฉีดกระต่ายเพื่อผลิตแอนติซีรัมแล้ว ต้องทำการ cross-absorb กับน้ำคั้นอ้อยที่ไม่เป็นโรค ก่อนที่จะนำไปตรวจสอบโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ขณะนี้กำลังขยายจำนวนต้นอ่อนอ้อยที่เป็นโรคในอาหารสังเคราะห์ ให้มีปริมาณเพียงพอสำหรับฉีดกระต่าย ทุกสองสัปดาห์ จำนวน 6 ครั้ง เพื่อผลิตแอนติซีรัม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS ที่มีผงถ่าน (activated charcoal) 0.3 % ผสมอยู่ สามารถชักนำให้ตาข้างของอ้อยเจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าสูตรอาหาร MS อย่างเดียวภายในเวลา 6 สัปดาห์ ต้นอ่อนของอ้อยปกติเจริญได้ดี สามารถแตกขยายเป็นต้นอ่อนพร้อมรากในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายในเวลา 4 สัปดาห์ แต่ต้นอ่อนของอ้อยที่เป็นโรคใบขาวมีการเจริญช้ากว่าอ้อยปกติ โดยต้นอ่อนของอ้อยที่เป็นโรคเริ่มแสดงอาการใบเขียวหรือมีลักษณะใบขาวเล็กน้อยในระยะ 1-2 เดือนแรก ต่อมาใบเปลี่ยนเป็นสีขาวเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 5-6 ดังนั้นต้นอ่อนของอ้อยเป็นโรคใบขาวที่สามารถนำมาใช้ในการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ควรมีอายุ 5-6 เดือน เพราะมีการแตกกอและแสดงอาการของโรคช้ากว่าอ้อยปกติ เมื่อแยกได้ปริมาณเชื้อไฟโต

พลาสมาเพียงพอจึงนำไปฉีดกระต่ายทุกสองสัปดาห์เพื่อผลิตแอนติซีรัม

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, วนิดา ฐิตะฐาน และ อรทัย เอื้อตระกูล. 2543. ชุดตรวจสอบโรคเหี่ยวของปทุมมา. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา. 10(3) : 57-61.

นงลักษณ์ ศรินทุ รังสี เจริญสถาพร และดวงใจ ชูปัญญา. 2537. การพัฒนาวิธีการแยกเชื้อมายโคพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวอ้อยเพื่อการผลิตแอนติซีรัม. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2537. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 54-58.

สุรภี กีรติยะอังกูร, กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร และ นวลจันทร์ ดีมา. 2534. เครื่องมือสนามสำหรับตรวจไวรัสของกล้วยไม้. นสพ. กสิกร 64(4): 367-371.

อมรา สนิมทอง. 2539. ชุด ELISA Test Kit สำหรับตรวจสอบสารพิษแอฟลาทอกซิน. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา. 6(2) : 43-44.

Chen, C.T. 1974. Sugarcane white leaf disease in Thailand and Taiwan. *Sugarcane Pathologists' Newsletter* 11/12: 23.

Clark, M.F., D.L. Davies, S.L. Buss and A. Morton. 1988. Serological descrimination among mycoplasma-like organisms using polyclonal and monoclonal antibodies. *Acta Horticulturae* 235:107-113.

Maramorosch, K., M. Kimura and S. Chareonridhi. 1975. Mycoplasmalike organisms associated with white leaf disease in Thailand. *FAO Plant Protection Bulletin* 23: 137-139.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant.* 15: 473-479.

Sarindu, N. and M.F. Clark. 1993. Antibody production and serological identity of MLOs associated with sugarcane whiteleaf disease from Thailand. *Plant Pathology*. 42:396-402.

Yang, S.L. and Y.S. Pan. 1970. Bionomics of *Matsumuratettix hiroglyphicus* Matsumura, an insect vector of sugar-cane white leaf disease, Development in relation to host plants. Report Taiwan Sugar Experiment Station. 50: 73-79.

รายงานผลงานวิจัยปี 2547

รหัสกิจกรรม	05 – 01 – 47 - 1102

47 / สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช / กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

1. **ชื่อ แผนงานหลัก** 3.1 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงขยายพันธุ์ พิสูจน์พันธุ์ ตรวจสอบพืช ศัตรูพืชและจุลินทรีย์
2. **ชื่อกรอบโครงการวิจัย** 3.1.1 เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ขยายพันธุ์ และพิสูจน์พันธุ์
3. **ชื่อโครงการวิจัย** 3.1.1 ข้อ 11 การประเมินความปลอดภัยของมะละกอดัดแปรพันธุกรรม
   ชื่อโครงการย่อย การทดสอบความปลอดภัยทางด้านอาหารของมะละกอดัดแปรพันธุกรรม
4. **ชื่อการทดลอง** (ชื่อภาษาไทย) ทดสอบความปลอดภัยจากการบริโภคมะละกอตัดต่อพันธุกรรม

   สายพันธุ์แขกนวล 319-1KN-181สายพันธุ์แขกดำ 300 KD ต่อ

   หนูนอรเว,*Rattus norvegicus*สายพันธุ์ Wistar

   (ชื่อภาษาอังกฤษ) Food Safty, Test of 2 Varieties of Transgenic Papaya, Kaek Nuan 319-1KN-181 and Kaek Dam 300 KDon the Norway Rat, *Rattus norvegicus* Wistar Strain
5. **พืช / สาขาวิชา / สาขาวิชาย่อย** มะละกอ / สัตววิทยา
6. **ประเภทงานวิจัย (พื้นฐาน/ประยุกต์/พัฒนา)** พื้นฐาน
7. **ผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้า พวงทอง บุญทรง

   ผู้ร่วมงาน ปราสาททอง พรหมเกิด

   ปิยาณี หนูกาฬ
8. **ระยะเวลา เริ่มต้น** ต.ค. 2544 **สิ้นสุด** ก.ย. 2548
9. **รายงานความก้าวหน้า**

จากการที่หนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่กินอาหารเลี้ยงหนู และมะละกอ แขกนวล ตามแผนการทดลอง เมื่อเลี้ยงในอุณหภูมิห้องและแสงสว่างตามธรรมชาติในห้องปฏิบัติการที่คลุมด้วยตาข่ายไนล่อนเพื่อป้องกันแมลง ได้ผลการทดลองดังนี้ **กลุ่มที่1** หนูกินมะละกอดิบธรรมดา **กลุ่มที่** 2 หนูกินมะละกอสุกธรรมดา

กลุ่มที่ 3 หนูกินมะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม **กลุ่มที่** 4 หนูกินมะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม **และกลุ่มเปรียบเทียบ**หนูกินอาหารเลี้ยงหนูอย่างเดียวเป็นเวลา15 สัปดาห์ พบว่า หนูตัวผู้ทั้ง 5 กลุ่มมีน้ำหนักเฉลี่ย 326, 343.6, 331.2, 351.2, และ 339.6 กรัม ตามลำดับ และหนูตัวเมียมีน้ำหนักเฉลี่ย 344, 266.5, 254.2, 260.5 และ 321.5 กรัม ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มของทั้งตัวผู้และตัวเมียไม่แตก ต่างทางสถิติ (P> 0.05) เมื่อทำการจับคู่ผสมพันธุ์หนูตัวผู้และตัวเมียแต่ละกลุ่ม พบว่าจำนวนหนูตัวเมียที่ถูกผสม100,100,100,100 และ100%ตามลำดับ ส่งผลให้มีจำนวนหนูตั้งท้อง 100, 100, 100, 100 และ100%ตามลำดับ การทดลองยังไม่เสร็จสิ้น เนื่องจากคณะกรรมการกลางด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ แห่งชาติ ซึ่งควบคุมการทดสอบความปลอดภัยทางด้านอาหารของมะละกอดัดแปรพันธุกรรมต้องการให้ทำการทดลองนี้ใหม่ ภายใต้ห้องทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส และ คุมแสงสว่างมืด 1ชั่วโมง สว่าง 12 ชั่วโมง ตลอดการทดลอง เพื่อให้วิธีการทดลองเป็นมาตรฐานสากล ซึ่งจะดำเนินการทดลองซ้ำต่อไปภายใต้สภาพห้องทดลองดังกล่าวเมื่อสามารถจัดหาได้

10. **คำค้น (Keywords)** Food Safty Test ,Transgenic Papaya,หนูนอรเวสายพันธุ์วิสต้า, (Norway
Rat, Wistar Strain), มะละกอพันธุ์แขกนวล (Kaek Nuan Papaya), มะละกอพันธุ์แขกดำ (Kaek Dam Papaya)

สำรวจ รวบรวม จำแนก และอนุรักษ์สายพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp.จากแหล่งวัสดุต่าง ๆ

อัจฉรา พยัพพานนท์ **นันทินี ศรีจุมปา**
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การสำรวจ รวบรวมสายพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp. จากแหล่งวัสดุต่าง ๆ เป็นโอกาสที่จะได้เชื้อพันธุ์ที่มี คุณภาพดีให้ผลผลิตสูง เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตดอกเพื่อบริโภค สำหรับไว้เป็นพันธุ์แนะนำเกษตรกร จึงได้ทำการสำรวจรวบรวมเชื้อพันธุ์ *Coprinus* spp. จากแหล่งวัสดุต่างๆ พร้อมทดสอบคุณสมบัติทางสรีระวิทยาและทำให้เกิดดอกโดยเพาะด้วยขี้เลื่อยหมักฟางข้าวหมักที่อบไอน้ำบนชั้นเพาะในโรงเรือนตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 –กันยายน 2547 พบว่า

1. ได้เห็ด จำนวน 40 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บจากฟางข้าว ฟางหมัก และขี้ฝ้ายหมัก จำนวน 18 ตัวอย่าง จากจ. สระบุรี, สิงห์บุรี, เชียงใหม่, เชียงราย, ระยอง, พระนครศรีอยุธยา, สุพรรณบุรี, กาญจนบุรี, กรุงเทพมหานคร ทะลายปาล์มน้ำมัน 8 ตัวอย่าง จาก จ. สุราษฎร์ธานี, สตูล, ชุมพร, ราชบุรี และสิงห์บุรี ขี้เลื่อย 3 ตัวอย่าง จาก จ. กรุงเทพมหานคร, นครปฐม, และราชบุรี เปลือกถั่วเขียว 2 ตัวอย่าง จาก จ. สระบุรี สบู่ดำ 2 ตัวอย่าง จาก จ. กรุงเทพมหานคร ใบกล้วย 1 ตัวอย่าง จาก อ. บางพระ จ. ชลบุรี เปลือกกาแฟ 2 ตัวอย่าง จาก จ. กรุงเทพมหานคร ขอนไม้ 1 ตัวอย่าง จาก จ. กรุงเทพมหานคร เปลือกมัน 1 ตัวอย่าง จาก อ. สี่คิ้ว จ. นครราชสีมา และพันธุ์การค้า 2 ตัวอย่าง จากศูนย์ไอโอเทค จ. ปทุมธานี และ *Coprinus comatus* M8102 จากประเทศเดนมาร์ก

2. เส้นใยเห็ด *Coprinus* spp. จำนวน 14 ตัวอย่างที่ทดสอบ สามารถเจริญได้บนพีดีเอที่อุณหภูมิ 15°ซ - 45°ซ โดยเชื้อพันธุ์ จำนวน 9 ตัวอย่าง เจริญได้รวดเร็ว เต็มจานแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 35° ซม. ภายใน 7 วัน, ที่อุณหภูมิ 15°ซ เจริญได้เล็กน้อยส่วนที่อุณหภูมิ 45°ซ เส้นใยเจริญได้เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 4.5 ซม.ภายใน 15 วัน

3. มีการสร้างคลามายโดสปอร์ ภายใน 1 เดือน บนและใต้พีดีเอ จำนวน 27 ตัวอย่าง และพัฒนาเป็นดอกเห็ดจำนวน 13 ตัวอย่างบนพีดีเอ

4. เชื้อพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp. จำนวน 15 ตัวอย่างที่เพาะช่วงเดือนกรกฎาคมและเดือนกันยายน 2547

รหัส 05-02-47-0701-01

พบว่ามี 7 เชื้อพันธุ์ที่เพาะช่วงเดือนกรกฎาคมแล้วให้ผลผลิต 1-2.3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร การสำรวจรวบรวม จำแนก และอนุรักษ์สายพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp. จากแหล่งวัสดุต่าง ๆ เพื่อใช้ประโยชน์ เป็นงานที่กำลังปฏิบัติต่อเนื่องในปี พ.ศ.2548

คำนำ

เห็ด*Coprinus* spp. ได้มีการเพาะเพื่อบริโภคด้วยการดองน้ำเกลือบรรจุในขวดจำหน่ายมาเป็นเวลานานกว่า 5 ปี จึงมีแนวโน้มจะเป็นเห็ดเศรษฐกิจในอนาคต การจะขยายการผลิตให้มีปริมาณมากขึ้นและมีคุณภาพดีขึ้นตามความต้องการของตลาด ปัจจัยหลัก ประการหนึ่ง คือ พันธุ์เห็ด ซึ่งต้องมีการวิจัยพัฒนาเร่งด่วนเพื่อจะได้พันธุ์หรือสายพันธุ์เหล่านั้นไปขยายใช้บริการเป็นสายพันธุ์เพาะให้กับเกษตรกรต่อไป

การเก็บรวบรวมพันธุ์เห็ดเพื่อการจำแนก (อนงค์และคณะ 2541, อุราภรณ์ 2542) หรือศึกษาปริมาณชนิดในแต่ละพื้นที่ เขต ภาค เพื่อเป็นข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพหรือความหลากหลายของเห็ด (Diversity of macrofungi) Petcharat (2000) ได้สำรวจและเก็บรวบรวมพันธุ์เห็ดจากไม้ (woodland) และ grass land และอื่นๆ ในเขตพื้นที่จังหวัดสงขลา ซึ่งจำแนกได้ 116 genera ใน 53 ตระกูล ระหว่างปี ค.ศ. 1993-1998 จะเห็นว่าสภาพภูมิศาสตร์ ดินฟ้าอากาศของไทย สนับสนุนการแพร่หลาย และการเกิดเห็ดได้หลากหลายชนิด ซึ่งเห็ด *Coprinus* spp. เป็นเห็ดชอบอากาศร้อนชื้น เจริญเติบเร็วเกิดได้บนวัสดุชนิดต่างๆจึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะได้ชนิดและสายพันธุ์ที่ต่างๆกันเพื่อจะได้นำไปศึกษาคัดเลือกให้ได้สายพันธุ์ที่สามารถจะให้ผลผลิตได้ดีหรือให้สารทีมีประโยชน์

การคัดเลือกชนิดและสายพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp. ที่เกิดบนวัสดุอย่างจำเพาะ เช่น เกิดบนฟางข้าว หรือบนทะลายปาล์มน้ำมัน เปลือกฝักถั่วเหลืองเพื่อจะได้ใช้เป็นสายพันธุ์ส่งเสริมให้ใช้เพาะเฉพาะเจาะจงกับฟางข้าว หรือทะลายปาล์มน้ำมัน ซึ่งมีความเหมาะสมช่วยให้เพาะได้ง่าย ได้มาก และเป็นเห็ดที่มีคุณภาพดียิ่งขึ้น แตกต่างกับปัจจุบันที่ใช้สายพันธุ์ตัวเดียวกันเพาะกับวัสดุหลากชนิด

วัตถุประสงค์ในการศึกษาเพื่อรวบรวมสายพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp. จากแหล่งต่างๆ เพื่อจำแนกและ คัดเลือกไว้เป็นประโยชน์ทางการค้า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างดอกเห็ด *Coprinus* spp.จากธรรมชาติที่เจริญบน :

1.1 ฟางข้าว จาก จ. พระนครศรีอยุธยา, สิงห์บุรี, ระยอง, สระบุรี, เชียงใหม่, เชียงราย, กาญจนบุรีกรุงเทพมหานคร

1.2 ทะลายปาล์มน้ำมัน จาก จ. ชุมพร, สุราษฎร์ธานี, ราชบุรี, สตูล, สิงห์บุรี

1.3 เปลือกถั่วเขียว ถั่วเหลือง จาก จ. สระบุรี

1.4 เปลือกมันสำปะหลัง จาก จ. นครราชสีมา

1.5 ขี้เลื่อย จาก จ. ราชบุรี, นครปฐม, กรุงเทพมหานคร

1.6 วัสดุอื่นๆ

และทำการบันทึกลักษณะดอกเห็ดและแหล่งเก็บดอกเห็ด

2. การแยกและเก็บเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีตัดเนื้อเยื่อเลี้ยงบนอาหาร พีดีเอ เก็บรักษาเส้นใยไว้บนพีดีเอ

3. ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดสายพันธุ์จากข้อ 1

3.1 โดยนำเส้นใยเห็ดที่แยกไว้ได้มาเลี้ยงบนอาหารพีดีเอ บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28-35°ซ.)ทำการบันทึก

การเจริญของเส้นใยในแนวราบลักษณะของเส้นใยและการสร้างคลามายโดสปอร์ แล้วคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดที่มีลักษณะดี ไว้เป็นสายพันธุ์เพาะทดสอบในระดับโรงเรือน

3.2 ทดสอบ การเจริญของเส้นใยเห็ดจำนวน 14 ตัวอย่าง บนพีดีเอที่อุณหภูมิ 15, 20, 35 และ 45°ซ

4. ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดดอกเห็ด*Coprinus* spp.บนปุ๋ยหมักใน ระดับโรงเรือน

4.1 เพาะทดสอบเบื้องต้นโดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 4 ซ้ำ 14 กรรมวิธี (จำนวนสายพันธุ์)

4.2 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี (ตัวอย่าง)

เชื้อเห็ดที่คัดเลือกได้จาก ข้อ 1 จำนวน 8 สายพันธุ์ Cop 1, C45-สตูล, C46-อนท., C44-ระยอง

C46-ทลป-สิงห์บุรี, C46-DOA-5, C45-พระนครศรีอยุธยา-2, C44-สร-3 เพาะทดสอบเดือนกรกฎาคม 2547 และเชื้อพันธุ์ C47-DOA-7, C47-ทลป-ท่าแซะ, C47-DOA-8, C47-ศรีมหาโพธิ์, C47-สระบุรี-1, C47-ทลป-ราชบุรี, C46-อนท.C47-บางพระ เพาะทดสอบเดือนกันยายน 2547 นำมาทำการขยายเชื้อลงเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว บ่มหัวเชื้อที่อุณหภูมิ 30-35°ซ. นำไปเพาะในปุ๋ยหมัก ที่ผ่านการ

หมักกับอาหารเสริม เป็นเวลา 8 วัน บรรจุบนชั้นในในโรงเรือนอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 60-65°ซ. เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

4.3 บันทึกอุณหภูมิ, ความชื้นในและนอกโรงเรือนเพาะ ลักษณะการเจริญของสายพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp. บนแปลงเพาะในโรงเรือนและน้ำหนักผลผลิต

5. อนุรักษ์ โดยเก็บรักษาไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2546-กันยายน 2547 สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างเชื้อพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp. จากแหล่งธรรมชาติ

รวบรวมตัวอย่างเชื้อพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp. ได้จำนวน 40 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บจากฟางข้าว, ฟางหมัก และ

ขี้ฝ้ายหมัก จำนวน 18 ตัวอย่าง จาก จ. สระบุรี, สิงห์บุรี, เชียงใหม่, เชียงราย, ระยอง, พระนครศรีอยุธยา, สุพรรณบุรี, กาญจนบุรี, กรุงเทพมหานคร ทะลายปาล์มน้ำมัน 8 ตัวอย่าง จาก จ. สุราษฎร์ธานี, สตูล, ราชบุรี และสิงห์บุรี ขี้เลื่อย 3 ตัวอย่าง จาก จ. กรุงเทพมหานคร, นครปฐม และราชบุรี เปลือกถั่วเขียว 2 ตัวอย่าง จาก จ. สระบุรี สบู่ดำ 2 ตัวอย่าง จาก กรุงเทพมหานคร ใบกล้วย 1 ตัวอย่าง จาก อ. บางพระ จ. ชลบุรี เปลือกกาแฟ 2 ตัวอย่าง จาก จ. กรุงเทพมหานคร ขอนไม้ 1 ตัวอย่าง จาก จ. กรุงเทพมหานคร เปลือกมัน 1 ตัวอย่าง จาก อ. สีคิ้ว จ. นครราชสีมา และพันธุ์การค้า 2 ตัวอย่าง C46-อนท. จากศูนย์ไบโอเทค จ. ปทุมธานี และ *Coprinus comatus* M8102 จากประเทศเดนมาร์ก

2. การเจริญของเส้นใยเชื้อพันธุ์เห็ด *Coprinus* spp. ที่อุณหภูมิ 15, 20, 35, 45°ซ เชื้อเห็ดทุกตัวอย่างเจริญได้ดีที่ อุณหภูมิ 35 °ซ แต่เจริญช้าที่อุณหภูมิ 15°ซ ส่วนที่อุณหภูมิ 45°ซ เส้นใยเจริญช้าเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3)

(ข้อมูลผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยยังมิได้วิเคราะห์ตัวเลขทางสถิติ)

3. การสร้างคลามายโดสปอร์ของเส้นใยเห็ด *Coprinus* spp. พบว่ามีจำนวน 27 เชื้อพันธุ์ และเชื้อพันธุ์จำนวน 13 ตัวอย่าง ที่เส้นใยพัฒนาเป็นดอกได้บนพีดีเอ (ตารางที่ 2)

4. ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดดอกเห็ด *Coprinus* spp. ในโรงเรือน

4.1 ผลการทดสอบเชื้อพันธุ์เห็ดด้วยอาหารเพาะ 3 ชนิด ในตะกร้าในโรงเรือนพบว่าเห็ดเกิดดอกได้ทุกอาหาร

เพาะแต่ฟางข้าวหมักจะดีกว่าที่วัสดุเพาะฟางข้าวหาได้ง่ายและมีราคาถูกกว่าขี้เลื่อย

4.2 ผลการทดสอบเชื้อพันธุ์เห็ดด้วยฟางข้าวหมักในโรงเรือน

4.2.1 ผลการทดสอบช่วงเดือนกรกฎาคม 2547

พบว่าเชื้อพันธุ์ Cop-1 ให้ผลผลิตสูงกว่าแต่ไม่มีนัยสำคัญกับเชื้อพันธุ์ C45-สตูล,C46-อนท.(พันธุ์การค้า), C46-ทลป-สิงห์บุรี และC44-ระยอง (ตารางที่ 3)

4.2.2 ผลการทดสอบช่วงเดือนกันยายน 2547

พบว่าเชื้อพันธุ์ C47-DOA-7 ให้ผลผลิตสูงกว่าแต่ไม่มีนัยสำคัญกับเชื้อพันธุ์ C47-ทลป-ท่าแซะ, C47-DOA-8 และ C47-ศรีมหาโพธิ์ และให้ผลผลิตสูงกว่า C46-อนท. (พันธุ์การค้า) เชื้อพันธุ์เห็ดที่เพาะได้ดีด้วย ฟางข้าวช่วงเดือนกรกฎาคม-กันยายน จะเป็นเชื้อพันธุ์เห็ด C47-DOA-7, C47-DOA-8, Cop-1 ซึ่งแยกจากฟางข้าว ส่วนตัวอย่างที่เก็บจากทะลายปาล์มน้ำมันคือ C45-สตูล, C47-ทลป-ท่าแซะ ซึ่งให้ผลผลิตดีเมื่อเพาะกับฟางข้าวหมักจะได้ทดสอบกับทะลายปาล์มน้ำมันต่อไป

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ รวบรวม เห็ด *Coprinus* spp.จากวัสดุต่างๆ ใน พ.ศ. 2547 ได้เชื้อพันธุ์เห็ดไม่น้อยกว่า 3 ตัวอย่าง ที่ดีซึ่งจะได้นำไปทดสอบขยายในแปลงเกษตรกรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

อนงค์ จันทร์ศรีกุล อุทัยวรรณ แสงวณิช และนันทินี ศรีจุมปา. 2541.เห็ดป่าจังหวัดอุบลราชธานี. เห็ดไทย.2540-41. พิมพ์ที่ บริษัทนิวธรรมดา การพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด หน้า 1-4

อุราภรณ์ สะอาดสุด. 2542. เห็ดป่าพื้นเมือง บริเวณอุทยานแห่งชาติดอยสุเทพปุย. เห็ดไทย 2542. พิมพ์ที่ บริษัทนิวธรรมดา การพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด หน้า 39-42

Petcharat V. 2000. Diversity of macro fungi (basidiomycetes) in Songkla province , Southern Thailand. 104 p. Abstract in Asian Mycological Congress 2000. Hong Kong SAR, China. 128 pp.

ตารางที่ 1 เชื้อเห็ด *Coprinus* spp. ที่เก็บและรวบรวมจากแหล่งต่างๆ

ลำดับที่	ชื่อเชื้อพันธุ์	แหล่งเก็บ
1	Cop-1	ฟางข้าวหมัก จ. กรุงเทพมหานคร
2	Cop-2	ฟางข้าวหมัก จ. กรุงเทพมหานคร
3	C44-Sb-2	ฟางข้าว จ. สระบุรี
4	C44-DOA-1	ฟางข้าวหมัก จ. กรุงเทพมหานคร
5	C44-สร-1	ทะลายปาล์มน้ำมัน จ. สุราษฎร์ธานี
6	C44-เชียงใหม่	ฟางข้าวหมัก จ. เชียงใหม่
7	C44-ระยอง	ฟางข้าวหมัก จ. ระยอง
8	C44-สุพรรณบุรี	ฟางข้าวหมัก จ. สุพรรณบุรี
9	C44-สร-2	ทะลายปาล์มน้ำมัน อ. พระแสง จ. สุราษฎร์ธานี
10	C44-กาญจนบุรี	ฟางข้าวหมัก จ. กาญจนบุรี
11	C44-พระนครศรีอยุธยา	ฟางข้าวหมัก จ. พระนครศรีอยุธยา
12	C44-สร-3	ทะลายปาล์มน้ำมัน จ. สุราษฎร์ธานี
13	C44-DOA-2	ฟางข้าวหมัก จ. กรุงเทพมหานคร
14	C45-สตูล	ทะลายปาล์มน้ำมัน จ. สตูล
15	C45-ราชบุรี	ทะลายปาล์มน้ำมัน จ. ราชบุรี
16	C45-กาแฟ	เปลือกกาแฟ จ. กรุงเทพมหานคร
17	C45-อ. พาน	ฟางข้าว จ. เชียงราย
18	C45-เชียงราย	ฟางข้าวหมัก จ. เชียงราย
19	C45-พระนครศรีอยุธยา-2	ฟางข้าวหมัก จ. พระนครศรีอยุธยา
20	C45-สิงห์บุรี	ฟางข้าวหมัก จ. สิงห์บุรี
21	C45-สุเทพ	ฟางข้าวหมัก จ. สระบุรี
22	C46-DOA-3	ก้อนขี้เลื่อย จ. กรุงเทพมหานคร
23	C46-ทลป-สิงห์บุรี	ทะลายปาล์มน้ำมัน จ. สิงห์บุรี
24	C46-ขอนไม้	ขอนไม้ จ. กรุงเทพมหานคร
25	C46-DOA-4	ปุ๋ยเพาะเห็ดฟาง จ. กรุงเทพมหานคร
26	C46-DOA-5	เปลือกสบู่ดำ จ. กรุงเทพมหานคร
27	C46-DOA-6	เปลือกสบู่ดำ จ. กรุงเทพมหานคร
28	C47-DOA-7	ฟางข้าวหมัก จ. กรุงเทพมหานคร

29	C47-DOA-8	ปุ๋ยเพาะเห็ดฟาง จ. กรุงเทพมหานคร
ลำดับที่	**ชื่อเชื้อพันธุ์**	**แหล่งเก็บ**
30	C47-ทลป-ท่าแซะ	ทะลายปาล์มน้ำมัน จ. ชุมพร
31	C47-ทลป-ราชบุรี	ทะลายปาล์มน้ำมัน หมักเพาะเห็ดฟาง จ. ราชบุรี
32	C47-ศรีมหาโพธิ์	ถุงขี้เลื่อย จ. นครปฐม
33	C47-วัดวังแก้ว	กองขี้เลื่อยเก่า จ. ราชบุรี
34	C47-สระบุรี-1	เปลือกถั่วเขียว จ. สระบุรี
35	C47-สระบุรี-2	เปลือกถั่วเขียวหมักเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน จ. สระบุรี
36	C47-สี่คิ้ว	เปลือกมันสำปะหลัง จ. นครราชสีมา
37	C47-บางพระ	ใบกล้วย อ. บางพระ จ. ชลบุรี
38	C47-เวียงป่าเป้า	ฟางข้าวหมักเพาะเห็ดฟาง จ. เชียงราย
39	C46-อนท.	พันธุ์ทางการค้า ศูนย์ไบโอเทค จ. ปทุมธานี
40	*C. comatus* M8102	พันธุ์ทางการค้า ประเทศเดนมาร์ก

ตารางที่ 2 ลักษณะเส้นใยของ เชื้อเห็ด *Coprinus* spp.

ลำดับที่	ชื่อเชื้อพันธุ์	ลักษณะเส้นใย
1	Cop-1	เส้นใยสีขาวหนาและมีความเหนียว ไม่สร้างคลามายโดสปอร์
2	Cop-2	เส้นใยสีขาว หนา มีความเหนียว ไม่สร้างคลามายโดสปอร์
3	C44-Sb-2	เส้นใยสีเหลืองมีคลามายโดสปอร์
4	C44-DOA-1	เส้นใยสีเหลืองนวลค่อนข้างฟู ไม่สร้างคลามายโดสปอร์
5	C44-สร-1	เส้นใยสีขาวนวลและมีความเหนียว ไม่สร้างคลามายโดสปอร์
6	C44-เชียงใหม่	เส้นใยสีขาวพบคลามายโดสปอร์เป็นเม็ดสีน้ำตาลทั่วบริเวณหน้าและลงในพีดีเอ
7	C44-ระยอง	เส้นใยสีขาวพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์
8	C44-สุพรรณบุรี	เส้นใยสีขาว หนา และมีความเหนียว ไม่สร้างคลามายโดสปอร์
9	C44-สร-2	เส้นใยสีขาวนวลพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์สีดำเจริญลงพีดีเอ
10	C44-กาญจนบุรี	เส้นใยสีขาว พบคลามายโดสปอร์สีน้ำตาลเป็นเม็ดขึ้นขอบขวด
11	C44-พระนครศรีอยุธยา	เส้นใยสีขาวเจริญราบกับอาหาร
12	C44-สร-3	เส้นใยสีเหลืองนวล เส้นใยฟู เป็นเม็ดสีน้ำตาลขึ้นขอบขวด
13	C44-DOA-2	เส้นใยสีขาวเดินบางมากบนพีดีเอ
14	C45-สตูล	เส้นใยสีขาวพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์เป็นเม็ดสีน้ำตาล

15	C45-ราชบุรี	เส้นใยสีขาวนวลพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์สีน้ำตาลเป็นเม็ด
16	C45-กาแฟ	เส้นใยสีขาวนวลออกเหลืองพัฒนาเป็นดอก มีคลามายโดสปอร์สีน้ำตาล

ลำดับที่	ชื่อเชื้อพันธุ์	ลักษณะเส้นใย
17	C45-อ. พาน	เส้นใยสีขาว เส้นใยหนา ไม่พบคลามายโดสปอร์บนพีดีเอ
18	C45-เชียงราย	เส้นใยสีขาวมีคลามายโดสปอร์เป็นเม็ดสีน้ำตาลบนพีดีเอ
19	C45-พระนครศรีอยุธยา-2	เส้นใยสีขาวพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์เป็นดอกบนพีดีเอ
20	C45-สิงห์บุรี	เส้นใยสีขาวเจริญราบบนผิวพีดีเอ
21	C45-สุเทพ	เส้นใยสีเหลืองนวลฟู พบคลามายโดสปอร์บนพีดีเอ
22	C46-DOA-3	เส้นใยสีขาวนวลพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์สีน้ำตาล เป็นเม็ดสีน้ำตาลทั้งผิวหน้าและในพีดีเอ
23	C46-ทลป-สิงห์บุรี	เส้นใยสีขาวนวลพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์เป็นเม็ดสีน้ำตาล
24	C46-ขอนไม้	เส้นใยบางเจริญราบกับพีดีเอ
25	C46-DOA-4	เส้นใยสีเหลืองนวลพัฒนาเป็นดอก มีคลามายโดสปอร์เป็นเม็ดสีน้ำตาลทั่วทั้งผิวหน้าและเจริญลงพีดีเอและสีวุ้นเป็นสีน้ำตาล
26	C46-DOA-5	เส้นใยสีขาวเหลือง พบคลามายโดสปอร์เป็นเม็ดสีน้ำตาล
27	C46-DOA-6	เส้นใยสีขาวพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์เป็นเม็ดสีน้ำตาลทั่วไปบริเวณผิวหน้าและในพีดีเอ
28	C47-DOA-7	เส้นใยละเอียด พบคลามายโดสปอร์เป็นเม็ดเล็กๆ สีน้ำตาลลักษณะซ้อนเป็นวงบนผิวพีดีเอ
29	C47-DOA-8	เส้นใยละเอียด สีเหลืองนวลพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์
30	C47-ทลป-ท่าแซะ	เส้นใยละเอียดสีขาว พบคลามายโดสปอร์
31	C47-ทลป-ราชบุรี	เส้นใยละเอียดสีขาว
32	C47-ศรีมหาโพธิ์	เส้นใยสีเหลืองอ่อน พบคลามายโดสปอร์ทั่วผิวหน้าพีดีเอ
33	C47-วัดวังแก้ว	เส้นใยสีขาวละเอียดฟู พบคลามายโดสปอร์เป็นวงซ้อนกัน
34	C47-สระบุรี-1	เส้นใยสีขาวนวล ไม่พบคลามายโดสปอร์
35	C47-สระบุรี-2	เส้นใยสีเหลืองอ่อน พบคลามายโดสปอร์มีเม็ดสีน้ำตาล
36	C47-สี่คิ้ว	เส้นใยสีขาวละเอียด เจริญราบกับผิวพีดีเอ
37	C47-บางพระ	เส้นใยสีขาว พบคลามายโดสปอร์ซ้อนเป็นชั้นๆ บนผิวพีดีเอ
38	C47-เวียงป่าเป้า	เส้นใยสีขาว พบคลามายโดสปอร์บริเวณส่วนกลางผิวหน้าพีดีเอ

39	C46-อนท.	เส้นใยสีขาวพัฒนาเป็นดอก มีคลามายโดสปอร์สีน้ำตาลทั่วผิวหน้าพีดีเอ
40	*C. comatus* M8102	เส้นใยสีขาวพัฒนาเป็นดอก พบคลามายโดสปอร์เป็นเม็ดสีน้ำตาลขึ้นบริเวณทั่วไปทั้งผิวด้านหน้าและด้านหลังพีดีเอและขอบขวด

ตารางที่ 3 การเจริญของเส้นใยเห็ด *Coprinus* spp.บนอาหารพีดีเอ ที่อุณหภูมิต่างๆ ระยะเวลา 7 วัน

ลำดับที่	ชื่อเชื้อพันธุ์เห็ด	∅ (ซม.) อุณหภูมิ (°ซ)			
		15	20	35	45
1	C47-ศรีมหาโพธิ์	1.3	4.6	8.7	0.8
2	C47-ทลป-ท่าแซะ	1.0	4.4	8.0	-
3	C47-ทลป-ราชบุรี	-	1.22	6.7	0.2
4	C47-DOA-7	-	3.3	7.7	0.2
5	C47-DOA-8	-	3.0	7.5	0.8
6	C47-สระบุรี-2	1.3	4.6	9.0	-
7	C46-ทลป-สิงห์บุรี	0.2	3.8	7.3	1.3
8	C46-อนท.	0.4	2.3	9.0	0.8
9	C46-DOA-5	0.2	2.1	9.0	1.1
10	C45-พระนครศรีอยุธยา-2	-	4.8	9.0	-
11	C45-สตูล	0.7	2.6	9.0	1.7
12	C44-สร-3	0.2	5.1	9.0	1.1
13	C44-ระยอง	0.6	1.3	6.6	-
14	Cop-1	-	2.1	2.9	1.3

หมายเหตุ : เครื่องหมาย **-** ในช่วง 7 วัน เส้นใยยังไม่เจริญ

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบผลผลิตเฉลี่ย น้ำหนักเห็ด*Coprinus* spp. (กรัม/ตรม.) จำนวน 8 เชื้อพันธุ์ เพาะด้วยฟางข้าวหมัก เมื่อเดือนกรกฎาคม 2547 ที่กรุงเทพมหานคร

ลำดับที่	เชื้อพันธุ์เห็ด *Coprinus* sp.	ค่าเฉลี่ย
1	Cop 1	730.0 a
2	C45-สตูล	683.3 ab
3	C46-อนท.	651.7 abc

4	C46-ทลป-สิงห์บุรี	533.3 abc
5	C44-ระยอง	443.3 abc
6	C46-DOA-5	384.7 bc
7	C45-พระนครศรีอยุธยา-2	353.3 bc
8	C44-สร-3	323.3 c
	CV	34%

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบผลผลิตเฉลี่ย น้ำหนัก *Coprinus* spp. (กรัม/ตรม.) จำนวน 8 เชื้อพันธุ์ เพาะด้วยฟางข้าวหมัก เมื่อเดือนกันยายน 2547 ที่ กรุงเทพมหานคร

ลำดับที่	เชื้อพันธุ์เห็ด *Coprinus* sp.	ค่าเฉลี่ย
1	C47-DOA-7	2291.7 a
2	C47-ทลป-ท่าแซะ	1846.7 ab
3	C47-DOA-8	1491.7 abc
4	C47-ศรีมหาโพธิ์	1473.3 abc
5	C47-สระบุรี-2	1366.7 bc
6	C47-อนท.	1233.0 bc
7	C47-ทลป-ราชบุรี	1020.0 bc
8	C47-บางพระ	825.0 c
	CV	30.9%

การจำแนก คัดเลือกรา และใช้ประโยชน์จากราสกุล *Rhizoctonia*

Identification Selection and Using from *Rhizoctonia*

พรพิมล อธิปัญญาคม **ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช**

กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้รองเท้านารีจากจังหวัดอุบลราชธานี 1 ตัวอย่าง จากเชียงใหม่ 4 ตัวอย่าง จากกระบี่ 3 ตัวอย่าง และรากกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากจากกรุงเทพ ฯ 3 ชนิด และกระบี่ 1 ชนิด รวมทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ทำการแยกราจากรากพืชในเซลล์ชั้นคอร์เท็ก โดยใช้การแยกจาก peloton ของราในเซลล์ราก ได้ราทั้งหมด 20 สายพันธุ์ และจากการศึกษาการจำแนกชนิดของราไมคอร์ไรซาจากเอื้องดินใบหมาก กรุงเทพ ฯและกระบี่ จำแนกชนิดเป็นรา *Epulorhiza repens* จำนวน 5 สายพันธุ์ สำหรับรากกล้วยไม้รองเท้านารี จังหวัดเชียงใหม่ พบรากลุ่ม *Rhizoctonia* 10 สายพันธุ์ และอีก 5 สายพันธุ์จากจังหวัดกระบี่ ส่วนรากกล้วยไม้รองเท้านารี จังหวัดอุบลราชธานี ไม่สามารถแยกราได้ เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรียมาก

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0801-01

คำนำ

ราสกุล *Rhizoctonia* เป็นราไมคอร์ไรซาชนิดหนึ่งที่เจริญอยู่ร่วมกับรากกล้วยไม้ โดยที่ราสร้างเส้นใยเข้าไปในรากกล้วยไม้ ราเข้าไปเจริญอยู่ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ สร้างโครงสร้างภายในเซลล์เรียกว่า peloton ราชนิดนี้ไม่ไดเข้าทำลายรากพืช แต่จะให้ธาตุอาหารแก่พืช เช่นธาตุคาร์บอน ซึ่งเป็นแหล่งให้พลังงานที่สำคัญกับพืช (Hadley, 1982; Harley and Smith, 1983) ในทางตรงกันข้าม ราสกุลนี้เป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิดได้แก่ โรคใบติดของทุเรียน โรคกาบใบแห้งของข้าว เป็นต้น (Sneh *et al*., 1991) แต่สำหรับความสัมพันธ์กับพืชตระกูลกล้วยไม้แล้ว ราชนิดนี้มีความสัมพันธ์แบบเกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก มีอาหารสะสมในเมล็ดน้อยมากทำให้ไม่มีอาหารไปเลี้ยงในขณะที่กล้วยไม้งอก ดังนั้นเมล็ดกล้วยไม้บางชนิดจึงงอกยากหรือไม่งอกเลย แต่อย่างไรก็ตามในสภาพธรรมชาติพบว่ามีราไมคอร์ไรซาเจริญอยู่ในรากกล้วยไม้แบบแบบเกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน และส่วนใหญ่เป็นราในสกุล *Rhizoctonia* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์กับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ ช่วยให้เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ โดยให้ธาตุอาหารและกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้า (Clements, 1988)

งานวิจัยเรื่องความสัมพันธ์ของราไมคอร์ไรซากับรากกล้วยไม้เริ่มมีการศึกษาตั้งแต่ปี 1899 โดย Bernard เป็นบุคคลแรกที่ศึกษาไมคอร์ไรซากล้วยไม้ พบความสัมพันธ์ที่เฉพาะเจาะจงของรากับกล้วยไม้โดยราช่วยกระตุ้นการเจริญและการงอกของเมล็ด Bernard ได้ดำเนินการทดลองโดยแยกราจากรากกล้วยไม้ *Cattleya* และพบว่ารานี้ช่วยกระตุ้นการเจริญของกล้ากล้วยไม้ *Cattleya* แต่เมื่อนำราชนิดนั้นมาเลี้ยงร่วมกับกล้วยไม้ *Phalaenopsis* และ *Odontoglossum* ปรากฏว่าราไม่ได้ช่วยกระตุ้นการเจริญของต้นกล้าทั้งสองชนิดนี้แต่ทำให้กล้วยไม้ดังกล่าวตาย (Bernard, 1909) และ Hadley (1970) ศึกษา symbiosis ระหว่างรา *Rhizoctonia* ที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ต่าง ๆ รวม 32 สายพันธ์ พบว่าราเหล่านั้นไม่มีความเฉพาะเจาะจงต่อกล้วยไม้ จากนั้นก็มีการศึกษาถึงความเฉพาะเจาะจงของราและรากกล้วยไม้กันมาก และพอสรุปว่ากล้วยไม้บางชนิดก็มีความเฉพาะเจาะจงกับราบางชนิดเช่นกัน

ในประเทศไทยมีการศึกษาทางด้านราไมคอร์ไรซากล้วยไม้ ซึ่งราไมคอร์ไรซากล้วยไม้นั้นเป็นราในกลุ่ม *Rhizoctonia* ส่วนมากเป็น binucleate *Rhizoctonia* มีรายงานการศึกษาอนุกรมวิธานของ

ราในกลุ่มนี้แต่มีรายงานในระดับ genus เท่านั้น

นันทนาและคณะ (2543) สำรวจกล้วยไม้ในเขตจังหวัดกาญจนบุรี จันทบุรีและแหล่งอื่น ๆ เก็บตัวอย่างกล้วยไม้เกาะอาศัย 20 ชนิด และกล้วยไม้ดิน 15 ชนิด ทำการตัดขวางรากและตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบไมคอร์ไรซาในรากกล้วยไม้เกาะอาศัย 17 ชนิด และพบไมคอร์ไรซาในรากกล้วยไม้ดินทุกชนิด และจำแนกชนิดราไมคอร์ไรซาทั้งหมดที่แยกได้จากรากกล้วยไม้เกาะอาศัยและในรากกล้วยไม้ดินทุกชนิดเป็นรา *Rhizoctonia* spp.

Manoch และคณะ (2000) ศึกษารา *Rhizoctonia* –like fungi ในรากกล้วยไม้ดิน ทำการแยกราจากรากกล้วยไม้ดิน 5 ชนิด จากจังหวัดจันทบุรี กาญจนบุรี และกรุงเทพ ฯ โดยแยกจาก pelotons ในราก และแยกจากดินบริเวณรอบ ๆ ราก ได้รากลุ่ม *Rhizoctonia* จำนวน 75 สายพันธุ์ จำแนกชนิดราโดยศึกษาลักษณะทางกายภาพและการย้อมสีนิวเคลียสพบว่าเป็นรา *Rhizoctonia* spp. และเป็น binucletae *Rhizoctonia* ทั้งหมด

ต่อมาได้มีการศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของรา *Rhizoctonia* ที่เป็นไมคอร์ไรซา ได้แก่ ลักษณะของโคโลนีบนอาหาร ลักษณะของ monilioid ลักษณะของเส้นใย และจำนวนนิวเคลียสของรา ตลอดจนการสืบค้นเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการจำแนกชนิดของราในกลุ่มนี้มีมากขึ้นจึงทำให้สามารถจำแนกชนิดราได้ในระดับ species ได้โดยมีรายงานการศึกษาดังนี้ Athipunyakom และคณะ (2001) ทำการแยกราไมคอร์ไรซาจากกล้วยไม้ดิน 4 ชนิด ได้แก่ ขาวละออ (*Goodyera procera*) เอื้องดินใบหมาก (*Spathoglottis plicata*) อั้วพวงมณี (*Calanthe rubens*) และว่านน้ำทอง (*Ludisia discolor*) จากจังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน จันทบุรี และลพบุรี ได้ราจำนวน 44 สายพันธุ์ จำแนกชนิดได้ดังนี้ *Rhizoctonia cerealis, R. ramicola, Ceratorhiza goodyerae-repentis* และ รา *Rhizoctonia* ที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้อีก 1 ชนิด คือ *Rhizoctonia* sp. 1 ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับรา *Rhizoctonia* strain D 145 ของ Andersen ที่ศึกษาไว้แต่ยังไม่ได้จำแนกชนิด และยังมีรายงานการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของราในกลุ่มนี้อีก (Athipunyakom, *et al*, 2002a, 2002b)

แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ในประเทศไทยยังมีน้อยและในปัจจุบันมีนักวิชาการและนักศึกษาในมหาวิทยาลัยให้ความสนใจในงานนี้เป็นจำนวนมาก ในขณะที่งานวิจัยทางด้านนี้ในต่างประเทศได้มีการศึกษากันมาก โดยเฉพาะในประเทศออสเตรเลีย ที่ Kings Park Botanic Garden ได้ผลิตไมคอร์ไรซากับเมล็ดกล้วยไม้ขายเป็นการค้าแล้ว ดังนั้นจึงมีความสำคัญที่ควรจะทำการศึกษาโดยเฉพาะการศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์ราไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้

โดยการจำแนก รวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์รา เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบเกื้อกูลซึ่งกันและกัน (symbiotic germination) ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อกลุ่มผู้เลี้ยงกล้วยไม้เพื่อการค้า โดยเพาะเลี้ยงในสภาพธรรมชาติ หรือการผลิตโดยใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ชนิดนี้กับการผลิตกล้วยไม้นั้นจะทำให้ระยะเวลาการผลิตเร็วขึ้น และสิ่งสำคัญคือเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการใช้สารเคมีในการเตรียมอาหารซึ่งมีราคาแพง และราไมคอร์ไรซาสามารถให้แร่ธาตุสำหรับการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ ตลอดจนนำการเพาะเมล็ดแบบ symbiosis นี้ไปใช้กับเมล็ดกล้วยไม้ที่งอกยาก เมล็ดกล้วยไม้ที่กำลังสูญพันธุ์ ซึ่งจะเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้ต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างราก ได้แก่ พลั่ว กรรไกรตัดแต่งกิ่ง และภาชนะเก็บราก
2. กล้วยไม้ดินและกล้วยไม้อิงอาศัย
3. เมล็ดกล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ
4. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75% สารปฏิชีวนะ : streptomycin และ tetracyclin

สีย้อม : safranin – o และ KOH

สารเคมีที่ใช้ในการเก็บรักษา : grecerline, formaldehyde

5. อาหารวุ้นสังเคราะห์ NDY (1/6), corn meal agar (CMA), water agar (WA), V8 juice agar, potato dextrose agar (PDA), marmite yeast extract, soil extract agarเป็นต้น
6. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ ขวดเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ กระจกนาฬิกา เป็นต้น
7. เข็มเขี่ยปลายแหลม ฟอร์เซ็บปลายแหลม ใบมีดผ่าตัด กระดาษกรอง (Whatman #2)
8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น
9. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ ฟิล์มเพื่อบันทึกภาพการทดลอง

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้

เก็บรากกล้วยไม้ดินและกล้วยไม้อิงอาศัย จากแหล่งปลูกกล้วยไม้และในสภาพธรรมชาติ จากแหล่งภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยตัดรากห่อกระดาษ ใส่ถุงพลาสติค และบันทึกรายละเอียดชนิดกล้วยไม้ แหล่งที่เก็บ และวันที่เก็บ เก็บบรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำการแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกราจาก peloton ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้

แยกราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ โดยทำความสะอาดรากกล้วยไม้ ตัดชิ้นส่วนรากเป็นท่อนประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วแช่ชิ้นส่วนรากในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรต์ 5 % นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และนำชิ้นส่วนรากมาตัดเป็นชิ้นบาง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอในตู้ปลอดเชื้อ ใช้เข็มปลายแหลมเล็กและปากคีบปลายแหลมที่ฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเส้นใยราที่อยู่รวมกันเรียกว่า peloton ซึ่งเจริญอยู่ภายในเซลล์รากกล้วยไม้ มาวางบนอาหารวุ้นสังเคราะห์สูตร NDY (1/6) ผสมสารปฏิชีวนะ streptomycin และ tetracyclin บ่มที่อุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-10 วัน เมื่อราเจริญขึ้นมา ใช้เข็มปลายแหลมตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-10 วัน แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และเก็บรักษาสายพันธุ์ราไมคอร์ไรซาไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

3. การจำแนกราไมคอร์ไรซา

นำราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากข้อ 2 มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้เพื่อการจัดจำแนกชนิดของรา

3.1 ลักษณะของราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ด sclerotium

3.2 ศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ light microscope โดยการ mount สไลด์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อหรือ Shear's solution ศึกษาลักษณะและ

วัดขนาดของเส้นใย ลักษณะรูปร่างและขนาดของ monilioid cell ของราที่เจริญบนอาหาร ถ่ายภาพรา จากกล้องจุลทรรศน์แบบ compound เปรียบเทียบลักษณะของราดังกล่าวกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดรา (Moore, 1987; Sneh *et al.,* 1991; Roberts, 1999)

3.3 ศึกษาจำนวนนิวเคลียสต่อหนึ่งเซลล์โดยการย้อมสีด้วย Safranin O (Bandoni, 1979) เลี้ยงรา *Rhizoctonia* ที่แยกได้จากพืชต่าง ๆ บนอาหาร PDA, ½ PDA และ V8 agar นาน 1-2 วัน การทำสไลด์โดยหยดสี safranin-o ลงบนสไลด์ 1 หยด และหยด 3% KOH ลงบน safranin -o 1 หยด แล้วเขี่ยปลายเส้นใยของราวางในหยดสีบนสไลด์ และปิดด้วย cover slip และนำไปตรวจดูจำนวนนิวเคลียส ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound บันทึกจำนวนนิวเคลียสที่พบในแต่ละ isolate และถ่ายภาพราภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เวลาและสถานที่

สถานที่ แปลงเกษตรกร
ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ระยะเวลา 3 ปี เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2545
สิ้นสุดเดือนกันยายน 2549

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้

เก็บรากกล้วยไม้รองเท้านารี จากจังหวัดอุบลราชธานี 1 ตัวอย่าง รองเท้านารีจากจังหวัดเชียงใหม่ 4 ชนิด รองเท้านารีจากจังหวัดกระบี่ 3 ชนิด และรากกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก จากกรุงเทพ ฯ 3 ชนิด และกระบี่ 1 ชนิด รวมทั้งหมด 12 ตัวอย่าง

2. การแยกราจาก peloton ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้

ผลจากการแยกราจากรากพืชในเซลล์ชั้นคอร์เท็กได้ราทั้งหมด 20 สายพันธุ์ ดังนี้

เอื้องดินใบหมากจากกรุงเทพ ฯ แยกได้รา 4 สายพันธุ์ และจากกระบี่ แยกได้รา 1 สายพันธุ์ รวม 5 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว เจริญใต้อาหาร มีบางส่วนเจริญเหนือวุ้นอาหาร

รองเท้านารีจากจังหวัดเชียงใหม่ แยกได้รากลุ่ม *Rhizoctonia* 10 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว แต่มีลักษณะต่างจากราที่แยกได้จากเอื้องดินใบหมาก

รองเท้านารีจากจังหวัดกระบี่ แยกได้รากลุ่ม *Rhizoctonia* 5 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว มีลักษณะคล้ายกับราที่แยกได้จากรองเท้านารี จังหวัดเชียงใหม่

ส่วนรากกล้วยไม้รองเท้านารี จังหวัดอุบลราชธานี ไม่สามารถแยกราได้ เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย และตัวอย่างที่เก็บมาส่วนใหญ่ peloton ขอราเป็นสีเหลือง ซึ่งรามีอายุมากเกินไปและกำลังสลายตัวไป ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้แยกเชื้อไม่ได้

3. การจำแนกราไมคอร์ไรซา

จากการศึกษาจำแนกชนิดราที่แยกได้จากรากเอื้องดินใบหมาก จำนวน 5 สายพันธุ์ จำแนกชนิดเป็น *Epulorhiza repens* (Syn. *Rhizoctonia repens*) จากการศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA สีขาว เจริญใต้อาหาร มีบางส่วนเจริญเหนือวุ้นอาหาร เกิด zonation บนอาหาร เส้นใยกว้าง 3.2-4.6 ไมครอน สร้าง monilioid cell รูปร่าง subglobose ถึง barell shaped ส่วนใหญ่มีรูปร่าง subblobose ขนาด 8.5-15 x 7-11 ไมครอน monilioid cell รวมตัวกันเป็นกลุ่ม ต่อมาพัฒนาเป็น sclerotium เจริญอยู่ใต้วุ้นอาหารเรียกว่า microsclerotium

และสำหรับรากลุ่ม *Rhizoctonia* 15 สายพันธุ์ อยู่ในระหว่างการศึกษาการจำแนกในระดับ species

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้รองเท้านารีจากจังหวัดอุบลราชธานี 1 ตัวอย่าง จากเชียงใหม่ 4 ตัวอย่าง จากกระบี่ 3 ตัวอย่าง และรากกล้วยไม้เอื้องดินใบหมากจากกรุงเทพ ฯ 3 ชนิด และกระบี่ 1 ชนิด รวมทั้งหมด 12 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนกันยายน 2546 – 2547 ทำการแยกราจากรากพืชในเซลล์ชั้นคอร์เท็ก ได้ราทั้งหมด 20 สายพันธุ์ จำแนกชนิดเป็นรา *Epulorhiza repens* จำนวน 5 สายพันธุ์ และอีก 15 สายพันธุ์เป็นรากลุ่ม *Rhizoctonia* ส่วนรากกล้วยไม้รองเท้านารี จังหวัดอุบลราชธานี ไม่สามารถแยกราได้ เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย และตัวอย่างที่เก็บมาส่วนใหญ่ peloton ของราเป็นสีเหลือง ซึ่งรามีอายุมากเกินไปและกำลังสลายตัวไป ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้แยกเชื้อไม่ได้

เอกสารอ้างอิง

นันทนา คำเมือง เลขา มาโนช จิตราพรรณ พิลึก และพรพิมล อธิปัญญาคม. 2543. การแยกเชื้อและจัดจำแนกชนิดไมคอร์ไรซากล้วยไม้, (หน้า 428-435) *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 สาขาพืช และส่งเสริมนิเทศศาสตร์เกษตร, 1-4 กุมภาพันธ์ 2543, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ชีวินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 64 หน้า.

Athipunyakom, P. L. Manoch and M. Tanticharoen. 2001. Diversity of orchid mycorrhiza in Thailand, (pp. 41.) *In* Program and Extended Abstract of the First International Orchid Conservation Congress. September 24-28, 2001, Perth, Australia.

Athipunyakom, P., L. Manoch and M. Tanticharoen. 2002a. Mycohhizal fungi of seven *Paphiopedilum* species in Thailand, (pp. 141.) *In* The 7th International Mycological Congress. August 11-17, 2002 Olso , Norway.

Athipunyakom, P, L. Manoch and C. Piluek. 2002b. Mycorrhizal fungi from Terrestrial ordhids and symbiotic seed germination of *Spathoglottis plicata* Blume, (pp. 110.) *In* The 1st International Conference on Tropical and Subtropical Plant Diseases. November 5-8, Chiang Mai, Thailand.

Bandoni, R.J. 1979. Safranin as a rapid nuclear strain for fungi. Mycologia 71: 873-847.

Bernard, N. 1909. L'evolution dans la symbiose des orchide'es et leur champignons commensaux. Ann. Sci. Nat. Paris 9. Se'r. 9 : 1-196.

Clements, M.A. 1988. Orchid mycorrhizal associations. Lindleyana 3 : 73-86.

Hadley, G. 1970. Non-specificity of symbiotic infection in orchid mycorrhiza. New Phytol. 69 ; 1015

Hadley, G. 1982. Orchid mycorrhiza, pp. 81-118. *In* J. Arditti, ed. Orchid Biology : Reviews and Prespective, II. Cornell University Press, Ithaca, New York.

Harley, J.L. and S.E. Smith. 1983. Mycorrhizal Symbiosis. London. Academic Press. 483 pp.

Manoch, L., P. Athipunyakom and M. Tanticharoen. 2000. *Rhizoctonia* – like fungi associated terrestrial orchid in Thailand, pp. 63 *In* The 3rd International Symposium

on *Rhizoctonia* (ISR 2000), National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan (ROC), 17-20 August.

Moore, R.T. 1985. The challenge of the dolipore/ parenthesome septum. P. 175-212. *In* Developmental Biology of Higher Fungi. Cambridge Universi Press, Cambridge.

Moore, R. T. 1987. The genera of *Rhizoctonia* – like fungi : *Ascorhizoctonia*, C*eratorhiza* gen. Nov., *Epulorhiza* gen. Nov., *Moniliopsis* and *Rhizoctonia*. Mycotaxon 29 : 91-99.

Moore, R. T. 1996. The dolipore/parenthesome septum modern taxonomy, (pp. 13-35.) *In* Sneh, B, Suha Jabji-Hare, Stephen Neate and Gerda Dijst (eds). *Rhizoctonia* Speciec ; Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.

Roberts, P. 1999. *Rhizoctonia* – forming fungi : A tanonomic guide. Whistable Litho Printers Ltd., Whistable, Kent. 239 pp.

Sneh, B., L. Burpee and A. Ogoshi. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. APS Press. 133 pp.

การคัดเลือกเชื้อราที่มีประโยชน์กับการเจริญเติบโตของเห็ดสกุลนางรม

Selection of Effective Fungi for Increasing Yields of *Pleurotus sp.*

วรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เชื้อรามีผลกับการเจริญเติบโตของเห็ด จากการทดลอง 1) ใช้สารแขวนลอยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 5 มล. pH 6.05 มี 16 x 10^4 เซลล์ / มล. เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นฆ่าเชื้ออย่างเดียวเลี้ยงสารแขวนลอยออยเดียเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อสีเทาดำ 0.5 มล. pH 7.3 มี 1.84 x 10^4 เซลล์ / มล. ในหลอดทดลองขนาด 20 มล. 2) ใช้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis*, *Aspergillus flavus* และ *Geotrichum sp.* สีดำ ซึ่งเชื้อราดังกล่าวทั้งหมดเป็นเชื้อราที่แยกได้จากอากาศกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน พีดีเอ (PDA) แสลนท์ในหลอดทดลองขนาด 20 มล. เปรียบเทียบกับการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวที่ ห้องปรับอากาศ 25 ± 3°ซ. มีแสง กลางวัน และที่ห้องธรรมดา 28 ± 3°ซ. ไม่มีแสง กลางคืน วันหยุดปิดแอร์ ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ จตุจักร กทม. 10900 ตั้งแต่ ตุลาคม 2546 – กันยายน 2547 ผลปรากฏว่า 1) สารแขวนลอยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 5 มล. pH 6.05 ผสมสารแขวนลอยเชื้อออยเดีย pH 7.3 0.5 มล. ส่งเสริมให้ออยเดียเจริญเป็นเส้นใยเห็ดใน 11 วัน 2) เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าและ *Aspergillus flavus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญมาติดกัน เกิดรอยหนาแน่น เส้นใยเจริญหนาแน่นทับซ้อนกัน และสร้างดอกเห็ดบนเชื้อรา ส่วนเชื้อรา *Geotrichum sp.* สีดำ เจริญทำลายบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าเปรียบเทียบกับการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวยังไม่สร้างดอกเห็ด

รหัสกิจกรรม 05-02- 47-0801-02

คำนำ

เชื้อรา มีประโยชน์กับการเจริญเติบโตของเห็ดโดยให้ธาตุต่าง ๆ เช่น N,C,P, เกลือแร่ต่าง ๆ ตลอดจนไวตามิน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ฟีโนสิค (phenolic) ไลปิค (Lipid) นิวคลีอิคแอซิคส์ (nucleic acids)
เปปทิโดไกลแคนส์ (peptidoglycans) กลูแคนส์ (glucans) จากเซลล์ จุลินทรีย์ เช่น เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ฯลฯ ทั้งหมดนี้จากเซลล์ที่ตายแล้ว หรือยังมีชีวิตอยู่ผลิตสารต่าง ๆ เช่นวิตามินบี หรือสลายวัสดุ เช่น เซลลูเลส โปรตีเนส ฯลฯ สำหรับการเจริญเติบโตของเห็ด (Philip and O'Donoghue, 1991) รา แบคทีเรีย เชื้อเห็ด สาหร่าย ไส้เดือนฝอย ไวรัส ฯลฯ ซึ่งทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของเห็ด (Wood and Fermer, 1991) และเพื่อให้ได้สิ่งเหล่านี้ที่เหมาะสมจะทำให้เห็ดสามารถเจริญเติบโตตลอดปี มีปัจจัยต่างๆที่มีผลกับเชื้อราที่มีประโยชน์กับการเจริญเติบโตของเห็ด จึงศึกษาจุลินทรีย์เหล่านี้เพื่อนำมาใช้ประโยชน์กับการเจริญเติบโตของเห็ด Urayama (1961) ใช้แบคทีเรียกระตุ้นเห็ด *Psilocybe panaeoliformis* บนอาหารวุ้น Curto และ Favelli (1972) ฉีดสารแขวนลอยของยีสต์ แบคทีเรีย สาหร่าย ฯลฯ บนแปลงเพาะเห็ดฝรั่ง *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. ทำให้ ผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการทดลองครั้งนี้ทดสอบเชื้อราในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อและบนพีดีเอ (PDA) แสลนท์ บรรจุในหลอดทดสอบ 20 มล.

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หลอดทดสอบขนาด 20 มล. ยี่ห้อ Pyrex น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ และ พีดีเอ สแลนท์
2. เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ เชื้อเห็ดนางฟ้า จากกลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์
3. เข็มเขี่ยเชื้อ และออโตไปเปท ยี่ห้อ Boeco
4. กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Olympus และสไลด์นับจำนวนเซลล์ หรืออีมาไซโตมีเตอร์
5. เครื่องวัด pH ยี่ห้อ Precisa 2200 c

วิธีการ

1. วิธีการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ โดยใช้อาหาร PDA ที่บรรจุในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. วางเปิดฝาไว้ในห้องบ่มก้อนถุงเชื้อเห็ดจนพบเชื้อราต่าง ๆ บนอาหารแล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดเส้นใยเชื้อราแต่ละไอโซเลท (isolate) เลี้ยงบน PDA แสลนท์ ในหลอดทดสอบ และต่อมาใช้เข็มเขี่ยตัดเส้นใยแต่ละไอโซเลท เลี้ยงบนอาหาร PDA แสลนท์ ในหลอดทดสอบไอโซเลทละ 1 หลอด ทำเช่นนี้ทั้งหมด 3 ครั้งจะได้เชื้อราบริสุทธิ์ แต่ละไอโซเลทได้เชื้อราทั้งหมด 4 ไอโซเลท
2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราดังนี้
   2.1 เตรียมสไลด์เชื้อรา โดยเขี่ยเชื้อราลงบนแผ่นสไลด์ที่เช็ดให้สะอาดและหยดน้ำกลั่น ปิดด้วย cover glass
   2.2 ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 20x10 โดยสุ่มวาดภาพ 3 ตำแหน่ง ๆ ละ 1 ภาพ ใน slide เดียวกัน
   2.3 เปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง (Barnett and Hunter, 1972) (Christensen, 1981) และ (Pitt and Hocking, 1997) จากภาพที่วาดไว้
   2.4 เลี้ยงเส้นใยเชื้อราแต่ละชนิดบน PDA สังเกตลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา และเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงได้ 1) *Saccharomyces cerevisiae* 2) *Aspergillus flavo-furcatis* 3) *Aspergillus flavus* และ 4) *Geotrichum sp.* สีดำ
3. เตรียมสารแขวนลอยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จากกลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะเชื้อยีสต์อายุ 7 วัน ที่เจริญบน พีดีเอ จำนวน 1 ครั้ง ผสมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 5 มล. ในหลอดทดสอบขนาด 20 มล. ซึ่งนับได้ 16×10^4 เซลล์ / มล. และวัด pH ด้วยเครื่องวัดได้ 6.05 ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 5 มล. ในหลอดทดลอง 20 มล. ใช้เลี้ยงสารแขวนลอยออยเดียของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ จำนวน 0.5 มล. จากการใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะบนออยเดียเชื้อเห็ดเป๋าฮื้ออายุ 7 วัน จำนวน 1 ครั้ง ผสมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 5 มล. และนับได้ 1.84×10^4 เซลล์ / มล.วัด pH ด้วยเครื่องวัดได้ 7.3 จากนั้น บ่มเชื้อที่ห้องปรับอากาศ 25 ± 3°ซ. มีแสงกลางวัน และ ที่ห้องธรรมดา 28 ± 3°ซ. ไม่มีแสง กลางคืน วันหยุดปิดแอร์ และนับจำนวนวันที่ออยเดียเจริญเป็นเส้นใยจากการสังเกตและเปรียบเทียบ
4. การคัดเลือกเชื้อรา โดยใช้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus flavus* และ *Geotrichum sp.* สีดำ กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงจับคู่ ๆ ละหลอดบน PDA แสลนท์ ในหลอดทดสอบขนาด 20 มล. ซึ่งเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าส่วนบนของ PDA ต่อมาอีก 2 วัน เลี้ยงเชื้อราส่วนล่างตรงข้ามกันห่าง 1.5 นิ้ว และเปรียบเทียบกับการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวในสภาพเช่นกันกับข้อ 3 บันทึกจำนวนวันที่ เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญ และสังเกต

เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเห็ดและเชื้อรา

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2546 - กันยายน 2547 ที่กลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ จตุจักร กทม. 10900

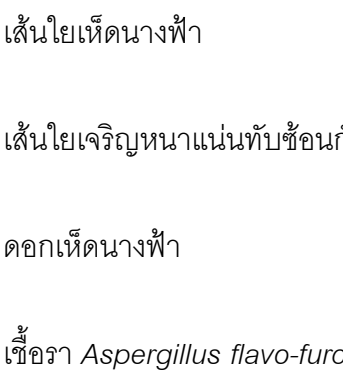
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการทดลองใช้สารแขวนลอยเชื้อยีสต์เปรียบเทียบกับใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อเลี้ยง สารแขวนลอยออยเดียปรากฏว่า ออยเดียในสารแขวนลอยเชื้อยีสต์เจริญเป็นเส้นใยในเวลา 11 วัน ส่วนในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อออยเดียยังไม่มีการเจริญ ตามตารางที่ 1

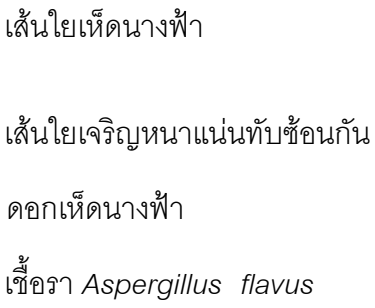
ตารางที่ 1 สารแขวนลอยออยเดียเจริญเติบโตในสารแขวนลอยเชื้อยีสต์

สูตร	จำนวนวันที่เส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อเจริญ
1. สารแขวนลอยเชื้อยีสต์ pH 6.05 จำนวน 5 มล. ผสมสารแขวนลอยเชื้อออยเดีย pH 7.3 จำนวน 0.5 มล.	11 วัน
2. น้ำกลั่นฆ่าเชื้อจำนวน 5 มล. ผสมสารแขวนลอยเชื้อออยเดีย pH 7.3 จำนวน 0.5 มล.	ยังไม่เจริญ

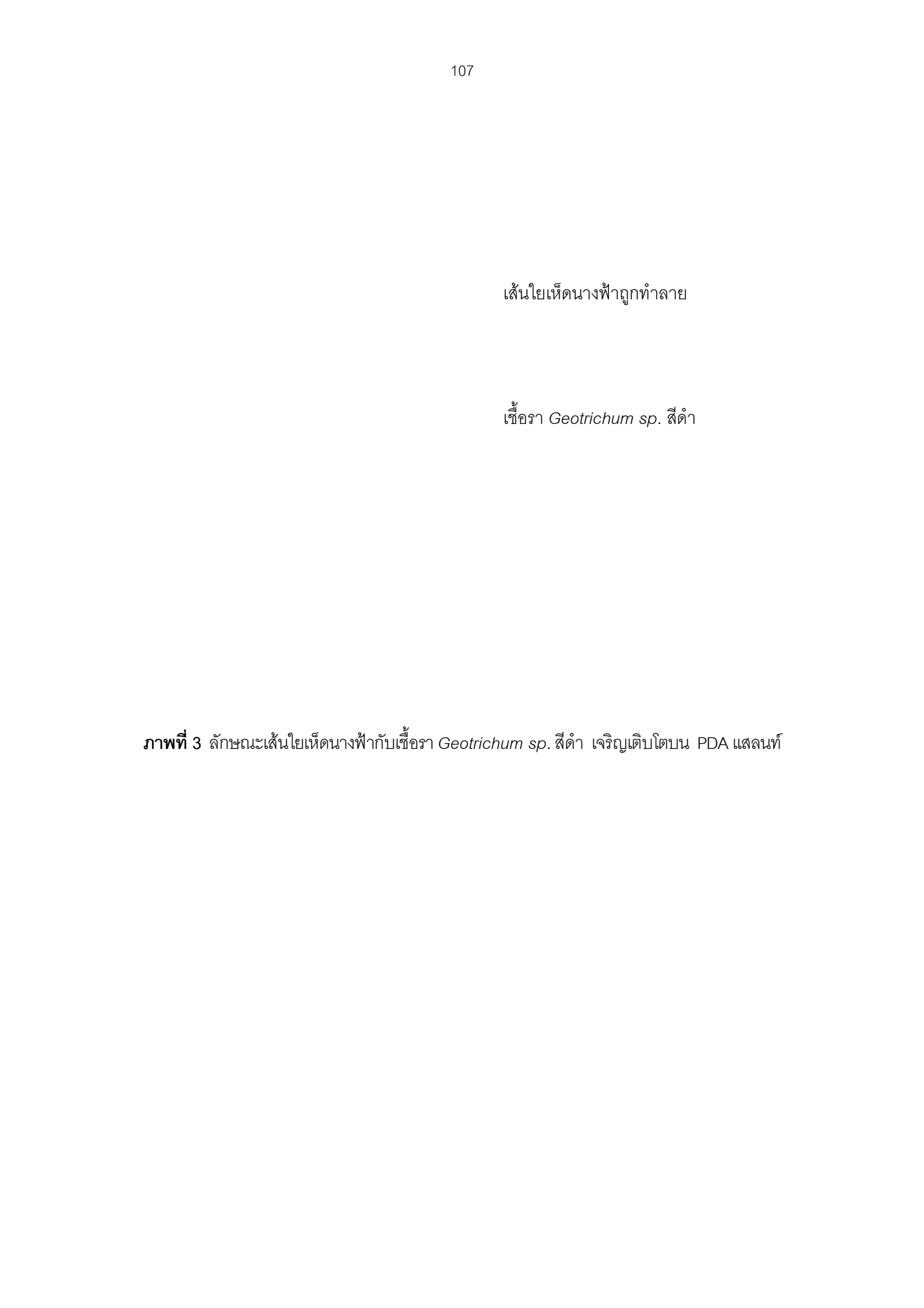
2. จากการทดลองใช้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus flavus* กับ เส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงจับคู่บน พีดีเอ (PDA) แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียว ปรากฏว่าในเวลา 7 วัน เส้นใยเห็ดและเชื้อราเจริญมาติดกัน ใน 10 วัน เกิดรอยหนาแน่นบริเวณติดกัน เส้นใยเจริญหนาแน่นทับซ้อนกัน ใน 13 วัน เส้นใยเห็ดเจริญคลุมเชื้อรา และใน 21 วัน เส้นใยเห็ดสร้างดอกบนเชื้อราตามภาพที่ 1 และ 2 ส่วนเชื้อรา *Geotrichum sp.*สีดำ ใน 7 วัน เส้นใยเห็ดและราเจริญมาติดกันใน 18 วัน เส้นใยราเจริญรอบเส้นใยเห็ดและใน 21 วัน เส้นใยราขึ้นคลุมทำลาย เส้นใยเห็ดทั้งหมดตามภาพที่ 3 เปรียบเทียบกับการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวยังไม่สร้างดอกเห็ดตามภาพที่ 4



ภาพที่ 1 ลักษณะเส้นใยเห็ดนางฟ้ากับเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* เจริญเติบโตบน PDA แสลนท์



ภาพที่ 2 ลักษณะเส้นใยเห็ดนางฟ้ากับเชื้อรา *Aspergillus flavus* เจริญเติบโตบน PDA แสลนท์



ภาพที่ 3 ลักษณะเส้นใยเห็ดนางฟ้ากับเชื้อรา *Geotrichum sp.* สีดำ เจริญเติบโตบน PDA แสลนท์

เส้นใยเห็ดนางฟ้า

ภาพที่ 4 ลักษณะเส้นใยเห็ดนางฟ้า เจริญเติบโตบน PDA แสลนท์

3. จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา 4 ชนิด 1) *Saccharomyces cerevisiae* 2) *Aspergillus flavo-furcatis* 3) *Aspergillus flavus* และ 4) *Geotrichum sp.* สีดำ ด้วยกล้องจุลทรรศน์ และวาดภาพจากเชื้อราที่เลี้ยงบน PDA และสังเกตลักษณะการเจริญเติบโตได้ดังนี้

3.1 *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen Pitt and Hocking (1997) รายงานว่า เซลล์แบบ Spherical และ subspheroidal ขนาดประมาณ 5-12×5-10 μm บางครั้งเซลล์แบบ

ellipsoidal และ cylindrical ขนาด 5-20 × 3-9 μm irregular budding แบบเดี่ยว คู่หรือ chains อายุมากจะสร้าง ascospore 1-4 ต่อ ascus แบบ Spherical และ subpheroidal ผนังเรียบ ดังภาพที่ 1

5 – 12 × 5 – 10 μm

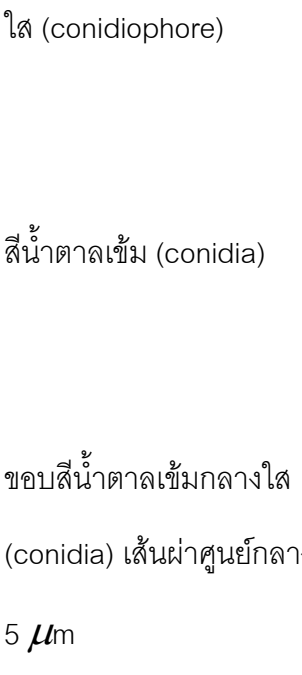
budding

ภาพที่ 1 ลักษณะเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C. Hansen

Class Ascomycetes (The higher fungi) sub-class Hemiascomycetidae (the yeasts and leaf cure fungi) Order Endomycetales Family Saccharomycetaceae ไม่มี เส้นใย มี ascospore 1-8 ใน asci เป็นพวก the yeasts แบบ unicellular thallus ผลิต asexual โดย budding และ sexual ผลิต ascospore จาก ascus ซึ่งเกิดจาก zygote หรือ single somatic cell Saccharomyces cerevisiae มีทั้ง ระยะ haplophase และ diplophase และ ทั้ง 2 ระยะนี้ ขยายพันธุ์โดย budding ซึ่งมีความสำคัญ เท่า ๆ กัน ทั้ง 2 ระยะ copulation เกิดขึ้นระหว่างระยะ haploid cells และ สร้าง diploid cell และ ขยายพันธุ์โดย budding เป็น diploid cells มากมาย บ่อย ๆ diploid cell จะเปลี่ยนเป็น asci มี 4 haploid ascospores สร้าง haploid cell มากมาย โดย budding ขนาด haploid cells จะเล็กกว่า diploid cells ส่วน ascus ที่เกิดจาก zygote cell จะสร้าง 4 ascospores และ 2 ascospores จะเป็น strain A และอีก 2 ascospores จะเป็น strain a cell ที่มี mating type เหมือนกัน fuse กัน จะได้ diploid ที่มี gene D.

3.2. *Aspergillus flavo-furcatis* มี conidiophore ตั้งตรง แบบ globose หรือ clavate มี phialides ที่ตอนปลายและ conidia แบบ phialospores มี 1 เซลล์ แบบ globose มีสีต่าง ๆ กัน colony สี

น้ำตาลเข้ม conidia กลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 μm กลางเซลล์ของ conidia สีน้ำตาลใส ขอบสีน้ำตาลเข้ม ดังภาพที่ 2

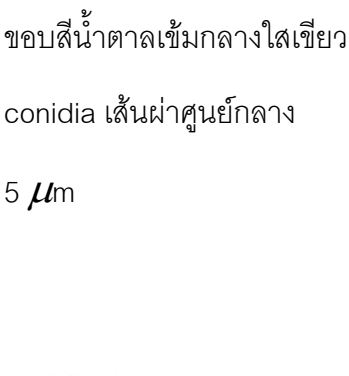


ภาพที่ 2 ลักษณะเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* ด้วยกำลังขยาย 20 × 10

Christensen (1981) และ Raper and Fennell (1965) รายงานว่า *A.flavo-furcatis* Batista & Maia (WB4911). Colonies เจริญอย่างรวดเร็วบน Czapek's agar เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.2-6 ซ.ม. ใน 8-10 วัน สร้างสปอร์อย่างรวดเร็ว สี umber tones, dresden brown, mummy brown, brussels brown และ clove brown แล้วเปลี่ยนเป็นไม่มีสี ที่ 37°C เส้นผ่าศูนย์กลาง 3.0 ซ.ม. และหลังจากนั้น 5 วัน สร้าง spore ส่วน conidial heads แบบ radiate เส้นผ่าศูนย์กลาง 800 μm เมื่ออายุมากแยกเป็น columns ส่วน conidiophores ยาว 900-2,200 μm และอาจจะถึง 4,000 μm ขอบหนา ไม่มีสีผนังแบบ echinulate และ vesicles แบบ subglobose และ globose เส้นผ่าศูนย์กลาง 62 μm ผนังหนา 2-2.2 μm conidium แบบ biseriate และ uniseriate บน Vesicle มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 32 μm conidia แบบ globose และ subglobose มี tuberculate หยาบ ๆ สี yellow – brown เส้นผ่าศูนย์กลาง 6-8.5 μm ส่วนมาก 7 μm ไม่พบ sclerotia

3.3 *Aspergillus flavus* มี conidiophore ตั้งตรง แบบ globose หรือ clavate มี phialides ที่ตอนปลายและ conidia แบบ phialospores มี 1 เซลล์ แบบ globose มีสีต่าง ๆ กัน มี colony สีเขียวเหลือง

กลายเป็นสีเขียว conidia กลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 μm มีสีเขียวใส กลางเซลล์ขอบสีน้ำตาลเข้ม ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ลักษณะเชื้อรา *Aspergillus flavus* ด้วยกำลังขยาย 20 × 10

Christensen (1981) และ Raper and Fennell (1965) รายงานว่า *A.flavus* Link *var.flavus* (WB500, WB1957, WB4955, WB5573, TC175, NRRL3251, NRRL6444, NRRL6513) colony บน Czapek's agar บางเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-7 ซ.ม. หลังจากบ่มเชื้อ 25°C เป็นเวลา 8-10 วัน จากไม่มีสีเป็น pale peach เจริญหนาแน่นที่ 37°C conidia เจริญประปรายในการบ่มที่มืด conidial heads มากมาย สีเขียวและ yellowish oil green ใน 7 วัน สีจะเขียวเข้มขึ้น สี calla green, cerro green, deep grape green, jade green, hellebore green, elm green และ pois green ส่วน heads แบบ radiate แยกเป็น columns เมื่ออายุมาก conidiophores ยาว 400-850 μm บางครั้ง 2,000-2,500 μm ผนังไม่มีสีและเรียบ แบบ echinulate ส่วน vesicles แบบ elongate, subglobose และ globose เส้นผ่าศูนย์กลาง 10-85 μm ด้วยผนังหนา 0.5-1.8 μm conidium มี 20-80% biseriate แบบ subglobose และ globose มี echinulate เล็กน้อย ประมาณ 3-7.5 μm ส่วนมาก 4-5 μm มี sclerotia บาง strains หนาแน่นมากที่ 37°C สี dark brown และ black แบบ subglobose เส้นผ่าศูนย์กลาง 400-900 μm บางครั้ง 1,200 × 200 - 300 μm

3.4 *Geotrichum sp.* สีดำ ซึ่งมีเส้นใยสีขาว มี Septate แบบ arthrospores มี 1 เซลล์ แบบ cylinder เป็น segment และ colony สีดำ บน PDA ดังภาพที่ 4

mycelium

ภาพที่ 4 ลักษณะเชื้อรา *Geotrichum sp.* สีดำ ด้วยกำลังขยาย 20 × 10

Barnett and Hunter (1972) รายงานว่า เส้นใยเจริญแผ่บน agar มี conidia แบบ arthrospores เกิดจากการ segmentation ของ mycelium เป็น saprophytic ส่วนมากอยู่ในดิน หรือบนส่วนของพืช ไม่มี conidiophore conidia มี 1 เซลล์ แบบ globose และ cylindrical เป็น hyaline หรือมีสีสว่าง conidia มี truncate ทั้งสองปลายสำหรับเกิด segment อยู่ใน Class Deuteromycetes Order Moniliales Family Dematiaceae

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. สารแขวนลอยเชื้อยีสต์ pH 6.05 จำนวน 5 มล. เลี้ยงกับสารแขวนลอยออยเดียเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อสีเทาดำ pH 7.3 จำนวน 0.5 มล. ทำให้ออยเดียเจริญเป็นเส้นใยใน 11 วัน คำแนะนำได้เชื้อยีสต์ผสมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้ได้ pH 6.05 จำนวน 1,000 มล. ใช้เลี้ยงเชื้อออยเดียผสมน้ำกลั่น ซึ่งมี pH 7.3 จำนวน 100 มล. จะส่งเสริมทำให้ เส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อเจริญเติบโต จากการคำนวณ
2. เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และเชื้อรา *Aspergillus flavus* กับเชื้อเห็ดนางฟ้า เลี้ยงบน PDA แสลนท์ เจริญมาติดกันเกิดรอยหนาแน่น เส้นใยเจริญหนาแน่นทับซ้อนกัน) และสร้างดอกเห็ดบนเชื้อรา คำแนะนำ ได้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus flavus* กระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อเห็ดนางฟ้าบน PDA

เอกสารอ้างอิง

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2537. โรคเห็ด หน้า 73-88 ในทางเพาะเห็ดเศรษฐกิจ กลุ่มงาน จุลชีววิทยาประยุกต์ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตรและสหกรณ์

Barnett, H. L. and B.B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Burgess Publishing Co. Minnesota; 241. p.

Christensen, M. 1981. Asynoptic key and evaluation of species in the *Aspergillus flavus* group. Mycologia, 73 : 1056-1084.

Curto , S. and F. Favelli . 1972. Stimulative effect of certain micro – organisms (bacteria, yeast, microalgae) upon fruit – body formation of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing . Mushroom Science . 7 : 67 – 74 .

Philip Ryan, J. and D.C. O' Donoghue. 1991. Influences of a wide range of bacteria, actinomycetes and fungi on mycelial growth of *Agaricus bisporus* (Lange) Sing and the special fruiting requirement of *A. bisporus*. Mushroom Science 13 : 753-759.

Pitt, J.I. and A.D. Hocking. 1997. Fungi and Food Spoilage Printed in Great Britain at the University Press, Cambridge. 593 pp.

Raper, K.B. and D.I. Fennell, 1965. The genus Aspergillus. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. 577pp.

Wood, D.A. and T.R. Fermor. 1991. Mushroom compost microbial biomass : A review. Mushroom Science 13 (1) : 191-199.

Urayama , T. 1961. Studies on fruit body formation of *Psilocybe panaeoliformis* in pure culture memoirs faculty of Arts and Education Univ , 9 : 393 – 462 .

อนุกรมวิธานราสาเหตุโรคพืช Class Ascomycetes
Taxonomy on Plant Pathogenic Ascomycetes

พรพิมล อธิปัญญาคม **ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช**

กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างโรคพืช 18 ตัวอย่าง จากแหล่งต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 ถึง กันยายน 2547 และศึกษาการจัดจำแนกชนิดของราใน Class Ascomycetes พบราทั้งหมด 18 สายพันธุ์ (isolate) โดยจำแนกได้ 8 genera 11 species จัดอยู่ใน 4 order ดังนี้ โรคใบจุดลิ้นจี่พบรา *Mycosphaerella* sp. (Order Dothideales) จากจังหวัดเชียงราย โรคผลเน่าของฝรั่ง 2 ชนิด ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสจากจังหวัดราชบุรีและนครปฐมพบรา *Glomerella cingulata* (Order Phyllachorales) โรคผลจุดดำจากจังหวัดสมุทรสาครพบรา *Guinardia psidii* (Order Dothideales) โรคใบจุดของมันสำปะหลังจากจังหวัดระยองพบรา *Leptosphaeria* sp. (Order Dothideales) ผลจุดส้มจากจังหวัดกำแพงเพชรพบรา *Leptoshaerulina* sp. (Order Dothideales) โรคราดำบนใบมะกรูดจากจังหวัดเชียงใหม่พบรา *Meliola* sp.1 (Order Meliolales) โรคราดำบนใบลำไยจากจังหวัดเชียงใหม่และเชียงรายพบรา *Meliola* sp.2 โรคราดำบนใบมะขามจากจังหวัดเพชรบูรณ์พบรา *Meliola tamarindi* (Order Meliolales) โรคใบจุด Tar spot บนใบโพธิ์จากจังหวัดราชบุรีและอุบลราชธานีพบรา *Phyllachora* sp. (Phyllachorales) โรค Tar spot ของพืชตระกูลหญ้า 3 ชนิดจากจังหวัดเพชรบูรณ์ จัดจำแนกเชื้อสาเหตุเป็นรา *Phyllachora graminis* โรคใบจุดของกล้วยไม้ดินเอื้องดินใบหมากจากจังหวัดกระบี่พบรา *Glomerella cingulata* โรคใบจุดของว่านเพชรหึงจากจังหวัดกระบี่พบรา *Glomerella cingulata* และโรคโคนเน่ารากเน่าของกล้วยไม้ *Dendrobium* จากจังหวัดชียงรายพบ fruiting body สีส้มบนโคนต้นและราก จำแนกชนิดเป็นรา *Nectria* sp. (Hypocreales) ศึกษาลักษณะของราบนใบพืชและลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar), ½ PDA และ CMA (Corn Meal Agar)

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0802-03

คำนำ

ราใน Class Ascomycetes มีจำนวนประมาณ 32,276 ชนิด เป็นราชั้นสูง (Higher Fungi) และมีวิวัฒนาการสูงมีการสืบพันธุ์ทั้ง 2 แบบ คือ การสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ (asexual หรือ anamorph) ราสร้าง conidium ซึ่งอาจเกิดโดยตรงบน conidiophore หรือเกิดภายใน fruiting body แบบต่าง ๆ ส่วนการสืบพันธุ์แบบมีเพศ (sexual หรือ teleomorph) เกิดโดยการสร้าง ascospores ภายในโครงสร้างลักษณะคล้ายถุง เรียกว่า asci ซึ่งจะเกิดในหรือบน fruiting body แบบต่าง ๆ ราใน Class Ascomycetes ก่อให้เกิดโรคสำคัญกับพืชหลายชนิด ได้แก่ ราสกุล *Erysiphe* และ ราสกุล *Uncinula* เป็นสาเหตุโรคราแป้ง ราสกุล *Mycosphaerella* เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชหลายชนิดซึ่งมี anamorphic state เป็นพวกรา *Cercospora* เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชหลายชนิด ราสกุล *Meliola* เป็นราดำ (black mildew หรือ sooty molds) เป็นสาเหตุกับพืชหลายชนิด ราสกุล *Glomerella cingulata* ซึ่งเป็นระยะสืบพันธุ์แบบมีเพศ (teleomorphic state) ของรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด (Sharma, 1998; Shivas and Beasley, 2003)

การจำแนกชนิดราในกลุ่ม Ascomycetes จำแนกโดยใช้ลักษณะรูปร่างของ fruiting body (ascomata) และการเรียงตัวของ ascus เช่น Hemiascomycetes ไม่มี ascomata โดยไม่มีการสร้าง asci ใน ascomata; Plectomycetes สร้าง asci ภายในโครงสร้างที่เรียกว่า cleistothecium; Pyrenomycetes สร้าง asci ภายในโครงสร้างที่เรียกว่า perithecium และ Discomycetes สร้าง asci ภายในโครงสร้างที่เรียกว่า apothecium ในปัจจุบันนี้การศึกษาทางด้านอนุชีวโมเลกุล molecular sequence data (โดยเฉพาะทางด้าน 18rDNA gene) มีการพัฒนามากขึ้นเพื่อใช้ในการจัดจำแนกราในกลุ่มนี้แต่ก็ยังมีราในอีกหลาย orders และ หลาย families ของรา Ascomycetes ที่ยังไม่มีการศึกษาทางด้านนี้ (Shivas and Beasley, 2003)

ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานและความหลากหลายของราในกลุ่ม Ascomycetes นี้ทำให้ทราบชนิดของราสาเหตุโรค โดยเฉพาะเป็นประโยชน์มากสำหรับการทราบชนิดของราสาเหตุโรคพืชในระดับ species ที่เกี่ยวข้องกับการนำเข้าและการส่งออกเพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อ รวมทั้งเป็นการพัฒนานักอนุกรมวิธานด้านราในการจำแนกชนิดของเชื้อ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ พลั่ว กรรไกรตัดแต่งกิ่ง กระดาษ ถุงพลาสติค ปากกาเคมี หนังยาง แผ่นไม้อัดตัวอย่างแห้ง
2. ส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เป็นโรค ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น ราก
3. สารเคมีฆ่าเชื้อได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75% สารปฏิชีวนะ streptomycin
4. สีย้อม ได้แก่ shear's solution, Acid fuschin, cotton blue lactophenol, KOH, Formaline และ glycerol
5. อาหารวุ้นสังเคราะห์ potato dextrose agar (PDA), half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA), corn meal agar (CMA), V8 juice agar PDA, malt extract agar และ water agar (WA) เป็นต้น
6. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ กระบอกตวง เป็นต้น
7. ใบมีดผ่าตัด ใบมีดสำหรับตัดขวางชิ้นส่วนพืช เข็มเขี่ยปลายแหลม คีมคีบปลายแหลม สไลด์ cover slip และ oil immersion เป็นต้น
8. ตู้ปลอดเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบความร้อน
9. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ camera lucida กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (SEM) และฟิล์มถ่ายภาพเพื่อบันทึกภาพการทดลอง

วิธีการ

1. สำรวจรวบรวมโรคพืชที่เกิดจากรา Class Ascomycetes

สำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืชจากส่วนของใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก ทั้งหมด 18 ตัวอย่าง จากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ ระยอง จันทบุรี นครปฐม ราชบุรีและสมุทรสาคร (ตารางที่ 1) บันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ

2. การศึกษารา Class Ascomycetes จากส่วนที่เป็นโรค

2.1 การศึกษาราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช (Direct observation)

ศึกษาลักษณะอาการของโรคและสังเกตลักษณะของ fruiting body ของราที่เกิดบนใบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo บันทึกลักษณะต่าง ๆ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยส่วนของรา ได้แก่ สปอร์ หรือส่วนขยายพันธุ์ของรา มาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วย cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

2.2 การทำ moist chamber

ถ้าไม่พบสปอร์ของราบนชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคหลังจากตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และเมื่อเขี่ยเชื้อดูแล้ว ไม่พบราบนชิ้นส่วนพืชให้ทำ moist chamber โดยนำตัวอย่างพืชมาทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยราที่เจริญอยู่บนชิ้นส่วนพืชมาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound บันทึกลักษณะต่าง ๆ วัดขนาดส่วนต่าง ๆ ของราและถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์

2.3 การแยกราโดยวิธี Tissue transplanting

ตัดตัวอย่างโรคพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืช โดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) และ Malt Extract Agar (MEA) ต้องทำภายใต้ aseptic condition บ่มไว้ในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องอุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของราต่อไป เก็บรักษาสายพันธุ์ราไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เก็บรักษา culture (culture preservation) และเก็บตัวอย่างโรคพืชแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์

2.4 การจำแนกรา Class Ascomycetes

2.4.1 ศึกษาลักษณะบนอาหารสังเคราะห์ ลักษณะและสีของโคโลนี การสร้าง fruiting body บันทึกลักษณะต่าง ๆ และถ่ายภาพ

2.4.2 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ สี ขนาด ชนิดของ fruiting body และถ่ายภาพราจากกล้องจุลทรรศน์

2.4.3 นำลักษณะของราดังกล่าวเปรียบเทียบกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดราใน Class Ascomycetes ที่ใช้กันทั่วไปได้แก่ Sivanesan (1984) สำหรับราที่เป็น Bitunicate ascomycetes; Barr (1990) สำหรับราที่เป็น unitunicate ascomycetes; Hanlin (1992, 1998); Hyde และคณะ (2000) สำหรับรา ascomycetes ทั่วไป; และสำหรับราระยะสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศของรา Ascomycetes ใช้เอกสารของ Sutton (1980), Ellis (1971, 1976) และ Carmichael และคณะ (1980)

เวลาและสถานที่

สถานที่ แปลงเกษตรกร
ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ระยะเวลา 3 ปี เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2546
สิ้นสุด เดือนกันยายน 2549

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจรวบรวมโรคพืชที่เกิดจากรา Class Ascomycetes

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืชสาเหตุที่เกิดจากรา Class Ascomycetes ได้ตัวอย่างทั้งหมด 18 ตัวอย่าง จากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ ระยอง จันทบุรี นครปฐม ราชบุรีและสมุทรสาคร ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 - เดือนกันยายน 2547 (ตารางที่ 1) นำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการแยกราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช การทำ moist chamber และการแยกราโดยวิธี Tissue transplanting (ตารางที่ 2)

2. การศึกษารา Class Ascomycetes จากส่วนที่เป็นโรค

2.1 การศึกษาราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช (Direct Isolation)

ผลการศึกษาราโดยตรงของฝรั่งผลเน่าพบสปอร์ของรา 2 ชนิดบนผลฝรั่งเน่า 2 อาการ ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสและโรคผลจุดดำ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยสปอร์ของรามาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์ สำหรับโรคแอนแทรคโนสของฝรั่งพบส่วนขยายพันธุ์ของรา perithecium รูปร่างคล้าย flask ฝังอยู่ในเนื้อผลฝรั่ง สร้าง ascospore ใส เซลล์เดียวไม่มีผนังกั้น มีลักษณะโค้งงอเล็กน้อย อยู่ภายใน ascus ส่วนโรคผลจุดดำของฝรั่งพบส่วนขยายพันธุ์ของรา ascocarp (pseudothecium) สีดำ รูปร่างกลม สร้าง ascospore ใส เซลล์เดียวไม่มีผนังกั้น รูปไข่ และนำไปแยกเชื้อโดยวิธี Tissue transplanting

ผลการศึกษาราโดยตรงจากราดำบนใบมะกรูด มะขามและลำไย พบลักษณะเส้นใยสีดำเกิดกระจัดกระจายบนผิวด้านใต้ใบและเจริญเชื่อมกันเป็นแผ่นใหญ่ และตรวจดูตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอพบส่วนขยายพันธ์ของราเรียกว่า Perithecium มีสีดำหรือสีน้ำตาลเข้ม รูปร่างกลม ผิวขรุขระ มีขนรอบ พบกระจายอยู่ทั่วไปบนโคโลนีของเชื้อและชูขึ้นมาบนใบพืช ศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของส่วนขยายพันธุ์ของรา สปอร์ ลักษณะของเส้นใย

ผลการศึกษาราโดยตรงจากโรค Tar spot ของใบโพธิ์ และต้นหญ้า 3 ชนิด พบส่วนขยายพันธุ์ของราสีดำบนใบพืชและใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วย cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound พบส่วนขยายพันธุ์ของราเรียกว่า perithcium ฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อบนผิวใบพืช ภายใน perithecium พบ paraphyses เป็นจำนวนมาก สร้าง ascospore ใส รูปไข่ปลายมน เซลล์เดียวไม่มีผนังกั้น เกิดภายใน ascus และนำตัวอย่างโรคมาแยกเชื้อโดยวิธี Tissue transplanting

ผลการศึกษาโรครากเน่าของกล้วยไม้ *Dendrobium* พบส่วนขยายพันธุ์ของราสีน้ำตาลอมส้ม รูปร่างค่อนข้างกลม บนส่วนของโคนต้นและราก มีรูปร่างกลม สีส้ม เมื่อนำมาตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ พบส่วนขยายพันธุ์ของราเรียกว่า perithecium รูปร่างค่อนข้างกลม สร้าง ascospores มี 2 เซลล์ สีน้ำตาล รูปไข่ ตรงกลางเว้า มีรอยขีดเป็นแนวยาว และนำตัวอย่างโรคมาแยกเชื้อโดยวิธี Tissue transplanting

ผลการศึกษาโรคใบจุดของเอื้องดินใบหมากภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบส่วนขยายพันธุ์ของราสีดำบนแผล เมื่อใช้ใบมีดตัดขวางบนเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคให้ได้ชิ้นที่บาง ๆ พบส่วนขยายพันธุ์ของรา

เรียกว่า perithecium ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ราสร้าง ascospores ใส ไม่มีผนังกั้น เกิดภายใน ascus และนำตัวอย่างโรคมาแยกเชื้อโดยวิธี Tissue transplanting

ผลการศึกษาโรคใบจุดของว่านเพชรหึงภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบส่วนขยายพันธุ์ของราสีดำบนแผล เมื่อใช้ใบมีดตัดขวางบนเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคให้ได้ชิ้นที่บาง ๆ พบส่วนขยายพันธุ์ของราเรียกว่า perithecium ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ราสร้าง ascospores ใส ไม่มีผนังกั้น เกิดภายใน ascus และนำตัวอย่างโรคมาแยกเชื้อโดยวิธี Tissue transplanting

2.2 การทำ moist chamber

ผลการศึกษาราสาเหตุบนใบจุดมันสำปะหลัง จากการตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอไม่พบสปอร์หรือส่วนขยายพันธุ์ของราบนใบ จึงทำ moist chamber บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound พบราสร้างส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า pseudothecium สีน้ำตาลดำ ราสร้าง asocspores เกิดภายใน ascus เป็น bitunicate รูปร่างคล้ายกระบอง ascospores เป็น phragmosporous สีเหลืองอมน้ำตาล รูปร่างทรงกระบอกปลายแหลม เซลล์ตรงกลางมีความกว้างมากกว่าเซลล์อื่น

2.3 การแยกราโดยวิธี Tissue transplanting

ผลการแยกราโดยวิธี Tissue transplanting จากโรคผลเน่าของฝรั่ง 2 อาการ คืออาการผลจุดดำ และแอนแทคโนส โรคใบจุดของลิ้นจี่ โรคใบจุดของเอื้องดินใบหมาก โรคใบจุดของว่านเพชรหึง อาการผลจุดส้มโอ โรค Tar spot ของหญ้า 3 ชนิด โรคโคนเน่ารากเน่าของกล้วยไม้ *Dendrobium* (ตารางที่ 2) ลักษณะของโคโลนีราที่แยกได้โดยวิธี Tissue transplanting มีดังนี้

โรคแอนแทรคโนสของฝรั่ง โคโลนีบนอาหาร PDA สีเทาดำ ราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 7 วัน พบกลุ่มของสปอร์เป็นเมือกสีส้ม กระจายอยู่ทั่วไป

โรคผลจุดดำของฝรั่ง โคโลนีบนอาหาร PDA มีดำอมเขียว สร้างกลุ่มเส้นใยหนาแน่น และเจริญช้า ขอบโคโลนีหยัก

โรคใบจุดของลิ้นจี่ โคโลนีบนอาหาร PDA มีเทาดำ ราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 7 วัน

โรคใบจุดของเอื้องดินใบหมาก โคโลนีบนอาหาร PDA สีเทาดำ ราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 5 วัน พบกลุ่มของสปอร์เป็นเมือกสีส้ม

โรคใบจุดของว่านเพชรหึง โคโลนีบนอาหาร PDA สีเทาดำ ราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 5 วัน พบกลุ่มของสปอร์เป็นเมือกสีส้ม

อาการผลจุดส้มโอ โคโลนีบนอาหาร PDA สีน้ำตาลดำ สร้างส่วนขยายพันธุ์ของราเรียกว่า pseudothecium ผนังชั้นนอกหนา สีน้ำตาล สร้าง ascus อยู่ภายใน เป็น bitunicate ผนัง ascus หนา มี ascospores 8 อัน เกิดอยู่ภายใน ascus ascospores ใส รูปร่างคล้ายกระบองสั้น มีลักษณะเป็น dictyospore มี 5 เซลล์ และมีผนังกั้นเซลล์ตามยาว กั้นเซลล์ตรงกลาง1-2 เซลล์

โรค Tar spot ของใบโพธิ์ และ โรค Tar spot ของใบหญ้า โคโลนีบนอาหาร PDA สีเทาดำ แต่ไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหาร PDA กำลังอยู่ในระหว่างดำเนินการชักนำให้สร้างสปอร์

โรคโคนเน่ารากเน่าของกล้วยไม้ *Dendrobium* โคโลนีบนอาหาร PDA สีชมพูอมแดง เจริญใต้อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.4 การจำแนกรา Class Ascomycetes

ผลการศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของราและส่วนขยายพันธุ์ของราโดยการศึกษาราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช การทำ moist chamber การแยกราโดยวิธี Tissue transplanting และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพบราทั้งหมด 18 สายพันธุ์ (isolate) โดยจำแนกได้ 8 genera 11 species จัดอยู่ใน 4 order (ตารางที่ 2) ดังนี้

Order Dothideales:

Guignardis psidii สาเหตุโรคผลจุดดำของฝรั่ง พบระบาดที่จังหวัดสมุทรสาคร

Leptosphaeria พบบนใบจุดของมันสำปะหลังจากจังหวัดระยอง

Leptosphaerulina พบบนอาการผลจุดของส้มโอ แยกได้โดยวิธี Tissue transplant ไม่พบเชื้อบนผลส้มโอ

Mycosphaerella พบบนใบจุดของลิ้นจี่จากจังหวัดเชียงราย

Order Hypocreales:

Nectria สาเหตุโรคโคนเน่ารากเน่าของกล้วยไม้ *Dendrobium* จากจังหวัดเชียงราย

Order Meliolales:

Meliola tamarindi สาเหตุโรคราดำของมะขามจากจังหวัดเพชรบูรณ์

Meliola sp. 1 สาเหตุโรคราดำของมะกรูดจากจังหวัดเชียงใหม่

Meliola sp. 2 สาเหตุโรคราดำของลำไยจากจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย

Order Phyllachorales:

Phyllachora graminis สาเหตุโรคใบจุด Tar spot ของหญ้าจังหวัดเพชรบูรณ์

Phyllachora sp. สาเหตุโรคใบจุด Tar spot ของโพธิ์จากจังหวัดราชบุรีและอุบลราชธานี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช 18 ตัวอย่าง จากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ ระยอง จันทบุรี นครปฐม ราชบุรีและสมุทรสาคร ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 - กันยายน 2547 โดยการศึกษาราโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช การทำ moist chamber การแยกราโดยวิธี Tissue transplanting และการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพบราทั้งหมด 18 สายพันธุ์ (isolate) โดยจำแนกได้ 8 genera 11 species จัดอยู่ใน 4 Order: Order Dothideales ได้แก่ รา *Guignardis psidii* สาเหตุโรคผลจุดดำของฝรั่ง พบระบาดที่จังหวัดสมุทรสาคร รา *Leptosphaeria* พบบนใบจุดของมันสำปะหลังจากจังหวัดระยอง รา *Leptosphaerulina* พบบนอาการผลจุดของส้มโอ รา *Mycosphaerella* พบบนใบจุดของลิ้นจี่จากจังหวัดเชียงราย Order Hypocreales คือ รา *Nectria* สาเหตุโรคโคนเน่ารากเน่าของกล้วยไม้ *Dendrobium* จากจังหวัดเชียงราย Order Meliolales ได้แก่ รา *Meliola tamarindi* สาเหตุโรคราดำของมะขามจากจังหวัดเพชรบูรณ์ *Meliola* sp. 1 สาเหตุโรคราดำของมะกรูดจากจังหวัดเชียงใหม่ รา *Meliola* sp. 2 สาเหตุโรคราดำของลำไยจากจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย Order Phyllachorales ได้แก่ รา *Phyllachora graminis* สาเหตุโรคใบจุด Tar spot ของหญ้าจังหวัดเพชรบูรณ์ รา *Phyllachora* sp. สาเหตุโรคใบจุด Tar spot ของโพธิ์จากจังหวัดราชบุรีและอุบลราชธานี

เก็บรักษาสายพันธุ์ราที่แยกได้ไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างโรคพืชแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์เพื่อเป็นหลักฐานในการตรวจสอบและเพื่อการศึกษาและเปรียบเทียบชนิดของโรคและเชื้อสาเหตุ

เอกสารอ้างอิง

Crous, P.W. 1998. Mycosphaerella spp. And Their Anamorphs Associated with Leaf Spot Diseases of Eucalyptus. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 170 pp.

Hanlin, R.T. 1992. Illustrated Genera of Ascomycetes. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 263 pp.

Hanlin, R.T. 1998. Illustrated Genera of Ascomycetes Volume II. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, 258 pp.

Hyde, K.D., J.E. Taylor and J. Fröhlich. 2000. Genera of Ascomycetes from Palms. Fungal Diversity Press, Hong Kong, 247 pp.

Sharma, O.P. 1998. Textbook of Fungi. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi, 365 pp.

Shivas, R., D. Beasley. 2003. Workshop Manual & Reference: Plant Pathogenic Ascomycetes, pp. 305. *In* Plant Pathogenic Ascomycetes Workshop, 7-9 May 2003, Dunwish, North Strabroke Island.

ตารางที่ 1 ชนิดและส่วนของพืชที่เป็นโรคที่เก็บมาจากจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 - กันยายน 2547

ตัวอย่างที่	พืชอาศัย	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนของพืชที่เก็บ	สถานที่เก็บ (จังหวัด)
1	กล้วยไม้	*Dendrobium* sp.	โคนต้น ราก	เชียงราย
2	ฝรั่ง	*Psidium guajava* L.	ผล	นครปฐม
3	ฝรั่ง	*Psidium guajava* L.	ผล	ราชบุรี
4	ฝรั่ง	*Psidium guajava* L.	ผล	สมุทรสาคร
5	โพธิ์	*Ficus religiosa* L.	ใบ	อุบลราชธานี
6	โพธิ์	*Ficus religiosa* L.	ใบ	ราชบุรี
7	มะกรูด	*Citrus hystrix* DC.	ใบ	เชียงใหม่
8	มะขาม	*Tamarindus indica* L.	ใบ	เพชรบูรณ์
9	มันสำปะหลัง	*Manihot esculenta* Crantz	ใบ	ระยอง
10	ลิ้นจี่	*Litchi chinensis* Sonn.	ใบ	เชียงราย
11	ลำไย	*Dimocarpus longan* Lour. subsp. Longan var. longan	ใบ	เชียงใหม่
12	ลำไย	*Dimocarpus longan* Lour. subsp. Longan var. longan	ใบ	เชียงราย
13	ว่านเพชรหึง	*Grammatophyllum speciosum* Blume	ใบ	กระบี่
14	ส้มโอ	*Citrus maxima* (Burm.f.) Merr.	ผล	กำแพงเพชร
15	หญ้า	Unknown	ใบ	เพชรบูรณ์
16	หญ้า	Unknown	ใบ	เพชรบูรณ์
17	หญ้า	Unknown	ใบ	เพชรบูรณ์
18	เอื้องดินใบหมาก	*Spathoglottis plicata* Blume	ใบ	กระบี่

ตารางที่ 2 วิธีการแยกเชื้อสาเหตุ และชนิดของรา Class Ascomycetes จากตัวอย่างโรคพืช 18 ตัวอย่างจากแหล่งต่าง ๆ

ชนิดของรา	พืชอาศัย	สถานที่เก็บ (จังหวัด)	วิธีการแยกรา
Glomerella cingulata (Order Phyllachorales)	ฝรั่ง	นครปฐม	Direct Isolation, Tissue Transplant
Glomerella cingulata (Order Phyllachorales)	ฝรั่ง	ราชบุรี	Direct Isolation, Tissue Transplant
Glomerella cingulata (Order Phyllachorales)	ว่านเพชรหึง	กระบี่	Direct Isolation, Tissue Transplant
Glomerella cingulata (Order Phyllachorales)	เอื้องดินใบหมาก	กระบี่	Direct Isolation
Guignardia psidii (Order Dothideales)	ฝรั่ง	สมุทรสาคร	Direct Isolation, Tissue Transplant
Leptosphaeria sp. (Order Dothideales)	มันลำปะหลัง	ระยอง	Moist Chamber
Leptosphaerulina sp. (Order Dothideales)	ส้มโอ	กำแพงเพชร	Tissue Transplant
Meliola tamarindi (Order Meliolales)	มะขาม	เพชรบูรณ์	Direct Isolation
Meliola sp.1 (Order Meliolales)	มะกรูด	เชียงใหม่	Direct Isolation
Meliola sp.2 (Order Meliolales)	ลำไย	เชียงใหม่	Direct Isolation
Meliola sp. (Order Meliolales)	ลำไย	เชียงราย	Direct Isolation
Mycosphaerella sp. (Order Dothideales)	ลิ้นจี่	เชียงราย	Tissue Transplant

ชนิดของรา	พืชอาศัย	สถานที่เก็บ (จังหวัด)	วิธีการแยกรา
Nectria sp. (Hypocreales)	กล้วยไม้	เชียงราย	Direct Isolation, Tissue Transplant
Phyllachora graminis (Order Phyllachorales)	หญ้า	เพชรบูรณ์	Direct Isolation, Tissue Transplant
Phyllachora graminis (Order Phyllachorales)	หญ้า	เพชรบูรณ์	Direct Isolation, Tissue Transplant
Phyllachora graminis (Order Phyllachorales)	หญ้า	เพชรบูรณ์	Direct Isolation, Tissue Transplant
Phyllachora sp. (Order Phyllachorales)	โพธิ์	อุบลราชธานี	Direct Isolation, Tissue Transplant
Phyllachora sp. (Order Phyllachorales)	โพธิ์	ราชบุรี	Direct Isolation, Tissue Transplant

การเก็บรักษาราสกุล *Phytophthora*

Preservation of *Phytophthora* spp.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ เพลินพิศ สงสังข์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2546 - กันยายน 2547 พบโรคพืชที่เกิดจากรา *Phytophthora* spp. แยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้รา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน จากจังหวัดระยอง 2 ไอโซเลท จันทบุรี 2 ไอโซเลท ตราด 5 ไอโซเลท รวม 9 ไอโซเลท รา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าลำไยจากลำพูน อย่างละ 1 ไอโซเลท ใบเน่าลำไยจากลำปาง 1 ไอโซเลท รวม 3 ไอโซเลท รา *P. mirabilis* สาเหตุโรคกิ่งอ่อนไหม้ลำไยจากเชียงใหม่ 1 ไอโซเลท และรา *P. parasitica* สาเหตุโรคโคนใบเน่ากล้วยไม้ จากปทุมธานี 2 ไอโซเลท นนทบุรี 1 ไอโซเลท รวม 3 ไอโซเลท และใบไหม้หน้าวัวจากกรุงเทพฯ และนครปฐม อย่างละ 1 ไอโซเลท รวม 2 ไอโซเลท รวมรา *Phytophthora* spp. ทั้งหมด 18 ไอโซเลท ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาสรีรวิทยาและแบบคู่ผสมของราดังกล่าว เก็บรักษาในอาหารแข็งและเหลว CA เก็บในน้ำ เพื่อเก็บใน Culture collection

เมื่อรวมกับไอโซเลทเดิมที่รวบรวมไว้ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542-2545 ดังนั้นขณะนี้จึงมีรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน แยกได้จากจังหวัดระยอง 4 ไอโซเลท จันทบุรี 5 ไอโซเลท ตราด 7 ไอโซเลท นครนายก 3 ไอโซเลท ศรีสะเกษ 2 ไอโซเลท ชุมพร 6 ไอโซเลทและ สุราษฎ์ธานี 7 ไอโซเลท รวม 34 ไอโซเลท และรา *P. palmivora* มาตรฐาน คือ mating type A1 และ A2 เมื่อรวมกับราที่ได้จากพืชอื่นที่เก็บรวบรวมได้ในปี พ.ศ. 2546-2547 นี้ จึงมี รา *Phytophthora* spp. ใน Culture collection รวมทั้งหมด 45 ไอโซเลท ซึ่งต้องเก็บรักษาให้คงความมีชีวิตและมีความรุนแรงคงเดิม

คำนำ

genus *Phytophthora* ราศัตรูพืชที่สำคัญ อยู่ใน class Oomycetes เป็นพวกที่มีลักษณะรูปร่างและการเจริญคล้ายรา (fungi-like) และถูกกำหนดไว้เป็นพวก Stramenopile คือการสร้าง zoospores ที่มี 2 หาง (bi-flagella) ซึ่งมีความยาวไม่เท่ากัน (heterokont) ใน *Phytophthora* การสร้าง zoospores เกิดจากการแบ่งตัวของ cytoplasm ภายใน sporangia ซึ่งเป็นสปอร์ที่เกิดโดยไม่มีการผสมทางเพศ มักถูก

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0802-10

สร้างบนปลายเส้นใยที่เจริญอยู่บนอาหารชนิดต่าง ๆ zoospores ไม่มี cell wall แต่มี plasma-membrane เมื่อ zoospores ว่ายน้ำไปเจอพืชอาศัย จะปลดหางทิ้งและเข้าสปอร์ (encyst) พร้อมมีการสร้าง cell wall ที่มีส่วนประกอบของ cellulose ทันที (ภายใน 5-10 นาที) และพร้อมที่จะงอกเส้นใยเข้าทำลายพืชโดยตรง (ทวี, 2545) มีความสำคัญต่อการเกษตร ทำให้เกิดโรคพืชหลายชนิดที่เป็นพืชเศรษฐกิจ ราเข้าทำลายพืชระยะกล้าและระยะต้นไม้ใหญ่ ในขณะนี้พืชผลโดยเฉพาะไม้ผล พืชผักและไม้ดอกไม้ประดับ ในประเทศไทยกำลังมีปัญหากับราตัวนี้ค่อนข้างมาก ส่วนใหญ่ที่พบเป็นสาเหตุของโรคพืช มีบ้างไม่กี่สายพันธุ์ ชนิดที่ดำรงชีวิตแบบ saprophyte ในดิน ทำลายพืชผลสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด บาง species ทำลายพืชมากกว่าหนึ่งชนิด ความเสียหายของพืชผลทั่วโลกมีมูลค่ามหาศาล ถูกบันทึกไว้ในประวัติศาสตร์การพบราสาเหตุของโรคพืช ในปี ค.ศ. 1840 เกิดการระบาดโรคใบไหม้ (late blight) ของมันฝรั่งที่ประเทศไอร์แลนด์ทำให้ชาวไอริชอดยากและล้มตายเป็นล้านๆ คน จึงอพยพไปอยู่ที่ประเทศสหรัฐอเมริกาเป็นจำนวนมาก ในขณะนั้นยังไม่ทราบว่าอะไรคือสาเหตุของโรค ได้มีผู้พยายามศึกษาสาเหตุของโรคนี้หลายท่านด้วยกัน ผู้ที่สามารถพิสูจน์ว่าโรคนี้มีสาเหตุมาจากรา *P. infestans* คือ De Bary เมื่อปี ค.ศ. 1861 สำหรับในประเทศไทย มีรายงานการพบโรครากเน่าของพลูในปี พ.ศ.2470 โดย ม.จ. สิทธิพร กฤดากร ต่อมาได้มีการศึกษาสาเหตุและพบว่าเป็นรา *Phytophthora* spp. ปัจจุบันโรคนี้มีปัญหาเกี่ยวกับการปลูกพลูในหลายจังหวัด (ทวี, 2546)

จากการศึกษาและวิจัย พบว่ารา *Phytophthora* มีถึง 67 ชนิด (species) ที่เข้าทำลายพืชผลสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิดทั่วโลก บาง species ทำลายพืชมากกว่าหนึ่งชนิด รา *P. cinnamomi* ทำลายพืชมากกว่าพันชนิด ทำลายระบบนิเวศวิทยาอย่างกว้างขวางและยังทำลายป่าไม้ยูคาลิปตัสเสียหายอย่างรุนแรง รา *P. palmivora* ทำลายพืชมากกว่า 138 ชนิด ในประเทศออสเตรเลีย มีรายงานความเสียหายของพืชผลที่เกิดจาก รา *Phytophthora* ทำความเสียหายมากกว่า 8,600 ล้านบาท (200 $) ต่อปี เมื่อปี ค.ศ.1994 ประเทศสหรัฐอเมริกา เกิดความสูญเสียจาก *P. infestant* ทำลายมันฝรั่งและมะเขือเทศเสียหายทางด้านผลผลิตถึง 4,000 ล้านบาทและเป็นค่าสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคอีก 4,000 ล้านบาท สำหรับประเทศไทยแม้จะไม่มีการประเมินความเสียหายจาก รา *Phytophthora* แต่ระยะเวลายาวนานกว่า 40 ปี ตั้งแต่มีรายงานพบการแพร่ระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน ซึ่งมีสาเหตุจาก รา *P. palmivora* ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2509 ที่จังหวัดธนบุรีและนนทบุรี ต่อมาปี พ.ศ. 2510 มีการระบาดของโรคนี้ ที่จังหวัดจันทบุรี ระยอง ตราดและปราจีนบุรี ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของการผลิตทุเรียนอย่างต่อเนื่องมาโดยตลอด จากอดีตจนถึงปัจจุบัน การระบาดของโรคยังคงเกิดขึ้นอยู่เป็นประจำและนับวันจะทวีความรุนแรงเพิ่มขึ้นในทุกแหล่งปลูกของประเทศ ระหว่างปี พ.ศ. 2538–2542 ทำความเสียหายทำลายสวนทุเรียนกว่า 90,000 ไร่ ผลผลิตลดลง 70,000 ตัน หากประเมินความเสียหายคงเป็นจำนวนเงินมหาศาล (อมรรัตน์, 2546) นอกจากนี้มีการพบและรายงาน species *Phytophthora* อย่างน้อย 8 species ทำลายพืชหลายชนิดในประเทศ

ไทย (ทวี, 2545) เช่น *P. botryosa* สาเหตุโรคเส้นดำและโรคใบร่วงของยางพารา *P. infestans* สาเหตุโรคใบไหม้ของมันฝรั่งและมะเขือเทศ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน โคนเน่ามะละกอ ผลเน่ามะพร้าว *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าส้ม (พัฒนาและคณะ, 2542) จึงมีความจำเป็นต้องรวบรวมศึกษา อนุกรมวิธานและเก็บรักษาราสกุล *Phytophthora* ไว้ เพื่อเป็นแหล่งเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดโรคพืชอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและการแยกเชื้อสาเหตุ จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ

1.1 แหล่งปลูกในภาคตะวันออก

- โรครากเน่า โคนเน่าและผลเน่าของทุเรียน

ดำเนินการทดลองในระหว่างเดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2547 โดยสำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคทุเรียน จากจังหวัดระยอง จันทบุรีและตราด นำตัวอย่างเหล่านั้นมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ในวันเดียวกัน โดยวิธี tissue transplanting ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มม. ตัวอย่างละ 15-20 ชิ้น เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 ± 2^0 ซ.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดชอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่าง เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP อีกครั้ง เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดชอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นเชื้อ เลี้ยงบนอาหาร CA (Carrot agar) แล้วแยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลองที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ แล้วนำไปทำ single sporangium culture เพื่อศึกษาเชื้อดังกล่าว

1.2 แหล่งปลูกในภาคเหนือ

- โรครากเน่าโคนเน่า ใบไหม้ และกิ่งไหม้ของลำไย

สำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคลำไย จากจังหวัดลำปาง ลำพูนและเชียงใหม่ ปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 1.1

1.3 แหล่งปลูกในภาคกลาง

- โรคโคนเน่า ใบเน่าของกล้วยไม้และหน้าวัว

สำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคกล้วยไม้และหน้าวัว จากจังหวัดปทุมธานี นนทบุรี นครปฐมและกรุงเทพฯ ปฏิบัติเช่นเดียวกับ ข้อ 1.1

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคทุเรียนบนพืชอาศัยและบนอาหาร

2.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

เลี้ยงรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มม. ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ CA จำนวน 15 มล. เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อซึ่งเลี้ยงบนอาหาร CA นาน 5 วัน วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มมืดอุณหภูมิห้อง จนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาบันทึกลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหารและความหนาแน่นของเส้นใย

2.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

นำรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ CA จำนวน 15 มล. ที่บ่มในตู้บ่มมืดนาน 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน (white cool) 40 วัตต์ 2 หลอดระยะ 30 ซม.ที่ให้แสง 200 ftc ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยไว้ใต้แสงนาน 48 ชม. เพื่อให้เชื้อสร้าง sporangia ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (sporangiophores) วัดความกว้าง (length) และความยาว (breadth) ของ sporangia เพื่อหา L : B ratio วัดความยาวของก้าน สปอร์ (pedicel หรือ stalk) ความยาวของ papilla และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ chlamydospore ศึกษาสปอร์ทั้ง 2 ชนิด จำนวนตัวอย่างละ 50 สปอร์

2.3 ศึกษา mating type (แบบคู่ผสม) ของรา

เลี้ยงรา *Phytophthora* แต่ละไอโซเลท บนอาหาร CA วิธีการเดียวกับ ข้อ 2.1 จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของ เชื้อดังกล่าว (unknown) เลี้ยงบนอาหาร CA ในจานเลี้ยงเชื้อด้านตรงข้ามกับรา *P. palmivora* มาตรฐานที่ทราบ mating type แล้ว คือ mating type A1 (*P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าลำไย) แล้วทำวิธีการเดียวกันกับรา *P. palmivora* มาตรฐาน mating type A2 (*P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าแก้วหน้าม้า) เพื่อหา mating type ของราทุกไอโซเลท นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดนาน 7-10 วัน ศึกษาและบันทึกการสร้าง sexual structure ของเชื้อ unknown กับ A1 หรือ A2 มาตรฐาน วัดขนาด (ความกว้างและความยาว) ของ oogonia, oospores และ antheridia จำนวนไอโซเลทละ 50 สปอร์ ศึกษาตำแหน่งของ antheridia บนผิวของ oogonium และลักษณะของ oospore ที่อยู่ภายในแต่ละ oogonium

3. การจำแนกชนิด *Phytophthora*

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการเจริญ ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ต่างๆ (sporangium, chlamydospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของรา *Phytophthora* สาเหตุโรคพืช กับคู่มือการจำแนกชนิด *Phytophthora* ของ Stamps และคณะ (1990) (ตารางภาคผนวก-TABLE 1) และ เอกสารของ Erwin และ Ribeiro (1996)

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ โดยทำ single sporangium culture

นำรา *Phytophthora* บริสุทธิ์จากตัวอย่างโรคที่เก็บจากแหล่งต่างๆ ในข้อ 1 แต่ละ ตัวอย่างในหลอดทดลอง มาเลี้ยงบนอาหาร CA ตัวอย่างละ 3 ซ้ำเก็บไว้ในที่มืด 72 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน

(white cool) 40 วัตต์ 2 หลอดระยะ 30 ซม.ที่ให้แสง 200 ftc ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยไว้ใต้แสงนาน 24–48 ชม. ใช้เข็มเขี่ย (loop) ลนไฟฆ่าเชื้อ แช่ในน้ำกลั่นนึ่ง นำมาแตะบนปลายเส้นใย ซึ่งได้ sporangia จำนวนมาก นำไปเขี่ยให้กระจาย (streak) บนอาหาร WA แล้วส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 10 x 10 เพื่อหา single sporangium ตักสปอร์เดี่ยวดังกล่าววางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 จุดต่อ 1 จาน เลี้ยงบนอาหาร CA ปริมาณ 15 มล.ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 72 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากสปอร์เดี่ยวนั้น นำไปเลี้ยงบนอาหาร CA แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง

5. ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora*

นำรา *Phytophthora* บริสุทธิ์ แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลองมาวางบนอาหาร CA ในจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง จนอายุ 5 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ นำไปปลูกเชื้อ โดยวิธี detached leaf โดยโรคจากต้นใดใช้ใบปกติจากพืชนั้นในระยะใบเพสลาด ที่ปลายของก้านใบพันด้วยสำลีชุบน้ำกลั่น เพื่อให้ใบสดอยู่เสมอ ปลูกเชื้อที่แยกได้ ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มม. ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เจาะทำแผลบนเส้นกลางใบพืช วางเส้นใยบนอาหารวุ้นคว่ำลงบนใบที่ทำแผล จากนั้นใช้สำลีชุบน้ำวางบนชิ้นอาหารวุ้นดังกล่าวเพื่อให้ความชื้น วางใบพืชทดลองในกล่องพลาสติกปิดฝา เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 3 วัน นำใบดังกล่าวที่แสดงอาการเป็นโรคตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลอง

6. การเก็บรักษาราสกุล *Phytophthora* สาเหตุโรคพืช

เก็บรักษาราสกุล *Phytophthora* สาเหตุโรคพืช โดยวิธีการต่างๆ ใน Culture collection 3 วิธีการ คือ การเก็บในน้ำ การเก็บในอาหารแข็ง CA และการเก็บในอาหารแข็ง CA ซึ่งเททับด้วยน้ำมันพาราฟิลม์ ทดสอบความมีชีวิตและความรุนแรงของเชื้อ แล้วบันทึกข้อมูลต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น สถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่ การแพร่กระจาย ฯลฯ แล้วจัดเก็บอย่างเป็นระบบพร้อมภาพประกอบ

ผลการทดลอง

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจและการแยกเชื้อสาเหตุ จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ

1.1 แหล่งปลูกในภาคตะวันออก

โรครากเน่า โคนเน่าและผลเน่าของทุเรียน

ผลการแยกเชื้อจาก ใบ เปลือกโคนลำต้นและผลทุเรียนที่เป็นโรคเน่า ได้รา *P. palmivora* จำนวน 9 ไอโซเลท จากพื้นที่เพาะปลูกทุเรียนภาคตะวันออกของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดระยอง 2 ไอโซเลท จันทบุรี 2 ไอโซเลท และตราด 5 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

1.2 แหล่งปลูกในภาคเหนือ

โรครากเน่าโคนเน่า ใบไหม้ และกิ่งไหม้ของลำไย

ผลการแยกเชื้อจาก ใบ เปลือกโคนลำต้น และรากลำไยที่เป็นโรคเน่า ได้รา *P. palmivora* จำนวน 3 ไอโซเลท จากพื้นที่เพาะปลูกลำไยภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดลำพูน 2 ไอโซเลท และลำปาง 1 ไอโซเลท ได้รา *P. mirabilis* จำนวน 1 ไอโซเลท จากพื้นที่เพาะปลูกลำไยภาคเหนือของประเทศไทย คือ จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 2)

1.3 แหล่งปลูกในภาคกลาง

โรคโคนเน่า ใบเน่าของกล้วยไม้และหน้าวัว

ผลการแยกเชื้อจาก โคนใบและใบเน่ากล้วยไม้และหน้าวัว ได้รา *P. parasitica* จำนวน 5 ไอโซเลท จากพื้นที่เพาะปลูกในภาคกลางประเทศ ได้แก่ โรคโคนใบเน่าของกล้วยไม้จากจังหวัดปทุมธานี 2 ไอโซเลท นนทบุรี 1 ไอโซเลท รวม 3 ไอโซเลท โรคใบไหม้หน้าวัวจากกรุงเทพฯ 1 ไอโซเลท นครปฐม 1 ไอโซเลท รวม 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคทุเรียนบนพืชอาศัยและบนอาหาร

2.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

2.1.1 ลักษณะการเจริญเติบโตของรา *P. palmivora*

ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ การเจริญของเส้นใยบนอาหารแข็ง (culture pattern หรือ colony pattern) คืออาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ CA ซึ่งบ่มในตู้บ่มมืดอุณหภูมิ 25^{0}ซ. พบว่าการสร้างเส้นใยบนอาหารแข็ง มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปสม่ำเสมอค่อนข้างเป็นระเบียบ เส้นใยไม่ฟูมาก เส้นใยลักษณะใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้นเส้นใย ผิวผนังเส้นใยเรียบ (smoot) ไม่มีการโป่งพอง ทำให้เกิดลักษณะรูปแบบเป็นแฉกคล้ายรูปดอกรักเร่ หรือรูปดาว หรือ stellate growth pattern เชื้อเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 5 วัน แต่บนอาหาร PDA เชื้อเจริญเติบโตได้ช้ากว่า เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 7 วัน เชื้อสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA หนาแน่นกว่าและสร้าง sporangia จำนวนมากกว่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

2.1.2 ลักษณะการเจริญเติบโตของรา *P. mirabilis*

ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ การเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA ในตู้บ่มมืดอุณหภูมิ 25^{0}ซ. พบว่าการสร้างเส้นใยบนอาหารแข็ง มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปสม่ำเสมอค่อนข้างเป็นระเบียบ เส้นใยฟูมาก เส้นใยลักษณะใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้นเส้นใย ผิวผนังเส้นใยเรียบ (smoot) ไม่มีการโป่งพอง เชื้อเจริญช้ามาก ไม่เต็มจานเลี้ยงเชื้อ เมื่ออายุ 20-25 วัน เชื้อเจริญเพียงประมาณ 8 เซนติเมตร แล้วหยุดการเจริญ บนอาหาร PDA เชื้อเจริญเติบโตได้ช้ากว่ามากๆ เพียง 2 เซนติเมตร เชื้อสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA หนาแน่นกว่าและสร้าง sporangia จำนวนมากกว่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

2.1.1 ลักษณะการเจริญเติบโตของรา *P. parasitica*

ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ การเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ CA ในตู้บ่มมืดอุณหภูมิ 25^{0}ซ. พบว่าการสร้างเส้นใยบนอาหารแข็ง มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปไม่สม่ำเสมอ เส้นใยไม่ฟูมาก เส้นใยลักษณะใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้นเส้นใย ผิวผนังเส้นใยเรียบ (smoot) ลักษณะโคโลนีเจริญบนอาหาร PDA คล้ายเส้นใยแมงมุม (arachnoid) เชื้อเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 5 วัน แต่บนอาหาร PDA เชื้อเจริญเติบโตได้ช้ากว่า เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 7 วัน เชื้อสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA หนาแน่นกว่าและสร้าง sporangia จำนวนมากกว่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

2.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

2.2.1 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา *P. palmivora*

ผลการศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาดของ sporangium ของรา *P. palmivora* พบว่าเชื้อสร้าง sporangia ผนังหนา จำนวนมากบนผิวอาหารแข็ง CA มีหลายรูปแบบ คือรูปร่างรี หรือรูปไข่ (ovoid) รูปค่อนข้างยาว (elongated ellipsoid) มี papilla เด่นชัด (papillate) การแตกกิ่ง (branching) ของก้านสปอร์ (sporangiophore) เป็นแบบ simple sympodium ฐาน sporangia ส่วนที่ติดอยู่กับก้านแคบลงเล็กน้อย สปอร์หลุดจากก้าน สปอร์ได้ง่ายเมื่ออายุมาก การหลุดจากก้านของ sporangia (caducity) มีก้านที่ติดมากับสปอร์ (pedicel หรือ stalk) สั้น ความยาว 2.5 μm sporangium ขนาดแตกต่างกัน มีขนาดเฉลี่ยทั้ง 16 ไอโซเลท (กำลังศึกษา) อัตราส่วนความยาว : ความกว้างของ sporangia เฉลี่ย (กำลังศึกษา) การศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ chlamydospores พบว่าเชื้อสร้าง chlamydospores จำนวนมาก มีรูปร่างค่อนข้างกลม พบเกิดปลายเส้นใย (terminal) และระหว่างเส้นใย (intercalary) เกิดมากในที่มืด มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย (กำลังศึกษา)

2.2.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา *P. mirabilis*

ผลการศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาดของ sporangium ของรา *P. palmivora* พบว่าเชื้อสร้าง sporangia จำนวนมากบนผิวอาหารแข็ง CA มีรูปร่างเดียว คือ รูปค่อนข้างยาว (elongated ellipsoid) มี papilla เด่นชัด (papillate) การแตกกิ่ง (branching) ของก้านสปอร์ (sporangiophore)เป็นแบบ ..... ฐาน sporangia ส่วนที่ติดอยู่กับก้านแคบลงเล็กน้อย สปอร์หลุดจากก้าน สปอร์ได้ง่ายเมื่ออายุมาก การหลุดจากก้านของ sporangia (caducity) มีก้านที่ติดมากับสปอร์ (pedicel หรือ stalk) สั้น ความยาว 2.5 μm sporangium ขนาดใกล้เคียงกันมาก มีขนาดเฉลี่ย (กำลังศึกษา) อัตราส่วนความยาว : ความกว้างของ sporangia เฉลี่ย 2 : 1 ไม่พบการสร้าง chlamydospores บนอาหารแข็ง CA

2.2.3 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา *P. parasitica*

ผลการศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาดของ sporangium ของรา *P. parasitica* พบว่าเชื้อสร้าง sporangia น้อย หรือไม่สร้าง sporangia บนผิวอาหารแข็ง CA ต้องตัดชิ้นเชื้อที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง

CA แล้วแช่ในน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ 24-36 ชั่วโมง เชื้อจะสร้าง sporangia จำนวนมากในน้ำ มี รูปค่อนข้างกลม รูปแพร์หรือกลม มีปุ่มนูนชัดเจนบนสปอร์ สปอร์ติดแน่นกับเส้นใย สปอร์ผนังหนา มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20-60 ไมครอน

2.3 **ศึกษา mating type (แบบคู่ผสม) ของรา**

2.3.1 ศึกษา mating type (แบบคู่ผสม) ของรา *P. palmivora*

ผลการศึกษา mating type พบว่ารา P. *palmivora* ทุกไอโซเลท ในวงจรชีวิตของการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ เป็น heterothallic การเกิด oospores ได้จากการผสมกันของราต่าง mating type ที่เข้ากันได้ เป็น mating type A1 ตำแหน่งของ antheridia บนผิวของ oogonium เป็นแบบ amphigynous antheridium คือติดที่ฐานของ oogonia, oogonia มีขนาดเล็ก เฉลี่ย (กำลังศึกษา) ผิวผนัง oogonium เรียบ รูปร่างกลม oospore ผนังหนา มีขนาดเฉลี่ย (กำลังศึกษา) อยู่ใน oogonia พบทั้งแบบเต็มและแบบหลวมภายใน oogonia antheridia มีรูปร่างหลายแบบ แบบสี่เหลี่ยมจัตุรัส แบบยาว แบบรูปไข่โคนแหลมและแบบรูปไข่โคนมน มีขนาดเฉลี่ย (กำลังศึกษา) ซึ่งทุก ไอโซเลทมีขนาดใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันมากนัก เชื้อทุกไอโซเลทสร้าง oogonia, antheridia และ oospores ใส

2.3.2 ศึกษา mating type (แบบคู่ผสม) ของรา *P. mirabilis*

(กำลังศึกษารายละเอียด)

2.3.3 ศึกษา mating type (แบบคู่ผสม) ของรา *P. parasitica*

สปอร์ผนังหนาเกิดจากการผสมทางเพศ (oospore) เป็นราที่จะต้องผสมต่างเพศต่างเส้นใย (heterothallic fungus) เพศเมีย (oogonium) เพศผู้ (antheridium) เพศผู้จะอยู่ใต้เพศเมีย (amphigynous antheridium) (กำลังศึกษารายละเอียด)

3. การจำแนกชนิด *Phytophthora*

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการเจริญ ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ต่างๆ (sporangium, chlamydospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของรา *Phytophthora* สาเหตุโรคพืช กับคู่มือการจำแนกชนิด *Phytophthora* ของ Stamps และคณะ (1990) (ตารางภาคผนวก-TABLE 1) และ เอกสารของ Erwin และ Ribeiro (1996) พบว่า

3.1 เชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าและผลเน่าทุเรียนทุกไอโซเลท คือรา *P. palmivora*

3.2 เชื้อสาเหตุโรครากเน่า โคนเน่า ใบเน่าลำไยทั้ง 3 ไอโซเลท คือรา *P. palmivora*

3.3 เชื้อสาเหตุโรคกิ่งอ่อนไหม้ลำไย คือรา *P. mirabilis*

3.4 เชื้อสาเหตุโรคโคนใบเน่ากล้วยไม้และใบไหม้หน้าวัว คือรา *P. parasitica*

4. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ โดยทำ single sporangium culture

ได้ทำ single sporangium culture ของรา *Phytophthora* จากทุกไอโซเลท เพื่อหาลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหาร CA ทำให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งลักษณะการเจริญของ single sporangium culture เหมือนกับ culture ที่แยกได้จากข้อที่ 2 ทุกประการ

5. **ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora***

5.1 **ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่า โคนเน่าและผลเน่าของทุเรียน** รา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละไอโซเลท ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทองระยะเพสลาดเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ หลังจากนั้นแผลจะลุกลามไปตามเส้นใบ ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน แผลขยายใหญ่ขึ้นไปตามความกว้างและความยาวของใบทุเรียน แล้วขยายลุกลามจนเน่าหมดทั้งใบ

5.2 **ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าและใบไหม้ของลำไย** รา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้แต่ละไอโซเลท ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบลำไยพันธุ์อีดอระยะเพสลาดเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ หลังจากนั้นแผลจะลุกลามไปตามเส้นใบ ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน แผลขยายขึ้นไปตามความยาวของใบลำไย มากกว่าด้านกว้าง

5.3 **ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *P. mirabilis* สาเหตุกิ่งอ่อนไหม้ของลำไย** รา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้จากกิ่งอ่อนที่แสดงอาการไหม้ ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ทำให้ใบลำไยพันธุ์อีดอระยะเพสลาดเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ หลังจากนั้นแผลจะลุกลามไปตามเส้นใบ ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน แผลขยายขึ้นไปตามความยาวของใบลำไย มากกว่าด้านกว้าง

5.4 **ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *P. parasitica* สาเหตุโรคโคนเน่า ใบเน่าของกล้วยไม้และหน้าวัว** รา *Phytophthora* บริสุทธิ์ที่แยกได้แต่ละไอโซเลท ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบกล้วยไม้พันธุ์หวาย และใบหน้าวัวเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ หลังจากนั้นแผลจะลุกลามไปตามเส้นใบ ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน แผลขยายใหญ่ขึ้นไปตามความกว้างและความยาวของใบ แล้วขยายลุกลามจนเน่าหมดทั้งใบ

6. **การเก็บรักษาราสกุล *Phytophthora* สาเหตุโรคพืช**

ผลการเก็บรักษาราสกุล *Phytophthora* สาเหตุโรคพืช จำนวน 45 ไอโซเลท (ตารางที่ 3) ซึ่งได้จากไอโซเลทของรา *P.palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน จากพื้นที่เพาะปลูกทุเรียนแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย เมื่อปี พ.ศ.2542-2545 (ตารางที่ 1) (อมรรัตน์และพจนา, 2543) และจากการเก็บ รวบรวมรา *Phytophthora* spp. สาเหตุโรคพืช จากพื้นที่เพาะปลูกสำคัญของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2546-2547 (ตารางที่ 2) และรา *P.palmivora* มาตรฐาน A1 (*P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าลำไย จาก ศวส.เชียงราย [1]) และรา *P. palmivora* มาตรฐาน mating type A2 (*P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าแก้วหน้าม้า จาก ก.รพ.[2]) ด้วย

วิธีการต่างๆ ใน Culture collection โดยการเก็บในน้ำ ในหลอดอาหารแข็ง CA และหลอดอาหารแข็ง CA ซึ่งเททับด้วยน้ำมันพาราฟิลม์ แล้วทดสอบความมีชีวิตและความรุนแรงของเชื้อ พบว่า ในหลอดอาหารแข็ง CA ต้องแยกเชื้อบริสุทธิ์ใหม่ ทุก 3-4 เดือน แม้อาหารในหลอดที่เลี้ยงจะไม่แห้ง เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของเชื้ออื่น การเก็บในน้ำ เกิดการปนเปื้อนได้บ้างบริเวณผิวหน้า แต่สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์และคงความมีชีวิตอยู่ได้นานกว่าเลี้ยงบนอาหารแข็ง CA ขณะนี้มีชีวิตอยู่ได้นาน 2 ปี ส่วนการเก็บในหลอดอาหารแข็ง CA ซึ่งเททับด้วยน้ำมันพาราฟิลม์ นั้น เพิ่งเริ่มการทดลอง ขณะนี้มีชีวิตนาน 4 เดือน

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ มีสาเหตุจากรา *Phytophthora* ครั้งนี้ พบโรครากเน่า โคนเน่าและผลเน่าของทุเรียน โรครากเน่าโคนเน่า ใบไหม้ และกิ่งไหม้ของลำไย และโรคโคนเน่า ใบเน่าของกล้วยไม้และหน้าวัว ซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ยังไม่พบการเข้าทำลายของราในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ตรงกับการรายงานของ Brasier และ Hansen (1992) ที่รายงานว่ารา *Phytophthora* ส่วนมากทำให้เกิดโรคก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงกับพืชใบเลี้ยงคู่ (Brasier and Hansen, 1992) การแยกรา *Phytophthora* จากส่วนต่างๆ ของพืชที่เป็นโรค โดยวิธี tissue transplanting นั้น ความยุ่งยากคือต้องแยกเชื้อบริสุทธิ์ในวันเดียวกัน มิฉะนั้นจะเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย (อมรรัตน์และคณะ, 2544) และต้องนำมาแยก รา*Phytophthora* บนอาหารสังเคราะห์พิเศษ PDA + BRNAP 2 ครั้ง ครั้งแรกเพื่อแยกเชื้อสาเหตุโรคจากชิ้นส่วนพืช ครั้งที่สองเพื่อทำให้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วจึงเลี้ยงบนอาหารแข็ง CA (Carrot agar) จากนั้นจึงเก็บแยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธีการต่างๆ ใน Culture collection อีกครั้ง

ได้แยกเชื้อบริสุทธิ์จากชิ้นส่วนของ ราก เปลือกลำต้น ผลทุเรียนที่เป็นโรคเน่าและดิน ที่อยู่บริเวณโคนต้นทุเรียนที่เป็นโรครากเน่าและโคนเน่า ผลการแยกครั้งนี้ได้ *Phytophthora* จากชิ้นส่วนเปลือกลำต้นและผลเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะลักษณะของรา *P. palmivora* ที่มีการวิวัฒนาการสูง sporangia มีการหลุดร่วงออกจากก้าน (Kaosiri, 1978) และปลิวไปกับลม หรือน้ำฝน เป็นการแพร่กระจายของเชื้อได้ ดังนั้นการแยกรา *Phytophthora* จากโรคทุเรียนควรจะแยกจากตัวอย่างเปลือกของลำต้น หรือเปลือกของผลที่เป็นโรคทันที ซึ่งแยกได้ง่ายกว่าการแยกจากรากที่อยู่ในดิน หรือแยกจากดิน เนื่องจาก *Phytophthora* spp. โดยเฉพาะรา P. *palmivora* เป็น weak saphophyte จะมีชีวิตอยู่ในดินได้ไม่นาน (Erwin and Ribeiro, 1996) การแยกโรครากเน่าโคนเน่าและใบไหม้ของลำไย แม้จะนำชิ้นส่วนโรคพืชเป็นจำนวนมากที่แสดงอาการของโรค แต่ไม่สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ จึงแยกรา *P. palmivora* สาเหตุโรคได้เพียง 3 ไอโซเลท ส่วนการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากโรคโคนเน่า ใบเน่าของกล้วยไม้และหน้าวัว ไม่สามารถแยกได้โดยง่าย เนื่องจากเกษตรกรมีการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคอย่างมาก ยากแก่การแยกเชื้อบริสุทธิ์ แต่การแยก *Phytophthora* spp. สาเหตุโรคพืช ครั้งนี้ แยกจากโรคกิ่งไหม้ของลำไยได้ยากที่สุด ต้องเก็บตัวอย่างโรคและแยกเชื้อบริสุทธิ์ถึง 4 ครั้ง จึงจะแยกเชื้อสาเหตุของโรคได้ รา *P. mirabilis* สาเหตุโรคกิ่งอ่อนไหม้

ลำไย เป็นราที่มีความใกล้เคียงกับ รา *P. infestans* โรคใบไหม้มันฝรั่ง และมะเขือเทศ มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกับพวกราน้ำค้าง ซึ่งเป็น obligate parasite ไม่สามารถเลี้ยงได้บนอาหารสังเคราะห์ได้ (ทวี, 2545; 2546) เชื้อเจริญช้ามาก เกิดการตาย เจริญไม่เต็มจานเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าลักษณะการเจริญของเส้นใยบนอาหาร CA มีความหนาแน่นกว่า การเจริญบนอาหาร PDA เนื่องจากรา *Phytophthora* ไม่มีการสังเคราะห์ sterols ฉะนั้นมันจึงต้องการ sterols จากภายนอกมาช่วยกระตุ้นในการเจริญ การขยายพันธุ์สร้างสปอร์และการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ อาหาร CA เป็นอาหารธรรมชาติที่มี sterols เป็นส่วนประกอบ ราจึงเจริญดีบนอาหาร CA มากกว่าบนอาหาร PDA (ทวี, 2545) หลังจากเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ CA บ่มในตู้บ่มมืดนาน 72 ชั่วโมง จนเชื้อเจริญทางเส้นใยแล้ว นำไปไว้ใต้แสงนีออน ปล่อยไว้ใต้แสงนาน 48 ชม. เพื่อให้เชื้อสร้าง sporangia รา *P. palmivora* และรา *P. mirabilis* สร้าง sporangia จำนวนมาก แต่รา *P. parasitica* สร้าง sporangia น้อย หรือไม่สร้าง sporangia บนผิวอาหารแข็ง CA ตัดชิ้นเชื้อที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง CA แช่ในน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ 24-36 ชั่วโมง เชื้อจึงจะสร้าง sporangia จำนวนมากในน้ำ

รูปแบบโคโลนีอาจเป็นลักษณะประจำของ *Phytophthora* บางชนิด เช่น *P. cinnamomi* เป็นรูปดอกกุหลาบ, *P. parasitica* เป็นรูปไยแมงมุม, *P. palmivora* เป็นรูปดาว (Erwin and Ribeiro, 1996) แต่ถึงอย่างไรรูปแบบโคโลนีอาจมีการเปลี่ยนแปลง หรือผันแปรไปตามบางสภาพแวดล้อมได้ ลักษณะโคโลนีดังกล่าวอาจเป็นประโยชน์ในการใช้จำแนกชนิด *Phytophthora* บางชนิดได้ ทั้งนี้การเจริญของโคโลนีดังกล่าวอยู่ภายใต้การควบคุมของ Cytoplasm (Erwin and Ribeiro, 1996)

ผลการศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาดของ sporangia และ chlamydospores ของเชื้อ พบว่า sporangia มีลักษณะรูปร่างและขนาด แตกต่างกันไป เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบ L : B ratio ของ sporangia ที่เป็นลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิด *Phytophthora* (Waterhouse,1963) พบว่า L : B ratio ของ sporangia มีความแตกต่างกันไปในแต่ละชนิดเชื้อ Chlamydospores อาจเป็นลักษณะประจำของ *Phytophthora* บางชนิด เช่น *P. p. heterocystica* ที่ chlamydospores หลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ (Erwin and Ribeiro, 1996) แต่ใน *Phytophthora* ที่ได้ศึกษาครั้งนี้ chlamydospores มีลักษณะกลม ผนังหนา เกิดปลายเส้นใย หรือ ระหว่างเส้นใยและไม่หลุดจากเส้นใย ยกเว้น รา *P. mirabilis* สาเหตุโรคกิ่งอ่อนไหม้ลำไย ที่ไม่พบการสร้าง chlamydospores บนอาหารสังเคราะห์ ซึ่งอาจทำให้รานี้มีอายุในอาหารสังเคราะห์สั้น

จากการศึกษา ลักษณะการเจริญ ตลอดจนรูปร่างของ *Phytophthora* ที่แยกได้จากทุเรียน ไม่พบมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ จากการผสมพันธุ์ทางเพศ (oospore) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเดี่ยวๆ แสดงว่าทุกไอโซเลท เป็น heterothallic ผลการทดสอบหา mating type ราสาเหตุโรคทุเรียน พบว่าเป็น mating type A1 ทั้งหมด ซึ่งยืนยันผลการศึกษาของ Takahito และคณะ (1978) และการทดลองของ อมรรัตน์และพจนา (2546) ว่า *P. palmivora* ของทุเรียนเป็น mating type A1 ส่วน ราสาเหตุพืชอื่นกำลังศึกษารายละเอียด

การทำ single sporangium culture เป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายกว่า การทำ single zoospore หรือ oospore (Kaosiri *et al*., 1980) โดยเฉพาะรา *P. palmivora* มีการผลิต หรือสร้าง sporangia บนผิวอาหารแข็ง โดยเฉพาะบนอาหาร CA และ sporangia ที่สร้างบนอาหาร CA หลุดจากก้านสปอร์ได้ง่ายและมีก้านสปอร์สั้นอยู่ด้วย ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญอย่างหนึ่งของรานี้ (Kaosiri *et al*., 1978; Stamps *et al*., 1990) รา *P. mirabilis* สาเหตุโรคกิ่งอ่อนไหม้ลำไย sporangia ที่สร้างบนอาหาร CA หลุดจากก้านสปอร์ได้ง่ายและมีก้านสปอร์สั้นอยู่ด้วย เช่นกัน ส่วนรา *P. parasitica* สาเหตุโรคโคนใบเน่า ซึ่งต้องแช่ในน้ำสามารถดึงสปอร์ออกได้แม้ไม่ง่ายนัก

การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคของรา *Phytophthora* สาเหตุโรคพืชแต่ละชนิด บนใบพืชปกติชนิดนั้นๆ โดยวิธี detached leaf ตรวจผลการทดลองหลังการปลูกเชื้อแล้ว 3 วัน หรือไม่เกิน 72-80 ชั่วโมง โดยเจาะทำแผลบนเส้นกลางใบพืช วางเส้นใยบนอาหารวุ้นคว่ำลงบนใบที่ทำแผล จากนั้นใช้สำลีชุบน้ำวางบนชิ้นอาหารวุ้นดังกล่าวเพื่อให้ความชื้น วางใบพืชในกล่องพลาสติกปิดฝา เก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง และตรวจผลให้ระดับความรุนแรงของโรค ตามแบบการทดลองปลูกรา *P. palmivora* บนใบและผลโกโก้ ของ Lee (1979) และการปลูกรา *P. palmivora* บนใบทุเรียน ของ อมรรัตน์และคณะ (2546) จากนั้นนำใบพืชที่แสดงอาการเป็นโรค ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละพื้นที่ในหลอดทดลอง การทดสอบโดยการใช้ detached leaf จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสม สะดวกและประหยัดเวลาในการศึกษาได้มาก

การเก็บรวบรวม ศึกษา อนุกรมวิธานและเก็บรักษาราสกุล *Phytophthora* ไว้ เพื่อเป็นแหล่งเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดโรคพืชอย่างมีประสิทธิภาพ มีความสำคัญอย่างยิ่ง แต่การศึกษาวิจัยไม่ง่ายนัก โดยเฉพาะรานี้ในวงจรชีวิต *P. palmivora* มีการสร้าง สปอร์ถึง 4 ชนิด คือ sporangium zoospore chlamydospore และ oospore สปอร์แต่ละชนิดมีความสำคัญ และทำหน้าที่แตกต่างกันไป ทำให้ *Phytophthora* เป็นเชื้อโรคที่เปลี่ยนแปลงตัวได้ดีตามสภาพแวดล้อมต่างๆ เพื่อความสมบูรณ์ของงานทดลองจึงต้องศึกษาสปอร์ทั้ง 4 ชนิด ทำให้เพิ่มปริมาณงานมากยิ่งขึ้น แม้งานทดลองนี้ยังไม่เสร็จสมบูรณ์ แต่ถึงอย่างไรการอนุรักษ์และการเก็บรักษาราสกุล *Phytophthora* คงดำเนินต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ทวี เก่าศิริ. 2545. อนุกรมวิธานรา *Phytophthora* (Taxonomy of *Phytophthora*). เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชาอนุกรมวิธานรา ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตร ศาสตร์. 30 หน้า.

ทวี เก่าศิริ. 2546. ราสาเหตุโรคพืช. เอกสารวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 92 หน้า.

พัฒนา สนธิรัตน, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2542. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 284 หน้า.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และอมรรัชฎ์ คิดใจเดียว. 2544. โรครากเน่า-โคนเน่าในสวนทุเรียนภาคตะวันออก. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา. ปีที่ 11 เล่มที่ 3. หน้า 39-45.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2546. เตือนภัย.....ไฟทอปเธอร่าลองกอง. กสิกร 76(4) : 87-93.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์และทวี เก่าศิริ. 2546. ความผันแปรใน *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ทุเรียน : ลักษณะรูปร่างและแบบคู่ผสม. วารสารวิชาการเกษตร 21 (1) : 72-89.

Brasier, C. M. and E. M. Hansen, 1992. Evolution Biology of *Phytophthora* Part II : Phylogeny, Speciation and Population Structure. Annu. Rev. Phytopathol. 30 : 137-200.

Erwin, D. C., and O. K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Press, St. Paul., MN., USA. 592 pp.

Kaosiri, T. 1978. Morphological, Taxonomic, and Cytological Studies of *Phytopthora palmivora*. Ph.D. Thesis University of California. California. 148 pp.

Kaosiri, T; G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1978. Stalk length as a taxonomic criterion for *Phytopthora palmivora* isolates from cacao. Canadia Journal of Botany 56:1730-1738.

Kaosiri, T; G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1980. Oospore morphology and germination in the *Phytopthora palmivora* complex from cacao. Mycologia 72:888-907.

Lee, B. S. 1979. The influence of calcium and nitrogen on diseased caused by *Phytophthora cinnamomi* and two morphological forms of *Phytophthora palmivora*. Ph.D. Thesis University of California. California. 176 p.

Stamps, D.J., G. M. Waterhouse, F. J. Newhook and G. S. Hall. 1990. Revised Tabular Key to the Species of Phytopthora. Mycological Papers No. 162. CB. International Mycological Institute. 28 pp.

Takahito S., U. Kueprakone and T. Kamhangridthirong. 1978. Mating types of *Phytophthora palmivora*, *P. nicotianae* var. *parasitica* and *P. botryosa* in Thailand. Trans. Mycol. Soc. Japan 19:261–267.

Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Commonwealth Mycol. Inst. Mycol. Paper No. 92. 22 p.

ตารางที่ 1 ไอโซเลทของรา *P.palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน จากพื้นที่เพาะปลูกทุเรียนแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย (ปี พ.ศ.2542-2545) (อมรรัตน์และพจนา, 2543)

จังหวัด/ไอโซเลท	ส่วนที่แยกได้	พันธุ์ทุเรียน	แหล่งปลูก
นครนายก			
NY[1] 1[2] S[3]	ลำต้น	สาวน้อยเรือนงาม	สวนละอองฟ้า ต.เขาพระ อ.เมือง
NY 2 S	ลำต้น	กบแม่เฒ่า	สวนละอองฟ้า ต.เขาพระ อ.เมือง
NY 3 S	ลำต้น	กบเบา	สวนละอองฟ้า ต.เขาพระ อ.เมือง
ระยอง			
RY 1 F	ผล	หมอนทอง	อ.เมือง
RY 2 S	ลำต้น	กบ	ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง อ.ห้วยโป่ง
จันทบุรี			
CB 1F	ผล	หมอนทอง	อ.เมือง
CB 2F	ผล	หมอนทอง	อ.เมือง
CB 3 S	ลำต้น	หมอนทอง	ต.คลองขวาง อ.เมือง
ตราด			
TR 1 S	ลำต้น	ชะนี	อ.เกาะช้าง
TR 2 S	ลำต้น	หมอนทอง	อ.เขาสมิง
ศรีสะเกษ			
SK 1 S	ลำต้น	หมอนทอง	อ.ขุนหาญ
SK 2 S	ลำต้น	หมอนทอง	อ.กันทรลักษณ์
ชุมพร			
CP 1 F	ผล	หมอนทอง	คลองสะเดา ต.วังใหม่ อ.เมือง
CP 2 F	ผล	หมอนทอง	สวนคุณเยาวภา คลองสะเดา ต.วังใหม่ อ.เมือง
CP 3 F	ผล	ก้านยาว	ต.ถ้ำสิงห์ อ.เมือง
CP 4 F	ผล	หมอนทอง	หมู่ 1 อ.ทุ่งตะโก
CP 5 S	ลำต้น	หมอนทอง	สวนอิ่มทรัพย์ อ.ปะทิว
CP 6 S	ลำต้น	หมอนทอง	สวนคุณจักรพันธุ์ ต.ขุนกระทิง อ.เมือง

ตารางที่ 1 (ต่อ)

จังหวัด/ไอโซเลท	ส่วนที่แยกได้	พันธุ์ทุเรียน	แหล่งปลูก
สุราษฎร์ธานี			
ST 1 S	ลำต้น	หมอนทอง	สวนป้าเลี่ยน อ.พุนพิน
ST 2 S	ลำต้น	หมอนทอง	แปลงขยายพันธุ์ทุเรียนหมอนทอง ศวย.สุราษฎร์ธานี ต.คันธุลี อ.ท่าชนะ
ST 3 S	ลำต้น	หมอนทอง	แปลงขยายพันธุ์ทุเรียนหมอนทอง แปลงที่ 2 ศวย.สุราษฎร์ธานี ต.คันธุลี อ.ท่าชนะ
ST 4 S	ลำต้น	หมอนทอง	สวนที่ 1 ต.บ้านนาสาร อ.บ้านนาสาร
ST 5 S	ลำต้น	หมอนทอง	สวนที่ 1 ต.บ้านนาสาร อ.บ้านนาสาร
ST 6 S	ลำต้น	หมอนทอง	สวนที่ 2 ต.บ้านนาสาร อ.บ้านนาสาร
ST 7 S	ลำต้น	หมอนทอง	อ.คีรีรัฐนิคม

หมายเหตุ

อักษร 2 ตัวแรก = อักษรย่อชื่อจังหวัดภาษาอังกฤษที่เก็บไอโซเลทเชื้อ

NY = จังหวัดนครนายก (Nakhon naYok)

RY = จังหวัดระยอง (RaYong)

CB = จังหวัดจันทบุรี (Chuntha Buri)

TR = จังหวัดตราด (TRat)

CP = จังหวัดชุมพร (ChumPhon)

ST = จังหวัดสุราษฎร์ธานี (Surat Thani)

SK = จังหวัดศรีสะเกษ (Si sa Ket)

[2] ตัวเลข = ไอโซเลทของเชื้อที่เก็บได้ในจังหวัดนั้น

[3] อักษรตัวหลัง = ส่วนของทุเรียนที่แยกเชื้อสาเหตุได้

S (Stem) = ลำต้น

F (Friut) = ผล

เช่น NY 1S คือ รา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนเก็บจาก **จังหวัดนครนายก** ไอโซเลทที่ 1 แยกได้จาก**ลำต้น**

ตารางที่ 2 รา *Phytophthora* spp. สาเหตุโรคพืช จากพื้นที่เพาะปลูกสำคัญของประเทศไทย (ปี พ.ศ. 2546-2547)

จังหวัด/ ไอโซเลท	*Phytophthora* spp.	พืช/ ส่วนของพืช	พันธุ์พืช	แหล่งปลูก
ระยอง(2)		**ทุเรียน** Du = Durian		
Du-RY 3 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	บ้านพงตาเฮียบ อ.วังจันทร์ (ต้นที่ 9)
Du-RY 4 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	บ้านพงตาเฮียบ อ.วังจันทร์ (ต้นที่ 11)
จันทบุรี (2)				
Du-CB 4 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	คุณนิสัย พุทธสอน 79 ม.2 ต.อ่างคีรี อ.มะขาม
Du-CB 5 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	บ้านหนองอ้อ หมู่ 3 ต.มะขาม อ.มะขาม
ตราด (5)				
Du-TR 3 S	*P. palmivora*	ลำต้น	ชะนี	ลุงนวล ประคองมารถ บ.คลองสาน ต.แหลมกลัด อ.เมือง
Du-TR 4 S	*P. palmivora*	ลำต้น	ชะนี	ที่ลุ่ม ต้นตาย คุณสวิง วิสีทธิแพทย์ หมู่ 9 ต.บางกระแจะ อ.เมือง ตราด
Du-TR 5 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	เนินสูง คุณสวิง วิสีทธิแพทย์ หมู่ 9 ต.บางกระแจะ อ.เมือง
Du-TR 6 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	นายสุวัต แพทย์พิทักษ์ ต.เขาสมิง อ.เขาสมิง ตราด
Du-TR 7 S	*P. palmivora*	ราก	หมอนทอง	นายสุวัต แพทย์พิทักษ์ ต.เขาสมิง อ.เขาสมิง ตราด

ตารางที่ 2 (ต่อ)

จังหวัด/ ไอโซเลท	*Phytophthora* spp.	พืช/ ส่วนของพืช	พันธุ์พืช	แหล่งปลูก
ลำพูน (2)		ลำไย Lo = Longan		
Lo-LP 1 S	*P. palmivora*	โคนต้น	อีดอ	เปลือกโคนเน่าลำไย ลำพูน
Lo-LP 2 R	*P. palmivora*	ราก	อีดอ	รากลำไย อ.แม่ทา ลำพูน
ลำปาง (1)				
Lo-LPa 1 L	*P. palmivora*	ใบ	อีดอ	ใบลำไย อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง
เชียงใหม่(1)				
Lo CM 1 T	*P. mirabilis*	กิ่งอ่อน	อีดอ	สวนนายวิเชียร อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่
ปทุมธานี(2)		กล้วยไม้ Or = Orchid		
Or-Pa T 1 L	*P. parasitica*	โคนใบ		โคนใบเน่า กล้วยไม้ ปทุมธานี
Or-Pa T 2 L	*P. parasitica*	ใบ		ใบจุด กล้วยไม้ ปทุมธานี
นนทบุรี (1)				
Or-No B 1	*P. parasitica*	ใบ		โคนใบเน่า กล้วยไม้ นนทบุรี
กรุงเทพ(1)		หน้าวัว An = Anthurium		
An-BaK 1 L	*P. parasitica*	ใบ		อ.มีนบุรี
นครปฐม(1)				
An- NaP 1 L	*P. parasitica*	ใบ		อ.พุทธมณฑล

ตารางที่ 3 รา *Phytophthora* spp. สาเหตุโรคพืช จากพื้นที่เพาะปลูกพืชที่สำคัญของประเทศไทย เก็บรักษาไว้ใน Culture collection (ปี พ.ศ. 2542-2547)

จังหวัด/ ไอโซเลท	*Phytophthora* spp.	พืช/ ส่วนของ พืช	พันธุ์พืช	แหล่งปลูก
ระยอง(4)		**ทุเรียน** Du = Durian		
Du-RY 1 F	*P. palmivora*	ผล	หมอนทอง	อ.เมือง
Du-RY 2 S	*P. palmivora*	ลำต้น	กบ	ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง อ.ห้วยโป่ง
Du-RY 3 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	บ้านพงตาเฮียบ อ.วังจันทร์ (ต้นที่ 9)
Du-RY 4 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	บ้านพงตาเฮียบ อ.วังจันทร์ (ต้นที่ 11)
จันทบุรี (5)				
Du-CB 1F	*P. palmivora*	ผล	หมอนทอง	อ.เมือง
Du-CB 2F	*P. palmivora*	ผล	หมอนทอง	อ.เมือง
Du-CB 3 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	ต.คลองขวาง อ.เมือง
Du-CB 4 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	คุณนิสัย พุทธสอน 79 ม.2 ต.อ่างคีรี อ.มะขาม
Du-CB 5 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	บ้านหนองอ้อ หมู่ 3 ต.มะขาม อ.มะขาม
ตราด (7)				
Du-TR 1 S	*P. palmivora*	ลำต้น	ชะนี	อ.เกาะช้าง
Du-TR 2 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	อ.เขาสมิง
Du-TR 3 S	*P. palmivora*	ลำต้น	ชะนี	ลุงนวล ประคองมารถ บ.คลองสาน ต.แหลมกลัด อ.เมือง
Du-TR 4 S	*P. palmivora*	ลำต้น	ชะนี	ที่ลุ่ม ต้นตาย คุณสวิง วิสีทธิแพทย์ หมู่ 9 ต.บางกระแจะ อ.เมือง ตราด
Du-TR 5 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	เนินสูง คุณสวิง วิสีทธิแพทย์ หมู่ 9 ต.บางกระแจะ อ.เมือง
Du-TR 6 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	นายสุวัต แพทย์พิทักษ์ ต.เขาสมิง อ.เขาสมิง
Du-TR 7 S	*P. palmivora*	ราก	หมอนทอง	นายสุวัต แพทย์พิทักษ์ ต.เขาสมิง อ.เขาสมิง

ตารางที่ 3 (ต่อ)

จังหวัด/ไอโซเลท	*Phytophthora* spp.	พืช/ส่วนของพืช	พันธุ์พืช	แหล่งปลูก
นครนายก (3)		ทุเรียน Du = Durian		
Du-NY 1 S	*P. palmivora*	ลำต้น	สาวน้อยเรือนงาม	สวนละอองฟ้า ต.เขาพระ อ.เมือง
Du-NY 2 S	*P. palmivora*	ลำต้น	กบแม่เฒ่า	สวนละอองฟ้า ต.เขาพระ อ.เมือง
Du-NY 3 S	*P. palmivora*	ลำต้น	กบเบา	สวนละอองฟ้า ต.เขาพระ อ.เมือง
ศรีสะเกษ (2)				
Du-SK 1 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	อ.ขุนหาญ
Du-SK 2 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	อ.กันทรลักษณ์
ชุมพร (6)				
Du-CP 1 F	*P. palmivora*	ผล	หมอนทอง	คลองสะเดา ต.วังใหม่ อ.เมือง
Du-CP 2 F	*P. palmivora*	ผล	หมอนทอง	สวนคุณเยาวภา คลองสะเดา ต.วังใหม่ อ.เมือง
Du-CP 3 F	*P. palmivora*	ผล	ก้านยาว	ต.ถ้ำสิงห์ อ.เมือง
Du-CP 4 F	*P. palmivora*	ผล	หมอนทอง	หมู่ 1 อ.ทุ่งตะโก
Du-CP 5 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	สวนอิ่มทรัพย์ อ.ปะทิว
Du-CP 6 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	สวนคุณจักรพันธุ์ ต.ขุนกระทิง อ.เมือง

ตารางที่ 3 (ต่อ)

จังหวัด/ไอโซเลท	*Phytophthora* spp.	พืช/ส่วนของพืช	พันธุ์พืช	แหล่งปลูก
สุราษฎร์ธานี (7)				
Du-ST 1 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	สวนป้าเลี่ยน อ.พุนพิน
Du-ST 2 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	แปลงขยายพันธุ์ทุเรียนหมอนทอง ศวย.สุราษฎร์ธานี ต.คันธุลี อ.ท่าชนะ
Du-ST 3 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	แปลงขยายพันธุ์ทุเรียนหมอนทอง แปลงที่ 2 ศวย.สุราษฎร์ธานี ต.คันธุลี อ.ท่าชนะ
Du-ST 4 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	สวนที่ 1 ต.บ้านนาสาร อ.บ้านนาสาร
Du-ST 5 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	สวนที่ 1 ต.บ้านนาสาร อ.บ้านนาสาร
Du-ST 6 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	สวนที่ 2 ต.บ้านนาสาร อ.บ้านนาสาร
Du-ST 7 S	*P. palmivora*	ลำต้น	หมอนทอง	อ.คีรีรัฐนิคม
ลำพูน (2)		**ลำไย** Lo = Longan		
Lo-LP 1 S	*P. palmivora*	โคนต้น	อีดอ	เปลือกโคนเน่าลำไย ลำพูน
Lo-LP 2 R	*P. palmivora*	ราก	อีดอ	รากลำไย อ.แม่ทา ลำพูน
ลำปาง (1)				
Lo-LPa 1 L	*P. palmivora*	ใบ	อีดอ	ใบลำไย อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง
เชียงใหม่ (1)				
Lo CM 1 T	*P. mirabilis*	กิ่งอ่อน	อีดอ	สวนนายวิเชียร อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่

ตารางที่ 3 (ต่อ)

จังหวัด/ไอโซเลท	*Phytophthora* spp.	พืช/ส่วนของพืช	พันธุ์พืช	แหล่งปลูก
ปทุมธานี(2)		กล้วยไม้ Or = Orchid		
Or-Pa T 1 L	*P. parasitica*	โคนใบ		โคนใบเน่า กล้วยไม้ ปทุมธานี
Or-Pa T 2 L	*P. parasitica*	ใบ		ใบจุด กล้วยไม้ ปทุมธานี
นนทบุรี (1)				
Or-No B 1	*P. parasitica*	ใบ		โคนใบเน่า กล้วยไม้ นนทบุรี
กรุงเทพ (1)		หน้าวัว An = Anthurium		
An-Ba K 1 L	*P. parasitica*	ใบ		อ.มีนบุรี
นครปฐม(1)				
An- NaP 1 L	*P. parasitica*	ใบ		อ.พุทธมณฑล
A1	*P. palmivora*	ราก ลำไย	อีดอ	แบบคู่ผสมมาตรฐาน (A 1)
A 2	*P. palmivora*	ใบ แก้วหน้าม้า		แบบคู่ผสมมาตรฐาน (A 2)

หมายเหตุ

[1] อักษร 2 ตัวแรก = พืชชนิดต่างๆ ที่เป็นโรคจากรา *Phytophthora* spp.

Du = ทุเรียน (Durian) *Durio zibethinus*

Lo = ลำใย (Longan) *Euphoria longana*

An = หน้าวัว (Anthurium) *Anthurium magnificum*

Or = กล้วยไม้ (Orchid)

Al = แก้วหน้าม้า (Alocasis) *Alocasis denudate*

[2] อักษร 2 / 3 ตัวถัดมา = อักษรย่อชื่อจังหวัดภาษาอังกฤษที่เก็บตัวอย่างโรค

รา *P. palmivora* = อักษรตัวใหญ่ 2 ตัว

RY = ระยอง (RaYong)

CB = จันทบุรี (Chuntha Buri)

TR = ตราด (TRat)

LP = ลำพูน (LamPhun)

LPa = ลำปาง (LamPang)

รา *Phytophthora* spp. อื่น

= อักษรตัวแรกใหญ่ 1 ตัว ตัวเล็ก 1 ตัว และอักษรตัวใหญ่ 1 ตัว

BaK = กรุงเทพฯ (BangKok)

ChM = เชียงใหม่ (Chiang Mai)

PaT = ปทุมธานี (Pathum Thani)

NoB = นนทบุรี (NonthaBuri)

NaP = นครปฐม (Nakhon Pathom)

[3] ตัวเลข = ไอโซเลทของเชื้อที่เก็บได้ในจังหวัดนั้น

[4] อักษรตัวหลัง = ส่วนของพืชที่แยกเชื้อสาเหตุได้

S (Stem) = ลำต้น

F (Friut) = ผล

L (Leaf) = ใบ

R (Root) = ราก

T (Twig) = กิ่ง (อ่อน)

เช่น Du[1]-NY[2] 1[3] S[4] คือ รา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า **ทุเรียน** เก็บจาก **จังหวัดนครนายก ไอโซเลทที่ 1 แยกได้จากลำต้น**

อนุกรมวิธานราสนิมสาเหตุโรคพืช

Taxonomy of Plant Pathogenic Rust Fungi

ธารทิพย ภาสบุตร ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี อภิรัชต์ สมฤทธิ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและศึกษาราสนิมที่เป็นสาเหตุโรคของพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและพืชอาศัยชนิดอื่น จากแหล่งต่างๆในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 ถึง เดือนกันยายน 2547 เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานเพื่อจำแนกชนิดของราเหล่า พบราสนิมทั้งหมดจำนวน 5 สกุล (genera) 11 ชนิด (species) ราสนิมที่พบได้แก่*Puccinia allii Puccinia polysora Puccinia hemerocallidis Puccinia philippinensis Puccinia horiana Puccinia nakanishikii Hemileia vastatrix Olivea tectonae Uromyces phaseoli* var. *vignae Uromyces dianthi* และ *Coleosporium plumeriae*

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0802-0202

คำนำ

ราสนิม (rust fungi) เป็นกลุ่มราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญกลุ่มหนึ่ง อยู่ใน Class Basidiomycetes Order Uredinales เป็น obligate parasite ที่มีพืชอาศัยกว้างทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ มักเข้าทำลายพืชที่อ่อนแอหรือพืชปลูกที่ไม่ได้รับการเอาใจใส่ดูแล อาจพบได้ทุกระยะการเจริญของพืชทั้งเนื้อเยื่อส่วนอ่อนและส่วนแก่ สปอร์ของราชนิดนี้แพร่กระจายได้ง่ายและไปได้เป็นระยะทางไกลๆโดยปลิวไปตามลม หรือติดไปกับผิวเมล็ดพันธุ์ หรือชิ้นส่วนของพืช เมื่อเกิดการระบาดจะก่อความเสียหายแก่พืชอาศัยของเชื้อได้อย่างรุนแรง

ราสนิมสามารถสร้างสปอร์ได้หลายแบบต่างๆกัน เป็นจำนวน 1-5 แบบ ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา ชีพจักรของราสนิมแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน บางชนิดต้องการพืชอาศัย 2 ชนิดที่ต่างกันเพื่อดำเนินวงจรชีวิตให้ครบสมบูรณ์ (heteroecious life cycle) แต่มีราสนิมบางชนิดที่สามารถเจริญครบวงจรชีวิตได้บนพืชชนิดเดียว (autoecious life cycle) โดยทั่วไปราสนิมแต่ละชนิดมีความจำเพาะ (host specific) ต่อการเข้าทำลายสูงและมี host range แคบ

ในประเทศไทยการศึกษาและรวบรวมราชนิดนี้ยังมีผู้ทำไม่มากนัก ทั้งๆที่เคยมีประวัติการระบาดอย่างรุนแรงบนพืชหลายชนิดเช่น ถั่วเหลือง ข่าวฟ่าง ถั่วแขก กาแฟ ถั่วฝักยาว ถั่วลันเตา และ กุยช่าย อีกทั้งยังไม่ได้มีการเก็บรักษาตัวอย่างพืชที่เป็นโรคไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงและตรวจสอบยืนยันความถูกต้อง ดังนั้นศึกษาค้นคว้าและอนุกรมวิธานราสนิมสาเหตุโรคพืชในประเทศไทยครั้งนี้วัตถุประสงค์เพื่อ เป็นแนวทางขั้นต้นในการรวบรวมชนิดของราสนิมที่พบในประเทศไทยซึ่งอาจเป็นปัญหาสำคัญในอนาคต เพื่อ ให้ได้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา พืชอาศัย และเขตการแพร่กระจายของราสาเหตุโรค ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับงานด้านอารักขาพืชและเป็นประโยชน์สำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) รวมทั้งได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชเพื่อการศึกษาต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราสนิมจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง (ถุงกระดาษ กระดาษฟาง และแผงไม้ herbarium)
3. สารเคมีสำหรับย้อมสีและตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์เช่น cotton blue, oil immersion, lactophenol
4. กล้องจุลทรรศน์ กล้องถ่ายภาพและอุปกรณ์ต่างๆ

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างและการเก็บรักษาตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

สำรวจรวบรวมตัวอย่างพืชชนิดต่างๆที่แสดงอาการของโรคราสนิม ทั้งพืชปลูกและพืชที่ขึ้นตามธรรมชาติจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย บันทึกข้อมูลสถานที่ ลักษณะอาการ ถ่ายภาพอาการของโรค นำตัวอย่างพืชที่เก็บได้มาทำ herbarium ซึ่งใช้กระดาษหนังสือพิมพ์วางบนแผงไม้ herbarium วางผึ่งลมไม่ให้ถูกแดด เปลี่ยนกระดาษทุกวัน เพื่อให้สีพืชคงอยู่และไม่มีราอื่นปนเนื่องจากความชื้น เมื่อตัวอย่างพืชแห้งจึงนำมาเก็บในถุงกระดาษเก็บตัวอย่างพร้อมบันทึกข้อมูลส่งพิพิธภัณฑ์โรคพืช

2. การศึกษาและการจำแนกชนิดของราสนิม

นำใบพืชและส่วนอื่นๆของพืชแต่ละชนิดมาตรวจดูลักษณะอาการและโครงสร้างต่างๆของราสนิมบนภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ จากนั้นตัดส่วนที่แสดงอาการที่มีราสนิมเจริญอยู่เป็นสี่เหลี่ยมเล็กๆขนาดประมาณ 5x5 มิลลิเมตร นำมาทำการตัดขวางเนื้อเยื่อพืช (cross-section) โดยวางชิ้นส่วนพืชนี้ลงบนสไลด์หยด KOH 3-5 เปอร์เซ็นต์ แล้ววางสไลด์อีกแผ่นหนึ่งทาบกดบนใบพืชเป็นมุม 45 องศา ใช้ใบมีดโกนคมตัดเป็นชิ้นเล็กๆ เมื่อได้ชิ้นส่วนที่แสดงอาการชัดเจนแล้วหยด lactophenol เก็บเป็นสไลด์เพื่อใช้ในการศึกษาลักษณะการเกิดสปอร์และโครงสร้าง fruiting structure หรือย้อมสีชิ้นส่วนพืชเพื่อดูโครงสร้างของราสนิมบางชนิดให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

ทำการเขี่ยสปอร์จากตัวอย่างสดหรือตัวอย่างแห้งจากพืชที่เป็นโรคราสนิมลงบนสไลด์ที่หยดด้วย KOH 3-5 เปอร์เซ็นต์ ปิด cover slip แล้วหยด lactophenol ตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้น ตุลาคม 2546
	สิ้นสุด กันยายน 2548
สถานที่ทำการทดลอง	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	แหล่งปลูกพืชต่างๆในประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจรวบรวมและศึกษาราสนิมที่เป็นสาเหตุโรคของพืชต่างๆทั้งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและพืชอาศัยอื่นๆในประเทศไทย ระหว่าง เดือนตุลาคม 2546 ถึง เดือนกันยายน 2547 ในท้องที่ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี, อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา, อ.ภูเรือ จ.เลย, อ.แม่วาง อ.แม่ริม อ.ฝาง จ.เชียงใหม่, ดอยมูเซอร์ อ.เมือง จ.ตาก, อ.เมือง จ.พิจิตร, อ.ด่านมะขามเตี้ย อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรีและ อ.บางพระ จ.ชลบุรี พบราสนิมดังนี้

Puccinia allii สาเหตุโรคราสนิมของกุยช่าย จำนวน 1 ไอโซเลท

Puccinia allii สาเหตุโรคราสนิมของหอมญี่ปุ่น จำนวน 3 ไอโซเลท

Puccinia polysora สาเหตุโรคราสนิมของข้าวโพด จำนวน 6 ไอโซเลท

Hemileia vastatrix สาเหตุโรคราสนิมของกาแฟ จำนวน 1 ไอโซเลท

Olivea tectonae สาเหตุโรคราสนิมของต้นสัก จำนวน 1 ไอโซเลท

Puccinia philippinensis สาเหตุโรคราสนิมของหญ้าแห้วหมู จำนวน 3 ไอโซเลท

Puccinia horiana สาเหตุโรคราสนิมขาวของเบญจมาศ จำนวน 2 ไอโซเลท

Uromyces phaseoli var. *vignae* สาเหตุโรคราสนิมของถั่วฝักยาว จำนวน 1 ไอโซเลท

Coleosporium plumeriae สาเหตุโรคราสนิมของ ลั่นทม จำนวน 2 ไอโซเลท

Puccinia nakanishikii สาเหตุโรคราสนิมของตะไคร้ จำนวน 1 ไอโซเลท

Uromyces dianthi สาเหตุโรคราสนิมของคาร์เนชั่นจำนวน 1 ไอโซเลท

Puccinia hemerocallidis สาเหตุโรคราสนิมของดอกไม้จีน จำนวน 1 ไอโซเลท

Puccinia allii (DC.) Rudolphi

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้าน ผนังบาง ไม่มีสี รูปร่างกลมหรือคอนข้างกลมเป็นส่วนใหญ่ บางสปอร์มีรูปร่างแบบ broadly ellipsoid ผนังสปอร์หนาเท่ากันทั้งสปอร์ ใสไม่มีสี ผิวผนังเป็นหนาม จุดงอกมองไม่เห็น

ลักษณะอาการ พบแต่ระยะ uredinium เกิดด้านบนใบและใต้ใบ มีลักษณะเป็นตุ่มนูนกลมรี สีเหลืองสด เกิดเดี่ยวๆกระจายทั่วใบ ทำให้เนื้อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเปลี่ยนเป็นจุดเหลือง ต่อมาจะแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาล และแห้งไหม้หมดทั้งใบ

Puccinia polysora Undrew.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้าน ผนังบาง ไม่มีสี รูปร่างส่วนใหญ่เป็นแบบ broadly ellipsoid และบางสปอร์มีรูปร่างแบบ obovoid สีเหลืองทอง ผนังสปอร์หนา ผิวผนังเป็นหนาม มีจุดงอก 4-5 จุดต่อสปอร์เรียงกันเป็นวงตามแนวเส้นศูนย์สูตร

ลักษณะอาการ พบแต่ระยะ uredinium เกิดด้านบนใบมากกว่าด้านใต้ใบ มีลักษณะเป็นจุดนูนค่อนข้างกลมรีหรือมีรูปร่างคล้ายกระสวย มีสีเหลืองส้ม มักเกิดเป็นกลุ่มๆกระจายทั่วใบหรือเรียงซ้อนกันเป็นวง เนื้อเยื่อใบรอบ uredinium เปลี่ยนเป็นสีเหลือง ด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและไหม้เป็นสีน้ำตาลในเวลาต่อมา

Hemileia vastatrix Berk. Et Br.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ รูปร่างแบบรูปไต (reniform) หรือ2 ข้างของสปอร์ไม่สมดุลกัน ด้านหนึ่งของสปอร์ผิวเรียบแบนตรงหรือโค้งเข้าเล็กน้อย (concave) ส่วนอีกด้านหนึ่งผนังเป็นแบบ aculeate และโค้งออก (convex) สปอร์สีเหลืองสดถึงเหลืองส้ม

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium เกิดทางด้านใต้ใบ เป็นจุดนูนเล็กสีเหลืองสดถึงสีส้ม กระจายอยู่ทั่วใบ เนื้อใบด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อเป็นสีเหลืองเล็กๆ และจะขยายเป็นวงกลมขนาดใหญ่แล้วจะเริ่มแห้งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบจะร่วงก่อนกำหนด

Olivea tectonae (T.S. & K. Ramakrishnan) Mulder

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา uredinium ที่เป็นที่เกิดของ urediniospore มี paraphyses ล้อมรอบ paraphyses รูปร่างทรงกระบอก ส่วนปลายกว้างกว่าฐานเล็กน้อยและโค้งเข้าหาภายใน urediniospore 1 เซลล์เกิดบนก้านไม่มีสี รูปร่างแบบ obovoid มีบางส่วนรูปร่างแบบ broadly ellipsoid ผนังสปอร์หนาสม่ำเสมอทั้งสปอร์ สปอร์ใสแกมเหลืองอ่อน ผิวผนังเป็นหนามถี่ๆ จุดงอกมองไม่เห็น

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบเป็นจุดนูนขนาดเล็กมากสีเหลืองอ่อน เกิดเดี่ยวๆกระจายทั่วใบ เนื้อเยื่อด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อแห้งและเปลี่ยนเป็นสีเทาจนถึงน้ำตาลเข้ม ถ้าระบาดมากทำให้ใบแห้งหมดทั้งใบและร่วงก่อนกำหนด

Puccinia philippinensis P. et H. Syd.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้านผนังบาง รูปร่างส่วนใหญ่เป็นแบบ ellipsoid จนถึงobovoid ผนังบางสม่ำเสมอ สีเหลืองทอง ผิวผนังเป็นหนามจุดงอก 2-4 จุดต่อสปอร์เรียงเป็นวงตามแนวเส้นศูนย์สูตร teliospore 2 เซลล์ รูปร่างแบบ ellipsoid ผนังเซลล์ด้านบนโค้งเข้าเล็กน้อย เซลล์ด้านล่างค่อนข้างยาวกว่าเซลล์ด้านบน ผิวผนังเรียบมีจุดงอก 1จุดต่อเซลล์

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium และ telium ที่ด้านใต้ใบเกิดเป็นขีดนูนยาวสีเหลืองน้ำตาลจนถึงน้ำตาล cinnamon กระจายทั่วใบ เนื้อเยื่อด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อจะแห้งไหม้เป็นแผลรีสีน้ำตาลและถ้าอาการรุนแรงจะลามไหม้ทั้งใบ

Uromyces phaseoli var. *vignae* Arthur

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้าน ผนังบาง ใสไม่มีสี ส่วนใหญ่รูปร่างเป็นแบบ obovoid มีบางสปอร์รูปร่างแบบ broadly ellipsoid สีเหลืองทอง ผนังหนาสม่ำเสมอ ผิวผนังเป็นหนาม มีจุดงอก 2 จุดต่อสปอร์ อยู่ด้านตรงข้ามกัน teliospore 1 เซลล์ รูปร่างแบบ obovoid ellipsoid จนถึงเกือบกลม สีน้ำตาลเข้ม บริเวณ apex ยื่นออกไปเป็นติ่งใสไม่มีสี หือสีน้ำตาลอ่อน ผิวผนังเรียบ มีจุดงอก 1 จุดต่อสปอร์ อยู่บริเวณตรงกลาง apex เกิดบนก้านผนังบาง ใสไม่มีสีหรือสีเหลืองอ่อน

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium และ telium ที่ด้านบนใบมากกว่าด้านใต้ใบ ลักษณะเป็นผงฝุ่นสีน้ำตาลแดงถึงสีดำ เกิดรวมกันเป็นกลุ่ม มีลักษณะเป็นวงกลมซ้อนกันหรืออาจเกิดเดี่ยวๆกระจายทั่วใบ

Puccinia horiana P. Henn.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา teliospore ส่วนมากมี 2 เซลล์ แต่บางสปอร์มี 3-4 เซลล์ รูปร่างแบบ fusiform ผนังสปอร์ด้านบนหนามากกว่าผนังด้านข้าง สปอร์ใสออกแกมเหลืองอ่อน ผิวผนังเรียบ มีจุดงอก1 จุดต่อเซลล์ สปอร์เกิดบนก้านยาวใสไม่มีสี ผนังบาง

ลักษณะอาการ ด้านใต้ใบเป็นกลุ่ม telium นูนแข็งขึ้นมาบนผิวใบ สีครีม สีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาลครีม เนื้อใบตรงข้ามกลุ่ม telium เป็นสีเหลืองและไหม้เป็นวงๆ เมื่อราระบาดมากจะทำให้ใบเหลืองและลามแห้งทั้งใบ

Puccinia nakanishikii Dietel

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniosporec และ paraphyses เกิดภายใน uredinium paraphyses รูปร่างแบบ capitate หรือ clavate ผนังด้านบนหนาและค่อยๆบางลงทางด้านข้าง สีเหลืองทอง urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้านใสไม่มีสี ส่วนมากรูปร่างแบบ obovoid ผนังสปอร์หนา สีน้ำตาล ผิวผนังเป็นหนาม มีจุดงอก 4-5 จุดต่อสปอร์เรียงกันเป็นวงตามแนวเส้นศูนย์สูตร teliospore 2 เซลล์ รูปร่างแบบ ellipsoid ผนังสปอร์ด้านบนหนากว่าด้านข้าง ผิวผนังเรียบ สีน้ำตาลทอง มีจุดงอก 1 จุดต่อเซลล์

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium และ telium ด้านใต้ใบลักษณะแผลเป็นขีดยาวขนานกับเส้นใบ สีน้ำตาลดำ เนื้อใบตรงข้ามกลุ่มเชื้อแห้งไหม้เป็นขีดสีน้ำตาลทั่วทั้งใบ

Puccinia hemerocallidis Thumen

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้านสั้นๆผนังบาง ไม่มีสี รูปร่างแบบ obovoid จนถึงค่อนข้างกลม บางสปอร์มีรูปร่างแบบ broadly ellipsoid สีเหลืองทอง ภายในสปอร์มี oil globule สีเหลืองอ่อน ผนังสปอร์หนา ผิวผนังเป็นหนาม จุดงอก 4-5 จุดงอกมองไม่เห็น teliospore 2 เซลล์ รูปร่างแบบ ellipsoid ที่ปลายสปอร์ค่อนข้างเบี้ยวและโค้ง ผนังสปอร์บริเวณ apex หนา ส่วนผนังด้านข้างจะเรียวบาง สปอร์สีเหลืองทอง ผิวผนังเรียบ

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium โดยเกิดเป็นจุดเล็กรีสีเหลืองสดทั้งด้านบนใบและใต้ใบ ระยะtelium พบที่ด้านใต้ใบ มีลักษณะเป็นจุดนูนกลมสีน้ำตาลดำ เนื้อเยื่อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อจะแห้งไหม้เป็นจุดเล็กรีสีน้ำตาล ถ้าอาการรุนแรงจะเกิดกระจายทั่วใบ

Uromyces dianthi (Persoon) Niessl

ชื่อพ้อง *Uredo dianthi* Pers.

Uromyces caryophyllinus Winter

Aecidium euphoriae-gerardianae Fisch

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ รูปร่าง boradly ellipsoid ผนังหนา สีน้ำตาลทอง teliospore 1 เซลล์ รูปร่างแบบ ellipsoid ผนังหนาสีน้ำตาลchestnut เกิดบนก้านสั้นๆ ผนังบางบริเวณ apex ยื่นออกไปเป็นติ่ง(papillae) ใสไม่มีสี อยู่เหนือ germ pore

ลักษณะอาการ ด้านใต้ใบเกิดเป็นตุ่มนูนสีน้ำตาลแดง เมื่อแก่ตุ่มนูนจะปริแตกเป็นรอยยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร ภายในมีผงสปอร์สีน้ำตาลแดงบรรจุอยู่เต็ม เนื้อเยื่อรอบๆแผลและด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเป็นสีเหลือง ใบที่มีหลายแผลปลายใบจะแห้ง ต้นที่เป็นโรครุนแรงจะแคระแกร็น ใบม้วนงอ

Coleosporium plumeriae

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ เกิดต่อกันเป็นลูกโซ่ สปอร์รูปร่างกลมจนถึงเกือบกลม บางครั้งอาจรูปร่างแบบ ellipsoid สปอร์ใสสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองส้ม ผนังขรุขระ จุดงอกมองไม่เห็น

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบ ลักษณะเป็นจุดนูนกลมสีเหลืองสดถึงเหลืองส้ม เกิดเป็นกลุ่มหรือเกิดเดี่ยวๆกระจายทั่วใบ เมื่อแก่จุดนูนจะปริแตกเกิดเป็นผงฝุ่นสปอร์สีเหลืองกระจายทั่วใบ เนื้อเยื่อด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อเป็นสีเหลืองซีด ต่อมาจะเกิดอาการแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาลและใบจะร่วงก่อนกำหนด

สรุป

จากการสำรวจและศึกษาราสนิมที่เป็นสาเหตุโรคของพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและพืชอาศัยชนิดอื่น จากแหล่งปลูกพืชต่างๆในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 ถึง เดือนกันยายน 2547 เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานเพื่อจำแนกชนิดของราเหล่านี้ พบราสนิมทั้งหมดจำนวน 5 สกุล (genera) 11 ชนิด (species) ราสนิมที่พบได้แก่ *Puccinia allii Puccinia polysora Puccinia hemerocallidis Puccinia philippinensis Puccinia horiana Puccinia nakanishikii Hemileia vastatrix Olivea tectonae Uromyces phaseoli* var. *vignae Uromyces dianthi* และ *Coleosporium plumeriae* รา เหล่านี้พบบนพืชอาศัยหลายชนิดและจากสถานที่ต่างๆซึ่งแสดงเป็นตาราง(1) ดังนี้

ตารางที่ 1 รายชื่อราสนิมและแหล่งที่สำรวจพบในประเทศไทย

ชนิดพืช	ส่วนที่เป็นโรค	เชื้อสาเหตุ	แหล่งที่พบ
กุยช่าย	ใบ	*Puccinia allii* (DC.)Rudolphi	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร อ.เมือง จ.พิจิตร ต.ไทรทอง อ.ด่านมะขามเตี้ย จ.กาญจนบุรี
หอมญี่ปุ่น	ใบ	*Puccinia allii* (DC.)Rudolphi	บ.ม่อนยะเหนือ ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ บ.ม่อนยะใหม่ ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่

ชนิดพืช	ส่วนที่เป็นโรค	เชื้อสาเหตุ	แหล่งที่พบ
ข้าวโพด	ใบ	*Puccinia polysora* Undrew.	อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา จ.กาญจนบุรี ต.หนองบัว อ.ภูเรือ จ.เลย ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่
กาแฟ	ใบ	*Hemileia vastatrix* Berk. Et Br.	ดอยมูเซอร์ อ.เมือง จ.ตาก
สัก	ใบ	*Olivea tectonae* (T.S. & K. Ramakrishnan) Mulder	อ.ฝาง จ.เชียงใหม่
หญ้าแห้วหมู	ใบ	*Puccinia philippinensis* P. et H. Syd.	ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่
ถั่วฝักยาว	ใบ	*Uromyces phaseoli* var. *vignae* Arthur	บ.โป่งแยงใน ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่
เบญจมาศ (ราสนิมขาว)	ใบ	*Puccinia horiana* P. Henn.	ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่
คาร์เนชั่น	ใบ	*Uromyces dianthi*	ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่
ตะไคร้	ใบ	*Puccinia nakanishikii* Dietel	ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่

ชนิดพืช	ส่วนที่เป็นโรค	เชื้อสาเหตุ	แหล่งที่พบ
อ้อย	ใบ	*Puccinia melanocephala* H. Syd. et P. Syd.	ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ อ.บางพระ จ.ชลบุรี
ดอกไม้จีน	ใบ	*Puccinia hemerocallidis* Thumen	ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง ดอยอินทนนท์ อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่
ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	บ.ป่าจันตม ต.หนองบัว อ.ภูเรือ จ.เลย ต.แม่เจดีย์ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

ทวี เก่าศิริ. 2527. โรคฝ้าย. ข่าวสารศัตรูพืช 1 (ฉบับฝ้าย) : 1-17.

พงษ์วิภา หล่อสมบูรณ์, เลขา มาโนช, นิพนธ์ วิสารทานนท์, วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล และ Shoji sato. 2528. ราสนิมในประเทศไทย, น.362-363 ใน ผลงานวิจัยภาคโปสเตอร์ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 11.

พงษ์วิภา หล่อสมบูรณ์. 2529. ราสนิมในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วิรัช ชูบำรุง และ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2537. การพบ Telial State ราสนิมของท้อ,น.15 ใน ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยาปีที่ 4 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน 2537

สมภาค สิทธิพงศ์, ประเสริฐ ปิ่นประยงค์ และ ศรี หวังสว่างสกุล. 2527. โรคหม่อน. ข่าวสารศัตรูพืช ฉบับโรคและแมลงศัตรูฝ้าย. 1 (ฉบับฝ้าย) : 72-85.

อนุกรมวิธานและเก็บรักษาเชื้อราสาเหตุโรคพืชชั้น Hyphomycetes สกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora*

Taxonomy and preservation Plant diseases fungi Class Hyphomycetes Genus *Cercospora* and *Pseudocercospora*

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ ระหว่าง ตุลาคม 2546 – กันยายน 2547 จำนวน 32 ตัวอย่าง สามารถจำแนกเชื้อราชั้น Hyphomycetes สกุล *Cercospora* ได้ 3 ชนิด 10 ไอโซเลท ได้แก่ *Cercospora asparagi* Sacc, *Cercospora apii* Fre., *Cercospora zinniae* และสกุล *Pseudocercospora* ได้ 1 ชนิด 1 ไอโซเลท ได้แก่ *Pseudocercospora dendrobii* Deighton

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0802-04

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้น จึงทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ปัจจัยที่ทำให้สิ่งมีชีวิตเปลี่ยนแปลงได้แก่ปัจจัยภายในคือตัวสิ่งมีชีวิตเอง และปัจจัยภายนอกเช่น สิ่งแวดล้อม มนุษย์และสัตว์ จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชก็มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป ดังนั้นความเสียหายของผลผลิตเนื่องจากจุลินทรีย์โรคพืชจึงเกิดเป็นประจำทุกปี ได้มีรายงานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ว่าการสูญเสียเฉพาะเมล็ดธัญพืชหลังการเก็บเกี่ยวในประเทศกำลังพัฒนาอยู่ระหว่าง 5-30 เปอร์เซ็นต์ โดยจัดเป็นการสูญเสีย เนื่องจากจุลินทรีย์ถึง 4 เปอร์เซ็นต์

การอนุกรมวิธานเชื้อจุลินทรีย์โรคพืชได้มีรายงานบ้างแล้ว แต่มิได้ทำการศึกษาครอบคลุมในทุกกลุ่มพืชและทุกสถานที่ที่มีการปลูกพืชที่สำคัญของประเทศ การที่พันธุกรรมจุลินทรีย์โรคพืชเปลี่ยนแปลงไป อาจทำให้เกิดชนิด (species) หรือ สายพันธุ์ (biovars) ใหม่ ในอดีตที่ผ่านมามิได้มีการศึกษารายละเอียดข้อมูลประจำสายพันธุ์อย่างสมบูรณ์ และเก็บรักษาสายพันธุ์อย่างถาวรและเป็นระบบ หากมีการเก็บรักษาได้มาตรฐานสากล จะสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในงานวิจัยทางด้านอื่นอีกหลายด้าน บางสายพันธุ์อาจให้สารที่มีประโยชน์ และสร้างมูลค่าเพิ่มได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อให้ได้แหล่งของสายพันธุ์ และข้อมูลจุลินทรีย์โรคพืช เพื่อเข้าเก็บรวบรวมในหน่วยเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์โรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช เพื่อใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อย่างยั่งยืนต่อไป

เชื้อราสาเหตุโรคพืชชั้น Hyphomycetes สกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora* จัดเป็นเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดในพืชหลายชนิด เช่น โรคใบขีดสีน้ำตาลของข้าว เกิดจากเชื้อรา *Cercospora oryzae* I. Miyake แผลสีน้ำตาลเป็นขีดๆขนานไปกับเส้นใบข้าว ในปี 2537 พัฒนา และคณะ ได้รายงานเชื้อราทั้ง 2 สกุลดังกล่าว เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิด เช่น โรคใบจุดของถั่วเขียว เกิดจากเชื้อรา *Cercospora canescens* โรคใบจุดของคื่นฉ่าย เกิดจากเชื้อรา *Cercospora apii* เป็นต้น โรคใบเทียมร่วงของหน่อไม้ฝรั่ง เกิดจากเชื้อรา *Cercospora asparagi* Sacc. (http://www.doa.go.th/data-agri/02_LOCAL/oard5/asparagus/body.html#cercos) นอกจากนี้ยังมีทั้งไม้ดอกไม้ประดับ ผัก ไม้ผล พืชไร่ต่างๆ ที่ถูกเชื้อราทั้ง 2 สกุล ดังกล่าวเข้าทำลาย จึงควรที่จะได้ทำการศึกษาเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานต่อการนำไปศึกษาด้านอื่นต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

    1.1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช

        1.1.1 ถุงพลาสติก ยางรัด กระดาษหนังสือพิมพ์

        1.1.2 ปากกาเขียนถุง

        1.1.3 กระดาษฟาง

        1.1.4 แผงอัดตัวอย่าง

        1.1.5 กระดาษบันทึกข้อมูล

        1.1.6 กรรไกรตัดกิ่ง มีด

        1.1.7 ถังเก็บความเย็น เพื่อเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค

        1.1.8 ฯ

    1.2 อุปกรณ์ห้องปฏิบัติการ

        1.2.1 กล้องจุลทรรศน์ Stereoscopic Microscope

        1.2.2 กล้องจุลทรรศน์ Compound Microscope

        1.2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA, WA

        1.2.4 จานเลี้ยงเชื้อ

        1.2.5 เข็มเขี่ยเชื้อ

        1.2.6 ตะเกียงแอลกอฮอล์

        1.2.7 Slide และ cover slip

        1.2.8 ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิต่ำ

        1.2.9 เครื่อง Freeze – Dryer และตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ

        1.2.10 ฯ

2. แบบและวิธีการทดลอง

    2.1. แบบการทดลอง

    -

    2.2. กรรมวิธี

        2.2.1. สำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคบนใบพืชชนิดต่างๆ

        2.2.2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของเชื้อสาเหตุโรคพืช

2.2.3. จัดจำแนกชนิดสายพันธุ์ ของเชื้อสาเหตุโรคพืช

2.2.4. จัดเก็บตัวอย่างอาการของโรคในพิพิธภัณฑ์

2.2.5. จัดเก็บเชื้อราสกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora* spp. เข้า Culture Collection

2.3. วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.3.1. เก็บตัวอย่างใบพืชชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ และอาการที่คาดว่าจะเกิดจากเชื้อราสกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora* spp. โดยนำตัวอย่างที่ตัดมาได้แบ่งส่วนหนึ่งมาทำการอัดตัวอย่างแห้งด้วยการจัดเรียงชิ้นส่วนใบพืชที่แสดงอาการของโรคบนกระดาษฟางและปิดทับด้วยกระดาษฟางอีกชั้นหนึ่ง นำไปอัดเก็บไว้ด้วยแผงอัดตัวอย่าง ตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งเก็บห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วเก็บลงถุงพลาสติกมัดปากถุง นำไปเก็บในถังเก็บความเย็นเพื่อนำไปแยกเชื้อศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป

2.3.2. นำมาแยกเชื้อโดยนำใบพืชที่แสดงอาการดังกล่าวมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereoscopic microscope ทำการเขี่ยเชื้อจากแผลบนใบพืชดังกล่าวนั้นมาทำสไลด์

2.3.3. นำสไลด์ที่ได้มาทำการส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound microscope ศึกษาลักษณะของเชื้อราดังกล่าว เพื่อการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา เปรียบเทียบกับเอกสารวิชาการในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสกุล *Cercospora* และ *Pseudocercospora*

2.3.4. เมื่อทำการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุได้แล้ว นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคและอัดเก็บเป็นตัวอย่างแห้ง เก็บเข้าสู่พิพิธภัณฑ์โรคพืช เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการ

2.3.5. เชื้อราสาเหตุ นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore isolation) โดยเขี่ยสปอร์เพียงสปอร์เดียวจากแผลมาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ WA เมื่อเชื้อเริ่มเจริญ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อว่าเป็นเชื้อที่เจริญจากสปอร์เดี่ยวแล้วนำมาย้ายเชื้อลงอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทำการเก็บเชื้อเข้าสู่ Culture Collection ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น เก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA Slant เก็บโดยวิธีเก็บแห้งสุญญากาศ (Lyophilization) เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการและเพื่อการนำไปศึกษาด้านอื่นๆ ต่อไป

2.4 การบันทึกข้อมูล

2.4.1 บันทึกข้อมูลตัวอย่างพืชที่เป็นโรคที่ได้เก็บตัวอย่างมา เช่น สถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่ ชื่อพืช อาการ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เป็นต้น

2.4.2 บันทึกข้อมูลชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืชของพืชชนิดต่างๆ ตามหลักการจัดเก็บด้านโรคพืชหลังจากทำการจัดจำแนกแล้ว

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่ ตุลาคม 2546 สิ้นสุด กันยายน 2548 ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่ปลูกพืชเกษตรกร และทำการจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่าง และบันทึกข้อมูลโรคพืช ในปี 2547 โดยทำการเก็บตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ จำนวน 32 ตัวอย่าง นำมาทำการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพืช สามารถจัดจำแนกโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora, Pseudocercospora* โดยใช้เอกสารการจัดจำแนกของ Chupp (1953) ได้ 11 ไอโซเลท ได้แก่

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ชื่อโรค	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
1.	หน่อไม้ฝรั่ง	ใบเทียมร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc.	ต.แพงพวย อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
2.	หน่อไม้ฝรั่ง	ใบเทียมร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc	ต.ท่านัด อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
3.	หน่อไม้ฝรั่ง	ใบเทียมร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc	ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี
4.	หน่อไม้ฝรั่ง	ใบเทียมร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc	ต.หนองกร่าง อ.บ่อพลอย จ.กาญจนบุรี
5.	หน่อไม้ฝรั่ง	ใบเทียมร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc	ต.สระพังลาง อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี
6.	หน่อไม้ฝรั่ง	ใบเทียมร่วง	ก้าน	*Cercospora asparagi* Sacc	ต.สระยายโสม อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี
7.	คื่นฉ่าย	ใบจุด	ใบ	*Cercospora apii* Fre.	ต.บางช้าง อ.สามพราน จ.นครปฐม

8.	คื่นฉ่าย	ใบจุด	ใบ	*Cercospora apii* Fre.	ต. วังขนาย อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี
9.	คื่นฉ่าย	ใบจุด	ใบ	*Cercospora apii* Fre.	ต. ทุ่งทอง อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี
10.	กล้วยไม้	ใบปื้นเหลือง	ใบ	*Pseudocercospora dendrobii* Deighton	ต. สวนหลวง อ. กระทุ่มแบน จ. สมุทรสาคร
11.	บานชื่น	ใบจุด	ใบ	*Cercospora zinniae*	รังสิต คลอง 3 จ. ปทุมธานี

โรคใบเทียมร่วงของหน่อไม้ฝรั่ง

เชื้อสาเหตุ *Cercospora asparagi* Sacc

ลักษณะเชื้อสาเหตุ ก้านสปอร์สีน้ำตาลปลายมนเกิดเป็นกลุ่มไม่แตกกิ่งก้าน สปอร์สีใสขนาด 2.5-5 x 35-130 ไมครอน เหยียดตรงหรือโค้งเล็กน้อย ส่วนโคน truncate แล้วเรียวไปทางปลาย สปอร์ของเชื้อสามารถแพร่ระบาดไปกับลมหรือละอองน้ำที่ใช้รด ถ้าสภาพอากาศมีความชื้นสูงเชื้อจะระบาดมากขึ้น

ลักษณะอาการ แผลที่ก้านจะเป็นสีม่วงอมน้ำตาลเข้มหรือสีม่วงแดง จุดแผลค่อนข้างกลมตรงกลางมีสีเทาขอบแผลไม่สม่ำเสมอ ขนาดของแผลเป็นจุดไม่แน่นอน บางครั้งแผลขยายรวมกับแผลใกล้เคียงเป็นสีน้ำตาล พบตามปลายกิ่งหรือยอดทำให้ใบแห้งร่วงกิ่งแห้งตาย การเกิดโรคสามารถเกิดได้ตั้งแต่ระยะกล้า

โรคใบจุดคื่นฉ่าย (Leaf spot)

เชื้อสาเหตุ *Cercospora apii* Fre.

ลักษณะเชื้อสาเหตุ โคโลนีเกิดทั้ง 2 ด้านของใบ โดยจะพบด้านหลังใบมากกว่าด้านหน้าใบ ก้านสปอร์เกิดเป็นกลุ่ม สีน้ำตาลอมเขียวปลายก้านสีอ่อนลง ก้านเหยียดตรงไม่แตกกิ่งก้าน สปอร์มีตั้งแต่สั้นถึงยาวมากตรงหรือโค้งเล็กน้อย ส่วนโคน truncate ปลายโค้งมนจนถึงแหลมสีใส ขนาด 3-4 x 44-230 ไมครอน

ลักษณะอาการ จุดแผลจะมีสีน้ำตาลกลางแผลสีอ่อนกว่าขอบแผล รูปร่างไม่แน่นอน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลประมาณ 0.5 – 5 มิลลิเมตร แต่อาจใหญ่กว่าก็ได้เนื่องจากการเชื่อมติดกันของแผลที่อยู่ใกล้เคียง ทำให้เกิดเป็นแผลขนาดใหญ่ทั่วทั้งใบ

โรคใบปื้นเหลืองกล้วยไม้ (Yellow leaf spot)

เชื้อสาเหตุ *Pseudocercospora dendrobii* Deighton

ลักษณะเชื้อสาเหตุ ก้านสปอร์เกิดเป็นกลุ่ม ไม่พบ scar สปอร์ค่อนข้างสั้นและโค้งมนไม่พบรอย scar เช่นเดียวกันกับก้านสปอร์

ลักษณะอาการ จะเป็นกับใบกล้วยไม้บริเวณโคนต้นก่อน มีลักษณะเป็นจุดกลมสีเหลือง เมื่อเป็นมากจะขยายติดต่อกันเป็นปื้นสีเหลืองตามแนวยาวของใบ ด้านใต้ใบจะพบกลุ่มเชื้อลักษณะเป็นผงสีดำ เมื่อเป็นมากขึ้นใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แห้ง และร่วงหลุด กล้วยไม้จะไม่มีใบสังเคราะอาหาร เกิดการแตกหน่อและช่อดอกน้อยและผิดปกติ เป็นปัญหากับกล้วยไม้สกุล Dendrobium และ Oncidium ซึ่งพบเป็นโรคนี้มาก

โรคใบจุดบานชื่น (Leaf spot)

เชื้อสาเหตุ *Cercospora zinniae*

ลักษณะเชื้อสาเหตุ ก้านสปอร์สีเข้มออกน้ำตาล รูปทรงเรียวไปทางปลาย บางครั้งพบก้านสปอร์ค่อนข้างสั้น สปอร์สีใสตรงหรือโค้งเล็กน้อยขนาด 2-4 x 20-140 ไมครอน

ลักษณะอาการ ใบเป็นจุดกลมหรือไม่แน่นอนขนาดเล็ก 0.5-6 มิลลิเมตร แผลสีน้ำตาลกลางแผลสีซีดขาวหรือเทา มักพบโคโลนีของเชื้อด้านบนใบมากกว่าด้านใต้ใบ เมื่อเป็นมากอาจจะขยายติดต่อกันเป็นแผลขนาดใหญ่ได้

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ จำนวน 32 ตัวอย่าง สามารถจำแนกเชื้อราชั้น Hyphomycetes สกุล *Cercospora* ได้ 3 ชนิด 10 ไอโซเลท ได้แก่ *Cercospora asparagi* Sacc, *Cercospora apii* Fre., *Cercospora zinniae* และสกุล *Pseudocercospora* ได้ 1 ชนิด 1 ไอโซเลท ได้แก่ *Pseudocercospora dendrobii* Deighton

เอกสารอ้างอิง

Chupp, C. 1953. A Monograph of the Fungus Genus Cercospora. Cornell University. Published by the author: Ithaca, N.Y. 667 pp.

Ellis, M.B. 1971. Dermatiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 608 pp.

พัฒนา สนธิรัตน และคณะ. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 น.

http://www.doa.go.th/data-agri/02_LOCAL/oard5/asparagus/body.html#cercos

อนุกรมวิธานเชื้อราสาเหตุโรคพืช สกุล *Bipolaris*

Taxonomy of Plant Pathology Fungi Genus *Bipolaris*

พีระวรรณ พัฒนวิภาส กลุ่มวิจัยโรคพืช

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรคใบไหม้สาเหตุจากเชื้อราสกุล *Bipolaris* มาทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์และศึกษาเชื้อที่ได้ จำนวน 17 isolate จากข้าวโพดจำนวน 12 isolate ข้าวจำนวน 2 isolate ข้าวฟ่างจำนวน 1 isolate และ หมากจำนวน 1 isolate พืชตระกูลปาล์มจำนวน 1 isolate นำเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้ส่งเก็บรักษาในศูนย์เก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และ ส่งตัวอย่างแห้งของโรคเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0802-0501

คำนำ

เชื้อราสกุล *Bipolaris* เป็นสาเหตุของโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด เช่น โรคใบไหม้แผลเล็กของข้าวโพด เกิดจากเชื้อ *Bipolaris maydis* (Nisik.) Shoemaker. เชื้อเข้าทำลายข้าวโพดในเขตอบอุ่นและร้อนชื้น อาการของโรคในระยะแรกพบจุดเล็กๆสีเขียวอ่อนฉ่ำน้ำต่อมาจุดจะขยายออกตามความยาวของใบโดยจำกัดด้านกว้างของแผลขนานไปตามเส้นใบ ตรงกลางแผลมีสีเทาขอบแผลมีสีเทาน้ำตาลขนาดของแผลไม่แน่นอน ถ้าข้าวโพดเป็นโรครุนแรงแผลจะขยายรวมกันเป็นแผลใหญ่และทำให้ใบแห้งตายในที่สุด โรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพด เกิดจากเชื้อ *Bipolaris turcica* (Pass.) Shoemaker. ทำลายข้าวโพดสายพันธุ์แท้บางพันธุ์ และลูกผสมที่อ่อนแอต่อโรค โรคใบไหม้แผลใหญ่เกิดขึ้นได้กับทุกส่วนของลำต้นข้าวโพดโดยเฉพาะบนใบแผลมีขนาดใหญ่สีเทาหรือสีน้ำตาลแผลมีลักษณะยาวตามใบหัวท้ายเรียวคล้ายรูปกระสวย (Donald G. W. 2000; ชุติมันต์ และเตือนใจ, 2545) ในปี พ.ศ. 2538 มีรายงานว่าพบข้าวโพดสายพันธุ์แท้ที่มีอายุระหว่าง 35-45 วัน ในช่วงผลิตเกสรตัวผู้ที่ปลูกในจังหวัดสระบุรี นครราชสีมาและเชียงใหม่ โดยพบลักษณะอาการที่ใบเป็นจุดสีเหลืองถึงน้ำตาลขนาดเล็กมีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบ(halo) ขนาดความกว้างของแผลอยู่ระหว่าง 0.5-4.0x0.5-40.0 มม. พบตั้งแต่ใบแรกถึงใบธง ต่อมาแผลขยายใหญ่และทำให้ใบแห้งทั้งใบ ที่หูใบแห้งเป็นสีดำและพบผงสปอร์เป็นจำนวนมากนอกจากนั้นทำลายกาบใบกาบฝักทำให้ฝักเน่าผลผลิตลดลงประมาณ 70 % ศึกษาเชื้อพบสปอร์รูปทรงเรียวยาวเกือบเป็นกระสวยมีสี dark olive brown มี 4-8 septa สปอร์มีขนาด 10.0-15.0x32.5-75.0 ไมครอน ซึ่งเป็นสาเหตุโรคใบจุด Northern Leaf Spot ของข้าวโพดเกิดจากเชื้อรา *Bipolaris zeicola* (Stout). Shoemaker (สำอางค์และคณะ, 2540) ในอ้อยพบเชื้อ *Bipolaris* เป็นสาเหตุของโรคใบจุดแผลใหญ่(Target bloth)(อนุสรณ์ และวันทนีย์, 2528) นลินีและคณะ(2538) รายงานว่าเชื้อ *Bipolaris hawaiiensis* ทำให้เกิดโรคใบไหม้บนทานตะวัน เชื้อราสามารถเลี้ยงได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อและสามารถสร้างสปอร์ได้มากมายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สปอร์มีขนาดความยาว 15.3-30.6 ไมครอน ความกว้าง 10.2 ไมครอน มีผนังกั้นตามขวาง 1-4 septate สปอร์สามารถแพร่กระจายทำให้เกิดโรคได้ จากการพิสูจน์โรคพบว่าสปอร์ของเชื้อรานี้สามารถทำให้เกิดโรคได้ภายใน 4 วัน โดยทำให้เกิดอาการใบไหม้เป็นสีน้ำตาลดำจากขอบใบเข้าไปเป็นรูป V shape หรือทำให้ใบไหม้รูปร่างไม่แน่นอนตามแต่ส่วนของเชื้อที่เข้าทำลาย และมีรายงานเชื้อ *Bipolaris oryzae* สาเหตุโรคเมล็ดด่างของข้าว เชื้อ*Bipolaris sorokiniana* สาเหตุโรคใบจุดของข้าวสาลี (พัฒนาและคณะ, 2537) เป็นต้น การศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาด้านต่างๆต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์ใช้ในการเก็บเชื้อในแปลงและเครื่องมือเครื่งใช้ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี Tissue transplanting method และศึกษาเชื้อที่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ผลการทดลองและวิจารณ์

เก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรคใบไหม้สาเหตุจากเชื้อราสกุล *Bipolaris* มาทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์และศึกษาเชื้อที่ได้ จำนวน 17 isolate เป็นเชื้อราสาเหตุโรคข้าวโพดจำนวน 12 isolate คือ โรคใบไหม้แผลใหญ่ เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris turcica* จำนวน 7 isolate และโรคใบไหม้แผลเล็ก เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris maydis* จำนวน 5 isolate โรคใบไหม้ของข้าวฟ่าง เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris turcica* จำนวน 1 isolateโรคเมล็ดด่าง(Dirty panicle) ของข้าวจำนวน 1 isolate เกิดจากเชื้อ *Bipolaris oryzae* โรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวจำนวน 1 isolate เกิดจากเชื้อ *Bipolaris oryzae* โรคใบจุดของหมากจำนวน 1 isolate โรคใบจุดของพืชตระกูลปาล์มจำนวน 1 isolate เกิดจากเชื้อ *Bipolaris sp.* เชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้ส่งเก็บรักษาในศูนย์เก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และ ส่งตัวอย่างแห้งของโรคเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช

สรุปผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรคใบไหม้สาเหตุจากเชื้อราสกุล *Bipolaris* มาทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์และศึกษาเชื้อที่ได้ จำนวน 17 isolate จากข้าวโพดจำนวน 12 isolate ข้าวจำนวน 2 isolate ข้าวฟ่างจำนวน 1 isolate และ โรคใบจุดของหมากจำนวน 1 isolate โรคใบจุดของพืชตระกูลปาล์มจำนวน 1 isolate นำเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้ส่งเก็บรักษาในศูนย์เก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และ ส่งตัวอย่างแห้งของโรคเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช

เอกสารอ้างอิง

ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และเตือนใจ บุญ-หลง. 2545. โรคข้าวโพดและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.69 หน้า

นลินี ศิวากรณ์ ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา เพลินพิศ สงสังข์ และปรีชา สุรินทร์. 2538. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งแห่งชาติ ครั้งที่ 2 ณ โรงแรมโรสการ์เดนท์ จังหวัดเชียงใหม่ วันที่ 9-11 ตุลาคม 2538.

พัฒนา สนธิรัตน์ ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.285 หน้า

สำอางค์ วงศ์แก้ว ดิลก อัญชลิสังกาศ ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และเตือนใจ บุญ-หลง.2540. เชื้อสาเหตุ ลักษณะอาการและการแพร่ระบาดของโรคใบจุดข้าวโพดที่พบใหม่ในประเทศไทย. ข่าวสารโรคพืช และจุลชีววิทยา 7(2): 42-45.

อนุสรณ์ กุศลวงศ์ และวันทนีย์ อู่วาณิชย์. 2528. โรคอ้อย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 96 หน้า

Donald G. W. 2000. Compendium of Corn Disease. APS Press. The American Phytopathological Society. 78p.

ชีววิทยา และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria* ด้วย Rep-PCR

Biology and Genetic Variation of *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria* Using Rep-PCR

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ รุ่งนภา คงสุวรรณ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ชีววิทยาของเชื้อสาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (XCV) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ต้องการอากาศในการเจริญ มีลักษณะโคโลนีมันเยิ้ม กลมสีเหลืองบนอาหาร Nutrient agar (NA) และ Yeast extract dextrose $CaCO_3$ agar (YDC) การทดสอบลักษณะทางชีวเคมี พบว่าส่วนใหญ่สามารถย่อยเจลาติน และย่อยแป้ง มีปฏิกิริยาคะตาเลสบวก ไม่รีดิวซ์ไนเตรท สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโตส ทรีฮาโลส ฟรุคโตส มอลโตส ไซโลส ไรโบส ราฟฟิโนส และแมนโนส โดยเชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอล ทดสอบการเกิดโรคโดยการปลูกเชื้อจำนวน 27 สายพันธุ์ บนใบมะเขือเทศ พบว่าเชื้อแสดงลักษณะความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคได้ต่างกัน ตั้งแต่ 0-50 เปอร์เซ็นต์ แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ XCV เปรียบเทียบกับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pathovars อื่นๆ ด้วย ERIC และ BOX-PCR ได้ลายพิมพ์ดีเอนเอของเชื้อที่มีแถบดีเอนเออยู่ในช่วง 200-3,000 base pairs (bp) จำนวน 4-16 แถบ จากการวิเคราะห์ข้อมูลร่วมของลายพิมพ์ดีเอนเอจากไพรเมอร์ทั้งสองชนิด โดย NTSYS version 2.01 (Rohlf, 1994) แบ่งเชื้อออกเป็น 4 กลุ่ม โดยจัดกลุ่มเชื้อ XCV สาเหตุโรคใบจุดมะเขือเทศ 60-70% อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ที่ค่า similarity 50 % แสดงให้เห็นว่าเชื้อ XCV มีความหลากหลายทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ ทั้งนี้การจัดกลุ่มตามลักษณะทางพันธุกรรมไม่มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงในการเกิดโรค หรือลักษณะทางชีววิทยาอื่น

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0802-07

คำนำ

Xanthomonas campestris pv.*vesicatoria* (Doidge) Dye เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุด (Bacterial spot) ของมะเขือเทศ มีชื่อเรียกอื่นตามลักษณะอาการ เช่น โรคแผลสะเก็ด หรือโรคสะเด็ดดำ พบระบาดทำความเสียหายมากในฤดูฝนหรือช่วงที่อากาศมีความชื้นสูง ทำให้ผลผลิตมะเขือเทศลดลงมากถึง 53 เปอร์เซ็นต์ (ศุภลักษณ์, 2536) เชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายมะเขือเทศได้ทุกระยะการเจริญเติบโต และทุกส่วนของต้นที่อยู่เหนือดิน อาการเริ่มแรกใบจะมีอาการจุดฉ่ำน้ำเล็กๆ ต่อมาแผลจะขยายใหญ่เป็นสีเทาดำ ขอบแผลอาจมีวงสีเหลืองล้อมรอบ ถ้าอาการรุนแรงแผลจะลามใหญ่ ทำให้ใบแห้งตาย อาการบนลำต้น กิ่ง และก้านใบ เป็นแผลตกสะเก็ดสีเทา แผลยาวไปตามความยาวของลำต้น อาการบนผลอ่อน เริ่มเป็นแผลจุดช้ำสีดำ ขยายเป็นแผลกลมมีขอบนูนหนาสีเข้ม เนื้อเยื่อกลางแผลยุบตัวลง ถ้าระบาดรุนแรงดอกและผลจะร่วง

ลักษณะโดยทั่วไปเชื้อแบคทีเรียรูปร่างเป็นแท่ง แกรมลบ ต้องการอากาศในการเจริญ เคลื่อนที่ได้ ด้วยหางหนึ่งเส้นที่ขั้ว ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YDC และ NA สีเหลืองกลม ผิวมัน ขอบเรียบ พืชอาศัยที่สำคัญได้แก่ มะเขือเทศ พริก และพืชที่อยู่ในตระกูลมะเขือ รวมถึงวัชพืช เชื้อแบคทีเรียมีวงจรการเข้าทำลายพืช โดยอาศัยอยู่ในเมล็ดพันธุ์ เศษซากพืช ดิน และบริเวณรากของพืชที่ไม่เป็นพืชอาศัย (Bashan และคณะ, 1982) จำแนกเชื้อออกเป็น 3 กลุ่มตามลักษณะการเข้าทำลายพืชอาศัย คือ XCV-T สายพันธุ์ที่ทำลายมะเขือเทศ XCV-P เข้าทำลายพริก และ XCV-PT เข้าทำลายทั้งพริกและมะเขือเทศ และจำแนกออกเป็น race 0 1 2 และ 3 ตามปฏิกิริยาการตายเฉียบพลัน (HR) บนพริก 4 พันธุ์ ทั้งนี้พบว่าเชื้อมีอัตราการกลายพันธุ์หรือการเปลี่ยนแปลง race สูง และมีความสามารถในการปรับตัวให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซิน และสารประกอบทองแดง (Cook และ Stall, 1982)

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *X. campestris* โดยเทคนิคต่าง ๆ เช่น ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ *X. campestris* pathovars โดย rRNA gene restriction patterns (Berthier และคณะ, 1993) การจำแนกความแตกต่างทาง pathovars ของเชื้อ *X. campestris* โดยเทคนิค RFLP (Lazo และคณะ, 1987) และ ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ ของ *X. fragariae* โดยเทคนิค RAPD (Pooler และคณะ, 1996) วัตถุประสงค์ในงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาชีววิทยาและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* ในประเทศไทย สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐานติดตามการแพร่ระบาดของเชื้อ การวางแผนป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพ และเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืชต้านทานโรคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สัณฐานวิทยา และคุณสมบัติชีวเคมีของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria*

ทำการแยกเชื้อจากมะเขือเทศที่แสดงอาการใบจุดมีวงสีเหลืองล้อมรอบ อาการแผลสะเก็ดดำ และอาการผลจุดฉ่ำน้ำ โดยตัดส่วนที่เกิดโรคเป็นชิ้นเล็กๆ ล้างด้วยน้ำกรองฆ่าเชื้อ 1-2 ครั้ง จากนั้นหยดน้ำกรองฆ่าเชื้อบนชิ้นส่วนพืช บดด้วยแท่งแก้วลนไฟฆ่าเชื้อ จนเซลล์พืชแตก ทิ้งไว้ 3-5 นาที ใช้ลูปลนไฟฆ่าเชื้อแตะไปลากบนอาหาร Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ (YDC) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 48-72 ชั่วโมง เลือกโคโลนีที่มีลักษณะสีเหลือง กลมนูน มาทำให้บริสุทธิ์บนอาหาร YDC หรือ NA และขอความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียจากกลุ่มบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช โดยเชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดมะเขือเทศและพริก เชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำของคะน้า เชื้อ *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว เชื้อ *X. campestris* สาเหตุโรคใบแห้งหอมหัวใหญ่ ที่ใช้ในการศึกษา จำนวน 37 สายพันธุ์ (ตารางที่ 1)

ทำการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร NA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อ 1 ลูปเต็มละลายในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง หรือผสมเชื้อในกลีเซอรอล 50 เปอร์เซ็นต์ เก็บที่ –20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาในขั้นต่อไป

ศึกษาลักษณะโคโลนี และการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ได้แก่ YDC, Nutrient agar (NA), SX agar (Shaad และ White, 1974) และ Tween medium (Mc Guire และคณะ, 1986) โดยเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* บริสุทธิ์บนอาหาร YDC ใช้ลูปฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยวละลายในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำไปลากบนอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 36-72 ชั่วโมง บันทึกลักษณะโคโลนี และการเจริญของเชื้อ

ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ได้แก่ การย่อยเจลาติน และย่อยแป้ง ปฏิกิริยาคะตาเลส การรีดิวซ์ไนเตรท การสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโตส ทรีฮาโลส ฟรุคโตส มอลโตส ไซโลส ไรโบส ราฟฟิโนส แมนโนส และแมนนิทอล (Krieg และ Holt, 1984; Schaad และคณะ, 2001)

2. ปฏิกิริยาการเกิดโรค และความรุนแรงบนพืชอาศัย

<u>การเตรียมต้นมะเขือเทศ</u> โดยการเพาะเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์ลีดา อายุ 20-30 วัน เมื่อต้นกล้าสูงประมาณ 3-4 นิ้ว ย้ายปลูกลงดินผสมในกระถางอิฐขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง ทำการปลูกเชื้อทดสอบ เมื่อพืชอาศัยอายุ 45-60 วัน

<u>การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย</u> โดยเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* บริสุทธิ์ จำนวน 27 สายพันธุ์ บนอาหาร NA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 36 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ ด้วย

น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้เซลล์แขวนลอยเชื้อมีความขุ่น 0.1 OD ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ซึ่งจะมีเชื้อแบคทีเรียประมาณ $2x10^8$ cfu/ml

<u>การปลูกเชื้อ</u> โดยการทำแผลบนใบพืชด้วยผงคาร์บอแรนดัม (ซิลิคอน คาร์ไบด์) ขนาด 600 mesh จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ทาบนใบทุกใบ โดยมีใบมะเขือเทศเฉลี่ยประมาณ 10-15 ใบต่อต้น ใช้พืช 1 ต้นต่อสายพันธุ์ คลุมด้วยถุงพลาสติก พ่นละอองน้ำ ให้ความชื้นทิ้งไว้ข้ามคืน เปิดถุงพลาสติกออก เก็บต้นพืชที่ปลูกเชื้อไว้ในโรงเรือนบันทึกข้อมูลการเกิดโรคหลังปลูกเชื้อ 3, 5, 7 และ 14 วัน ให้ระดับความรุนแรงการเกิดโรคโดยประเมินอาการทั้งต้น ดังนี้

ระดับ 0 พืชไม่แสดงอาการโรค

ระดับ 1 พืชแสดงอาการใบจุด 1-10%

ระดับ 2 พืชแสดงอาการใบจุด 11-25%

ระดับ 3 พืชแสดงอาการใบจุด 26-50%

ระดับ 4 พืชแสดงอาการใบจุด 51-75%

3. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ โดย BOX และ ERIC PCR

ทำการสกัดดีเอ็นเอ โดยเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรีย บนอาหาร YDC ใช้ลูปลนไฟฆ่าเชื้อ แตะโคโลนีเดี่ยว ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลว modified YP (3 กรัม yeast extract และ 5 กรัม peptone ในน้ำกลั่น 1 ลิตร) ในหลอดทดลองปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อหลอด บ่มเชื้อไว้ข้ามคืนบนเครื่องเขย่า (Orbit shaker : LAB-Line Instruments Inc. , ILL) ความเร็ว 125 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ดูดเซลล์แขวนลอยเชื้อในอาหารเหลว ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ใน eppendorf tube ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich (Universal 32, Gemnany) ที่ความเร็ว รอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ทิ้งส่วนใส ล้างตะกอนเซลล์ เพื่อกำจัดโพลีแซคคาไรด์ ด้วยน้ำเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85 เปอร์เซ็นต์ ดูดขึ้นลงให้เชื้อกระจายด้วยไปเปต ปั่นอย่างเร็วด้วยเครื่องผสมสาร 5 วินาที ปั่นตกตะกอนทิ้งส่วนใส ล้างเซลล์เช่นเดิม 3 รอบ เก็บตะกอนเซลล์ นำไปสกัดดีเอนเอ ด้วย ชุดสกัด Puregene kit (Invitrogen Inc., Minneapolis, MN) ตามวิธีของชุดสกัด และปรับขั้นตอนบางส่วน ดังนี้ เติมสารละลายเซลล์ (cell lysis solution) ปริมาณ 300 ไมโครลิตร ดูดขึ้นลงด้วยไปเปตให้ตะกอนเซลล์กระจาย นำไปบ่มที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียสลาย ทิ้งให้เย็น แล้วเติม 1.5 ไมโครลิตร Rnase A เพื่อกำจัด RNA บ่มหลอดไว้ในน้ำอุ่น 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ทิ้งให้เย็นลง ตกตะกอนโปรตีน โดยเติมสารละลาย protein precipitation 100 ไมโครลิตร ปั่นอย่างแรงด้วยเครื่องผสมสาร นาน 20 วินาที แล้วหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที ตกตะกอนดีเอ็นเอ โดยดูดสารส่วนใส ใส่หลอดใหม่ที่

บรรจุ isopropanol 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการพลิกหลอดกลับไปมา จากนั้นหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนดีเอ็นเอที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70 % เอทธานอล 3 ครั้ง อบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อระเหยแอลกอฮอล์ ละลายตะกอนดีเอ็นเอ ด้วยบัฟเฟอร์ Tris-EDTA (TE : 10 mM Tris-HCl, pH 7.0, 1 mM EDTA) ปริมาณ 30 ไมโครลิตร วัดปริมาณความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอ ที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA) และเจือจางดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ให้มีความเข้มข้น 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร เพื่อใช้ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ขั้นต่อไป

จัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิด คือไพรเมอร์ BOX จากส่วน interspersed repetitive Box sequence และไพรเมอร์ ERIC จากส่วน enterobacteria repetitive intergenic consensus (Louws และคณะ, 1994) สังเคราะห์จากบริษัท QIAGEN Operon (QIAGEN, Cologne, Germany) มีลำดับเบสดังนี้

Box	(BOXA1R)	5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3'
Eric	(ERIC1R)	5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC-3'
	(ERIC2)	5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'

ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ PE 2400 thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA) ปริมาตรรวมของปฏิกิริยา 25 ไมโครลิตร

สารประกอบในปฏิกิริยาพีซีอาร์	ปริมาตร (ไมโครลิตร)	
5x Gitschier Buffer[1]	5	
BSA, 20 mg/ml	0.2	
DMSO, 100%	2.5	
dNTP's (25mM)	1.25	
ไพรเมอร์ 1 (25pM)	1	
ไพรเมอร์ 2 (25 pM)*	1	(*เฉพาะ ERIC-PCR)
Taq DNA polymerase 5 U/ ul	0.4	
ดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ 50 นาโนกรัม	0.5	
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	เติมให้ครบ 25 ไมโครลิตร	

[1]5xGitshier Buffer (Kogan et al. 1987) ประกอบด้วย 1 M $(NH_4)_2So_4$, 1 M Tris-HCl (pH 8.8), 1 M $MgCl_2$ และ 0.5 M EDTA (pH 8.8)

ผสมสารประกอบในปฏิกิริยาดังกล่าวข้างต้นให้เข้ากัน แล้วบ่มหลอดปฏิกิริยาในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ PE 2400 thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA) โดยใช้อุณหภูมิ และเวลาในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)
1.แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น (initial denaturation)	95	7
2.แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturation)	94	1
3.เริ่มต้นจับคู่ไพเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing)	53	1 } 30 รอบ
4.สังเคราะห์สายดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอแม่แบบ(extension)	65	8
5.สังเคราะหดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	65	15

ทำปฏิกิริยาซ้ำในขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ 30 รอบ และหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ขนาดของสายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ โดยนำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ 10 ไมโครลิตร ผสมกับ loading dye (Promega, Madison, WI) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร แยกขนาดของสายดีเอ็นเอ ด้วยอะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟริซิส ใช้ 1.5% อะกาโรส ในบัฟเฟอร์ 1X Tris-borate EDTA (TBE)ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักดิ์ 70 โวลต์ นาน 4 ชั่วโมง ย้อมด้วยเอทธิเดียมโบรไมด์ 5 นาที ตรวจดูแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงยูวี และถ่ายภาพ ด้วย ultraviolet transiluminator โมเดล GDS 7500 (UVP, Upland, CA)

บันทึกข้อมูลโดย การตรวจสอบแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ที่มีขนาดอยู่ในช่วง 200-3000 bp ให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ เป็น 1 และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ เป็น 0 นำผลมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Numerical Taxonomy and Multivariation Analysis System (NYSYS, version 2.01d) (Rohlf, 1994) วิเคราะห์ dendrogram จัดกลุ่มเชื้อ เปรียบเทียบความสัมพันธ์และความหลากหลายทางพันธุกรรม ระหว่างสายพันธุ์ species แหล่งที่มาของเชื้อ และความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรค

ตารางที่ 1 สายพันธุ์เชื้อ และแหล่งที่มาของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria* และ *Xanthomonas campestris* pathovars ที่ใช้ในการศึกษา

เชื้อ/ สายพันธุ์	พืชอาศัย	สถานที่ปลูก (จังหวัด)	แหล่งที่มาของเชื้อ[1]
X. campestris pv. *vesicatoria*			
Xcv1	มะเขือเทศ	นครราชสีมา	1
Xcv2	มะเขือเทศ	นครราชสีมา	1
Xcv3	มะเขือเทศ	กาญจนบุรี	1
Xcv5	มะเขือเทศ	เชียงใหม่	1
Xcv7	มะเขือเทศ	สระบุรี	1
Xcv8	มะเขือเทศ	นครราชสีมา	1
Xcv691	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1643	มะเขือเทศ	สระบุรี	2
Xcv1644	มะเขือเทศ	สระบุรี	2
Xcv1646	มะเขือเทศ	สระบุรี	2
Xcv1662	มะเขือเทศ	นครราชสีมา	2
Xcv1663	มะเขือเทศ	สระบุรี	2
Xcv1664	มะเขือเทศ	สระบุรี	2
Xcv1665	มะเขือเทศ	นครราชสีมา	2
Xcv1691	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1696	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1697	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1698	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1699	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1700	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1702	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1703	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1704	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1705	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1706	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1707	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1709	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1710	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1711	มะเขือเทศ	สกลนคร	2

เชื้อ/ สายพันธุ์	พืชอาศัย	สถานที่ปลูก (จังหวัด)	แหล่งที่มาของเชื้อ
Xcv1712	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1713	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1714	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv1715	มะเขือเทศ	สกลนคร	2
Xcv10	พริก	สุพรรณบุรี	1
Xcv11	พริก	สุพรรณบุรี	1
X. campestris pv. *campestris*			
Xcc12	คะน้า	กาญจนบุรี	1
Xcc1675	คะน้า	กาญจนบุรี	1
X.campestris pv. *dieffenbachiae*			
Xcd14	หน้าวัว	นครราชสีมา	1
Xcd28	หน้าวัว	นครปฐม	1
X. campestris pv. *Citri*			
Xci	มะนาว	เพชรบุรี	1

[1] 1= เชื้อที่รวบรวมในการศึกษานี้ 2= กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

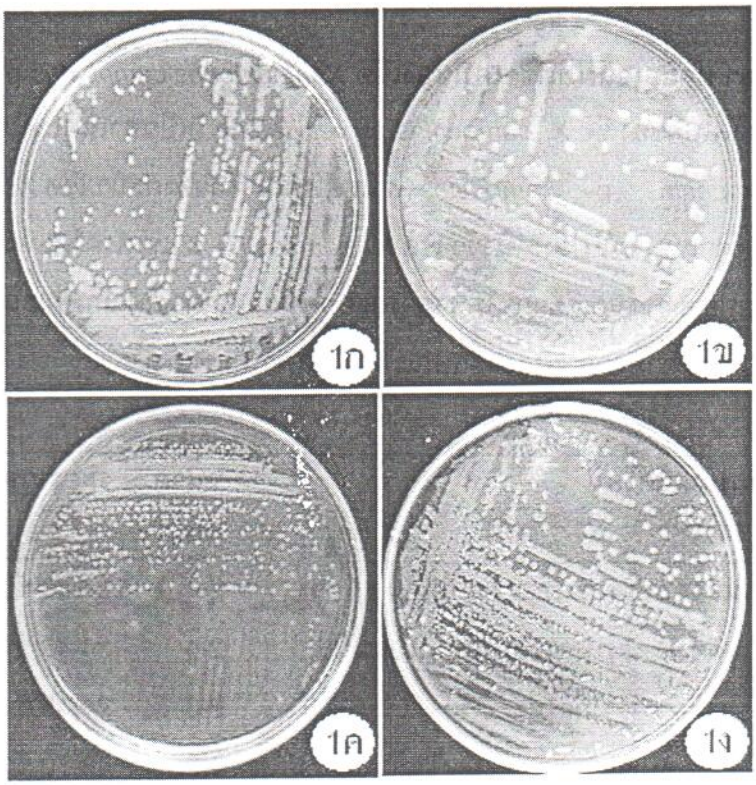
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สัณฐานวิทยา และคุณสมบัติชีวเคมีของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria*

ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดมะเขือเทศและพริก เชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำของคะน้า เชื้อ *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว เชื้อ *X. campestris* สาเหตุโรคใบแห้งหอมหัวใหญ่ แต่ละสายพันธุ์ที่เลี้ยงบนอาหารชนิดเดียวกันไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ ลักษณะโคโลนีของทุกเชื้อบนอาหารที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของลักษณะโคโลนี (ภาพที่ 1) ดังนี้

อาหารแข็ง	ลักษณะโคโลนี	ขนาด (มม.)	ระยะเวลาในการเจริญ
YDC	สีเหลือง รูปร่างกลมนูน ผิวเป็นมัน	2-4	24-48 ชั่วโมง
NA	สีเหลืองอ่อน รูปร่างกลมนูน ผิวเป็นมัน	2-4	24-48 ชั่วโมง
Tween 80	สีขาวขุ่น รูปร่างกลม	2-3	24-48 ชั่วโมง
SX	สีเหลืองอมเขียวอ่อน ย่อยแป้งเห็นเป็นรอยใส รอบโคโลนี	1-2	48-70 ชั่วโมง

ผลการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมี พบว่าเชื้อ *X. Campestris* pv. *vesicatoria* และเชื้อ *X. campestris* pathovar ส่วนใหญ่สามารถย่อยเจลาติน และย่อยแป้ง มีปฏิกิริยาคะตาเลสบวก ไม่รีดิวซ์ไนเตรท สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโตส ทรีฮาโลส ฟรุคโตส มอลโตส ไซโลส ไรโบส ราฟฟิโนส และแมนโนส โดยเชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอล (ตารางที่ 2) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวตรงกับคุณลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ *X. campestris* (Krieg และ Holt, 1984) สำหรับคุณสมบัติการสร้างกรดจากน้ำตาลชนิดต่างๆ พบว่า 11-89 % ของเชื้อ *X. campestris* ให้ปฏิกิริยาเป็นบวก ความผันแปรดังกล่าวอาจเนื่องจากคุณสมบัติการเข้าทำลายพืชอาศัยที่ต่างกันซึ่งมีการจัดจำแนกเป็น parthovar ซึ่งมีมากกว่า 30 parthovars ทั่วโลก (Schaad และคณะ, 2001) โดยพบในประเทศไทยมากกว่า 10 parthovars (วิชัย, 2531) ทั้งนี้คุณสมบัติทางชีวเคมีไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่าง parthovars ของเชื้อ *X. campestris* ได้



ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*

1ก, บนอาหาร NA โคโลนีมีสีเหลืองอ่อน รูปร่างกลมนูน ผิวเป็นมัน

1ข, บนอาหาร YDC โคโลนีมีสีเหลือง รูปร่างกลมนูน ผิวเป็นมัน

1ค, บนอาหาร SX โคโลนีมีสีเหลืองอมเขียวอ่อน เชื้อสามารถย่อยแป้งเห็นเป็นบริเวณใสรอบโคโลนี

1ง, บนอาหาร Tween medium โคโลนีมีสีขาวขุ่น รูปร่างกลม

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria*, *X. campestris*, *X. campestris* pv.*campestris* และ *X. campestris* pv.*dieffenbachiae*

คุณสมบัติชีวเคมี	เชื้อ/สายพันธุ์เชื้อ[a]					
	XC	Xcv7	Xcv691	Xcv10	Xcc12	Xad14
Mucoid grouth on nutrient agar + 5% glucose	+	+	+	+	+	+
Xanthomonadins produced	+	nd	nd	nd	nd	nd
Hydrolysis of:						
Gelatin	d	+	+	+	+	+
Esculin	+	nd	nd	nd	nd	nd
Starch	D	+	+	-	-	+
Milk protolysis	+	nd	nd	nd	nd	nd
H_2S from peptone	+	nd	nd	nd	nd	nd
Urease activity	-	nd	nd	nd	nd	nd
Maximum growth temperature (°C)	35-39	nd	nd	nd	Nd	nd
Maximum NaCl tolerance, %	2.0-5.0	nd	nd	nd	nd	nd
Growth on nutrient agar:						
Good	+	+	+	+	+	+
Poor to very poor	-	-	-	-	-	-
No growth	-	-	-	-	-	-
Growth rate in culture:						
Moderate	+	+	+	+	+	+
Slow to very slow	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+
Nitrate reductase	-	-	-	-	-	-
Utilization of:						
Acetate	+	+	+	+	+	+
Citrate	+	+	+	+	+	+
Succinate	+	+	+	+	+	+
Benzoate	-	-	-	-	-	-
Arabinose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+

คุณสมบัติชีวเคมี	เชื้อ/ สายพันธุ์เชื้อ[a]					
	XC	Xcv7	Xcv691	Xcv10	Xcc12	Xad14
Acid production within 21 days on						
Dye's medium C from:						
Fructose	+	nd	nd	nd	nd	nd
Maltose	d	+	+	+	+	+
Xylose	d	+	+	+	+	+
Ribose	d	+	+	+	+	+
Raffinose	d	+	+	+	+	+
Melezitose	d	+	+	+	+	+
Dextrin	d	+	+	+	+	+
Glycerol	d	+	+	+	+	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	+	+	+	+	+
Adonitol	-	nd	nd	nd	nd	nd
Lactose	d	nd	nd	nd	nd	nd
Cellobiose	+	nd	nd	nd	nd	nd
Sorbitol	-	nd	nd	nd	nd	nd

[a]สายพันธุ์เชื้อ XC= *Xanthomonas campestris* จาก Bergey's manual of systematic bacteriology (Krieg และ Holt, 1984), Xcv7 และ Xcv691 เป็นข้อมูลแทนเชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* จากมะเขือเทศ 37สายพันธุ์, Xcv10 เชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* สายพันธุ์จากพริก, Xcc12 เชื้อ *X. campestris* pv.*campestris* จากคะน้า 2 สายพันธุ์ และ Xcd14 เชื้อ *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* จากหน้าวัว 2 สายพันธุ์

d= 11-89% ผลการทดสอบเป็นบวก, nd= ไม่ได้ทดสอบ

2. **ปฏิกิริยาการเกิดโรค และความรุนแรงบนพืชอาศัย**

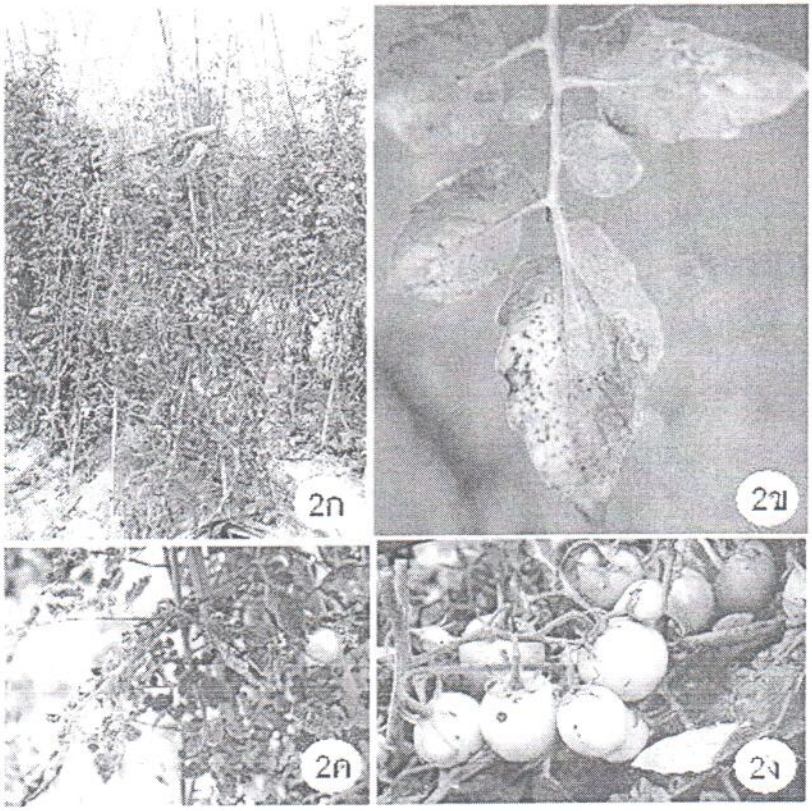
ผลการปลูกเชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* จำนวน 27 สายพันธุ์ เพื่อทดสอบปฏิกิริยาการก่อให้เกิดโรค พบว่าเชื้อแต่ละสายพันธุ์ สามารถเข้าทำลายพืช แสดงอาการใบจุดหลังจากปลูกเชื้อ 5-7 วัน โดยอาการเริ่มแรกใบจะแสดงจุดฉ่ำน้ำเล็กๆ ต่อมาจะขยายใหญ่ขึ้น มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 มิลลิเมตร แผลเป็นสีน้ำตาลดำ ตรงกลางแผลอาจมีลักษณะการยุบตัวสีเข้ม ขอบแผลมีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบ ถ้าอาการรุนแรงขึ้นแผลจะลามถึงกันทำให้ใบเหลืองแห้งตาย (ภาพที่ 2)

เชื้อแต่ละสายพันธุ์แสดงความรุนแรงในการเกิดโรคบนมะเขือเทศได้ต่างกัน โดยพบความรุนแรงเฉลี่ยของอาการใบจุด ตั้งแต่ 0-50 เปอร์เซ็นต์ จัดแบ่งกลุ่มความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคได้ 5 กลุ่ม (ตารางที่ 2) ทั้งนี้ความรุนแรงในการเกิดโรคของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของเชื้อ การจัดกลุ่มเชื้อตามการเข้าทำลายพืชอาศัยโดย Cook และ Stall (1982) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Tomato strain (XCV T) เข้าทำลายมะเขือเทศ กลุ่ม Pepper strain (XCV P) เข้าทำลายพริก และกลุ่ม Pepper-tomato strain (XCV PT) เข้าทำลายทั้งพริกและมะเขือเทศ ทั้งนี้เชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *vesicatoria* สามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกระยะการเจริญ และทุกส่วนที่อยู่เหนือดินได้แก่ ใบ กิ่ง ก้านใบ ลำต้น และผล (ศุภลักษณ์, 2536; Jone และคณะ, 1991; CPC, 2003)

ตารางที่ 3 แสดงการจัดกลุ่มความรุนแรงในการเกิดโรคของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria* (XCV) จากการปลูกเชื้อบนต้นมะเขือเทศ พันธุ์สีดา อายุ 45 วัน

กลุ่มที่	เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค[a]	สายพันธุ์ของเชื้อ XCV
1	ไม่ก่อให้เกิดโรค 0%	691, 1665, 1675, 1702
2	พืชเกิดโรค 1-10%	1642, 1645, 1768, 1699, 1696, 1698, 1708
3	พืชเกิดโรค 11- 25%	3, 1643, 1662, 1664, 1673, 1699, 1700, 1703
4	พืชเกิดโรค 26-50%	6, 1644, 1646, 1691, 1704, 1706, 1710
5	พืชเกิดโรคมากกว่า 50%	1713, 12, 1709

[a]เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเฉลี่ยจากการประเมินพื้นที่ใบที่แสดงอาการโรคใบจุดของใบมะเขือเทศทั้งต้น (ประมาณ 10-15 ใบ)



ภาพที่ 2 ลักษณะอาการโรคใบจุด (Bacterial spot) และผลจุดของมะเขือเทศ
ที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*

2ก, ลักษณะการเข้าทำลายมะเขือเทศอย่างรุนแรงใบจะมีแผลจุด และแผลจะลาม ติดกันใบแห้งเหลืองทั้งต้น

2ข, อาการแผลจุดจากการปลูกเชื้อ ใบเป็นจุดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ กลางแผลยุบตัว

2ค, อาการแผลจุดลามเข้าหากัน ทำให้ใบแห้ง

2ง, อาการผลจุดเป็นวง ช้ำฉ่ำน้ำ

3. **ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ โดย** BOX **และ** ERIC PCR

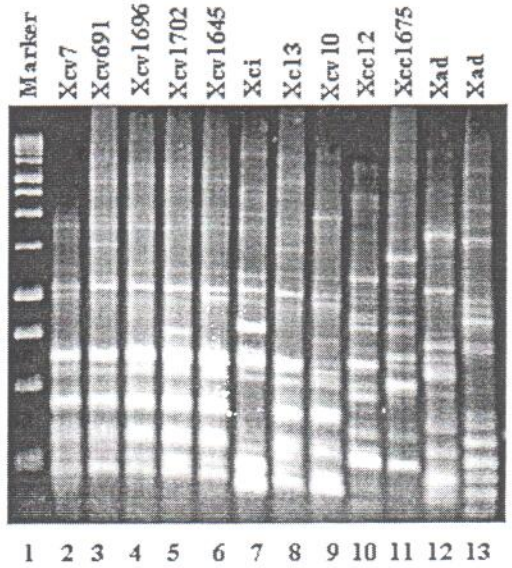
ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ BOX ของเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* จำนวน 37 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *X. campestris* pathovars สาเหตุโรคแคงเคอร์มะนาว 1 สายพันธุ์ โรคใบแห้งคะน้า 2 สายพันธุ์ โรคใบไหม้ของหน้าวัว 2 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อแต่ละสายพันธุ์แสดงแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดตั้งแต่ 200-3000 bp จำนวน 6-11 แถบ มีรูปแบบแตกต่างกัน 12 รูปแบบ (ภาพที่ 3ก) พบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 29 แถบ เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบแถบดีเอนเอ สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ (ภาพที่ 4) กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* ทั้งหมด 37 สายพันธุ์ มีค่า similarity coefficient 73% โดยมีเชื้อ *X. campestris* ที่เป็นสาเหตุโรคใบแห้งของหอมหัวใหญ่อยู่รวมด้วย 1 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 มีค่า similarity coefficient 64% เป็นกลุ่มของเชื้อโรคใบแห้งคะน้า 2 สายพันธุ์ (similarity coefficient 75%) และโรคแคงเคอร์มะนาว 1 สายพันธุ์ ส่วนอีก 2 สายพันธุ์ เป็นเชื้อ *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว ที่มีความสัมพันธ์กันที่ค่า similarity coefficient น้อยกว่า 50%

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดย ERIC primer พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดตั้งแต่ 200-3000 bp จำนวน 4-16 แถบ เมื่อนำตัวอย่างสายพันธุ์เชื้อที่เป็นตัวแทนที่มีรูปแบบแตกต่างกัน 12 รูปแบบ (ภาพที่ 3ข) มีแถบดีเอนเอที่ปรากฏแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 29 แถบ ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบแถบดีเอ็นเอ แบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 3 กลุ่ม (ภาพที่ 5) กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยสายพันธุ์ของเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* จำนวน 35 สายพันธุ์ มีค่า similarity coefficient 65% กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* สายพันธุ์จากพริก และ *X. campestris* ที่เป็นสาเหตุโรคใบแห้งของหอมหัวใหญ่ 2 สายพันธุ์ มีค่า similarity coefficient 70% กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคใบแห้งคะน้า มีค่า similarity coefficient 72%

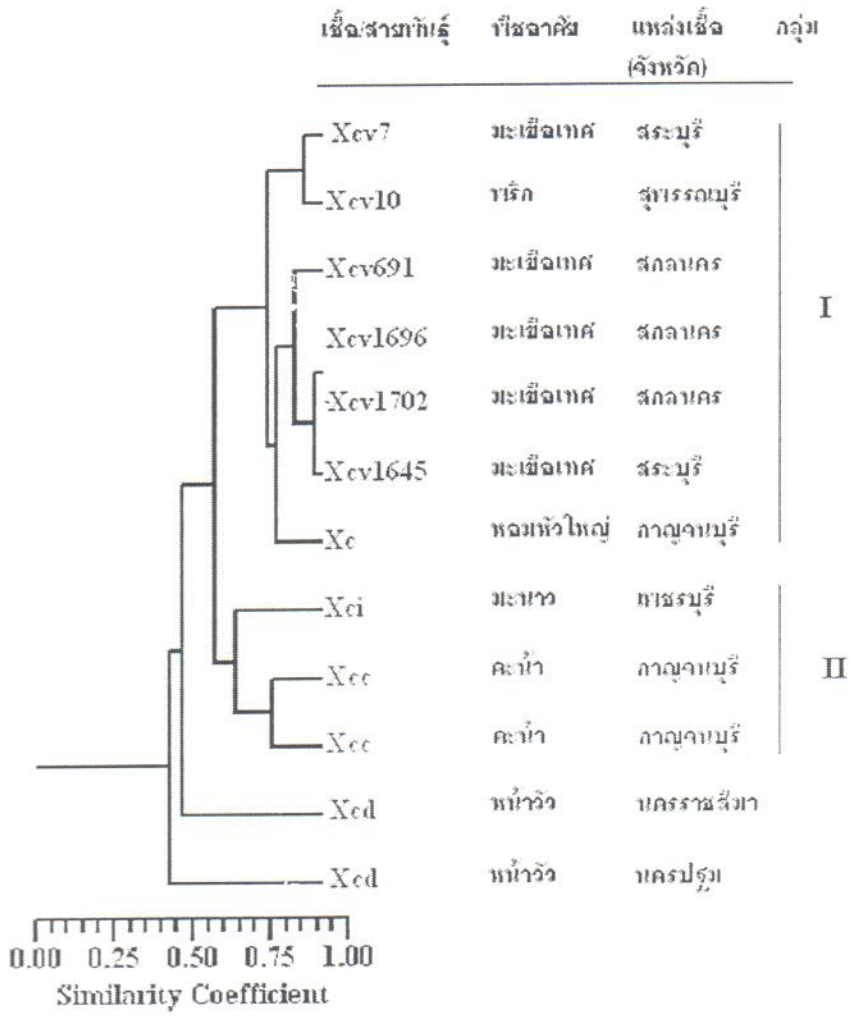
การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ โดยข้อมูลจาก BOX และ ERIC primer มีแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 58 แถบ สามารถจัดแบ่งเชื้อออกได้เป็น 4 กลุ่ม (ภาพที่ 6) กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* 34 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* สายพันธุ์จากพริก 1 สายพันธุ์ และ *X. campestris* ที่เป็นสาเหตุโรคใบแห้งของหอมหัวใหญ่ 1 สายพันธุ์ โดยทั้งสองกลุ่มมีค่า similarity coefficient เท่ากันคือ 68% กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคใบแห้งคะน้า 2 สายพันธุ์ มีค่า similarity coefficient 72% และกลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มเชื้อ *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* 2 สายพันธุ์ ใน

การศึกษาขั้นต่อไปควรเพิ่มจำนวนสายพันธุ์เชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* ที่เป็นสาเหตุโรคในพริก และรวมถึงเชื้อใน pathovars อื่นๆ

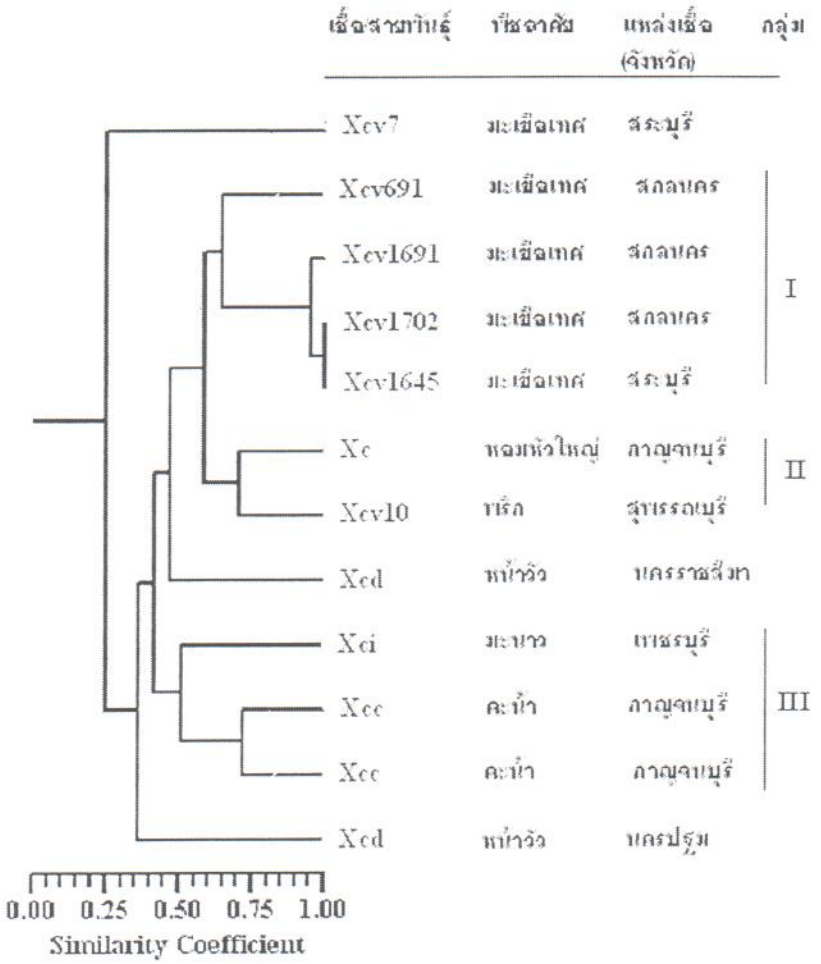
จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของลายพิมพ์ดีเอ็นเอพบว่ามีแนวโน้มการรวมกลุ่มกันของเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดมะเขือเทศ โดยภายในกลุ่มเชื้อยังพบความหลากหลายทางสายพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งที่มาของเชื้อ และความรุนแรงในการเกิดโรค ไม่พบความสัมพันธ์ ซึ่งให้ผลการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการศึกษาของศุทธนา (2542) ในการจำแนกเชื้อ *Ralstonia solanacearum* พบว่าการจัดกลุ่มระดับพันธุกรรมด้วยเทคนิค Rep-PCR ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของเชื้อ แต่ต่างจากการศึกษาของ กุลชนา (2544) ซึ่งพบว่าเทคนิคดังกล่าวสามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อ *X. campestris* pv.*glycines* ที่มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการก่อให้เกิดโรค คือ สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อที่เป็นสายพันธุ์อ่อนแอและสายพันธุ์ที่รุนแรงได้ แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของเชื้อ หรือพันธุ์ของถั่วเหลือง



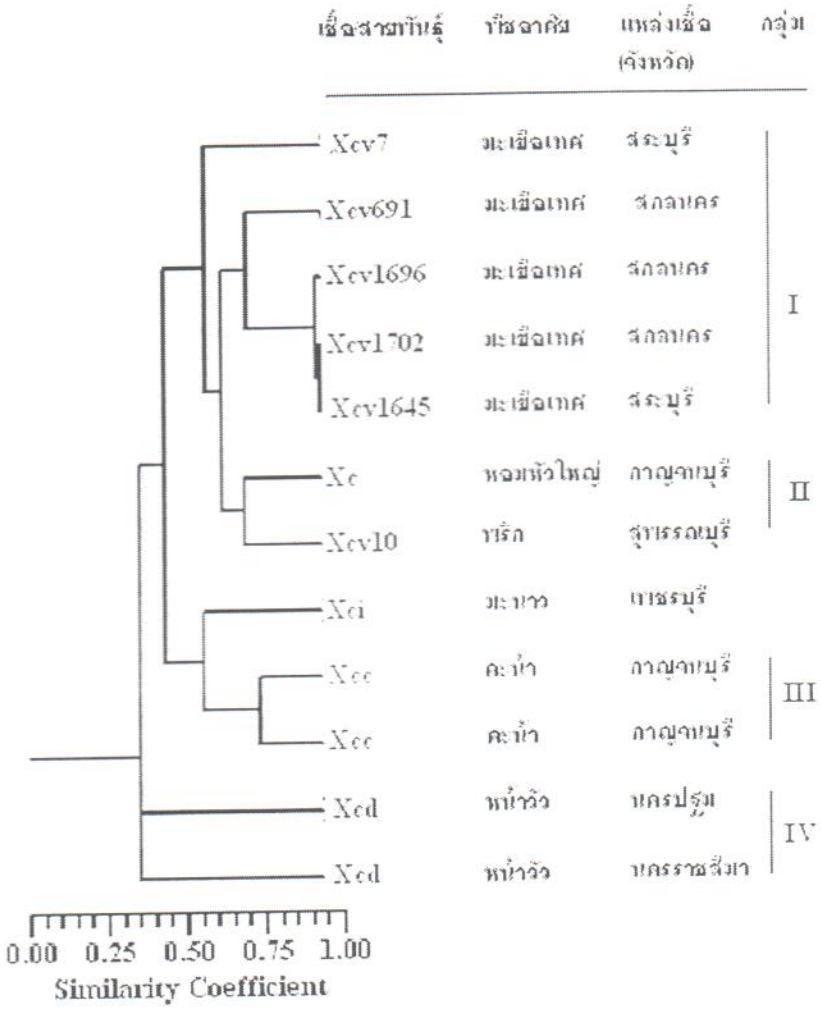
ภาพที่ 3 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ โดย BOX-PCR 3ก และ ERIC-PCR 3ข, เลนที่ 1 ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder, เลนที่ 2-6 และ 9 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, เลนที่ 7 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *X. campestris* pv. *citri*, เลนที่ 8 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *X. campestris*, เลนที่ 10-11 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris*, เลนที่ 12 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *X. campestris* pv. *dieffenbachiae*



ภาพที่ 4 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv) กับเชื้อ *X. campestris* pv. *citri* (xci), *X. campestris* (Xc), *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc) และเชื้อ *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* (Xcd) ใช้ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอนเอของ Rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ BOX วิเคราะห์ด้วย NTSYS-pc,version 2.01



ภาพที่ 5 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv) กับเชื้อ *X. campestris* pv. *citri* (xci), *X. campestris* (Xc), *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc) และเชื้อ *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* (Xcd) ใช้ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอนเอของ Rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ ERIC วิเคราะห์ด้วย NTSYS-pc,version 2.01



ภาพที่ 6 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Xcv) กับเชื้อ *X. campestris* pv. *citri* (xci), *X. campestris* (Xc), *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc) และเชื้อ *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* (Xcd) ใช้ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอนเอของ Rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ BOX และ ERIC วิเคราะห์ด้วย NTSYS-pc,version 2.01

สรุปผลการทดลอง

1. ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pathovars ต่างๆ บนอาหารชนิดเดียวกันไม่สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อได้ บนอาหาร YDC, NA และ Tween medium เชื้อเจริญภายใน 24-48 ชั่วโมง และบนอาหาร SX เชื้อเจริญภายใน 48-72 ชั่วโมง

2. คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *X. Campestris* pv. *vesicatoria* และเชื้อ *X. campestris* pathovar ส่วนใหญ่สามารถย่อยเจลาติน และย่อยแป้ง มีปฏิกิริยาคะตาเลสบวก ไม่รีดิวซ์ไนเตรท สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโตส ทรีฮาโลส ฟรุคโตส มอลโตส ไซโลส ไรโบส ราฟฟิโนส และแมนโนส โดยเชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอล

3. เชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* แต่ละสายพันธุ์ สามารถเข้าทำลายพืช แสดงอาการใบจุดหลังจากปลูกเชื้อ 5-7 วัน โดยอาการเริ่มแรกใบจะแสดงจุดฉ่ำน้ำเล็กๆ ต่อมาจะขยายใหญ่ขึ้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 มิลลิเมตร แผลเป็นสีน้ำตาลดำ ตรงกลางแผลอาจมีลักษณะการยุบตัวสีเข้ม ขอบแผลอาจมีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบ ถ้าอาการรุนแรงขึ้นแผลจะลามถึงกันทำให้ใบเหลืองแห้งตาย

4. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยเทคนิค rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ BOX และ Eric พบแนวโน้มการรวมกลุ่มกันของเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดมะเขือเทศ โดยภายในกลุ่มเชื้อมีความหลากหลายทางสายพันธุ์ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของกลุ่มเชื้อกับแหล่งที่มา และความรุนแรงในการเกิดโรค

5. ในการศึกษาชีววิทยา และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *X. campestris* pv. *vesicatoria* เปรียบเทียบ 3 วิธีการ วิธีที่ 1 ศึกษาสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติชีวเคมี พบว่าไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่าง pathovars ของเชื้อได้ วิธีที่ 2 ศึกษาปฏิกิริยาการเกิดโรคและความรุนแรงบนพืชอาศัย สามารถจัดกลุ่มเชื้อได้เป็นกลุ่ม 5 กลุ่ม ตามความรุนแรงของการเข้าทำลายต้นมะเขือเทศ ซึ่งอาจมีความผันแปรตามสภาพแวดล้อมและพันธุ์พืช จึงยังไม่มีความละเอียดและแน่นอนในการจำแนก การใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ มาใช้จำแนกพบว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ BOX และไพรเมอร์ ERIC ให้ความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 12 รูปแบบ ที่มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน (polymorphic) 29 แถบ เช่นเดียวกัน โดยแบ่งเชื้อออกเป็น 2 และ 3 กลุ่ม ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ร่วมโดยใช้ความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอจากทั้งสองไพรเมอร์ BOX และ ERIC มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน 58 แถบ สามารถจัดจำแนกเชื้อออกได้เป็น 4 กลุ่ม ที่มีค่า similarity coefficient ที่แตกต่างกัน วิธีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อในระดับดีเอ็นเอ ไม่มีความผันแปรทางสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง ชี้ให้เห็นความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อ *X. campestris* pathovars ที่เข้าทำลายมะเขือเทศ และพืชเศรษฐกิจอื่นๆ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ กลุ่มงานบักเตรีวิทยา ที่เอื้อเฟื้อเชื้อ *Xanthomonas campestris* pathovar ต่างๆ ขอบคุณ คุณเอื้อมขวัญ จันเต็ม และคุณรสสุคนธ์ รุ่งแจ้ง ผู้ช่วยในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กุลชนา เกศสุวรรณ์. 2544. การตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*glycines* ด้วยเทคนิค rep-PCR. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิชัย โฆสิตรัตน. 2531. โรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 133 หน้า.

ศุทธนา คล้ายมลคล วิชัย โฆสิตรัตน และ นิพนธ์ ทวีชัย. 2543. การประเมินความผันแปรทางพันธุกรรมของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากพริกที่เป็นโรคเหี่ยว. เอกสารการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 38 วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2543.

ศุภลักษณ์ ฮอกะวัต. 2536. โรคผักตระกูลพริกและมะเขือเทศ. ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 249 หน้า.

Bashan, Y., S. Diab and Y. Okon. 1982. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in pepper seeds and roots, in symptomless and dry leaves in non-host plants and in the soil. Plant and Soil 68: 161-170.

Berthier, Y., V. Verdier, J. L. Guesdon, D. Chevrier, J. B. Denis, G. Decoux, and M. Lemattre. 1993. Characterization of *Xanthomonas campestris* pathovars by rRNA gene restriction patterns. Appl. Environ. Microbiol. 59: 851-859

Cook, A. A. and R. E. Stall. 1982. Distribution of races of *Xanthomonas vesicatoria* pathogenic on pepper. Plant Disease 66:388-389.

CPC. 2003. Crop Protection Compendium, data sheet on quarantine pests *Xanthomonas Vesicatoria*. CAB International, Wallingford, UK.

Jones, J. B., J. P. Jones, R. E. Stall and T. A. Zitter. (eds.) 1991. Compendium of tomato Diseases. APS Press. St. Paul. Minnesota, U.S.A. 73 p.

Krieg, N. R. and Holt, J. G. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology. William and Wikins Company, Baltimore. 1599 p.

Lazo, G. R., R. Roffey and D.W. Gabriel. 1987. Pathovars of *Xanthomonas campestris* are distinguishable by restriction fragment length polymorphisms. Int. J. Syst. Bacteriol. 37:214-221.

Mc Guire, R. G., J. B. Jones and M. Sasser. 1986. Tween medium for semiselective isolation of *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria* from soil and plant material. Plant Dis. 70: 887.

Pooler, M. R., D.F. Ritchie, and J. S. Hartung. 1996. Genetic relationships among strains of *Xanthomonas fragariae* based on random amplified polymorphic DNA, PCR repetitive extragenic palindromic PCR, and enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR data and generation of multiplexed PCR primers useful for the identification of this phytopathogen. Appl. Env. Microbiol. 62: 3121-3127

Rohlf, F. J. 1994. NTSTSpc Numerical taxonomy and multivariate analysis system version2.01d, Applied Biostatistics Inc. New York.

Schaad, N. W., J. B. Jones, and G. H. Lacy. 2001. *Xanthomonas*. pp. 175-200. *In* Schaad, N. W., J. B. Jones, and W. Chun (eds). Laboratory guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria 3rd edition. APS Press. 373 p.

Schaad N. W. and W. C. White. 1974. A selective medium for soil isolation and enumeration of *Xanthomonas campestris*. Phytopathology 64: 876-889.

ศึกษาการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชกลุ่ม *Xanthomonas*

Utilization of the Genus *Xanthomonas*

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การวิจัยการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* ที่สร้างสารแซนแทนกัม มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* สาเหตุโรคพืช ที่เก็บรวบรวมไว้ในหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช มาทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างสารแซนแทนกัม และเพื่อพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างสารแซนแทนกัม ทำการทดสอบที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียปฏิบัติการทดลองโดยนำแบคทีเรีย จำนวน 15 ไอโซเลท มาสกัดสารแซนแทนกัมโดยเลี้ยงในอาหารเหลว Wakimoto's broth บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า ไอโซเลท 1101 สามารถสร้างสารแซนแทนกัมในปริมาณสูงสุดโดยมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของสารแซนแทนกัมคิดเป็นกรัมต่ออาหารเหลว100 มิลลิลิตร เท่ากับ 11.85 และ 0.78 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบสีของผลิตภัณฑ์แซนแทนกัมบดละเอียดและความสามารถการละลายน้ำ พบว่า สารแซนแทนกัมจากไอโซเลต 1487 จะมีสีและการละลายในน้ำกลั่นได้ดีเท่ากับสาร Super NG ซึ่งเป็นสารแซนแทนกัมที่ผลิตจำหน่ายในระดับอุตสาหกรรม โดยที่สารแซนแทนกัมจากไอโซเลต 1101 จะมีสีใกล้เคียงกับสาร Super NG แต่ความสามารถในการละลายในน้ำกลั่นที่ 5 นาที จะต่ำกว่า Super NG แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้ 5 ชั่วโมงพบว่าสารแซนแทนกัมจากไอโซเลต 1101 สามารถละลายในน้ำได้ถึง 100% ในขณะที่ Super NG ละลายได้ 85% โดยพบว่า สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตสารแซนแทนกัม ได้แก่ Wakimoto's broth สูตรมาตรฐาน

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0802-08

คำนำ

ได้มีรายงานว่า แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* สาเหตุโรคพืชทุกชนิดสามารถสร้างสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ ที่เรียกว่า Extracellular polysaccharides (EPS) บริเวณผนังเซลล์ (Rudolph,1993) ซึ่ง EPS นี้จัดเป็นปัจจัยหนึ่งในการก่อให้เกิดอาการของโรค เช่น ทำให้เกิดอาการฉ่ำน้ำ (water soak) หรือทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยว (บุษราคัม,2543) แต่ในทางอุตสาหกรรม EPS ถูกนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย ในชื่อแซนแทนกัม (xanthan gum) ซึ่งค้นพบครั้งแรกในปี 1950 โดยนักวิทยาศาสตร์แห่งสถาบัน NRRL (The Northern Regional Research Laboratories) ประเทศสหรัฐอเมริกา โดย Rogovin และคณะ (1961) โดยพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 สามารถผลิตสารแซนแทนกัมที่มีคุณสมบัติดี ซึ่งต่อมาได้นำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร แซนแทนกัมเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ ที่ไม่พบความเป็นพิษในสัตว์ทดลอง(หนูและสุนัข) ทั้งระยะสั้น (12 อาทิตย์) และระยะยาว (2 ปี) ดังนั้นในปี 1971 สำนักงานอาหารและยาของโลก (FDA) ได้ออกประกาศอนุญาตให้ใช้สารแซนแทนกัมเติมลงในอาหารและยาได้ โดยมหาวิทยาลัยเอดินเบิร์กได้รายงานว่า ในแต่ละปีมีการผลิตสารแซนแทนกัมจากเชื้อแบคทีเรีย *X.campestris* จำนวน 20,000 ตัน เพื่อนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น ยาสีฟัน เครื่องสำอาง สี ไอศกรีม สลัด และน้ำมันหล่อลื่น เป็นต้น โดยใช้เป็นสารผสมเพิ่มความหนืด ช่วยให้เกิดลักษณะเป็นเจล (gelling) หรือเป็นสารรักษาความคงตัว (stabilising) ให้เกิดความคงตัวในผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น เป็นส่วนผสมของสลัด ไอศกรีม ยาสีฟัน เครื่องสำอาง สีทา และน้ำมันหล่อลื่น

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการนำสารแซนแทนกัมมาใช้ในอุตสากรรมต่างๆมากมายทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น โยเกิร์ต เนย ไอศกรีม แยม เบเกอรี่ เค้ก ซอส ฯลฯ อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมสี อุตสาหกรรมน้ำมัน ผลิตภัณฑ์น้ำยาทำความสะอาด และอุตสาหกรรมเคมีเกษตร โดยประเทศไทยได้นำเข้าปีละหลายล้านบาทและมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี โดยนำเข้าจาก จีน อินเดีย อังกฤษ ฮอนดูรัส ซูดาน แคนาดา สหรัฐอเมริกา เยอรมัน และญี่ปุ่น (ศศิธร, 2536)

การศึกษาค้นคว้าวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* สาเหตุโรคพืช ที่เก็บรวบรวมไว้เป็นจำนวนมากในหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช นำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยศึกษาการสร้างสารแซนแทนกัม เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการสร้างสารแซนแทนกัม และมีคุณสมบัติเหมาะสมในการนำไปใช้ใน อุตสาหกรรม เพื่อเป็นข้อมูลในการนำไปใช้พัฒนาการผลิตสาร์แซนแทนกัมภายในประเทศ เป็นเชิงพาณิชย์โดยใช้วัตถุดิบที่มีอยู่ในประเทศไทย เพื่อทดแทนการนำเข้าในอนาคต ซึ่งกัมชนิดต่างๆ ที่มีจำหน่ายในประเทศ

ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ ยังไม่มีการผลิตเพื่อใช้ในประเทศ และยังไม่เพียงพอต่อความต้องการซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปีเนื่องจากการขยายตัวของอุตสาหกรรมต่างๆ นอกจากนี้ วิจัยพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยมุ่งเน้นพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการ โดยการปรับเปลี่ยนชนิดและอัตราของน้ำตาลและเปปโตนซึ่งเป็นองค์ประกอบของอาหาร Wakimoto's broth เพื่อให้เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเพื่อสร้างสารแซนแทนกัมให้ได้ปริมาณสูงสุดและได้สารแซนแทนกัมที่มีคุณสมบัติดีเหมาะสม เพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเพื่อสร้างสารแซนแทนกัมในระดับถังหมัก (Fermentor) ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* 15 ไอโซเลท
2. แบคทีเรียทดสอบ *Xanthomonas campestris* pv.*campestris* ไอโซเลท 1101
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Sucrose Agar (PSA) หรือ Wakimoto's Agar ,Potato Sucrose broth (PSB)
4. สารเคมีได้แก่ โพแตสเซียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรท,น้ำตาลซูโครส,น้ำตาลกลูโครส , เปปโตน และเอทธิลแอลกอฮอล์ 95%
5. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ,เครื่องเขย่า, ตู้อบ เครื่องกวน และอุปกรณ์เครื่องแก้ว

วิธีการ

การทดลองที่ 1 คัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการสร้างแซนแทนกัม

1. ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารแซนแทนกัม

แบบและวิธีการทดลอง : แผนการทดลอง : CRD , 15 กรรมวิธี

วิธีปฏิบัติการทดลอง :

1.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย: ย้ายเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่เก็บไว้ในอาหารแห้ง (freez dry) เลี้ยงบนอาหาร PSA ให้มีอายุ 48 ชั่วโมง

1.2 การเตรียมหัวเชื้อ: เพาะเชื้อแบคทีเรีย (จากข้อ 1.1) จำนวน 1 loop มาตรฐาน ลงบนอาหารเหลว Wakimoto's broth 50 มิลลิลิตร บ่มเชื้อในสภาพเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

1.3 การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเพื่อผลิตสารแซนแทนกัม : ถ่ายหัวเชื้อแบคทีเรีย (จากข้อ 1.2) ลงในอาหารเหลวชนิดเดิม โดยใช้หัวเชื้อ 10%โดยปริมาตร บ่มเชื้อในสภาพเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

1.4 การสกัดและการตกตะกอนสารแซนแทนกัม: นำเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงไว้จากข้อ 1.3 ไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 18°C เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้มาเติมสารโพแตสเซียมคลอไรด์ 1 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไปสกัดสารแซนแทนกัมออกจากอาหารเหลว โดยเติมเอทธิลแอลกอฮอล์ 95% อัตราส่วนอาหารเหลว:เอทธิลแอลกอฮอล์ 1:3 โดยปริมาตร กรองด้วยกระดาษกรองหรือผ้าขาวบางนึ่งฆ่าเชื้อจะได้สารแซนแทนกัมมีลักษณะเหนียวเป็นเส้นสายคล้ายวุ้นแขวนลอยในอาหารเหลว

1.5 การหาน้ำหนักของสารแซนแทนกัม: นำสารแซนแทนกัมที่ได้ไปชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง การหาน้ำหนักแห้งปฏิบัติโดยนำแซนแทนกัมไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง หรือจนสารแซนแทนกัมแห้งและมีน้ำหนักคงที่

การบันทึกข้อมูล:บันทึกน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของสารแซนแทนกัมของแบคทีเรีย *Xanthomonas* ในแต่ละไอโซเลท

2. ศึกษาลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สดและผลิตภัณฑ์บดละเอียดของ สารแซนแทนกัม

วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 ศึกษาลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สด : ตรวจดูลักษณะของสารแซนแทนกัมที่แขวนลอยอยู่ในอาหารเหลวหลังจากตกตะกอนด้วยเอทธิลแอลกอฮอล์ 95 % และเมื่อกรองด้วยผ้าขาวบางหรือกระดาษกรองแล้ว โดยตรวจดู สี ลักษณะ การจับตัว และปริมาณการสร้างของสารแซนแทนกัม

2.2 ศึกษาลักษณะสีของผลิตภัณฑ์บดละเอียด : โดยนำสารแซนแทนกัมอบแห้งมาบดด้วยโกร่งบดจนละเอียด เปรียบเทียบสีของผลิตภัณฑ์บดละเอียดกับสารแซนแทนกัมที่ผลิตเป็นการค้า

3. ศึกษาความสามารถการละลายของสารแซนแทนกัม

วิธีปฏิบัติการทดลอง

นำสารแซนแทนกัมที่บดละเอียด ไปละลายในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ อุณหภูมิน้ำ 23°C โดยชั่งสารแซนแทนกัม 0.1 กรัมละลายในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 100 มิลลิลิตร คนตลอดเวลาเป็นเวลา 5 นาที และตั้งทิ้งไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2°C) เป็นเวลา 5 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับสารแซนแทนกัมที่ผลิตเป็นการค้า ตรวจผลโดยให้เป็นเปอร์เซ็นต์การละลาย

การทดลองที่ 2 พัฒนาสูตรอาหาร Wakimotoที่เหมาะสมในการสร้างสารแซนแทนกัม ของแบคทีเรียสกุล *Xanthomonas*

1. ศึกษาชนิดและปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมในการสร้างสารแซนแทนกัมของแบคทีเรียทดสอบ

แบบและวิธีการทดลอง : แผนการทดลอง: CRD , 10 กรรมวิธี

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *X.c.* pv.*campestris* ไอโซเลท 1101 บนอาหาร PSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาเตรียมหัวเชื้อบนอาหาร Wakimoto's broth เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยปฏิบัติการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 หลังจากนั้นถ่ายหัวเชื้อที่ได้ลงในอาหารเหลว Wakimoto's broth โดยเปลี่ยนชนิดและปริมาณของน้ำตาลดังต่อไปนี้

S-5, S-10, S-20, S-30, S-40 = น้ำตาลซูโครส 5, 10, 20, 30 และ 40 กรัม ต่ออาหารเหลว 1,000 มิลลิลิตร ตามลำดับ

G-5, G-10, G-20, G-30, G-40= น้ำตาลกลูโครส 5,10, 20, 30 และ 40 กรัม ต่ออาหารเหลว 1,000 มิลลิลิตร ตามลำดับ

บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำมาสกัดสารแซนแทนกัม และตกตะกอนด้วย เอทธิลแอลกอฮอล์ 95% ปฏิบัติการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 กรองด้วยกระดาษกรองหรือผ้าขาวบางนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปหาน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของสารแซนแทนกัม โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 (ข้อ 1.5)

การบันทึกข้อมูล : บันทึกน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของสารแซนแทนกัม

2. ศึกษาปริมาณและอัตราของเปบโตนและ/หรือแอมโมเนียมไนเตรท ที่เหมาะสมในการสร้างสารแซนแทนกัมของแบคทีเรียทดสอบ

แบบและวิธีการทดลอง : แผนการทดลอง : CRD , 8 กรรมวิธี

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมเชื้อและหัวเชื้อโดยปฏิบัติการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 หลังจากนั้นถ่ายหัวเชื้อที่ได้ลงในอาหาร Wakimoto's broth โดยเปลี่ยนชนิดและปริมาณของสารที่เป็นแหล่งไนโตรเจนดังนี้

P-1, P-3, P-5, P-7 = เปบโตน 1, 3, 5 และ 7 กรัม ต่ออาหารเหลว 1,000 มิลลิลิตร ตามลำดับ

A-1, A-3, A-5, A-7 = แอมโมเนียมไนเตรท 0.1, 0.3, 0.5 และ 0.7 กรัม ต่ออาหารเหลว 1,000 มิลลิลิตร ตามลำดับ

นำมาสกัดสารแซนแทนกัม และตกตะกอนด้วยเอทธิลแอลกอฮอล์ 95% นำไปหาน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของสารแซนแทนกัม การหาน้ำหนักแห้งปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 (ข้อ 1.5)

การบันทึกข้อมูล : บันทึกน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของสารแซนแทนกัม

หมายเหตุ : Wakimoto's broth สูตรมาตรฐาน 1000 มิลลิลิตรประกอบด้วย น้ำตาลซูโคลส 20 กรัม เปปโตน 5 กรัม มันฝรั่ง 300 กรัม แคลเซียมไนเตรต $\{(Ca(Na_3)_2 4H_2O\}$ 0.5 กรัม และ di-Sodium hydrogen phosphate ($Na_2HPO_4 12H_2O$) 2 กรัม

เวลาและสถานที่

เวลา : เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2546 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2549

สถานที่ทำการทดลอง: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. คัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการสร้างแซนแทนกัม

1. ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารแซนแทนกัม

ผลการทดลอง พบว่า แบคทีเรีย *X. campestris* ทุกไอโซเลทสามารถสร้างสารแซนแทนกัมได้ โดยไอโซเลท 1101 สามารถสร้างสารแซนแทนกัมได้ปริมาณสูงสุด มีน้ำหนักสดเท่ากับ 11.85 กรัมต่ออาหารเหลว100 มิลลิลิตร รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท ST92-063 สร้างสารแซนแทนกัมที่มีน้ำหนักสดเท่ากับ 4.68 กรัมต่ออาหารเหลว100 มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของสารแซนแทนกัม พบว่า ไอโซเลท 1101 สร้างสารแซนแทนกัมมีน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากับ 0.78 กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตร ซึ่งมีความแตกต่างกับทุกไอโซเลท รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท ST92-063, ไอโซเลท 920 และไอโซเลท TB 0004 สร้างสารแซนแทนกัมคิดเป็นน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.35, 0.34 และ 0.33 กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยพบว่า ไอโซเลท 1057 สร้างสารแซนแทนกัมได้น้อยสุดโดยมีน้ำหนักแห้งเพียง 0.05 กรัม กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตร (ตารางที่ 1)

เมื่อเปรียบเทียบการสร้างสารแซนแทนกัมของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคพืชชนิดเดียวกัน (pathovar เดียวกัน) พบว่า เมื่อไอโซเลทต่างกัน จะสร้างสารแซนแทนกัมต่างกัน เช่น *X.c.*pv. *glycines* สาเหตุโรคใบจุดนูนถั่วเหลือง ไอโซเลท ST92-063 สามารถสร้างสารแซนแทนกัมได้ปริมาณ

สูงกว่าไอโซเลท CM92-013 หรือ *X.c.*pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ในมะนาว ไอโซเลท 920 สร้างสารแซนแทนกัมได้ปริมาณสูงกว่าไอโซเลท 1058 เป็นต้น (ตารางที่ 1)

2.ศึกษาลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สดและผลิตภัณฑ์บดละเอียดของสารแซนแทนกัม

ผลการทดลองพบว่า เกือบทุกไอโซเลทจะสร้างสารแซนแทนกัมที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน คือมีลักษณะเป็นเส้นสาย คล้ายวุ้น เหนียว สีขาวขุ่นจนถึงสีเหลืองอ่อนแขวนลอยในอาหารเหลว สามารถใช้แท่งแก้วม้วนพันเก็บผลิตภัณฑ์ขึ้นมาเป็นก้อนได้โดยง่าย (ภาพที่ 1) ยกเว้นไอโซเลท CM92-013 , *X.c.*pv.*vesicatoria* และไอโซเลท 1057 สร้างปริมาณน้อย ตะกอนละเอียดไม่เหนียวไม่จับตัวเป็นก้อนแขวนลอยอยู่ในอาหารเหลว ไม่สามารถใช้แท่งแก้วม้วนพันขึ้นมาได้ ต้องใช้กระดาษกรองกรองเพื่อเก็บผลผลิต โดยพบว่า เมื่อใส่เอทธิลแอลกอฮอล์ 95 % ลงไปทุกไอโซเลท จะปรากฏตะกอนของสารแซนแทนกัมม้วนตัว แขวนลอยขึ้นทันที ยกเว้น ไอโซเลท CM92-013 และไอโซเลท 1057 ตะกอนของสารแซนแทนกัมจะไม่ปรากฏขึ้นทันที จะค่อยๆปรากฏขึ้นหลังจากใส่เอทธิลแอลกอฮอล์ 95 % ลงไปประมาณ 5-10 นาที เมื่อนำสารแซนแทนกัมไปอบจนน้ำหนักคงที่ จะได้สารแซนแทนกัมที่มีลักษณะเป็นก้อนแข็ง เนื้อสารแน่น พบว่าส่วนใหญ่จะมีสีขาวอมครีมจนถึงสีเหลืองอ่อน (ภาพที่ 2ก) บดง่ายเมื่อเป็นผงละเอียดจะมีสีที่ใกล้เคียงกัน โดยจะมี สีขาวอมครีม สีครีมอมเหลือง สีเหลืองและสีเหลืองอ่อนซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับสารแซนแทนกัมที่จำหน่ายเป็นการค้าเพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการชื่อ Fluka และ Super NG ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในทางอุตสาหกรรม (ภาพที่ 2ข,2คและ2ง)

3. ศึกษาความสามารถการละลายของสารแซนแทนกัม

ผลการทดสอบความสามารถการละลายในน้ำกลั่นของสารแซนแทนกัมบดละเอียดกับสารแซนแทนกัมที่ผลิตเป็นการค้าซึ่งใช้ในระดับอุตสาหกรรม (Super NG) และที่ผลิตใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ (Fluka) พบว่า สารแซนแทนกัมที่สร้างโดยแบคทีเรียไอโซเลท TB0004,1487 และ 1185 จะมีสีที่ใกล้เคียงกับ Super NG ที่สุด โดยไอโซเลท 1487 สามารถละลายในน้ำกลั่นได้ดีเท่ากับ Super NG คือสามารถละลายได้ 85% ภายในเวลา 5 นาที เมื่อตั้งทิ้งไว้ 5 ชั่วโมงในสภาพอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2 °C) พบว่าสารแซนแทนกัมที่สร้างโดยไอโซเลท 1101, 920, TB0028 และ 1185 สามารถละลายในน้ำกลั่นได้ 100% โดยที่ Super NG และ Fluka สามารถละลายในน้ำกลั่นได้ 85% และ 75% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

จากผลการทดลองพบว่าสอดคล้องกับรายงานของ Rudolph (1993) ซึ่งระบุว่าแบคทีเรียกลุ่ม Xanthomonads ที่เป็นสาเหตุโรคพืชทุกชนิดสามารถสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่เรียกว่า xanthan และ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kovacs (1973) ซึ่งรายงานไว้ว่าสารแซนแทนกัม เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชสกุล *Xanthomonas* หลายชนิด

โดยพบว่า *X. campestris* เป็นสกุลที่สามารถผลิตสารแซนแทนกัมที่มีคุณภาพดีที่สุด นอกจากนี้ ยังสอดคล้องกับรายงานของ Sandford และคณะ (1977) ที่รายงานไว้ว่า *X. campestris* ที่มีสายพันธุ์ต่างกันจะสร้างสารแซนแทนกัมปริมาณต่างกัน

2. พัฒนาสูตรอาหารWakimotoที่เหมาะสมในการสร้างสารแซนแทนกัมของแบคทีเรียสกุล *Xanthomonas*

1. ศึกษาชนิดและปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมในการสร้างสารแซนแทนกัมของแบคทีเรียทดสอบ

ผลการทดสอบการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *X.c. pv.campestris* ไอโซเลท 1101 ซึ่งใช้เป็นแบคทีเรียทดสอบ ในอาหาร Wakimoto's broth สูตรต่างๆ โดยการเปลี่ยนชนิดและอัตราของน้ำตาล พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Wakimoto's broth สูตรมาตรฐาน ซึ่งใช้น้ำตาลซูโครส อัตรา 20 กรัมต่ออาหาร 1,000 มิลลิลิตรเป็นองค์ประกอบ แบคทีเรียทดสอบสามารถสร้างสารแซนแทนกัมได้ปริมาณสูงสุดโดยมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเท่ากับ 11.85 และ 0.78 กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตรตามลำดับ รองลงมาได้แก่เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบในอาหาร Wakimoto's broth ที่ใช้น้ำตาลกลูโครส 40 กรัมต่ออาหาร 1,000 มิลลิลิตรเป็นองค์ประกอบ ซึ่งแบคทีเรียทดสอบสร้างสารแซนแทนกัมโดยมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเท่ากับ 3.80 และ 0.54 กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตรตามลำดับ ทั้งนี้พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลกลูโครส ในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณการสร้างสารแซนแทนกัมจะเพิ่มขึ้นตามลำดับ และ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง น้ำตาลซูโครส และ กลูโครส ที่อัตรา 20 กรัม ซึ่งเป็นอัตราที่ใช้ในสูตรมาตรฐาน พบว่า การใช้น้ำตาลซูโครสเป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ แบคทีเรียทดสอบสร้างสารแซนแทนกัมได้ปริมาณสูงกว่าการใช้น้ำตาลกลูโครสเป็นองค์ประกอบ (ตารางที่ 3)

2. ศึกษาปริมาณและอัตราของเปบโตนและ/หรือแอมโมเนียมไนเตรท ที่เหมาะสมในการสร้างสารแซนแทนกัมของแบคทีเรียทดสอบ

ผลการทดสอบการเปลี่ยนเปบโตนและแอมโมเนียมไนเตรทอัตราต่างๆ พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบในอาหาร Wakimoto's broth สูตรมาตรฐาน ซึ่งมีเปบโตน 5 กรัม เป็นองค์ประกอบของอาหาร 1,000 มิลลิลิตร แบคทีเรียจะสร้างสารแซนแทนกัมได้ในปริมาณสูงสุดโดยมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเท่ากับ 11.85 และ 0.78 กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตรตามลำดับ รองลงมาได้แก่เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบในอาหาร Wakimoto's broth ที่ใช้เปบโตน 3 กรัม ซึ่งแบคทีเรียทดสอบจะสร้างสารแซนแทนกัมโดยคิดเป็นน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเท่ากับ 6.67 และ 0.51 กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตร และเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง เปบโตน และ แอมโมเนียมไนเตรท ที่อัตรา 5 กรัม ซึ่งเป็น

อัตราที่ใช้ในสูตรมาตรฐาน พบว่า การใช้เปปโตนเป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ แบคทีเรียทดสอบสร้างสารแซนแทนกัมได้ปริมาณสูงกว่าการใช้แอมโมเนียมไนเตรทเป็นองค์ประกอบ (ตารางที่ 4)

สรุป

ผลการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* สาเหตุโรคพืช 15 ไอโซเลท พบว่าทุกไอโซเลท สามารถสร้างสารแซนแทนกัมได้ โดยมีลักษณะที่ใกล้เคียงกันแต่มีปริมาณแตกต่างกันไป และผลิตภัณฑ์สดจะมีลักษณะคล้ายวุ้นสีขาวขุ่นจนถึงสีเหลืองอ่อน เมื่ออบแห้งจะมีลักษณะเป็นก้อนแข็งสีขาวครีมจนถึงสีเหลืองอ่อน โดยไอโซเลท 1011 (*X.c.* pv.*campestris*) สามารถสร้างสารแซนแทนกัมได้ปริมาณสูงสุด และผลิตภัณฑ์อบแห้งบดละเอียดมีลักษณะทางกายภาพใกล้เคียงกับสารแซนแทนกัมที่ผลิตเป็นการค้า ผลิตภัณฑ์อบแห้งบดละเอียดที่สร้างโดยไอโซเลท 1487 (*X.c.* pv.*manihotis*) มีลักษณะสีและความสามารถการละลายในน้ำกลั่นได้ใกล้เคียงกับสารแซนแทนกัมที่ใช้ในอุตสาหกรรม (Super NG) และพบว่า *X.campestris* pathovar เดียวกันซึ่งเป็นสาเหตุโรคบนพืชชนิดเดียวกันแต่ไอโซเลทต่างกันจะมีการสร้างสารแซนแทนกัมในปริมาณที่ต่างกัน

ผลการทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการสร้างสารแซนแทนกัมของแบคทีเรีย *X.c.* pv.*campestris* ไอโซเลท 1101 โดยเลี้ยงในอาหาร Wakimoto's broth ที่มีการปรับเปลี่ยนชนิดและอัตราของน้ำตาลและเปปโตนพบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหาร Wakimoto's broth สูตรมาตรฐานคือ มีน้ำตาลซูโครส 20 กรัม เปปโตน 5 กรัม มันฝรั่ง 300 กรัม แคลเซียมไนเตรต {$(Ca(Na_3)_2 4H_2O$} 0.5 กรัม และ di-Sodium hydrogen phosphate ($Na_2HPO_4 12H_2O$) 2 กรัม เป็นองค์ประกอบของอาหาร 1,000 มิลลิลิตร แบคทีเรียทดสอบสามารถสร้างสารแซนแทนกัมได้ปริมาณสูงสุด โดยมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเท่ากับ 11.85 และ 0.78 กรัมต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตรตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

บุษราคัม อุดมศักดิ์. 2543. บทบาทของสารเอกซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* Pathovars ในการก่อให้เกิดโรค.วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ

ศศิธร โชติศศิธร. 2536. การผลิตแซนแทนกัมด้วยเครื่องชีวปฏิกรณ์แบบฟองอากาศจากสายพันธุ์คัดเลือก*Xanthomonas campestris*. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท.จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Kovacs, P. 1973. Xanthan gum, a new and unique colloidal stabilizer for the British Food Industry. Food Trade Review 43: 17-22.

Rogovin, S.P.,R.F.Anderson and M.C.Cadmus. 1961. Production of polysaccharide with *Xanthomonas campestris*. J.biochem.Microbiolo.Technol. 3: 51-63

Rudolph,K. 1993. Infection of the plant by *Xanthomonas*. *In* Xanthomonas. (eds.) Chapman & Hall, London.

Sandford,P.A.,J.E.Pittsley.,C.A.Knutson.,P.R.Watson.,M.C.Cadmus and A.Jeanes. 1977. Variation in Xanthomonas campestris NRRL B-1459 Characterization of xanthan products of differing pyruvic acid content. In Extracellular Microbial Polysaccharides. (eds) ACS Symposium Series 45. American Chemical Society.Washington,D.C.

ตารางที่1 เปรียบเทียบปริมาณสารแซนแทนกัมปริมาณสารแซนแทนกัมที่สกัดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas* 15 ไอโซเลท โดยคิดเป็นน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง (กรัม)

ไอโซเลท	ข้อมูลของไอโซเลท			ปริมาณสารแซนแทนกัม	
	ชื่อวิทยาศาสตร์	โรค/พืชอาศัย	แหล่งเก็บ	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
1101	*X.c.pv.campestris*	เน่าดำ/กะหล่ำดอก	จ.สงขลา	11.85 a[1]	0.78 a[1]
ST92-063	*X.c.pv.glycines*	ใบจุดนูน/ถั่วเหลือง	จ.สุโขทัย	4.68 b	0.35 b
920	*X.c.pv.citri*	แคงเกอร์/มะนาว	จ.จันทบุรี	1.25 def	0.34 b
TB0004	*X.c.pv.oryzae*	ขอบใบแห้ง/ข้าว	จ.บุรีรัมย์	1.43 cde	0.33 b
1487	*X.c.pv.manihotis*	ใบไหม้/มันสำปะหลัง	จ.ขอนแก่น	1.60 cd	0.31 bc
888-2	*X.c.pv.citri*	แคงเกอร์/มะกรูด	จ.พิษณุโลก	2.28 c	0.29 bcd
TB0028	*X.c.pv.oryzae*	ขอบใบแห้ง/ข้าว	จ.อำนาจเจริญ	1.30 def	0.29 bcd
1185	*X.c.pv.campestris*	ใบไหม้/คื่นฉ่าย	จ.กาญจนบุรี	1.65 cd	0.19 cde
X.c.pv. vesicatoria	*X.c.pv.vesicatoria*	ใบจุด/มะเขือเทศ	-[2]	1.33 def	0.18 def
1059	*X.c.pv.betticola*	ใบจุด/พลู	กรุงเทพฯ	0.93 defg	0.11 efg
1058-2	*X.c.pv.diffenbachiae*	ใบไหม้/หน้าวัว	กรุงเทพฯ	0.40 fg	0.11 efg
1062	*X.c.pv.betticola*	ใบจุด/พลู	จ.ราชบุรี	0.25 g	0.11 efg
CM92-013	*X.c.glycines*	ใบจุดนูน/ถั่วเหลือง	จ.เชียงใหม่	0.63 efg	0.08 efg
1058	*X.c.pv.citri*	แคงเกอร์/มะนาว	จ.สงขลา	0.43 fg	0.06 fg
1057	*X.c.pv.diffenbachiae*	ใบไหม้/หน้าวัว	กรุงเทพฯ	0.13 g	0.05 g
CV (%) =				29.21	31.64

[1] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรตามหลังเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

[2] ไม่มีการบันทึกวันเวลาและสถานที่เก็บรวบรวม

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบสีและการละลายของผลิตภัณฑ์อบแห้งบดละเอียดของสารแซนแทนกัมที่สร้างจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas* ทั้ง 15 ไอโซเลท กับสารแซนแทนกัมที่ผลิตเป็นการค้า

ไอโซเลท/ผลิตภัณฑ์การค้า	สี	% การละลาย (5 นาที)	% การละลาย (5 ชั่วโมง)
Fluka[1/]	ครีมปนเหลือง	75	75
Super NG[2/]	ขาวครีม	85	85
1101	ครีมปนเหลือง	80	100
ST92-063	เหลืองอ่อน	65	70
920	เหลืองอ่อน	85	100
TB0004	ขาวครีม	80	90
1487	ขาวครีม	85	95
888-2	เหลือง	65	70
TB0028	เหลือง	80	100
1185	ขาวครีม	80	100
X.c.pv.vesicatoria	เหลือง	85	90
1059	เหลืองอ่อน	70	70
1058-2	เหลือง	70	75
1062	เหลืองอ่อน	80	80
CM92-013	เหลืองอ่อน	85	90
1058	เหลืองอ่อน	70	70
1057	เหลืองอ่อน	85	90

[1/] ผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายเพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการ

[2/] ผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายเพื่อใช้ในทางอุตสาหกรรม

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณสารแซนแทนกัมที่สกัดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv.*campestris* ไอโซเลท 1101 เมื่อเลี้ยงในอาหาร Wakimoto's broth โดยปรับเปลี่ยนชนิดน้ำตาลอัตราต่างๆ

ชนิด/อัตราน้ำตาล	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
S-5	1.59 e[2/]	0.25 de[2/]
S-10	2.74 cd	0.36 cd
S-20[1/]	11.85 a	0.78 a
S-30	2.61 cd	0.31 d
S-40	2.59 cd	0.37 cd
G-5	1.35 e	0.17 e
G-10	1.77 de	0.26 de
G-20	2.15 de	0.32 d
G-30	3.34 bc	0.47 bc
G-40	3.80 b	0.54 b
CV (%) =	39.00	39.00

[1/] ปริมาณน้ำตาลซูโครส อัตรา 20 กรัม เป็นองค์ประกอบของอาหาร Wakimoto's broth สูตรมาตรฐาน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรตามหลังเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

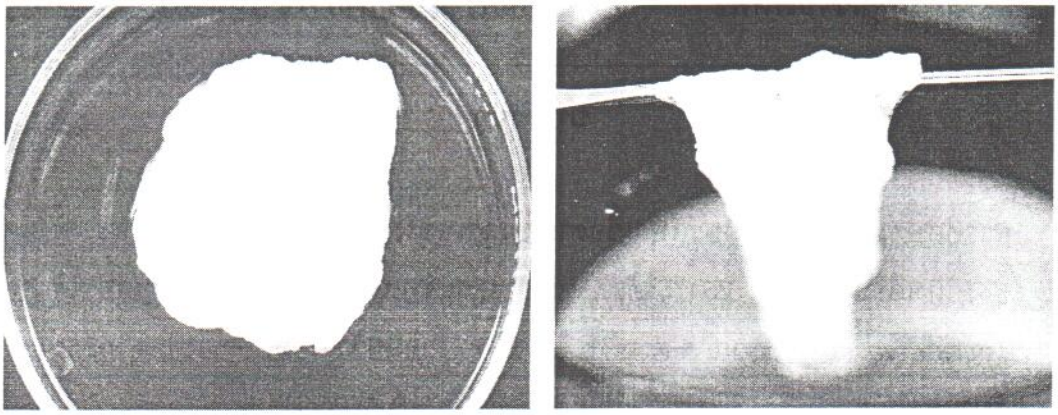
ตารางที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณสารแซนแทนกัมที่สกัดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv.*campestris* ไอโซเลท 1101 เมื่อเลี้ยงในอาหาร Wakimoto's broth โดยปรับเปลี่ยนเป็นเปปโตนและแอมโมเนียมไนเตรทอัตราต่างๆ

อัตราเปปโตน/แอมโมเนียมไนเตรท	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
P-1	2.56 d	0.26 e
P-3	6.67 b[2/]	0.51 bcd[2/]
P-5[1/]	11.85 a	0.78 a
P-7	3.53 cd	0.40 cde
A-1	3.66 cd	0.53 bc
A-3	4.07 c	0.60 b
A-5	3.56 cd	0.45 bcd
A-7	2.57 d	0.33 de
CV (%) =	31.00	31.00

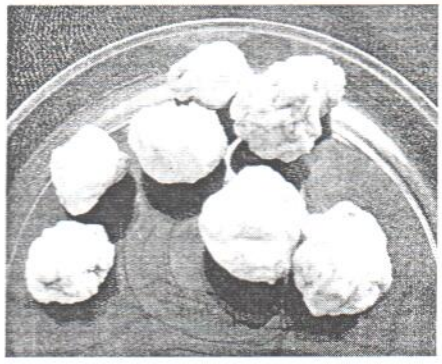
[1/] ปริมาณเปปโตน อัตรา 5 กรัม เป็นองค์ประกอบของอาหาร Wakimoto's broth สูตรมาตรฐาน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรตามหลังเหมือนกันในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

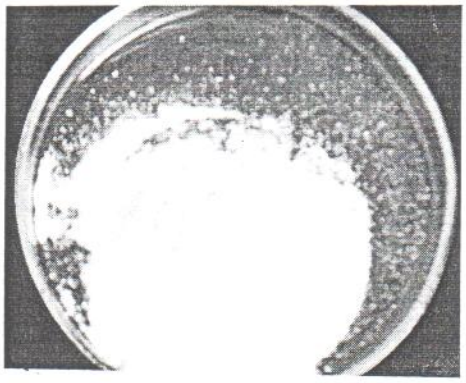
ภาพที่ 1 แสดงลักษณะผลิตภัณฑ์สดสารแซนแทนกัมแทนกัมที่สกัดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv.*campestris* ไอโซเลท 1101



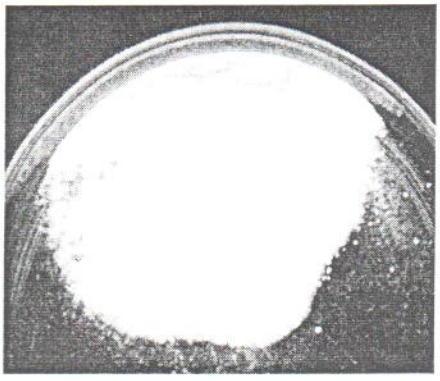
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะผลิตภัณฑ์อบแห้งและผลิตภัณฑ์อบแห้งบดละเอียดของสารแซนแทนกัมแทนกัมที่สกัดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv.*campestris* ไอโซเลท 1101เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ผลิตเป็นการค้า, ผลิตภัณฑ์อบแห้ง จากไอโซเลท 1101 (ก), ผลิตภัณฑ์อบแห้งบดละเอียด จากไอโซเลท 1101, ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตเป็นการค้า (ค,ง)



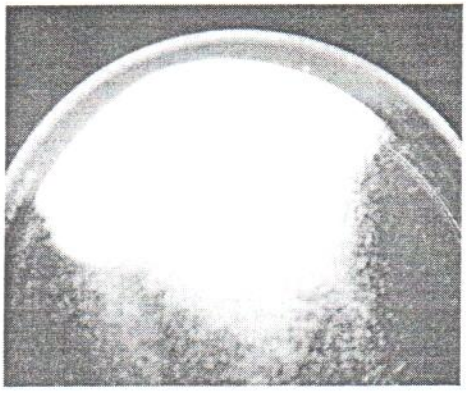
ก



ข



ค



ง

เทคนิคการเก็บรักษาเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืช

Techniques for Plant Pathogenic Rust Fungi Preservaaation

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย ภาสบุตร

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชที่พบในประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2547 ได้เก็บตัวอย่างและจำแนกเชื้อราได้ 13 ไอโซเลท ได้แก่ราสนิมกาแฟ (*Hemileia vastatrix*) จาก จ.ตาก 1 ไอโซเลท ราสนิมข้าวโพด (*Puccinia polysira*) จาก จ.นครราชสีมา 2 ไอโซเลทและ จ.เลย 1 ไอโซเลท ราสนิมองุ่น (*Phakopsora ampelopsidis*) จาก จ.นครราชสีมา 1 ไอโซเลท ราสนิมสัก (*Olivea teceoniae*) จาก จ.เชียงราย 1 ไอโซเลท และ จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท และราสนิมลั่นทม จาก จ.กรุงเทพมหานคร 1 ไอโซเลท จ.เชียงราย 1 ไอโซเลท และ จ.เชียงใหม่ 1 ไอโซเลท ราสนิมของถั่วฝักยาว (*Uromyces phaseoli* var. *vignae*) จาก จ.เชียงใหม่ 1 ไอโซเลท ราสนิมหญ้าแห้วหมู (*Puccinia romagnoliana*) จาก จ.เชียงใหม่ 1 ไอโซเลท และ ราสนิมขาวของเบญจมาศ (*Puccinia melanocephala*) จาก จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท เมื่อทดสอบการงอกของสปอร์เชื้อราสนิมจำนวน 15 ไอโซเลทพบว่าสปอร์ของเชื้อรางอกและเจริญได้ดี

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0802-09

คำนำ

เชื้อราสนิมเป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญกลุ่มหนึ่ง จัดอยู่ใน Class Basidiomycetes, Order Uredinales เป็นราที่ดำรงชีวิตและเจริญได้เฉพาะบนเนื้อเยื่อพืชอาศัย (Obligate parasite) ที่มีพืชอาศัยกว้างทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ มีรายงานว่าราสนิม *Puccinia melanocephala* เป็นทำให้เกิดโรคที่สร้างปัญหาให้กับอ้อย *Puccinia arachidis* ระบาดสร้างปัญหาถั่วลิสง Puccinia polysora ในข้าวโพด *Phakopsora pachyrhizi* ในถั่วเหลืองและถั่วเขียว *Phakopsora gossipi* ในฝ้าย *Phakopsora ampelopsidis* ในองุ่น *Aecium mori* ในหม่อน *Skierka nephoelii* ในลิ้นจี่ และ *Hemileia vastatrix* ทำความเสียหายอย่างรุนแรงในกาแฟ โดยเฉพาะกาแฟพันธุ์อาราบิก้าในภาคเหนือและพันธุ์โรบัสต้าในภาคใต้ของประเทศไทย

การศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดโรคราสนิมที่ผ่านมา ได้มีการคัดพันธุ์พืชหลายชนิดที่มีความสามารถต้านทานการเข้าทำลายหรือความรุนแรงของโรค แต่วิธีการนี้ค่อนข้างจะดำเนินการยุ่งยาก เนื่องจากเชื้อราสนิมไม่สามารถนำมาเลี้ยงเพิ่มจำนวนในอาหารสังเคราะห์ได้ ทำให้ต้องเสียเวลาในการรวบรวมปริมาณสปอร์ของเชื้อรามาทดสอบความต้านทานในพืช ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อราสนิมสกุลและชนิดต่าง ๆ (genus and species) ที่เข้าทำลายพืชเศรษฐกิจรวมถึงพืชที่มีความสำคัญของประเทศ การศึกษานี้นอกจากจะได้เทคนิคที่เหมาะสมในการเก็บรักษาสปอร์เชื้อราสนิมสำหรับงานคัดพันธุ์ต้านทานโรคแล้ว ยังมีประโยชน์ในการศึกษาวงจรชีวิต ชีววิทยา และการแพร่กระจายของเชื้อราสนิมแต่ละชนิดอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสนิมสกุลต่าง ๆ 5 สกุลและต้นพืชที่เป็นพืชอาศัยหลักของเชื้อแต่ละชนิด
2. liquid nitrogen refrigerator และ lyophilizer พร้อมอุปกรณ์
3. ถุงกระดาษ herbarium ใบมีด พู่กันหรือแปรงขนาดเล็ก ขวด polypropylene cryogenic screw-cap serum tube, ขวด vial ขวดแก้ว ขวดสเปรย์ อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ
4. กล้องจุลทรรศน์ และอุปกรณ์ถ่ายภาพ
5. โรงเรือนทดลอง พร้อมกระถางและอุปกรณ์ปลูกต้นไม้

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราสนิมในพื้นที่เพาะปลูกพืช ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้

2. ใช้แปรงขนาดเล็กหรือพู่กันเขี่ยสปอร์เชื้อราสนิมจากส่วนของพืชที่เป็นโรค ลงในขวด vial หรือขวดแก้ว

3. จำแนกชนิดและตรวจความงอกของสปอร์ราสนิมที่เก็บรวบรวมได้ โดยเขี่ยสปอร์ราสนิมลงในขวดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง

4. เตรียมสปอร์เพื่อเก็บรักษา โดยผึ่งสปอร์ให้แห้งในอุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมงก่อนเก็บ การเก็บในถังไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen refrigerator) จะบรรจุสปอร์ราสนิมลงในขวด polypropylene cryogenic screw-cap serum tube การเก็บด้วยวิธี Lyophilization จะบรรจุสปอร์ราสนิมลงใน vial สำหรับ และ การเก็บในอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส จะบรรจุสปอร์ราสนิมลงในขวด polypropylene cryogenic screw-cap serum tube

5. ตรวจสอบการมีชีวิตของเชื้อราสนิมที่เก็บรักษาตามกรรมวิธีที่กำหนดภายหลังการเก็บรักษาทุก 6 เดือน โดยเขี่ยสปอร์ราสนิมลงในขวดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง

6. ตรวจสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนพืชอาศัย โดยปลูกพืชอาศัยของเชื้อราสนิมแต่ละชนิดในกระถาง ปลูกเชื้อราสนิมที่เก็บรักษาไว้ด้วยวิธีการต่าง ๆ

7. การบันทึกข้อมูล

7.1 บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์เชื้อราสนิมก่อนและหลังการเก็บรักษาในแต่ละกรรมวิธีตามระยะเวลาที่กำหนด

7.2 บันทึกระยะเวลาการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อและความรุนแรงของโรค เปรียบเทียบกับการเกิดโรคที่ปลูกด้วยเชื้อราสนิมที่เก็บมาจากธรรมชาติ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้น ตุลาคม 2546
	สิ้นสุด กันยายน 2549
สถานที่ทำการทดลอง	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	แปลงเพาะปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราสนิมในพื้นที่เพาะปลูกพืชของประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2547 ได้ตัวอย่างราสนิมจำนวน 15 ตัวอย่าง ได้แก่ กาแฟ 1 ตัวอย่าง จาก จ.ตาก ข้าวโพด 3 ตัวอย่าง จาก จ.นครราชสีมา 2 ตัวอย่าง และ จ.เลย 1 ตัวอย่าง องุ่น 1 ตัวอย่าง จาก จ.

นครราชสีมา ใบสัก 3 ตัวอย่าง จาก จ.เชียงราย 1 ตัวอย่าง และ จ.เชียงใหม่ 2 ตัวอย่าง ลีลาวดี 3 ตัวอย่าง จาก จ.กรุงเทพฯ จ.เชียงราย และ จ.เชียงใหม่ ถั่วฝักยาว 1 ตัวอย่าง จาก จ.เชียงใหม่ หญ้าแห้วหมู 1 ตัวอย่าง จาก จ.เชียงใหม่ และเบญจมาศ 2 ตัวอย่าง จาก จ.เชียงใหม่ สถานที่เก็บตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นแปลงปลูกพืชของเกษตรกร และพืชอาศัยที่ปลูกอาศัยที่เจริญอยู่บริเวณรอบ ๆ แปลงปลูก ช่วงเวลาที่พบโรคราสนิมมากจะเป็นช่วงเวลาฤดูฝน ที่มีความชื้นและความเย็นในอากาศมากกว่าช่วงเวลาอื่น

2. จากการจำแนกชนิดของราสนิม 13 ไอโซเลท โดยอาศัยข้อมูลในหนังสือ Illustrated Genera of Rust Fungi, 3rd edition ของ Cummins, G. B., and Y. Hiratsuka (1983) และ หนังสือ Ultrastructure of Rust Fungi ของ Littlefield, L. J., and M. C. Heath (1979) พบว่า เป็นเชื้อราสนิม 5 สกุล (genus) 7 ชนิด (species) ได้แก่ราสนิมกาแฟ (*Hemileia vastatrix)* จาก จ.ตาก 1 ไอโซเลท ราสนิมข้าวโพด (*Puccinia polysira)* จาก จ.นครราชสีมา 2 ไอโซเลทและ จ.เลย 1 ไอโซเลท ราสนิมองุ่น (*Phakopsora ampelopsidis)* จาก จ.นครราชสีมา 1 ไอโซเลท ราสนิมใบสัก (*Olivea teceoniae*) จาก จ.เชียงราย 1 ไอโซเลท และ จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท และราสนิมลีลาวดี 3 ตัวอย่างจาก จ. กรุงเทพมหานคร 1 ไอโซเลท จ.เชียงราย 1 ไอโซเลท และ จ.เชียงใหม่ 1 ไอโซเลท ราสนิมของถั่วฝักยาว (*Uromyces phaseoli* var. *vignae*) จาก จ.เชียงใหม่ 1 ไอโซเลท ราสนิมหญ้าแห้วหมู (*Puccinia romagnoliana*) จาก จ.เชียงใหม่ 1 ไอโซเลท และ ราสนิมขาวของเบญจมาศ (*Puccinia melanocephala*) จาก จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท

3. การตรวจความงอกของสปอร์ที่เก็บ โดยเขี่ยสปอร์ราสนิมลงในขวดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อราสนิมทั้ง 15 ไอโซเลท มีความงอกและเจริญได้ดี สำหรับการเก็บรักษากำลังอยู่ในระหว่างการเตรียมวัสดุอุปกรณ์ ซึ่งจะดำเนินการในปีงบประมาณ 2548

สรุปผล

การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชที่พบในประเทศไทย ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2547 ได้เก็บตัวอย่างและจำแนกเชื้อราได้ 13 ไอโซเลท ได้แก่ราสนิมกาแฟ (*Hemileia vastatrix)* 1 ไอโซเลท ราสนิมข้าวโพด (*Puccinia polysira)* 3 ไอโซเลท ราสนิมองุ่น (*Phakopsora ampelopsidis)* 1 ไอโซเลท ราสนิมสัก (*Olivea teceoniae*) 3 ไอโซเลท และราสนิมลีลาวดี 3 ไอโซเลท ราสนิมของถั่วฝักยาว (*Uromyces phaseoli* var. *vignae*) 1 ไอโซเลท ราสนิมหญ้าแห้วหมู (*Puccinia romagnoliana*) 1 ไอโซเลท และ ราสนิมขาวของเบญจมาศ (*Puccinia melanocephala*)

2 ไอโซเลท เมื่อทดสอบการงอกของสปอร์เชื้อราสนิมจำนวน 15 ไอโซเลทพบว่าสปอร์ของเชื้อรางอกและเจริญได้ดี

เอกสารอ้างอิง

Cummins, G. B., and Y. Hiratsuka. 1983. Illustrated Genera of Rust Fungi, 3rd edition. The American Phytopathological Society, St.Paul, Minnesota. 225 p.

Littlefield, L. J., and M. C. Heath. 1979. Ultrastructure of Rust Fungi. Academic Press, New York, San Francisco, London. 277 p.

Hwang, S. 1966. Long-Term Preservation of Fungus Cultures with Liquid Nitrogen Refrigeration. American Society for Microbiology 14 (5) : 784-788.

Smith, D. 1982. Liquid Nitrogen Storage of Fungi. Br. Mycol. Soc. 79 (3) : 415-421.

.....

การเก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อราสนิมกาแฟบนใบกาแฟอาราบิก้า

Coffee Leaf Rust Races Preservation on Arabica Coffee

ศุภชัย ลีจีรจำเนียร **ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช**
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างเชื้อราสนิมเพื่อนำเชื้อที่มีลักษณะแตกต่างกันทาง physic หรือที่เรียกว่า physiologic races พบว่ามี 3 ลักษณะที่แตกต่างกันถ้าดูจากสายตา และได้นำไปปลูกเชื้อทดสอบกับใบกาแฟ differential clone ที่เลือกมา พบมีปฏิกิริยาแตกต่างกันระหว่าง isolate No.H.0001 กับ isolate No.H.0002 และ H.0003 โดยดูจากปฏิกิยาของ differential clones ทั้ง 12 clones ที่เลือกมา ในตารางที่ 3 แต่ปฏิกิริยาของ differential clones ระหว่าง isolate No.H.0002 และ isolate No.H.0003 มีความคล้ายคลึงกันมาก ดังนั้น differential clone ที่เลือกมาจึงมีคุณสมบัติจำแนกความแตกต่างทาง physic ได้ระดับหนึ่งเท่านั้น อาจต้องหา clone ใหม่เพิ่ม เพื่อจำแนกความแตกต่างเชื้อรา 2 isolate หลังนี้ หรือทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างกันก็ได้ ซึ่งอาจต้องใช้เทคนิคทาง PCR มาช่วยจำแนก หรืออาจต้องส่งไปจำแนกที่ศูนย์ศึกษาเชื้อราสนิมประเทศปอร์ตุเกสที่มี differential clones ที่ครบทุก clone วิธีการนี้นอกจากจะทำให้ทราบความแตกต่างระหว่าง isolate ทั้ง 3 แล้ว ยังทำให้ทราบว่าเป็น race ใดด้วย

รหัสกิจกรรม 05-02-47-0802-10

คำนำ

โรคราสนิมกาแฟมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Hemileia vastatrix* B. & Br. เป็นโรคที่มีความสำคัญที่สุดของกาแฟอาราบิก้า ในอดีตการปลูกกาแฟอาราบิก้าไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจากมีโรคนี้ระบาดจนต้นกาแฟโทรมและเกษตรกรไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ ความนิยมในการปลูกจึงลดลง ปัจจุบันนี้มีพันธุ์กาแฟลูกผสมที่โครงการหลวงนำเข้ามาจากต่างประเทศ ซึ่งเป็นลูกผสมที่เกิดจากการผสมพันธุ์ของกาแฟพันธุ์ Catimor กับกาแฟอาราบิก้าพันธุ์ดีที่ปลูกเป็นการค้า เช่น พันธุ์ Mundo Novo, Catuai, Caturra, Villa Sarchi, SL.28 และ Bourbon เป็นต้น กาแฟลูกผสมเหล่านี้ได้รับการปลูกเชื้อคัดเลือกไปได้ระยะหนึ่งจนถึงชั่วที่ 6 แล้วและปรากฏว่ามีบางต้นที่มีลักษณะของความต้านทานเปลี่ยนแปลงไป คือจากที่เคยเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคสูง แผลมีลักษณะเป็น fleck ขนาดเล็ก ไม่มีการสร้างสปอร์ มาระยะหลังอาการที่พบบนใบเป็นแผล necrosis ขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม คือมีอากาศชื้นและเย็นขอบแผลมีอาจมีการสร้างสปอร์บาง ๆเกิดขึ้น ซึ่งส่งสัญญาณว่าสายพันธุ์กาแฟที่ทำการคัดเลือกมีระดับความต้านทานลดลง หรือ เชื้อราสนิมสาเหตุของโรคมีการพัฒนาการที่ดีขึ้นเพื่อให้สามารถทำให้กาแฟสายพันธุ์นั้น ๆอ่อนแอต่อโรคได้ ราวปีพ.ศ.2520 ประเทศไทยเคยส่งตัวอย่างเชื้อสนิมกาแฟไปตรวจสอบสายพันธุ์(race) ที่ Centro de Investigação das Ferrugen do Cafeeiro ประเทศปอรตุเกสโดย พบว่ามี 2 สายพันธุ์ คือ race II race III ปัจจุบันนี้น่าจะมีมากกว่า 2 race แล้ว โดยดูได้จากลักษณะ symptom ที่แตกต่างไปจากเดิม มีสีเปลี่ยนไป และลักษณะ pustule และแผลก็แตกต่างกันด้วย สายพันธุ์เชื้อราสนิมที่เกิดใหม่นี้จะมีประโยชน์ต่องานวิจัยในอนาคต โดยเฉพาะงานวิจัยทางด้านหาพืชต้านทานโรค และเกี่ยวข้องกับข้อมูลโรคพืชที่เกิดในประเทศ เพื่อไม่เกิดเชื้อโรคสายพันธุ์ชนิดใหม่ ๆขึ้นอีกและหาพันธุ์ต้านทานใหม่ ๆมาทดแทนพันธุ์เก่า เนื่องจากเชื้อราสนิมเป็นสิ่งมีชีวิตจำพวก biothorph ซึ่งต้องดำรงค์ชีวิตอยู่บนสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่เป็นพืชอาศัยเท่านั้น แม้ว่าเชื้อราสนิมบางชนิดอาจเลี้ยงได้ในอาหารสังเคราะห์ แต่เชื้อราสนิมกาแฟยังไม่เคยมีรายงานเลยว่าสามารถเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ได้ นักวิจัยทั่วโรคยังคงใช้วิธีการดั้งเดิมคือ เลี้ยงบนพืชอาศัยแล้วถ่ายเชื้อไปยังต้นใหม่ ๆเรื่อย ๆไป ดังนั้นการศึกษาและเก็บรักษาเชื้อราสนิมบนใบกาแฟจึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการอย่างรีบด่วน เพื่อจะสามารถบอกสายพันธุ์เชื้อโรคที่ระบาดอยู่ในขณะนั้น ๆและหากมีการพบสายพันธุ์ใหม่ก็สามารถเก็บตัวอย่างไปไว้ในที่ปลอดภัย ส่วนที่เหลือก็ทำการกำจัดให้สิ้น ไม่ให้มีการระบาดในแปลงปลูกของเกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

<u>อุปกรณ์</u>

1. ใบมีดผ่าตัดพร้อมด้าม เบอร์ 15
2. ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่างขนาด 20x24 นิ้ว
3. กระดาษซับหรือกระดาษหนังสือพิมพ์

4. Petri dish ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 cm.

5. vial เก็บเชื้อขนาด 8 dram

6. มีดติดตาและกรรไกรตัดกิ่งไม้

7. stock กาแฟอาราบิก้า

8. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเสียบยอดกาแฟ :-ถุงพลาสติกขนาด 7x9 นิ้ว เชือกฟาง และป้ายเขียนชื่อพันธุ์

9. สมุดบันทึกและกล้องถ่ายรูป

วิธีการ

สำรวจการเกิดโรคราสนิมของกาแฟในแปลงปลูกกาแฟในช่วงที่มีการระบาดของโรค สังเกตุลักษณะแผล, pustule และสีสปอร์ ที่แตกต่างไปจากเดิม โดยเฉพาะในแปลงลูกผสมที่เคยต้านทานโรคมาก่อน หากพบว่ามีการเกิดโรคให้เก็บตัวอย่างราสนิมพร้อมนำยอดของกาแฟต้นนั้น ๆ มาเสียบ ซึ่งน่าจะเป็น race ใหม่ที่เกิดขึ้น และต้นกาแฟต้นนั้นจะสามารถนำมาเป็น differential clone โดยต้นกาแฟเหล่านี้จะมียีนส์ที่มี resistant factors ที่แตกต่างกัน ถ้าหากสามารถหาต้นกาแฟที่เป็น differential clone จำนวนมาก ๆก็สามารถที่จะ set series หรือชุด differential clone ของ ๆกาแฟที่มีอยู่ในประเทศไทยไว้ใช้ในงานวิจัยได้ แต่ต้องมีการนำเอากาแฟพันธุ์ Catimor สายพันธุ์ C.I.F.C. No.7958, 7960,7961,7962 และ 7963 ทุกสายพันธุ์ หรือ สายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่งมาอยู่ใน sets ใหม่นี้ด้วย เนื่องจากได้มีการเช็คยีนส์จากประเทศปอร์ตุเกสเรียบร้อยแล้ว ในขณะเดียวกันพันธุ์กาแฟลูกผสมที่ประเทศปอร์ตุเกสเคยส่งมาให้มูลนิธิโครงการหลวงที่ทราบ resistant factors รวมทั้งพันธุ์กาแฟอาราบิก้าแท้ (true arabicas) หลายพันธุ์ เช่น Geisha, Bourbon, Caturra, San Ramon และ Catuai เป็นต้น

เวลาและสถานที่

ระยะดำเนินงาน เริ่มต้น ตุลาคม พ.ศ.2546 สิ้นสุด กันยายน พ.ศ.2549

สถานที่ดำเนินการ

1. ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตตาก 1 อ.เมือง จ.ตาก
2. สถานีวิจัยกาแฟอาราบิก้าแม่หลอด(มูลนิธิโครงการหลวง) อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่
3. ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเพชรบูรณ์ 2 อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
4. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจการเกิดโรคราสนิมกาแฟที่สถานีวิจัยกาแฟอาราบิก้าแม่หลอดพบว่าได้เชื้อราสนิมที่มีความแตกต่างกัน 3 ลักษณะและให้หมายเลข(Isolate Number)ตามตารางที่ 1

Isolate Number	Location	Symptoms	Date
No. H.-0001	Mae-Lord Research Station, Mae-Tang, Chiang Mai	สปอร์สี old rose pustule เกิดขึ้นเดี่ยว ๆ หรือติดกันเป็นปื้น เก็บจากพันธุ์ Bourbon ที่หน้าห้องพักของหัวหน้าสถานี ฯ	15-09-04
No. H.-0002	Tak-1 Information Center, Muang District, Tak	สปอร์สี old rose pustule เกิดขึ้นเดี่ยว ๆ หรือติดกันเป็นปื้น เก็บจากพันธุ์ดั้งเดิมเป็น Bourbon type ใบยอดมีสีเขียว ที่ข้างแปลงลูกผสม F4 &F5	23-09-04
No. H.-0003	Tak-1 Information Center, Muang District, Tak	สปอร์สีส้ม (orange) pustule เกิดขึ้นเดี่ยว ๆ สปอร์สีส้มตั้งแต่ pustule มีขนาด 3 มม. เก็บจากพันธุ์ดั้งเดิมเป็น Bourbon type ใบยอดมีสีเขียว ที่ข้างแปลงลูกผสม F4 &F5	23-09-04

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะที่ใช้ในการจำแนกความแตกต่างของเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบพร้อมทั้งสถานที่และวันทำการเก็บ

และได้เก็บยอดกาแฟมาใช้ในการเสียบยอดเพื่อใช้ทำ differential clone จำนวน 12 สายพันธุ์ ตามรายชื่อสายพันธุ์ และสถานที่เก็บมา ดังตารางที่ 2

สายพันธุ์/สายต้น(Lines/Clone)	สถานที่(location)
1. H.258/23ML1/11ML2/8MS3/2	ศูนย์บริการวิชาการฯ ตาก1 อ.เมือง จ.ตาก
2. Typica No.1	" " "
3. Typica No.2	" " "
4. Typica No.3	" " "
5. Typica No.4	" " "
6. 26,1/3 [*C. arabica* CIFC H.153/2, 87/1-33/1/2 (Geisha)]	สถานีวิจัยกาแฟอาราบิก้าแม่หลอด จ.เชียงใหม่
7. *C. arabica* CIFC 849/1 (Matari)	" " "
8. *C. arabica* CIFC 7963 (Catimor)	" " "
9. 06,1/1(H.306/1ML1/1)	" " "
10. 34,3/2 (S.795)	" " "
11. 25,1/8 (H.495/16ML1/8)	" " "
12. *C. arabica* CIFC 63/1(Bourbon)	" " "

ตารางที่ 2 แสดงชื่อสายพันธุ์/สายต้น แหล่งที่ทำการเก็บเพื่อนำมาใช้ทำ differential clone

ผลการปลูกเชื้อโดยใช้ uredospores ทั้ง 3 isolates ปลูกให้กับ กาแฟอาราบิก้าทั้ง 12 clone ให้ปฏิกิริยาของกาแฟตอบสนองต่อเชื้อ ได้ผลตามตารางที่ 3

รูปแบบปฏิกิริยา / สายต้นกาแฟ	ตัวอย่างสปอร์เชื้อราสนิมกาแฟ		
	H.0001 II	H.0002 III	H.0003 III
1. 2-3-2(H.258/23ML1/11ML2/8MS3/2)	R	MS	MS
2. Typica No.1	S	S	S
3. Typica No.2	S	MS	MS
4. Typica No.3	S	MS	MS
5. Typica No.4	S	S	S
6. 26,1/3 [*C. arabica* CIFC H.153/2, 87/1-33/1/2 (Geisha)]	R	S	S
7. *C. arabica* CIFC 849/1 (Matari)	S	S	S
8. *C. arabica* CIFC 7963 (Catimor)	R	MS	R
9. 06,1/3(H.306/1ML1/1)	S	S	S
10. 34,3/2 (S.795)	R	R	R
11. 25,1/8 (H.495/16ML1/8)	R	MS	MS
12. *C. arabica* CIFC 63/1(Bourbon)	S	S	S

ตารางที่ 3 รูปแบบปฏิกิริยาของกาแฟอาราบิก้า 12 สายต้นที่แสดงออกหลังจากเกิดการติดเชื้อจากเชื้อรา *H. vastatrix* ทั้ง 3 isolates

ผลจากการปลูกเชื้อ 1 ครั้ง เมื่อเดือน ตุลาคม 2547 พบว่าใบกาแฟที่ใช้ทดสอบให้ปฏิกิริยา 3 ลักษณะคือ R, MS และ S ดูจากลักษณะปฏิกิริยาเชื้อราสนิมน่าจะมีเพียง 2 สายพันธุ์ (races) เท่านั้น เนื่องจาก เชื้อรา H.0002 และ H.0003 ให้ลักษณะปฏิกิริยาที่คล้ายกันมาก ซึ่งมีลักษณะที่แตกต่างจากเชื้อ H.0001 แต่จะให้ผลที่แน่ชัดต้องทำการทดสอบอีกครั้งเพื่อยืนยันผล หรือสายพันธุ์หรือสายต้นกาแฟที่เลือกมาใช้ในการทดสอบปฏิกิริยายังไม่เหมาะสมอาจต้องทำการเลือกใหม่เพื่อมาทดสอบอีกหลายครั้ง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการปลูกเชื้อราสนิมได้ดำเนินการเพียงครั้งเดียวจึงได้ผลที่ไม่ชัดเจนยังต้องทำกาปลูกเชื้อทดสอบซ้ำ เพราะการเพิ่มจำนวนซ้ำให้มากขึ้นจะสามารถลดความคลาดเคลื่อนของการทดลองได้และให้ผลการทดลองที่มีความเชื่อมั่นที่มากกว่า ซึ่งในการทดสอบในปีพ.ศ.2547 ไม่สามารถทำได้แล้ว เนื่อง

จากเชื้อราสนิมได้หยุดการระบาดแล้วจึงต้องรอการระบาดในปี 2548 และจำนวนตัวอย่างของสปอร์ และสถานที่เก็บตัวอย่างต้องมากกว่านี้จะสามารถบอกความแตกต่างของปฏิกิริยาได้ซึ่งอาจเป็น location อื่น อื่น ที่นอกเหนือจากสถานที่ปลูกกาแฟที่ได้กล่าวมาแล้ว

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่มูลนิธิโครงการหลวงโดยเฉพาะเจ้าหน้าที่ประจำสถานีวิจัยกาแฟอาราบิก้าแม่หลอด ที่ให้พันธุ์กาแฟและเก็บเชื้อมาทดลอง รวมทั้งเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตตาก 1 และเพชรบูรณ์ 2 ที่ให้สถานที่ทำการทดลอง ที่พักแรม และเป็นที่เก็บเชื้อราสนิมมาทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Eskes, A. B. 1982. The use leaf disk inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). Neth. J. Plant Path. 88: 127-141.

Eskes, A. B. and M. Toma-Braghini. 1981. Assessment methods for resistnace to coffee rust (Hemileia vastatrix Berk. & Br.). Plant Protection Bull. FAO 29: 56-66.

Rodrigues, C.J., Jr., A.J. Bettencourt and L. Rijo. 1975. Race of the pathogen and resistance to coffee rust. Ann. Rev. Phytopathol. 13:49-70

ศุภชัย ลีจีรจำเนียร. 2532. โรคราสนิมของกาแฟลูกผสมอาราบิก้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 123 หน้า

อนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติเพื่อการใช้ประโยชน์ [1/]

Conservation of Natural Enemies for Utilization

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากสำรวจเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ จ.เชียงราย อุตรดิตถ์ ลำปาง เพชรบูรณ์ นครปฐม กาญจนบุรี กระบี่ และร้อยเอ็ด จำนวน 25 8 10 14 10 6 10 และ 17 ตัวอย่าง ตามลำดับ รวม 100 ตัวอย่างดิน สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยวงศ์ Steinernematidae จากตัวอย่างดินในพื้นที่ จ.นครปฐม ร้อยเอ็ด และลำปาง รวม 3 ไอโซเลท กำหนดรหัสเป็น NPs code REs code และ LPs code ตามลำดับ และไส้เดือนฝอยวงศ์ Heterorhabditidae 1 ไอโซเลท จากตัวอย่างดินพื้นที่ จ.ร้อยเอ็ด กำหนดรหัสเป็น REh code ทุกไอโซเลทนำไปเก็บรักษาในน้ำกลั่น ณ อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 15 °ซ จากนั้นนำไส้เดือนฝอยรหัส NPs มาจัดจำแนกโดยวิธี cross mating กับ *S. carpocapsae, S. riobrave, S. scapterisci* และ *Steinernema* sp. KB strain พบว่าสามารถผสมพันธุ์และขยายปริมาณได้กับ *Steinernema* sp. KB strain ที่แยกได้จาก จ.กาญจนบุรี จึงจำแนกเป็นชนิด (species) เดียวกัน สำหรับไส้เดือนฝอยสกุล *Heterorhabditis* sp. REh code ไม่สามารถผสมพันธุ์ได้กับ *H. bacteriophora เมื่อนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าตัวอ่อนระยะเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย* REh code *มีค่าการวัดขนาดดังนี้* :- L = 541 (523-562); W = 21 (20-22); EP = 80 (79-85); NR = 79 (76-82); ES = 112 (108-116); T = 87 (82-92); a ratio = 26 (25-26); b ratio = 4.8 (4.7-7.9); c ratio = 6.2 (5.9-6.4); *ค่า* D% = 72 (70-73) และ E% = 92 (88-96) โดยค่าขนาดสัดส่วนเหล่านี้มีความแตกต่างจากไส้เดือนฝอย *H. megidis, H. zealandica, H. argentinensis, H. marelata, H. bacteriophora, H. hawaiiensis, H. brevicaudis และ H. indicus* ดังนั้น REh code จึงมีแนวโน้มเป็น new species เมื่อนำ REh code ไปทดสอบ*ศักยภาพการเป็น* bio-pesticide *ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่ามีศักยภาพในการฆ่า*หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง แมลงกะชอน และปลวกตายภายในเวลา 48 ชม. เท่ากับ 68-100 เปอร์เซ็นต์

[1/] **รหัสกิจกรรม** 05-02-47-09 [การทดลองที่ 1 สำรวจและเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเพื่อการใช้ประโยชน์ **รหัส** 05-02-47-0901 การทดลองที่ 2 การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง **รหัส** 05-02-47-0902 การทดลองที่ 3 การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเพื่ออนุรักษ์และใช้ประโยชน์ **รหัส** 05-02-47-0903]

คำนำ

ไส้เดือนฝอย order Rhabditida (family Steinernematidae และ Heterorhabditidae) จัดเป็นศัตรูธรรมชาติของแมลง ที่ได้รับความสนใจในการพัฒนานำไปใช้ประโยชน์โดยเฉพาะใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชทางการเกษตรเพื่อลดการใช้สารเคมี ในปัจจุบันขยายผลถึงระดับการค้าเป็นผลิตภัณฑ์จำหน่ายทั่วโลก อย่างไรก็ตาม นักวิจัยในสายงานทั่วโลกให้ความสนใจค้นหาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงที่มีอยู่ตามธรรมชาติ นำมาเก็บรวบรวมแบ่งแยกชนิดและสายพันธุ์และรักษาให้คงความมีชีวิต เพื่อทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีนำไปพัฒนาใช้ประโยชน์ และได้ให้ความสำคัญศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ด้าน โดยเฉพาะงานวิจัยขั้นพื้นฐาน เพื่อค้นหาจุดสำคัญของการนำไส้เดือนฝอยมาใช้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด รวมทั้งประเทศไทยซึ่งตั้งในเขตร้อนชื้น ยังคงมีความหลากหลายของสายพันธุ์พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่มากมายในเขตพื้นที่ป่าต่างๆ ของประเทศ และไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ ไม่มีผลกระทบต่อพืช สัตว์เลือดอุ่นและสภาพแวดล้อม พบอยู่ในธรรมชาติทั้งในเขตหนาว-อบอุ่นและเขตร้อน-ร้อนชื้น ซึ่งนักวิจัยทั้งในยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย แอฟริกา และบางประเทศในแถบเอเชีย เช่น จีน เกาหลี มาเลเซีย ญี่ปุ่นและเวียตนาม ได้ทำการสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยสายพันธุ์พื้นเมืองกันอย่างกว้างขวาง

ไส้เดือนฝอยจัดเป็นทรัพยากรชีวภาพที่มีประโยชน์ทางด้านการเกษตร การนำกลับขึ้นมาใช้เป็น bio-control agent จึงต้องใช้เทคโนโลยีในการเพาะเลี้ยงให้ได้ปริมาณสูง ดังนั้น ไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากเขตป่าต่างๆ สามารถเชื่อมโยงกับโครงการ “การพัฒนากระบวนการผลิตไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงอย่างง่ายเพื่อถ่ายทอดสู่เกษตรกร” (สนับสนุนโดย สกว.) ซึ่งมีเทคโนโลยีการผลิตอย่างง่ายที่สามารถถ่ายทอดสู่ชุมชนผลิตใช้เองในพื้นที่ได้ในอนาคต

ไส้เดือนฝอย (Nematode) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (invertebrate) มีลำตัวซีกซ้ายและซีกขวาเหมือนกัน (bilateria) เป็นพวกที่มีช่องลำตัวเทียม (pseudocoelomate) ลำตัวไม่เป็นข้อปล้อง (nonsegmented) มีผนังชั้นนอก (cuticle) เป็นรอยย่นยืดหยุ่นได้ (elastic cuticle) มีระบบต่างๆ ภายในลำตัวประกอบด้วยระบบขับถ่ายทางผิวหนัง (excretory system) ระบบประสาท (nervous system) ระบบทางเดินอาหาร (digestive system) ระบบสืบพันธุ์ (reproductive system) และระบบกล้ามเนื้อ (muscular system) ไม่พบระบบไหลเวียนโลหิต (circulatory system) และระบบหายใจ (respiratory system) ไส้เดือนฝอยมีรูปร่างลำตัวกลมยาวคล้ายเส้นด้าย (thread) หรือมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก (cylindrical) บางชนิดหัวแหลมท้ายแหลม (filiform) ไส้เดือนฝอยมีชื่อเรียกอื่นๆ อีก เช่น หนอนตัวกลม (roundworm) พยาธิตัวกลม (eelworm) หรือพยาธิเส้นด้าย (threadworm) แบ่งแยกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ตามลักษณะของการดำรงชีวิตและการกินอาหารออกเป็น 4 กลุ่ม คือ ไส้เดือนฝอยที่พบในน้ำเค็ม (marine nematode) ไส้เดือนฝอยหากินอิสระในดินและน้ำ (free-living nematode) ไส้เดือนฝอย

ที่เป็นศัตรูพืช (plant parasitic nematode) และไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูในคนและสัตว์ (animal parasitic nematode) ซึ่งในกลุ่มที่เป็นศัตรูคนและสัตว์นี้ แบ่งแยกย่อยเป็นไส้เดือนฝอยที่มีความสัมพันธ์กับแมลง พบมากกว่า 40 วงศ์ (family) เป็นพาราสิตภายในตัวแมลง (insect parasitic nematode) และมีไส้เดือนฝอยเพียง 2 วงศ์เท่านั้น ที่ทำให้เกิดโรคในแมลง (entomopathogenic nematode คือ family Steinernematidae และ Heterorhabditidae (นุชนารถ, 2544)

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae เรียกชื่อสามัญ (common name) ว่า steinernematid ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1923 โดย Steiner ในประเทศเยอรมัน ได้มีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็นเวลามากกว่า 80 ปี ซึ่งพบว่า ไส้เดือนฝอยมีแบคทีเรียแกรมลบในวงศ์ Enterobacterioceae สกุล *Xenorhabdus* sp. อยู่ร่วมกันในลักษณะพึ่งพาอาศัยหรือเรียกว่า symbiosis โดยเซลล์ของแบคทีเรียเหล่านี้อาศัยอยู่บริเวณลำไส้ส่วนหน้าของไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (infective-stage juvenile) ไส้เดือนฝอยเป็นตัวพาแบคทีเรียเข้าสู่ตัวแมลง โดยผ่านทางช่องเปิดตามธรรมชาติของแมลง ได้แก่ ทางปาก ช่องขับถ่าย และรูหายใจทางผิวหนัง (spiracle) จากนั้นเข้าสู่ช่องว่างภายในตัวแมลง (haemocoel) ซึ่งมีน้ำเลือด (haemolymph) ไส้เดือนฝอยจะปลดปล่อยแบคทีเรียสู่กระแสเลือดแมลง และร่วมกันสร้างสารพิษ (toxin) ทำให้แมลงเกิดภาวะเลือดเป็นพิษ (septicemia) และตายอย่างรวดเร็วภายในเวลาไม่เกิน 48 ชม. เซลล์ของแบคทีเรียสามารถเพิ่มปริมาณในน้ำเลือดของแมลง และไส้เดือนฝอยจะเจริญเติบโตโดยใช้เซลล์ของแบคทีเรียในการขยายพันธุ์ ซึ่งเป็นแบบจับคู่ผสมพันธุ์ระหว่างเพศผู้และเพศเมีย เรียกการผสมพันธุ์แบบนี้ว่า amphimictic ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตอยู่ภายในแมลงที่ตายแล้วประมาณ 2-3 ชั่วอายุ (generation) ขึ้นอยู่กับขนาดของแมลง เมื่อแมลงเริ่มแห้งเป็นซาก (cadaver) ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่สาม (third-stage juvenile) จะสะสมอาหารสำรอง (food reserve) ประเภทไขมันสะสม (lipid stroage) บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างผิวหนังกับกล้ามเนื้อช่องท้อง (hypodermal chord) และดูดกลืนเซลล์แบคทีเรียเก็บไว้ในช่อง lumen ของลำไส้ส่วนหน้า และเคลื่อนตัวออกจากซากของแมลง เพื่อรอแมลงเหยื่อตัวใหม่ต่อไป (Akhurst and Boemare, 1990)

ความสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างไส้เดือนฝอยและแบคทีเรีย (nematode-bacterium complex) ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์ที่จะพัฒนาศัตรูธรรมชาติของแมลงชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะใช้กำจัดแมลงระยะตัวหนอนที่เป็นศัตรูสำคัญในพืช จึงมีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยในกลุ่มนี้ตั้งแต่เริ่มค้นพบครั้งแรกจนถึงปัจจุบันมีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม (artificial media) ได้สำเร็จตั้งแต่ปี ค.ศ. 1931 โดย Glaser ซึ่งเป็นวิธีการเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture ที่ไม่มีเซลล์ของ symbiotic bacteria ร่วมด้วย ต่อมามีการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเป็นแบบ monoxenic culture ที่มี symbiotic bacteria ร่วมด้วย (Bedding, 1981) ซึ่งให้ผลผลิตไส้เดือนฝอยสูงกว่าแบบเดิม นอกจากนี้ ไส้เดือนฝอยยังได้รับการรับรองจาก The United States Environmental Protection Agency (EPA) ถึงความปลอดภัยต่อพืช สัตว์เลือดอุ่นและมนุษย์ รวมทั้งปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม (Gaugler and

Kaya, 1990) ไส้เดือนฝอยจึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางทั่วโลก ที่จะพัฒนาให้นำมาใช้ประโยชน์เช่นเดียวกับแบคทีเรียบีที (*Bacillus thuringiensis*, Bt) และไวรัสเอ็นพีวี (nuclear polyhedrosis virus, NPV) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กำจัดแมลงศัตรูสำคัญต่างๆ โดยเฉพาะแมลงศัตรูพืชในพื้นที่ทำการเกษตร เป็นการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี (biological control agent) เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิดและสภาพแวดล้อม

นอกจากนั้น นักวิจัยยังให้ความสำคัญในการค้นหาชนิดและสายพันธุ์ใหม่ในเขตต่างๆ ทั่วโลก ทั้งในยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย เอเชีย และบางประเทศในแอฟริกา เพื่อได้สายพันธุ์พื้นเมืองหลากหลายชนิด และศึกษาการกระจายตัวของไส้เดือนฝอยในธรรมชาติของถิ่นที่อยู่ จากรายงานการกระจายตัวของไส้เดือนฝอย steinernematid ในภูมิภาคต่างๆ พบว่าในยุโรปตอนเหนือเท่ากับ 37-49 % และพบในทุกประเทศที่มีการสำรวจในทวีปยุโรป ได้แก่ สาธารณรัฐเชคโกสโลวาเกีย 36.8 % สวีเดน 25 % ฟินแลนด์ 5.8 % สาธารณรัฐไอร์แลนด์ 10.4 % นอร์เวย์ 18.3 % และสวิสเซอร์แลนด์ 26.5 % ในทวีปอเมริกามีการศึกษาการกระจายตัวและรายงานใน 5 ประเทศของอเมริกาเหนือ-กลางคือ แคนาดา สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก คิวบา และเปอร์โตริโก และใน 3 ประเทศของอเมริกาใต้คือ บราซิล อุรุกวัย และอาร์เจนตินา นอกจากนั้นยังมีรายงานในประเทศออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ ส่วนในทวีปเอเชียมีการสำรวจและศึกษาการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย รายงานใน 9 ประเทศ คือ ญี่ปุ่น จีน อินเดีย ศรีลังกา เกาหลี โอมาน มาเลเซีย เวียตนาม และไทย ในทวีปแอฟริกาได้รายงานการสำรวจค้นพบในประเทศเคนยา

ในปัจจุบันไส้เดือนฝอยมีบทบาทสำคัญในการนำมาใช้กำจัดแมลงหลายชนิด โดยเฉพาะแมลงศัตรูสำคัญในพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ กลุ่มหนอนผีเสื้อในอันดับ (order) Lepidoptera เช่น หนอนกระทู้ผัก (common leafworm, *Spodoptera litura*) หนอนกระทู้หอม (beet armyworm, *S. exigua*) และหนอนเจาะสมอฝ้าย (American bollworm, *Heliothis armigera*) กลุ่มหนอนด้วงในอันดับ Coleptera เช่น ด้วงหมัดกระโดด (flea betle, *Phyllotreta sinuata*) หนอนด้วง Japanese beetle และด้วงงวงองุ่น (vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus*) เป็นต้น ได้มีการคัดเลือกชนิดและสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย steinernematid นำมาผลิตเป็นการค้า 6 ชนิด คือ *S. carpocapsae, S. glaseri, S. feltiae, S. riobrave, S. scapterisci* และ *S. kushidai* ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์จำหน่ายทั่วโลกมากกว่า 40 บริษัท ทั้งในยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย และเอเชีย ได้แก่ บริษัท MicroBio ผลิตไส้เดือนฝอย *S. feltiae* ควบคุมหนอนแมลงวันทำลายเห็ด (mushroom sciarids) ในผลิตภัณฑ์ชื่อ Nemasys และไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ควบคุมด้วงงวงองุ่น (vine weevil) ในผลิตภัณฑ์ชื่อ Nemasys บริษัท Biosys ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ควบคุมหนอนด้วง Japanese beetle และบริษัท Ciba-Geigy ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (S25) และ *S. feltiae* (S27) ควบคุมด้วงงวงองุ่นสีดำ (black vine weevil)

ปัจจุบันไส้เดือนฝอยในสกุล *Steinernema* spp.จำแนกได้ 26 ชนิดคือ *S. kraussei* Steiner, 1923 syn. *Aplectana kraussei* Steiner, 1923; *S. glaseri* Steiner, 1929; *S. feltiae* Filipjev, 1934; *S. affinie* Bovien, 1937; *S. carpocapsae* Weiser, 1955; *S. arenarium* (*anomalae*) Kozodoi, 1984; *S. intermedium* Poinar, 1985; *S. rarum* De Doucet, 1986; *S. kushidai* Mamiya, 1988; *S. ritteri* Doucet & Doucet, 1990; *S. scapterisci* Nguyen & Smart, 1990; *S. caudatum* Xu *et al.,* 1991; *S. neocurtillae* Nguyen & Smart, 1992 b; *S. longicaudum* Shen, 1992; *S. cubanum* Mracek *et al.,* 1994; *S. puertoricense* Roman & Figueroa, 1994; *S. riobrave* Cabanillas *et al.,* 1994; *S. bicornutum* Tallosi *et al.,* 1995; *S. oregonense* Liu & Berry, 1996; *S. monticolum* Stock *et al.,* 1997; *S. karii* Waturu *et al.,* 1997; *S. abbasi* Elawad *et al.,* 1997; *S. ceratophorum* Jian *et al.,* 1997; *S. siamkayai* Stock *et al.,* 1998; *S. tami* Luc *et al.,* 2000 และ *S. thailandense* Tangchitsomkid, 2001 (นุชนารถ, 2544)

ในสกุล *Heterorhabditis* spp. จำแนกได้ 8 ชนิด คือ *H. bacteriophora* Poinar, 1976, *H. zealandica* Wouts, 1979; *H. megidis* Poinar *et al.,* 1987; *H. indica* Poinar *et al.,* 1992; *H. argentinensis* Stock, 1993; *H. hawaiiensis* Gardner *et al.,* 1994; *H. brevicaudis* Liu, 1994; และ *H. marelata* Liu and Berry, 1996 (นุชนารถ, 2544)

สำหรับในประเทศไทย งานวิจัยทางด้านไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติของแมลงนั้น ได้เริ่มมีการศึกษาค้นคว้าเมื่อประมาณปี 2530 โดยกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โดยนำไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* All strain เป็นสายพันธุ์จากอเมริกาที่ผลิตเป็นการค้าทั่วโลก นำมาเพิ่มปริมาณในอาหารเทียมและนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชสำคัญหลายชนิด ประสบผลสำเร็จในสภาพไร่กับหนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง หนอนกระทู้หอมทำลายดอกดาวเรือง และด้วงหมัดผักทำลายผักกาดหัว เป็นต้น (วัชรี, 2534) ในปัจจุบันเกษตรกรให้ความสนใจการนำจุลินทรีย์หรือศัตรูธรรมชาติหลายชนิดไปใช้ควบคุมแมลง โดยเฉพาะแมลงดื้อสารเคมี และไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* เป็นศัตรูธรรมชาติของแมลงอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งประสบผลสำเร็จในการผลิตเป็นการค้าและเป็นผลิตภัณฑ์จำหน่ายในประเทศไทย

นอกจากนั้น ยังมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่มีศักยภาพในการเป็น biological control agent และได้รับความสนใจทั้งจากภาครัฐและภาคเอกชน มีการศึกษาวิจัยนำจุลินทรีย์มาใช้ควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรที่ประสบผลสำเร็จและนำไปใช้ประโยชน์ในประเทศไทยคือ การใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bt) กำจัดหนอนผีเสื้อที่เป็นศัตรูสำคัญของพืชหลายชนิด (อัจฉรา, 2534) การใช้ไวรัส nuclear polyhedrosis virus (NPV) ควบคุมหนอนกระทู้หอมในแปลงผัก (อุทัย, 2534) การใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว (พากเพียร และคณะ, 2543) การใช้รา *Trichoderma harzianum* ควบคุมรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยและทุเรียน เป็นต้น ทำให้จุลินทรีย์ต่างๆ เหล่านี้ได้รับความสนใจและยอมรับจากเกษตรกรในการนำไปใช้ทดแทน

สารเคมีบางส่วน โดยเฉพาะเลือกใช้กับแมลงศัตรูพืชที่ดื้อสารเคมี เช่น หนอนหนังเหนียว (*Spodoptera exigua*) ที่ทำความเสียหายกับพืชผักและไม้ดอกหลายชนิด

การค้นหาจุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เพื่อนำขึ้นมาพัฒนาและนำกลับไปใช้ควบคุมศัตรูพืช ได้เพิ่มความสำคัญและมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ด้าน โดยเฉพาะงานวิจัยขั้นพื้นฐาน ซึ่งดำเนินงานโดยนักวิจัยในแต่ละสาขาเพื่อค้นหาจุดสำคัญของการนำมาใช้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด จุลินทรีย์หรือศัตรูธรรมชาติแต่ละชนิดมีข้อจำกัดในการนำไปใช้แตกต่างกันไป เช่น ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในดินร่วนปนทราย ที่อุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส (Kaya, 1977) เป็นต้น ข้อจำกัดดังกล่าวจึงต้องมีการค้นคว้าวิจัยข้อมูลพื้นฐานทั้งด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา และพฤติกรรมการดำรงชีวิต ซึ่งข้อมูลทางวิชาการเหล่านี้มีความสำคัญยิ่งต่อการพัฒนา bio-agent ที่พบตามธรรมชาติให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริง การพยายามค้นหาสายพันธุ์ใหม่ในเขตต่างๆ ซึ่งมีความแตกต่างของสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้น ความเข้มของแสงอุลตราไวโอเลต แมลงอาศัย ชนิดและคุณสมบัติของดิน เพื่อนำสายพันธุ์พื้นเมืองมาใช้ควบคุมศัตรูพืชในท้องถิ่นที่มีสภาพแวดล้อมเดิม จึงเป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยได้เริ่มมีการสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2539 สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงจำนวน 9 ไอโซเลท จัดอยู่ใน family Steinernematidae จำนวน 8 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสตามจังหวัดที่พบคือ จังหวัดกาญจนบุรี (KB) พิจิตร (PC) อยุธยา (AY) กาฬสินธุ์ (KS) มหาสารคาม (MK) ขอนแก่น (KK) หนองคาย (NK) และสระแก้ว (SK) และ family Heterorhabditidae จำนวน 1 ไอโซเลท คือ ร้อยเอ็ด (RE) นำมาเก็บรวบรวมเป็น culture collection ณ กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร (นุชนารถ และคณะ, 2543)

การอนุรักษ์เก็บรักษาและคัดเลือกไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูพืช จึงเป็นงานวิจัยที่สามารถนำไปสู่ผู้ใช้ประโยชน์จากผลงานได้อย่างเป็นรูปธรรม โดยไส้เดือนฝอยที่ค้นพบจากความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศที่แตกต่างและกระจัดกระจายตามถิ่นที่อยู่อาศัย (Habitat) โดยเฉพาะในเขตพื้นที่ป่าของประเทศไทยที่ตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นและยังไม่เคยมีการสำรวจนั้น มีความแตกต่างของชนิดและสายพันธุ์ ทั้งทางชีววิทยา นิเวศวิทยา พฤติกรรม และศักยภาพในการกำจัดแมลงตามสภาพถิ่นที่อยู่อาศัย และการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ (Geographical distribution) ไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากเขตหนาว-อบอุ่น จะไม่ทนทานต่ออุณหภูมิสูง จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้กำจัดแมลงในเขตร้อน-ร้อนชื้น ในทางตรงข้ามไส้เดือนฝอยที่แยกจากเขตร้อน-ร้อนชื้น จะไม่ทนทานอุณหภูมิต่ำ การได้สายพันธุ์พื้นเมืองชนิดใหม่ในเขตร้อนชื้น จึงมีเป้าหมายสู่การนำไปใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสม โดยเฉพาะนำกลับไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในถิ่นที่อยู่เดิมอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งงานวิจัยมุ่งเน้นการเก็บรวบรวม นำมาแบ่งแยกสกุลและจำแนกชนิด พร้อมกำหนดรหัสไส้เดือนฝอย (nema code) เป็น culture collection ให้คงความมีชีวิต พร้อมทั้งประเมินศักยภาพเบื้องต้นในการเป็น

Bio-agent เพื่อนำไปพัฒนาในด้านต่างๆ ให้เกิดเป็นมูลค่าทั้งในเชิงอนุรักษ์อย่างยั่งยืนและเชิงพาณิชย์ของการนำทรัพยากรธรรมชาติขึ้นมาใช้ประโยชน์อย่างแท้จริง ดังนั้น การสำรวจเพื่อค้นหาไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ไทยชนิดใหม่ในเขตพื้นที่ป่า ที่ประกอบด้วยป่าฝนกึ่งดิบ ป่าฝนภูเขา ป่าผลัดใบชื้น ซึ่งจัดเป็นเขตชีวภูมิศาสตร์ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง การสำรวจค้นหาไส้เดือนฝอยและนำมาเก็บรวบรวม แบ่งแยกสกุลและจำแนกชนิด พร้อมกำหนดรหัสไส้เดือนฝอย (nema code) เป็น culture collection เพื่อใช้ศึกษาและพัฒนาไปใช้ประโยชน์ในอนาคต จึงเป็นประเด็นสำคัญของการวิจัย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศ จำนวนตัวอย่างดินไม่น้อยกว่าปีละ 100-150 จุดเก็บ นำมาเก็บรวบรวม จัดจำแนก และอนุรักษ์ให้คงความมีชีวิต อย่างน้อยปีละ 1 ไอโซเลท และนำมาคัดเลือกโดยประเมินศักยภาพในการเป็น bio-agent เพื่อนำไปพัฒนาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร อย่างน้อย 1 สายพันธุ์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน ได้แก่ พลั่วมือ ถุงพลาสติกใส่ดิน ภาชนะเก็บดิน เครื่องวัดอุณหภูมิดิน

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope และ Compound microscope เครื่องแก้ว เครื่องชั่ง เครื่องวัด pH โถแก้ว desiccator ตู้ควบคุมอุณหภูมิ และกระดาษกรอง Whatman#2 เป็นต้น

3. สารเคมี ได้แก่ Hyamine แอลกอฮอล์ น้ำยา fixative (TAF), ethanol, glycerine เป็นต้น

4. อาหารเพาะเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง ได้แก่ แป้งข้าวจ้าว นมถั่วเหลือง น้ำผึ้ง ฟอร์มาลีน วิตามิน กลีเซอรีน และไขผึ้ง เป็นต้น

5. แมลงทดสอบชนิดต่างๆ ได้แก่ หนอนนก หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง แมลงกะชอน และปลวก เป็นต้น

การทดลองที่ 1 การสำรวจและการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

1. <u>การสำรวจเก็บตัวอย่างดิน</u>

1.1 สุ่มเก็บดินในระดับความลึก 10-15 ซม. จำนวน 5 จุดๆ ละประมาณ 300-500 กรัม นำมาคลุกเคล้ารวมกัน ใส่ถุงพลาสติกน้ำหนักประมาณ 1 กก. เท่ากับ 1 ตัวอย่างดิน ในแต่ละตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่ 10 ตร.ม. ตัวอย่างดินเก็บในถังรักษาความเย็น (20-24 °ซ) ขณะนำกลับห้องปฏิบัติการและนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าจะนำมาแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินต่อไป

1.2 การวัดอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดิน ทำการวัดอุณหภูมิดินที่จุดเก็บ 2 ระดับ คือระดับผิวดินและระดับความลึก 10-15 ซม. และนำดินในแต่ละตัวอย่างน้ำหนัก 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น วัดค่า pH บันทึกข้อมูล

1.3 การแยกไส้เดือนฝอยออกจากดิน นำดินแต่ละตัวอย่างใส่กล่องพลาสติกประมาณ 300 กรัม วางหนอนกินรังผึ้งและหนอนนกเป็นเหยื่อล่อ (Bedding and Akhurst, 1975) บนผิวดินจำนวน 10-15 ตัว ปิดฝาและคว่ำกล่องพลาสติก วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 $\pm$ 5°ซ เป็นเวลา 7 วัน ในดินที่มีไส้เดือนฝอย steinernematid และ heterorhabditid ไส้เดือนฝอยจะเข้าทำลายหนอนเหยื่อล่อ หนอนจะตาย จากนั้นนำหนอนที่ตายมาผ่าเพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอยในตัวแมลงภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

1.4 ทำ Koch' s postulates เพื่อยืนยันการเป็นไส้เดือนฝอยในกลุ่มที่ทำให้เกิดโรคในแมลง โดยนำหนอนที่ตายวางบนกระดาษกรองชุ่มน้ำ (White trap) ให้ได้ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยระยะ infective-stage juvenile (IJ) ซึ่งจะเคลื่อนที่ออกมาจากซากหนอน นำ IJ มา infect กับหนอนชุดใหม่ ทิ้งไว้ประมาณ 5-7 วัน นำหนอนทดสอบมาผ่าพิสูจน์ยืนยันการเป็นศัตรูแมลงของไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากดินในแต่ละตัวอย่าง ในส่วนของตัวอย่างดินอื่นๆ ถ้าหนอนเหยื่อไม่ตายภายในเวลา 10 วัน ตัวอย่างดินนั้นจะถูกคัดทิ้งไป

1.5 การแบ่งแยกไส้เดือนฝอยในระดับ family และ genus เตรียมไส้เดือนฝอยเพื่อการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยนำไส้เดือนฝอยระยะ IJ ในแต่ละรหัสไส้เดือนฝอย ปลูกเชื้อในหนอนกินรังผึ้ง หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน บันทึกสีผิวของหนอนที่ตายในแต่ละรหัส และนำหนอนมาผ่าเพื่อได้ไส้เดือนฝอยระยะตัวเต็มวัยเพศผู้เพศเมีย และหลังปลูกเชื้อ 10 วัน ได้ไส้เดือนฝอยระยะ IJ นำไส้เดือนฝอยทั้งหมดฆ่าที่น้ำอุ่นอุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 วินาที วางไส้เดือนฝอยลงบนสไลด์แก้ว เขี่ยใยแก้ววางหนุนและปิดทับด้วย cover glass ซิลด้วยน้ำยาซิลสไลด์ นำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope เปรียบเทียบกับ key มาตรฐานของ Kaya and Stock (1988)

2. <u>การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย Thai isolate</u>

2.1 การเพาะเลี้ยงหนอนกินรังผึ้งในอาหารเทียม หนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella* L.) ใช้เป็นหนอนทดสอบและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย Thai isolate เพื่อการเก็บรักษา โดยหนอนกินรังผึ้งเพาะเลี้ยงได้ในอาหารเทียมสูตรดัดแปลง ส่วนประกอบ คือ แป้งข้าวจ้าว 100 กรัม นมถั่วเหลือง 200 กรัม น้ำผึ้ง 100 มล. ฟอร์มาลีน 5 มล. วิตามิน 20 มล. กลีเซอรีน 100 มล. ไขผึ้ง 100 กรัม และน้ำกลั่น 375 มล. นำไข่ของ *G. melllonella* ประมาณ 200-300 ฟอง ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 32.5 x 17.6 x 10 ซม. มีฝาครอบเป็นลวดตาข่ายให้อากาศถ่ายเท ที่บรรจุอาหารเทียม เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-28°ซ ไข่ฟักเป็นตัวหนอนวัย 1 ในเวลา 3-4 วัน หลังจากนั้นหนอนเจริญเติบโตตามลำดับ ในเวลาประมาณ 3 สัปดาห์ ได้หนอนวัย

สุดท้ายก่อนเข้าดักแด้ (late instar larvae) ซึ่งเป็นวัยที่ใช้ในการขยายปริมาณไส้เดือนฝอยเพื่อการจัดเก็บในแต่ละไอโซเลท

2.2 การจัดเก็บไส้เดือนฝอยในน้ำกลั่น ไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากดินแต่ละสถานที่เก็บ จัดเก็บในน้ำกลั่นในขวดพลาสติกชนิด culture flask รวบรวมเฉพาะไส้เดือนฝอยระยะ infective juvenile เท่านั้น มีวิธีการเพิ่มปริมาณและจัดเก็บโดยการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในหนอนกินรังผึ้ง โดยนำหนอนจำนวน 25 ตัว วางใน Petri dish (เส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม.) ที่มีกระดาษกรอง (Whatman # 2) วางไว้ใส่ไส้เดือนฝอยระยะ IJ จำนวน 5,000 $\pm$ 500 ตัวในน้ำ 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ 25$\pm$2°ซ เป็นเวลา 2 วัน นำหนอนมาล้างผ่าน alcohol 75 % และผ่านน้ำกลั่น 3 ครั้ง นำมาวางบน White trap เป็นเวลา 7 วัน ไส้เดือนฝอย IJ รุ่นใหม่จะเคลื่อนที่ออกจากซากหนอน IJ ที่ได้นำมาล้างด้วย hyamine 0.1 % เป็นเวลา 20 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวของไส้เดือนฝอย ล้างน้ำกลั่น 3 ครั้ง ก่อนเก็บใน culture flask (ขนาด 250 มล.)

3. การบันทึกผล

ทำการ mapping พื้นที่เก็บทุกจังหวัด และกำหนดจุดที่มีการค้นพบไส้เดือนฝอยใน family Steinernematidae และ Heterorhabditidae บันทึกชนิดดิน ระดับ pH อุณหภูมิผิวดินและอุณหภูมิที่ระดับลึก 10-15 ซม. บันทึกรหัสไส้เดือนฝอยและวันที่เก็บลงบน culture flask นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25$\pm$2°ซ ไส้เดือนฝอยแต่ละรหัสทำการ reculture ทุก 3 เดือน กับหนอนกินรังผึ้งตามวิธีการเดิม

การทดลองที่ 2 การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

1. จำแนกโดยใช้เทคนิคการผสมข้ามสายพันธุ์ (cross breeding Technique)

เตรียมน้ำเลือด (haemolymph) ของหนอนกินรังผึ้ง โดยนำตัวหนอนฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 75 % ล้างผ่านน้ำกลั่น 3 ครั้ง ใช้กรรไกรตัดขาคู่ที่สองของหนอนและบีบน้ำเลือดเก็บไว้ในหลอดทดสอบขนาด 1.5 มล. เก็บที่อุณหภูมิ 4°ซ ก่อนใช้ในการทดลอง จากนั้นเตรียมไส้เดือนฝอยระยะ IJ ที่แยกจากพื้นที่ต่างๆ ของประเทศ และไส้เดือนฝอยที่ทราบชนิดแล้ว นำแต่ละไอโซเลทและชนิดใส่ลงไปในหยดน้ำเลือดของหนอนบนสไลด์หลุม นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. ที่มีกระดาษกรองชุ่มน้ำ ปิดฝาจาน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25$\pm$2°ซ ตรวจสอบการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด LM (Light microscope) ทุก 12 ชม. จนถึงระยะ young male (YM) และ young female (YF) เขี่ยไส้เดือนฝอยผสมสลับระหว่าง YM และ YF จำนวนอย่างละ 10 ตัว ของแต่ละชนิด ที่ใช้ทดสอบลงในหยดน้ำเลือดของหนอนบนสไลด์หลุม นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองชุ่มน้ำ โดยมีไส้เดือนฝอยชนิดเดียวกันผสมกันเองเป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิ 25$\pm$2°ซ เป็นเวลา 10 วัน

บันทึกผลการตรวจสอบการผสมพันธุ์และให้ลูกในแต่ละชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด LM งานทดลองปฏิบัติซ้ำ 3 ครั้ง

2. <u>การศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Light microscope (LM)</u>

ไส้เดือนฝอยเพื่อการวัดขนาดสัดส่วน เตรียมได้จากหนอนกินรังผึ้งที่ปลูกเชื้อด้วยไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (IJ) โดยตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมียของไส้เดือนฝอยใน 1st และ 2nd generation ได้จากการผ่าหนอนกินรังผึ้งหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน และ 6 วัน ตามลำดับ และไส้เดือนฝอยระยะ IJ ได้จากการเคลื่อนที่ออกมาจากซากของหนอนเป็นเวลาประมาณ 10 วันหลังปลูกเชื้อ ไส้เดือนฝอยทุกระยะการเจริญเติบโตนำมาฆ่าด้วยน้ำอุ่น (50 °ซ) เป็นเวลา 2 นาที เติมน้ำยา fixative (TAF, 7 ml of 40 % formaldehyde, 2 ml tri-ethanolamine, 91 ml distilled water) นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเขี่ยไส้เดือนฝอยลงใน solution I (20 parts 95 % ethanol, 1 part glycerine, 79 parts distilled water) นำไปวางใน desiccator ที่มี 95 % ethanol บรรจุอยู่ วางไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 35°ซ เป็นเวลา 12 ชม. เพื่อดึงน้ำออกจากตัวไส้เดือนฝอยช้าๆ และมีการแทนที่ด้วยกลีเซอรีน จากนั้นเติม solution II (5 parts of glycerine, 95 parts of 95 % ethanol) ลงไป นำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 40°ซ เป็นเวลา 3 ชม. กลีเซอรีนจะเข้าแทนที่น้ำในตัวไส้เดือนฝอย สามารถเห็นอวัยวะสำคัญภายในตัวไส้เดือนฝอยได้ชัดเจน เขี่ยไส้เดือนฝอยลงในหยดกลีเซอรีนบนสไลด์แก้ว หนุนด้วยใยแก้วก่อนปิดทับด้วย cover slip และซิลด้วยน้ำยาซิลสไลด์ ถ่ายภาพรูปร่างลักษณะและวัดขนาดสัดส่วนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยวัดส่วนต่างๆ ดังนี้

ตัวเต็มวัยเพศผู้ : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus; ความยาว spicule และความยาว gubernaculum

ตัวเต็มวัยเพศเมีย : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES); ความยาวหาง (Tail); ความกว้างบริเวณ anus และ % vulva

ตัวอ่อนระยะ Infective juvenile : ความยาวลำตัว (L); ความกว้างลำตัว(W); ความยาววัดจากหัวถึง excretory pore (EP); ความยาววัดจากหัวถึง esophagus (ES) และความยาวหาง (Tail)

นำมาคำนวณค่าสัดส่วน (ratio) โดยใช้ De Man's formula (Poinar, 1986) ดังนี้

Ratio : a = L/W; b = L/ES; c = L/Tail; d = EP/ES; e = EP/Tail

และคำนวณค่าพารามิเตอร์ตามวิธีการของ Nguyen (1993) ดังนี้

D% = EP/ES x 100; E% = EP/Tail x 100

ถ่ายภาพรูปร่างลักษณะที่สำคัญของไส้เดือนฝอยระยะ Infective juvenile ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่างๆ ค่าการวัดขนาดสัดส่วนและรูปร่างลักษณะสำคัญของ

ไส้เดือนฝอย นำไปเปรียบเทียบกับ key to species of the genus *Steinernema* and *Heterorhabditis* (Nguyen, 1998)

การทดลองที่ 3 การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเพื่อการใช้ประโยชน์

<u>การทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยในการกำจัดแมลง</u>

ทำการทดสอบใน Petri dish ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 และ 9 ซม. ตามขนาดของแมลงทดสอบ วางด้วยกระดาษกรอง Whatman # 2 ใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลท จำนวน 1,000 และ 2,000 ตัวในน้ำ 0.5 และ 1.0 มล. ตาม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ Petri dish 5 และ 9 ซม. ตามลำดับ นำแมลงแต่ละชนิดใส่ 3-10 ตัวต่อ Petri dish (ขึ้นกับขนาดของแมลง) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจนับการตายของแมลงแต่ละชนิดที่เวลา 24 และ 48 ชม. นำไปวิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การตาย (% mortality) ของแมลงโดยใช้ Abbott's formula (1925)

เวลาและสถานที่

<u>ระยะเวลา</u> เริ่มดำเนินการตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 – สิ้นสุดเดือนกันยายน 2549

<u>สถานที่</u> 1. สำรวจเก็บดินในพื้นที่ป่าต่างๆ ของประเทศ และพื้นที่ไม่มีการใช้สารเคมี

2. ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการสำรวจและเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

สำรวจเก็บดินในพื้นที่ จ.เชียงราย อุตรดิตถ์ ลำปาง เพชรบูรณ์ นครปฐม กาญจนบุรี กระบี่ และร้อยเอ็ด จำนวนเท่ากับ 25 8 10 14 10 6 10 และ 17 ตัวอย่าง ตามลำดับ รวม 100 ตัวอย่างดิน นำมาแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินตามวิธีของ Bedding and Akhurst (1975) สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยวงศ์ Steinernematidae จากตัวอย่างดินในพื้นที่ จ.นครปฐม ร้อยเอ็ด และลำปาง รวม 3 ไอโซเลท กำหนดรหัสเป็น NPs code REs code และ LPs code ตามลำดับ และไส้เดือนฝอยวงศ์ Heterorhabditidae 1 ไอโซเลท จากตัวอย่างดินพื้นที่ จ.ร้อยเอ็ด กำหนดรหัสเป็น REh code นำไปเก็บรักษาในน้ำกลั่นที่บรรจุใน tissue culture flask แยกเก็บที่อุณหภูมิห้อง 1 ชุด และที่อุณหภูมิ 15 °ซ 1 ชุด และทำการ re-culture แต่ละไอโซเลททุกๆ 2-3 เดือน

2. ผลการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

2.1 การจำแนกโดยใช้เทคนิคการผสมข้ามสายพันธุ์

การจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* sp. (NPs code) โดยวิธี cross mating กับ *S. carpocapsae, Steinernema* sp. (Thai isolate) *S. riobrave* และ *S. scapterisci* พบว่า NPs code สามารถผสมพันธุ์และขยายปริมาณได้กับ *Steinernema* sp. (Thai isolate) ที่แยกได้จาก จ.กาญจนบุรี ปี 2539 จึงจำแนกเป็นชนิด (species) เดียวกัน สำหรับไส้เดือนฝอยสกุล *Heterorhabditis* sp. (REh code) ไม่สามารถผสมพันธุ์ได้กับ *H. bacteriophora*

2.2 การศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด LM

เมื่อนำไส้เดือนฝอย Heterorhabditis sp. (REh code) *ไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยทำการวัดขนาดสัดส่วนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าตัวอ่อนระยะเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย* REh code *มีค่าการวัดขนาดดังนี้ :-* L = 541 (523-562); W = 21 (20-22); EP = 80 (79-85); NR = 79 (76-82); ES = 112 (108-116); T = 87 (82-92); a ratio = 26 (25-26); b ratio = 4.8 (4.7-7.9); c ratio = 6.2 (5.9-6.4); *ค่า* D% = 72 (70-73) และ E% = 92 (88-96) โดยค่าขนาดสัดส่วนต่างๆ เหล่านี้ มีความแตกต่างจากไส้เดือนฝอย *H. megidis, H. zealandica, H. argentinensis, H. marelata, H. bacteriophora, H. hawaiiensis, H. brevicaudis และ H. indicus* ดังนั้น REh code จึงมีแนวโน้มเป็น new species

3. ผลการทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยในการกำจัดแมลง

ผลการทดสอบ*ศักยภาพการเป็น* bio-pesticide *ของไส้เดือนฝอย Heterorhabditis* sp. *ที่แยกได้จากพื้นที่ จ.ร้อยเอ็ด* (REh code) *ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่ามีศักยภาพในการฆ่า*หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก แมลงกะชอน หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง และปลวกตายภายในเวลา 48 ชม. โดยคำนวณ % การตายของแมลงตามวิธีของ Abbott's formula (1925) ดังนี้ :-

ชนิดของแมลง	ใส่ไส้เดือนฝอย			ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย			% การตาย [1/]
	แมลงทดสอบ (n)	แมลงตาย (n)	แมลงมีชีวิต (n)	แมลงทดสอบ (n)	แมลงตาย (n)	แมลงมีชีวิต (n)	
1. หนอนกระทู้หอม	15	14	1	10	3	7	80.00
2. หนอนเจาะสมอฝ้าย	20	20	0	20	2	18	100.00
3. หนอนกระทู้ผัก	30	30	0	30	5	25	100.00
4. แมลงกะชอน	10	8	2	8	0	8	75.00
5. หนอนเจาะเปลือกลองกอง	20	14	6	20	1	19	68.42
6. ปลวก	50	50	0	50	0	50	100.00

[1/] % การตาย = $\frac{\text{(แมลงมีชีวิตในกรรมวิธีไม่ใส่ไส้เดือนฝอย - แมลงมีชีวิตในกรรมวิธีใส่ไส้เดือนฝอย)} \times 100}{\text{แมลงมีชีวิตในกรรมวิธีไม่ใส่ไส้เดือนฝอย}}$

สรุปผลการทดลอง

แยกได้ไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* sp. จา*กตัวอย่างดินในพื้นที่* จ.*นครปฐม* (NPs code) จ.*ร้อยเอ็ด* (REs code) จ. ลำปาง (LPs code) และไส้เดือนฝอยสกุล *Heterorhabditis* sp. จาก จ. ร้อยเอ็ด (REh code) และพบว่า NPs code ผสมพันธุ์และขยายปริมาณได้กับ *Steinernema* sp. KB strain ที่แยกได้จาก จ.กาญจนบุรี สำหรับ REh code ไม่สามารถผสมพันธุ์ได้กับ H. bacteriophora และมีรูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างจาก *H. megidis, H. zealandica, H. argentinensis, H. marelata, H. bacteriophora, H. hawaiiensis, H. brevicaudis และ H. indicus* ดังนั้น REh code จึงมีแนวโน้มเป็น new species เมื่อนำ REh code ไปทดสอบ*ศักยภาพการเป็น* bio-pesticide *พบว่ามีศักยภาพในการฆ่า*หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง แมลงกะชอน และปลวกตายภายในเวลา 48 ชม. เท่ากับ 68-100 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2544. อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง STEINERNEMATID. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 63 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด พรพิมล อธิปัญญาคม และ สาโรจน์ ประชาศรัยสรเดช. 2543. งานวิจัยและพัฒนาไส้เดือนฝอย *Steinernema* spp. Thai isolate เพื่อควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี. หน้า 31-32. ใน *:* รายงานประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา 8-10 มีนาคม 2543 ณ โรงแรมลองบีชเพชรบุรี.

พากเพียร อรัญนารถ นงรัตน์ นิลพานิชย์ วิชิต ศิริสันธนะ และ สมคิด ดิสถาพร. 2543. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. *ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา.* 10 (2) : 2-8.

วัชรี สมสุข. 2534. ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 182-197. ใน : เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2534. แบคทีเรียควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 148-166. ใน : เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

อุทัย เกตุนุติ. 2534. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส. หน้า 118-147. ใน : เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18 : 165-267.

Akhurst, R.J. and N.E. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. Pages 75-90. *In* : Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

Bedding, R.A. 1981. Low cost *in vitro* mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. *Nematologica* 27 : 109-114.

Bedding, R.A. and Akhurst R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. Nematologica 21 : 109-110.

Gaugler, R. and H.K. Kaya. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 365 pp.

Glaser, R.W. 1931. The cultivation of a nematode parasite of an insect. *Science* 614.

Kaya, H.K. 1977. Development of DD-136 strain of *Neoaplectana carpocapsae* at constant temperature. *J. Nematol.* 9 : 346-349.

Kaya, H.K. and S.P. Stock. 1988. Techniques in Insect Nematodelogy. Department of Nematology. Univ. of California, Davis. California. 100 p.

Nguyen, K.B. 1998. Taxonomy of entomopathogenic nematodes. Http://GNV.IFAS.UFL. EUD/-KBN/stein.him.

อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้ง สกุล *Pseudococcus*

Taxonomy of Mealybug in Genus *Pseudococcus*

ชลิดา อุณหวุฒิ ศิริณี พูนไชยศรี
รัตนา นชะพงษ์ พรรณเพ็ญ ชโยภาส
สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม
กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

---

1. คำนำ

เพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* เป็นเพลี้ยแป้งที่มีความสำคัญสกุลหนึ่งในวงศ์ Pseudococcidae ที่สามารถทำลายพืชได้หลายชนิดทั้งพืชสวน และพืชไร่ โดยดูดน้ำเลี้ยงจากส่วนต่างๆ ของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่นใบเป็นจุดสีเหลืองและบางครั้งมีลักษณะย่น ผลบิดเบี้ยวและร่วง ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ต้นเหี่ยวชงักการเจริญเติบโตและบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยแป้งยังขับถ่ายของเหลว มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวๆ เรียกว่า มูลน้ำหวาน (honey dew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วปกคลุมใบและผล ใบจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ สำหรับผลจะสกปรกเนื่องจากมูลน้ำหวานและราดำ ในกรณีผลสกปรกนี้มีผลกระทบโดยตรงต่อไม้ผลนานาชนิด เพราะจะไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ ในปีค.ศ.1988 Williams and Watson รายงานว่าเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ที่รวบรวมจากทั่วโลก จำแนกชนิดได้ 17 ชนิด บางชนิดเป็นศัตรูสำคัญทางด้านกักกันพืช เช่น *Pseudococcus dendrobioreum* Williams พบบนกล้วยไม้จากปาปัวนิวกินี เมื่อไรก็ตามที่เพลี้ยแป้งเหล่านี้ บังเอิญเล็ดลอดไปสู่พื้นที่เพาะปลูกแหล่งใหม่ที่ปราศจากศัตรูธรรมชาติก็จะแพร่ขยายพันธุ์เกิดการระบาด และอาจทำความเสียหายอย่างรุนแรงให้กับพืชชนิดอื่นๆ ได้ นอกจากนี้มีรายงานว่า *Pseudococcus saccharicola* Takahashi ทำความเสียหายอย่างรุนแรงให้กับอ้อยในประเทศอินเดีย โดยทำให้ต้นอ้อยขนาดเล็กตายเป็นจำนวนมาก สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีข้อมูลรายละเอียดต่างๆ ของเพลี้ยแป้งสกุลนี้ ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง พืชอาหาร เขตแพร่กระจาย และศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* แต่ละชนิด สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัด
เพลี้ยแป้งดังกล่าว

รหัสกิจกรรม 05-02-47-1003-02

2. วิธีดำเนินการ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยแป้งส่วนหนึ่งใส่ขวดดองตัวอย่างแมลงที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70% อยู่ภายในขวด บันทึกสถานที่ วัน เดือน ปีที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา นำไปทำสไลด์ถาวร และตรวจวิเคราะห์ชนิด ตามหลักอนุกรมวิธาน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound microscope สำหรับตัวอย่างเพลี้ยแป้ง อีกส่วนหนึ่งแบ่งใส่กล่องพลาสติกใส พร้อมพืชอาหาร นำมาเลี้ยงเพื่อศึกษาชนิดแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด

3. ผลงานที่ได้ปฏิบัติมาแล้ว

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2547 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุลนี้ในแหล่งปลูกไม้ผลและไม้ดอกไม้ประดับ ที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ตาก ชัยภูมิ อุดรธานี หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เพชรบุรี และราชบุรี นำตัวอย่างมาทำสไลด์ถาวร ตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธานภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope พบเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จำนวน 2 ชนิด คือ *Pseudococcus cryptus* Hempel บนใบมะม่วง และ *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller บนใบสาวน้อยประแป้ง

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาพบเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จำนวน 2 ชนิด คือ *Pseudococcus cryptus* Hempel บนใบมะม่วง และ *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller บนใบสาวน้อยประแป้ง

---

5. ปัญหาและอุปสรรค -

6. แนวทางแก้ไข -

7. งานที่จะดำเนินการต่อไป

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จากแหล่งปลูกไม้ผล ผัก ไม้ดอกไม้ประดับและพืชไร่ให้ครอบคลุมทุกภาคทั่วประเทศ นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งไปทำสไลด์ถาวร ตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน จัดทำแนวทางวินิจฉัยเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ที่พบทั้งหมด จากนั้นจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง พร้อมกับบันทึกรายละเอียดต่างๆ รวมทั้งแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด

อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้ง สกุล *Pseudococcus*

Taxonomy of Mealybug in Genus *Pseudococcus*

ชลิดา อุณหวุฒิ ศิริณี พูนไชยศรี
รัตนา นชะพงษ์ พรรณเพ็ญ ชโยภาส
สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม
กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

---

1. คำนำ

เพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* เป็นเพลี้ยแป้งที่มีความสำคัญสกุลหนึ่งในวงศ์ Pseudococcidae ที่สามารถทำลายพืชได้หลายชนิดทั้งพืชสวน และพืชไร่ โดยดูดน้ำเลี้ยงจากส่วนต่างๆ ของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่นใบเป็นจุดสีเหลืองและบางครั้งมีลักษณะย่น ผลบิดเบี้ยวและร่วง ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ต้นเหี่ยวชงักการเจริญเติบโตและบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยแป้งยังขับถ่ายของเหลว มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวๆ เรียกว่า มูลน้ำหวาน (honey dew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วปกคลุมใบและผล ใบจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ สำหรับผลจะสกปรกเนื่องจากมูลน้ำหวานและราดำ ในกรณีผลสกปรกนี้มีผลกระทบโดยตรงต่อไม้ผลนานาชนิด เพราะจะไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ ในปีค.ศ.1988 Williams and Watson รายงานว่าเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ที่รวบรวมจากทั่วโลก จำแนกชนิดได้ 17 ชนิด บางชนิดเป็นศัตรูสำคัญทางด้านกักกันพืช เช่น *Pseudococcus dendrobioreum* Williams พบบนกล้วยไม้จากปาปัวนิวกินี เมื่อไรก็ตามที่เพลี้ยแป้งเหล่านี้ บังเอิญเล็ดลอดไปสู่พื้นที่เพาะปลูกแหล่งใหม่ที่ปราศจากศัตรูธรรมชาติก็จะแพร่ขยายพันธุ์เกิดการระบาด และอาจทำความเสียหายอย่างรุนแรงให้กับพืชชนิดอื่นๆ ได้ นอกจากนี้มีรายงานว่า *Pseudococcus saccharicola* Takahashi ทำความเสียหายอย่างรุนแรงให้กับอ้อยในประเทศอินเดีย โดยทำให้ต้นอ้อยขนาดเล็กตายเป็นจำนวนมาก สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีข้อมูลรายละเอียดต่างๆ ของเพลี้ยแป้งสกุลนี้ ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง พืชอาหาร เขตแพร่กระจาย และศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* แต่ละชนิด สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัด
เพลี้ยแป้งดังกล่าว

รหัสกิจกรรม 05-02-47-1003-02

2. วิธีดำเนินการ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยแป้งส่วนหนึ่งใส่ขวดดองตัวอย่างแมลงที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70% อยู่ภายในขวด บันทึกสถานที่ วัน เดือน ปีที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา นำไปทำสไลด์ถาวร และตรวจวิเคราะห์ชนิด ตามหลักอนุกรมวิธาน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound microscope สำหรับตัวอย่างเพลี้ยแป้ง อีกส่วนหนึ่งแบ่งใส่กล่องพลาสติกใส พร้อมพืชอาหาร นำมาเลี้ยงเพื่อศึกษาชนิดแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด

3. ผลงานที่ได้ปฏิบัติมาแล้ว

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2547 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุลนี้ในแหล่งปลูกไม้ผลและไม้ดอกไม้ประดับ ที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ตาก ชัยภูมิ อุดรธานี หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เพชรบุรี และราชบุรี นำตัวอย่างมาทำสไลด์ถาวร ตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธานภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope พบเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จำนวน 2 ชนิด คือ *Pseudococcus cryptus* Hempel บนใบมะม่วง และ *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller บนใบสาวน้อยประแป้ง

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาพบเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จำนวน 2 ชนิด คือ *Pseudococcus cryptus* Hempel บนใบมะม่วง และ *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller บนใบสาวน้อยประแป้ง

---

5. ปัญหาและอุปสรรค -

6. แนวทางแก้ไข -

7. งานที่จะดำเนินการต่อไป

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จากแหล่งปลูกไม้ผล ผัก ไม้ดอกไม้ประดับและพืชไร่ให้ครอบคลุมทุกภาคทั่วประเทศ นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งไปทำสไลด์ถาวร ตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน จัดทำแนวทางวินิจฉัยเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ที่พบทั้งหมด จากนั้นจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง พร้อมกับบันทึกรายละเอียดต่างๆ รวมทั้งแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด

อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis*

Taxonomy of Aphids in Genus *Aphis*

ลักขณา บำรุงศรี ชลิดา อุณหวุฒิ
ศิริณี พูนไชยศรี พรรณเพ็ญ ชโยภาส และ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม
กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

---

1. คำนำ

เพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* จัดอยู่ใน Family Aphididae Subfamily Aphidinae ซึ่งอยู่ใน Order Hemiptera Suborder Homoptera เป็นแมลงจำพวกปากดูดที่ทำความเสียหายให้กับพืชหลายชนิดทั้งพืชไร่ พืชสวน โดยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณยอดอ่อน ดอกอ่อน ผลอ่อนและใบ ทำให้ส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ถูกทำลายบิดงอผิดรูปร่าง ต้นพืชแคระแกรน ถ้าการทำลายรุนแรงต้นพืชจะเหี่ยวแห้งตายในที่สุด เพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* มีหลายชนิด บางชนิดเป็นพาหะนำโรคไวรัสของพืช เช่น *Aphis gossypii* Glover เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสโรคใบหงิกในฝ้าย และเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสโรคใบหดในปอแก้ว สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีข้อมูลรายละเอียดต่าง ๆ ของเพลี้ยอ่อนสกุลนี้ ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิด ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะความแตกต่าง พืชอาหาร เขตการแพร่กระจายและศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนสกุลนี้แต่ละชนิด เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดต่อไป และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์

2. วิธีดำเนินการ

ตรวจเอกสารและสืบค้นข้อมูลด้านอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* จากเอกสารและรายงานทั้งในและต่างประเทศ ทำการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากพืชจำพวก ไม้ดอก ผัก พืชไร่ ในแหล่งปลูกจังหวัดนครปฐม เพชรบุรี กาญจนบุรี นครราชสีมา ชัยภูมิ เชียงใหม่ อุดรธานี และหนองคาย เก็บตัวอย่างดองในขวดดอง ทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน และจำแนกชนิดต่อไป บันทึกสถานที่เก็บตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย ชื่อของพืชที่เก็บตัวอย่าง

3. ผลงานที่ปฏิบัติมาแล้ว

นำตัวอย่างแมลงไปทำสไลด์ถาวร และตรวจจำแนกชนิด ในการตรวจจำแนกชนิดใช้ลักษณะรูปร่างส่วนหน้าของหัว จำนวนปล่องของหนวด ลักษณะของหนวดปล่องสุดท้าย ลักษณะของ cauda และ siphuncuri วาดรูปและบันทึกลักษณะทางอนุกรมวิธานที่ตรวจพบ

รหัสกิจกรรม 05-02-47-1003-03

4. **สรุปผลการทดลอง**

จากการรวบรวมและเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากพืชชนิดต่างๆ พบเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* 2 ชนิด คือ *Aphis gossypii* Glover ในพริก กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเปราะ ส้ม และฝ้าย *A. nerii* ในต้นรัก

5. **ปัญหาและอุปสรรค**

-

6. **แนวทางแก้ไข**

-

7. **งานที่จะดำเนินการต่อไป** สำรวจและเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งต่างๆ เพิ่มเติม ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานและจำแนกชนิดตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่ทำสไลด์ถาวรแล้ว จัดทำแนวทางในการวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis*

อนุกรมวิธานด้วงวงศ์ Curculionidae

Taxonomy of the Beetle in Family Curculionidae

พรรณเพ็ญ ชโยภาส **ศิริณี พูนไชยศรี**
ลักขณา บำรุงศรี **ชลิดา อุณหวุฒิ**
ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม **สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์**
กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานด้วงในวงศ์ Curculionidae ระหว่างเดือน ตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2547 โดยวิธีการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างด้วงในวงศ์ Curculionidae ที่พบในพืชตระกูลปาล์มในประเทศไทย รวมทั้งตัวอย่างที่มีอยู่ในพิพิธภัณฑ์แมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ทำการตรวจวิเคราะห์ชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope และ Compound microscope พบด้วงในวงศ์ Curculionidae ที่เป็นศัตรูพืชตระกูลปาล์มได้แก่ มะพร้าว ปาล์มน้ำมัน สละ และระกำ จำนวน 8 ชนิด คือ *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier, *Rhynchophorus vulneratus* Panzer, *Diocalandra frumenti* Fabricius , *Hypomeces squamosus* (Fabricius), *Sepiomus* sp. *Astycus lateralis* Fabricius, *Rhabdoscelus eucnemis* Heller และ *Amorphoidea* sp. นอกจากนั้นพบด้วงวงศ์ Curculionidae ช่วยในการผสมเกสรปาล์มน้ำมันคือ *Elaeidobius kamerunicus* (Faust) และได้จัดทำแนวทางการวิเคราะห์ชนิด พร้อมภาพประกอบ ชี้ชัดถึงความแตกต่างของด้วงศัตรูพืชตระกูลปาล์ม และด้วงที่ช่วยผสมเกสรปาล์มน้ำมัน

รหัสกิจกรรม 05-02-47-1003-04

คำนำ

ด้วงในวงศ์ Curculionidae จะแตกต่างจากวงศ์อื่นตรงที่ มีส่วนหัวขยายยาวเรียกว่างวง (rostrum ,snout)ในด้วงบางชนิดทู่สั้น บางชนิดเรียวยาว และมีส่วนปากเช่น mandible อยู่ที่ปลาย rostrum ฐานของหนวดปล้องแรกอยู่ในร่อง(groove) ซึ่งอยู่ตรงส่วนกลางของ rostrum หนวดปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น มี tarsus formula 4-4-4 ด้วงวงศ์นี้ส่วนใหญ่กินพืช หรือผลผลิตทางการเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้ผลผลิตทางการเกษตรเสียหาย บางชนิดมีประโยชน์ช่วยทำลายวัชพืช เช่น ด้วงงวงกินผักตบชวา(วิวัฒน์และบรรพต,2524) หรือช่วยผสมเกสร เช่น ด้วงงวงดอกปาล์มน้ำมัน อาหารของด้วงงวงดอกปาล์มน้ำมันคือช่อดอกตัวผู้ที่กำลังบานละอองเกสรจะติดตามตัว และเมื่อบินไปตอมช่อดอกตัวเมีย จะช่วยให้เกิดการผสมเกสรและติดผลจำนวนมาก(ทวีศักดิ์,2544) ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเฉพาะด้วงวงศ์นี้ที่พบในพืชตระกูลปาล์ม เช่น มะพร้าว ปาล์มน้ำมัน ระกำ และสละ เป็นต้น พร้อมจัดทำแนวทางการวินิจฉัย เมื่อพบด้วงวงศ์นี้บนพืชตระกูลปาล์ม ทำให้สามารถจำแนกชนิดได้ว่าเป็นด้วงชนิดใด

วิธีการทดลอง

อุปกรณ์

สวิง พู่กัน แอลกอฮอล์ 75 % กล่องพลาสติกใส เข็มปักแมลง ตู้อบแมลง กล้อง-จุลทรรศน์

วิธีการทดลอง

1. สำรวจรวบรวมตัวอย่างด้วงวงศ์ Curculionidae ศัตรูพืชตระกูลปาล์ม จากแหล่งปลูก
2. นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้มาทำการจัดรูปร่าง สำหรับตัวอย่างที่เป็นหนอน หรือดักแด้นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จนเจริญเป็นตัวเต็มวัย แล้วจึงทำการจัดรูปร่าง

วิธีการรวบรวมตัวอย่างและขั้นตอนการดำเนินงาน

- ใช้สวิงโฉบ ใช้มือจับ(หนอนด้วง) หรือใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่ถูกทำลาย
- นำไปดองในแอลกอฮอล์ 75 % หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะหนอน แบ่งตัวอย่างนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย
- บันทึกข้อมูล รายละเอียดของด้วง พืช หรือส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง บันทึกลักษณะการทำลาย รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1) เตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ โดยจัดรูปร่าง นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 - 60°C นำแมลงที่จัดรูปร่าง อบ เรียบร้อยแล้วไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักของอนุกรมวิธาน

2) จำแนกและวิเคราะห์ชนิดของ ด้วงวงศ์ Curculionidae โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธาน ใต้กล้องจุลทรรศน์
3) จัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดของ ด้วงวงศ์ Curculionidae ที่พบบนพืชตระกูลปาล์ม
4) จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล
5) บันทึกวัน เดือน ปี และลักษณะการทำลายพืช และบันทึกชนิดของด้วงวงศ์นี้ที่ใช้เป็นประโยชน์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาด้วงวงศ์ Curculionidae ที่พบในพืชตระกูลปาล์มซึ่งได้แก่ มะพร้าว ปาล์มน้ำมัน สละ ระกำ อินทผาลัม เป็นต้น พบจำนวน 8 ชนิดที่ทำลายพืชดังนี้คือ *Astycus lateralis* Fabricius , *Hypomeces squamosus* Fabricius , *Sepiomus sp. Rhynchophorus ferrugineus* Olivier, *Rhynchophorus vulneratus* Panzer, *Rhabdoscelus eucnemis* Heller, *Amorphoidea* sp., *Diocalandra frumenti* Fabricius พบด้วงวงศ์นี้อีกชนิดหนึ่งเป็นแมลงที่ช่วยผสมเกสรดอกปาล์มน้ำมัน คือ *Elaeidobius kamerunicus* Faust การวินิจฉัยด้วงที่พบดังกล่าวสามารถทำได้โดยตรวจดูลักษณะรูปร่างของงวง (rostrum), ลักษณะของส้นหลังอกปล้องแรก (pronotum), ปีก(elytra), ต้นขา(femur), น่องขา(tibia) และ ปลายขา (tarsus) เป็นต้น

แนวทางการวินิจฉัยด้วงในวงศ์ Curculionidae ที่พบบนพืชตระกูลปาล์ม(Marshall, 1916 ; Wattanapongsiri, 1959)

1. -ส่วนของงวง(rostrum) ทู่สั้น(ภาพที่ 1.1) ความยาวไม่ถึง ½ ของความยาว pronotum 2
   -ส่วนของงวง(rostrum) เรียวยาว(ภาพที่ 1.2) ความยาวเกิน ½ ของความยาว pronotum…
   ……..……4
2. -หนวดปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น หนวดเป็นแบบclub(ภาพที่ 2.1)…..……...3
   -หนวดปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น หนวดไม่เป็นแบบ club (ภาพที่ 2.2) หนวดสีเดียวกับลำตัว……..……..…*Sepiomus* sp.
3. –pronotum มีร่องตรงกลางตามยาว ส่วนของฐานปีกเป็นรอยเว้าตรงกลาง (ภาพที่ 3) สีลำตัวสดใส แววาว ……..……... *Hypomeces squamosus*
   -pronotum ไม่มีร่องตรงกลาง ส่วนของฐานปีกไม่มีรอยเว้า (ภาพที่ 4)……*Astycus lateralis*

4. -pronotum เรียบมัน มีรู(puncture)เฉพาะด้านข้าง บริเวณส่วนอกที่ต่อกับหัวใต้โคน rostrum มีแผงขน ปีกเรียบไม่มีรู แต่เป็นร่องลึก…….5

   -pronotum ไม่เรียบ มีรู(puncture)กระจายทั่ว ปีกมีร่องและมีรูอยู่ในร่อง.....6

5. -pronotum ส่วนบนมีลักษณะมน ด้านข้างจะค่อนข้างตรง ด้านล่างกลม(ภาพที่ 5.1)

   ……*Rhynchophours ferrugineus*

   -pronotum ส่วนบนมีลักษณะแคบ ด้านข้างจนถึงด้านล่างกลม(ภาพที่ 5.2)

   ……*Rhynchophours vulneratus*

6. -หนวด 8 ปล้อง 7

   -หนวด 9 ปล้อง 8

7. -โคน rostrum ด้านบน มีกลุ่มขนสั้นๆเป็นกระจุก(ภาพที่ 6) pronotum สีน้ำตาลมีแต้มสีเหลือง ส่วนปีกบนสีเหลือง แต้มด้วยสีน้ำตาลtibia มีขนเส้นสั้นๆขึ้นเป็นแถว ปลายtibiaมีspur 2 อัน ขนาดไม่เท่ากัน……*Diocalandra frunenti*

   -โคน rostrum ด้านบน ไม่มีกลุ่มขนเป็นกระจุก pronotum และปีกสีน้ำตาลแต้มด้วยสีดำ tibiaมีขนเส้นสั้นๆ ขึ้นเป็นแถวตามยาว ปลายtibia มีspur 1 อัน (ภาพที่ 7) สีน้ำตาลเข้ม

   ……*Rhabdoscerus eucnemis*

8. -pronotum รูปร่างกลม ปีกคลุมไม่มิดส่วนท้อง(ภาพที่ 8).....*Amorphoidea* sp.

   -pronotum ยาวรี ปีกคลุมมิดส่วนท้อง (ภาพที่ 9)ในเพศผู้ ที่ปีกบนมีปุ่ม 2 ปุ่ม และมีกลุ่มขนตรงกึ่งกลางของปีก ……..*Elaeidobius kamerunicus*

รายละเอียดของด้วงแต่ละชนิดที่พบบนพืชตระกูลปาล์ม

Astycus lateralis Fabricius 1892

Synonyms (Marshall ,1916):

Curculio lateralis, Fabricius 1792

Lepropus lateralis, Schönherr 1826

Curculio rutilans, Olivier1807

Astycus lateralis var. *subacuminatus*, Faust 1892

ชื่อสามัญ ด้วงงวงสีดำ

รูปร่างลักษณะ

ส่วนหัว มีงวง(rostrum)ทู่ อ้วนสั้น ความยาวไม่ถึง ½ ของความยาวของpronotum มีตารวมสีดำโปนออกมา หนวดสีดำมี 11ปล้อง เป็นแบบ clavate* โดยมีหนวดปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น

ลำตัว

มีสีดำ ขนาดกว้าง 0.41 เซนติเมตร ยาว 1.18 เซนติเมตร ประปรายด้วยสีเขียวแววววาวทั่วลำตัว

ส่วนอก

เมื่อมองจากด้านบน(top view) ส่วนของpronotum ด้านที่อยู่ติดกับส่วนหัวจะแคบกว่าด้านที่อยู่ติดกับปีก ขาทุกคู่มีส่วนของ femur โป่งพอง tibia มีรูปร่างเรียวยาว tarsus formula 4-4-4 ปลายขาปล้องที่ 4 จะยาวกว่าปล้องที่ 1,2 และ3 ปลายขามีเล็บ 1 คู่

ส่วนท้อง

ส่วนท้องที่อยู่ติดกับส่วนอกจะกว้างกว่าส่วนอก และจะมีส่วนกว้างที่สุดตรงกลางของส่วนท้อง และจะเรียวเล็กต่อไปถึงปลายส่วนท้อง ปีกจะคลุมมิดส่วนท้อง

ความสำคัญ

ตัวเต็มวัยกัดกินขอบใบปาล์มน้ำมัน ทำให้ใบสูญเสียพื้นที่ในการสังเคราะห์แสง

เขตการแพร่กระจาย

จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร สุราษฎร์ธานี

Hypomeces squamosus Fabricius

Synonyms (Marshall,1916) :

Curculio squamosus Fabricius,1792

Curculio pulverulentus Fabricius

Curculio pulviger Herbst 1795

Curculio aurulentus Herbst 1797

Curculio orientalis Olivier 1807

Hypomeces squamosus Boheman 1834

Hypomeces fabricii, Faust 1892.

Hypomeces auricephalus Faust, 1. c. (n. syn.).

Hypomeces fabricii, Faust, var. *dispar*, Faust,* Ann. Mus. Civ. Genova, xxxiv, 1894.

ชื่อสามัญ แมลงค่อมทอง

รูปร่างลักษณะ

ส่วนหัว มีงวง(rostrum)ทู่ อ้วนสั้น ยื่นตรงไปข้างหน้า มีตารวมสีดำโปนออกมามาก หนวดมี 11 ปล้อง เป็นแบบclub* โดยมีหนวดปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น

ลำตัว

สีดำ และมีสีเหลืองปนเขียวระยิบระยับ แวววาวประทั่วลำตัว มีขนาดกว้าง 0.48 เซนติเมตร ยาว1.34 เซนติเมตร มีขนเส้นบางๆทั่วลำตัว

ส่วนอก

เมื่อมองจากด้านบน(top view) pronotum ด้านที่อยู่ติดกับส่วนหัวจะแคบกว่าด้านที่อยู่ติดกับปีก มีร่องลึกตามแนวยาวตรงกลาง pronotum ขอบบนของอกส่วนที่อยู่ติดกับส่วนหัวมีฟันสั้นๆ ขาทุกคู่มีส่วนของfemur โป่งพอง tibia มีรูปร่างเรียวยาว tarsus formula 4-4-4 มีเล็บ 1 คู่ที่ส่วนปลาย tibia

ส่วนท้อง

ด้านที่อยู่ติดกับส่วนอกจะกว้างกว่าส่วนอก และจะมีส่วนกว้างที่สุดตรงกลางของส่วนท้อง และจะเรียวเล็กต่อไปถึงปลายส่วนท้อง ปีกจะคลุมมิดส่วนท้อง

ความสำคัญ

ตัวเต็มวัยกัดกินใบพืชตระกูลปาล์ม เช่น ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว ทำให้ใบเสียหาย ทำลายพืชหลายชนิด กลางวันซอบเกาะอยู่บนใบ และทิ้งตัวลงข้างล่างเมื่อถูกรบกวน

เขตการแพร่กระจาย

พบทั่วประเทศไทย

Sepiomus sp.

ชื่อสามัญ ด้วงสีน้ำตาล

รูปร่างลักษณะ

ส่วนหัว มีงวง(rostrum)สั้น ยื่นไปข้างหน้าต่อจากส่วนหัว โค้งลงด้านล่างเล็กน้อย มีตารวมสีดำ หนวดมี 9 ปล้องสีน้ำตาลสีเดียวกับลำตัว หนวดมีขนหยาบขึ้นอยู่ทั่ว หนวดปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น

ลำตัว

ขนาดกว้าง 0.28 เซนติเมตร ยาว 0.78 เซนติเมตร มีสีน้ำตาลปนเทา

ส่วนอก

เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขามีขนหยาบขึ้นอยู่ทั่ว ขาทุกคู่มีส่วนของ femur โป่งพองมีหนาม 1 อัน tibia มีรูปร่างเรียวยาว tarsus formula 4-4-4 ปลายขามีเล็บ 1 คู่

ส่วนท้อง

ด้านที่อยู่ติดกับส่วนอกจะแคบกว่าปลายท้อง ส่วนปลายท้องยกสูง กลมเป็นกระเปาะ ปีกจะคลุมมิดส่วนท้อง

ความสำคัญ

ตัวเต็มวัยกัดกินตามขอบใบพืชตระกูลปาล์ม เช่น ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว ทำให้ใบสูญเสียพื้นที่ในการสังเคราะห์แสง

เขตการแพร่กระจาย

พบทั่วประเทศไทย

Rhynchophorus ferrugineus Olivier

Synonyms (Wattanapongsiri,1959) :

Cossus saguarios Rhumpf, 1750-1755

Curculio hemipterus Sulzer, 1776

Curculio ferrugineus Olivier, 1790

Rhynchophorus ferrugeneus Herbst, 1795 ; Schoenherr, 1826 ; Gyllenhal in Schoenherr, 1838 , Boheman in Schoenherr, 1845 ; Chevrolat, 1882 a ; 1882 b, ; Schaufuss, 1885; Haller, 1885; Heyne and Taschenberg, 1908, ; Lepesme, 1947,; Wattanapongsiri, 1959.

Cordyle sexmaculatus Thunberg. 1797,

Calandra ferruginea Fabricius , 1801; Illiger, 1805; Olivier, 1807;Belanger, 1834

Rhynchophorus indostanud Chevrolat, 1882 New synonymy.

Rhynchophorus signaticollis Chevrolat, 1882 ; Faust, 1894 ; Lepesme. 1947 New synonymy.

Rhynchophorus ferruguneus var. Schaufuss, 1885; Haller, 1885

Rhychophorus pascha var*. cinctus* Faust, 1892

Rhynchophorus ferrugineus var. *seminger* Faust, 1894

Rhynchophorus signaticollis var. *dimidiatus* Faust, 1894

ชื่อสามัญ ด้วงงวงมะพร้าวชนิดเล็ก ด้วงไฟ

รูปร่างลักษณะ

ส่วนหัว มีงวง(rostrum)ยาว ความยาวมากกว่า ½ ของความยาวของ pronotum ในเพศเมีย งวงจะเรียวยาว เรียบ ในเพศผู้งวงจะอ้วน สั้นกว่า ส่วนปลายงวงด้านบนมีแผงขน มีหนวด 8 ปล้อง ปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น มีลักษณะเป็นข้อศอก ด้านล่างของส่วนหัวที่ต่อกับส่วนอกมีแผงขนสีน้ำตาล

ลำตัว

สีน้ำตาล ขนาดกว้าง 1.16 เซนติเมตร ยาว 2.83 เซนติเมตร

ส่วนอก

pronotum มักมีแต้มสีดำ เป็นลวดลายต่างๆ เมื่อมองจากด้านบน(top view) รูปร่างของ pronotum ด้านข้างค่อนข้างขนาน และมีรู(puncture)ไม่มากเป็นแถวตามแนวยาวเฉพาะด้านข้าง และ pronotum ด้านที่ติดกับส่วนปีกจะกลมมน

ปีกคู่บนคลุมส่วนท้องไม่มิด เห็นส่วนปลายท้องโผล่ 3 ปล้อง ปีกเรียบไม่มีรู(puncture) มีร่องลึกข้างละ 5 ร่อง femur ขาคู่หน้ามีขน tibia มีขนยาว 2 แถว ปลาย tibia มี spur tarsus formular 4-4-4 tarsus ปล้องที่ 4 จะยาวกว่าปล้องอื่น และมีเล็บที่ปลาย 1 คู่

ส่วนท้อง

ปล้องแรกยาวไม่เท่ากับปล้องที่ 2 แต่ยาวเท่ากับปล้องที่ 3 รวมกับปล้องที่ 4

ความสำคัญ

มีความสำคัญมากในการเป็นศัตรูที่สำคัญของมะพร้าว โดยหนอนของด้วงชนิดนี้จะกินยอดมะพร้าว หรือเนื้อในลำต้นมะพร้าว เป็นอาหาร โดยตัวเต็มวัยวางไข่ในเนื้อมะพร้าวบริเวณยอดอ่อนหรือลำต้นที่เป็นแผล หรือตามลำต้นที่มีลักษณะอวบน้ำ ในมะพร้าวบางพันธุ์ หนอนจะทำลายบริเวณดังกล่าว สังเกตค่อนข้างยาก จนกว่าถูกทำลายมากแล้วจะมีน้ำไหลซึมออกมาจากบริเวณที่ถูกทำลาย หรือยอดจะเหี่ยวและหักพับ หลุดร่วง ต้นตายในเวลาต่อมา

เขตการแพร่กระจาย

พบทั่วประเทศไทย

Rhynchophorus vulneratus (Panzer)

Synonyms (Wattanapongsiri,1959) :

Curculio valneratus Panzer, 1798

Calandra schach Fabricius, 1801 ; Illiger, 1805; Olivier, 1807

Rhynchophorus schach Schoenherr, 1826; Gyllenhal in Schoenherr, 1838 ; Boheman in Schoenherr, 1845 ; Chevrolat, 1882 ; Wattanapongsiri, 1959

Rhynchophorus valneratus (Panzer) ; Gyllenhal in Schoenherr, 1938

Rhynchophorus schach var. β, γ, δ, Boheman in Schoenherr, 1845

Rhynchophorus pascha Boheman in Schoenherr, 1845; Chevrolat, New synonymy.

Rhynchophorus pascha var. β, Boheman in Schoenherr, 1845

Rhynchophorus ferrugineus var. *tenuirostris* Chevrolat, 1882 New synonymy.

Rhynchophorus glabrirostris Schaufuss, 1885 New synonymy.

ชื่อสามัญ ด้วงงวงมะพร้าวชนิดใหญ่

รูปร่างลักษณะ

ส่วนหัว มีงวง(rostrum)ยาว ความยาวมากกว่า ½ ของความยาวของ pronotum ในเพศเมีย งวงจะเรียวยาว เรียบ ในเพศผู้งวงจะอ้วน สั้นกว่า ส่วนปลายงวงด้านบนมีแผงขน มีหนวด 8 ปล้อง ปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น มีลักษณะเป็นข้อศอก ด้านล่างของส่วนหัวที่ต่อกับส่วนอกมีแผงขนสีน้ำตาล

ลำตัว

สีน้ำตาล ขนาดใหญ่กว่า *R. ferrugineus* มีขนาดกว้าง 1.43 เซนติเมตร ยาว 3.25 เซนติเมตร

ส่วนอก

ใช้ลักษณะรูปร่างของ pronotum และลายบน pronotum ในการจำแนกชนิด บริเวณด้านบน มักมีแต้มสีดำ เป็นลวดลายต่างๆ เมื่อมองจากด้านบน รูปร่างของ pronotum ด้านข้างโค้ง และกลมมนตรงปลายด้านที่ติดกับส่วนปีก ด้านข้าง pronotum มีรู(puncture)ไม่มาก เป็นแถวตามแนวยาว

ปีกคู่บนคลุมส่วนท้องไม่มิด เห็นส่วนปลายท้องโผล่ 3 ปล้อง ปีกมีร่องลึกข้างละ 5 ร่อง femur ขาคู่หน้ามีขน tibia มีขนยาว 2 แถว ปลาย tibia มี spur tarsus formular 4-4-4 ปล้องที่ 4 จะยาวกว่าปล้องอื่น มีเล็บที่ปลาย 1 คู่

ส่วนท้อง

เช่นเดียวกับ *R. ferrugineus*

ความสำคัญ

มีความสำคัญมากในการเป็นศัตรูที่สำคัญของมะพร้าว เช่นเดียวกับ *R .ferrugineus*

เขตการแพร่กระจาย

พบในพื้นที่ปลูกมะพร้าวเขตภาคใต้ของประเทศไทย

Rhabdoscelus eucnemis Heller

ชื่อสามัญ ด้วงงวงเจาะก้านสละ

รูปร่างลักษณะ

ส่วนหัว มีงวง(rostrum)ยาว ความยาวมากกว่า ½ ของความยาวของ pronotum ในเพศเมีย งวงจะเรียวยาว เรียบ ในเพศผู้งวงจะอ้วน สั้นกว่าและมีแผงขนที่ด้านบนของปลายงวง หนวดมี 8 ปล้อง ปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น หนวดมีสีดำ ปลายหนวดปล้องที่ 8 เป็นปล้องหนวดที่เป็นรูปกรวย มีโคนสีดำมีขนประปราย ส่วนปลายสีขาวมีขนมากกว่าที่โคน

ลำตัว

ขนาดกว้าง 0.42 เซนติเมตร ยาว 1.17 เซนติเมตร สีน้ำตาลอมส้ม แต้มด้วยสีดำบริเวณด้านบนของ pronotum และปีกคู่บน

ส่วนอก

รูปร่างของ pronotum มีขนาดสัดส่วนความกว้างกับความยาว เท่ากับ 2 : 3 บริเวณด้านบนpronotum และบริเวณ sternum มีรู(puncture)กระจายไปทั่ว ปีกคู่บนคลุมส่วนท้องไม่มิด เห็นส่วนปลายท้องโผล่ 3 ปล้อง บนปีกมีรูเรียงเป็นแถวตามยาวข้างละ 8 แถว ที่ femur มีรูและมีขนภายในรู บริเวณ tibia มีขนเส้นสั้นๆ ขึ้นเป็นแถวตามแนวยาว 6 แถว ด้านในมีขนขึ้นเป็นแถวคู่กัน 2 แถว ปลาย tibia มี spur สีน้ำตาลเข้ม 1 อัน tarsus formular 4-4-4 tarsus ปล้องที่1,2 และ3 ด้านล่างมีกระจุกขนขึ้น tarsus ปล้องที่ 3 จะเป็นแผ่นกว้างมีรอยเว้าให้ tarsus ปล้องที่ 4 ซึ่งยาวกว่าปล้องอื่นสอดอยู่ มีเล็บที่ปลาย 1 คู่

ส่วนท้อง

มี 5 ปล้อง เต็มไปด้วยรู (puncture) ความกว้างของท้องปล้องที่ 1 กว้างเท่ากับปล้องที่ 3 กับปล้องที่ 4 รวมกัน ปล้องที่ 5 เรียวแหลม เวลาหุบปีกส่วนปีกปกคลุมส่วนท้องไม่มิด ส่วนที่โผล่ออกมาด้านบนมีขน

ความสำคัญ

ตัวเต็มวัยใช้งวงเจาะก้านสละหรือระกำเพื่อวางไข่ เมื่อเจริญเป็นหนอน จะกัดกินภายในก้านนั้นทำให้มีอาการเน่า มีน้ำเยิ้ม ก้านทางหลุดร่วง

เขตการแพร่กระจาย

ชุมพร จันทบุรี เพชรบูรณ์

Diocalandra frumenti Fabricius

Synonyms (Zimmerman,1993) :

Calandra frumenti (Fabricius), 1801 : 438.

Sitophilus frumenti (Fabricius) Schoenherr, 1838 : 982

Diocalandra frumenti (Fabricius) Faust, 1894. Heller, 1927. Marshall, 1931. Lever, 1941. Zimmerman, 1942. Morimoto, 1978, in key. Kalshoven, *et alii*, 1981.

Calandra bifasciata Boisduval, 1835 ; type locality : Nouvelle Hollande". Schoenherr, 1838 (unknown to Schoenherr). New synonym.

Calandra montrouzieri Chevrolat, 1882 : CXXVIII, an unnecessary replacement name for Sphenophorus palmarum Montrouzier, 1860 : 911, incorrectly listed as Calandra palmarum (Montrouzier) by Gemminger and Harold,1871 : 2653 ; type locality : Art Island. Synonymy by Heller, 1927 : 2.

Sitophilus Subfasciatus Boheman, 1838 : 971 ; type locality : Java. Listed as a variety by Csiki, 1936 : 77.

Sitophilus Stigmaticollis Gyllenhal, 1838 : 972 ; type locality : Ile de France.

Diocalandra frumenti variety stigmaticollis (Gyllenhal) Faust, 1899c : 428.

Calandra Stigmaticollis (Gyllenhal) Kolbe, 1910 : 46. Champion, 1914 : 495. Hustache, 1924 : 520. Beeson, 1941 : 263, Figure 82 (larva, pupa, adult).

Sitophilus Subsignatus Gyllenhal, 1838 : 973 ; type locality : India.

Sphenophorus cruciger Motschulsky, 1858 : 69.

Calendra punctigera Pascoe, 1885 : 305 ; type locality : Ramoi or Celebes. Synonymy by Heller, 1927 : 2, not Marshall as stated by Marshall, 1931 : 321.

Calendra sechellarum Kolbe, 1910 : 46 ; type locality : Seychelle Islands.

ชื่อสามัญ ด้วงงวงจิ๋ว

รูปร่างลักษณะ

ส่วนหัว

มีงวง(rostrum)ยาว ความยาวมากกว่า ½ ของความยาวของ pronotum มีหนวด 8 ปล้อง แบบ clavate ปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น หนวดปล้องที่ 3 ยาวกว่าปล้อง2,4,5,6และ 7 ปล้องที่ 8 ขยายใหญ่ยาวเป็น 4 เท่าของปล้องที่ 7 ปลายปล้องที่ 8 แหลมมีขน ที่โคน rostrum ด้านบนมีรู (puncture)และมีขนในรู บริเวณงวงด้านบนเป็นปมไม่เรียบ

ลำตัว

ขนาดกว้าง 1.61 มิลลิเมตร ยาว 6.15 มิลลิเมตร สีน้ำตาลแต้มด้วยสีเหลือง pronotum มีรู(puncture)กระจายทั่วและมีขนในรู และปีกคู่บน มีรูเช่นกัน

ส่วนอก

รูปร่างของ pronotum มีขนาดสัดส่วนความกว้างกับความยาว เท่ากับ 3 : 4.5 บริเวณ sternum มีรู(puncture)กระจายไปทั่ว ปีกคู่บนคลุมส่วนท้องไม่มิด femur มีรู(puncture)และมีขนในรู แต่ที่ tibia มีขนเส้นสั้นๆขึ้นเป็นแถว ปลาย tibia มี spur ขนาดไม่เท่ากัน 2 อัน tarsus formula 4-4-4 ปล้องที่ 4 ยาวกว่าปล้องอื่น ปล้องที่ 3 เป็นแผ่นกว้างกว่าปล้องอื่น เว้าตรงกลางเป็นที่สอดของโคน tarsus

ปล้องที่ 4

ส่วนท้อง

puncture มีขนเรียบสั้น ๆ ท้องมี 5 ปล้อง ปล้องที่ 2 กว้างเท่ากับปล้องที่ 3 รวมกับปล้อง 4 เวลาหุบปีก ปีกคลุมท้องไม่มิด ส่วนที่โผล่มีขนเส้นสั้น ๆ

ความสำคัญ

พบทำลายบริเวณก้านทางที่มีรอยแผล การเกิดรอยแผลหรือก้านถูกแรงลมหัก จะดึงดูดให้ด้วงตัวเต็มวัยมาวางไข่ หนอนกัดกินอยู่ภายใน เข้าดักแด้ในก้านทางนั้น ทำให้เกิดรอยเน่าดำ

เขตการแพร่กระจาย

พบที่มะพร้าวจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และ ชุมพร พบที่พืชตระกูลปาล์ม ที่จังหวัดชลบุรี

Amorphoidea sp.

ชื่อสามัญ ด้วงงวงดอกระกำ

รูปร่างลักษณะ

ส่วนหัว มีส่วนงวง(rostrum)ยาว ความยาวมากกว่า ½ ของความยาวของ pronotum มีหนวด 9 ปล้อง แบบ clavate ปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น หนวดปล้องที่ 9 ขยายใหญ่กว่าปล้องอื่น ปลายเรียวแหลม ตารวมมีสีเทาเงิน หรือสีดำ

ลำตัว

เพศผู้มีขนาดกว้าง 1.15 มิลลิเมตร ยาว 2.36 มิลลิเมตร เพศเมียขนาดกว้าง 1.13 มิลลิเมตร ยาว 2.31 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้ม pronotum มีรู(puncture)กระจายทั่วและมีขนในรูและปีกคู่บน มีรูเช่นกัน

ส่วนอก

รูปร่างของ pronotum ค้อนข้างกลม มีรู(puncture)กระจายไปทั่ว ปีกคู่บนคลุมส่วนท้องไม่มิด femur ขยายใหญ่ตรงกลาง ที่ tibia มีขนเส้นยาวๆขึ้นกระจายไปทั่ว tarsus formula 4-4-4 ปล้องที่ 4 ยาวกว่าปล้องอื่นปล้องที่ 3 เป็นแผ่นกว้างกว่าปล้องอื่น เว้าตรงกลางเป็นที่สอดของโคนปล้องที่ 4 ปีกคู่แรกมีรูตื้นๆ เรียงเป็นแถว รูปร่างปีกด้านข้างค่อนข้างโค้งมน

ส่วนท้อง

เวลาหุบปีกปีกคลุมส่วนท้องไม่มิด ปล้องที่ 1 กว้าง เท่ากับปล้องที่2 และกว้างเท่ากับปล้องที่ 3บวกปล้องที่4 ท้องปล้องที่ 5 เรียวแหลม มีขนเส้นสั้น ๆ ขึ้นเต็ม

ความสำคัญ

ตัวเต็มวัยกัดกินดอกตัวเมียของสละและระกำ เป็นรอยทำให้เน่าดำ บางครั้งกัดกินดอกที่ติดผลเล็กๆ ทำให้ผลไม่เจริญต่อไป ด้วงชนิดนี้จะวางไข่ที่ช่อดอก เมื่อเจริญเป็นหนอนอาศัยกัดกินกลีบดอก หนอนเข้าดักแด้บริเวณดอกตัวเมีย ดอกที่ถูกทำลายจะมีขุยขี้หนอนปรากฏให้เห็น

เขตการแพร่กระจาย

พบทำลายดอกสละที่จังหวัดนนทบุรี เพชรบูรณ์ และจันทบุรี

Elaeidobius kamerunicus (Faust)

Synonyms(CAB,2003) :

Derelomus callosus Hustache, 1924

Derelomus congoanus Hustache, 1924

Derelomus kamerunicus Faust, 1898

Prosoestus kamerunicus Faust, 1898

ชื่อสามัญ ด้วงงวงดอกปาล์มน้ำมัน

รูปร่างลักษณะ

ส่วนหัว มีงวง(rostrum)ยาว ความยาวมากกว่า ½ ของความยาวของ pronotum มีหนวด 9 ปล้อง แบบ clavate ปล้องแรกยาวกว่าปล้องอื่น หนวดปล้องที่ 2 ยาวเท่ากับ1/3 ของหนวดปล้องแรก หนวดปล้องที่ 3 ยาวเท่ากับ ½ ของหนวดปล้องที่ 2 หนวดปล้องที่ 4 , 5 และ 6 มีขนาดใกล้เคียงกัน หนวดปล้องที่ 9 ขยายใหญ่กว่าปล้องอื่นปลายเรียวแหลม

ลำตัว

ตัวเต็มวัยเพศผู้ ขนาดกว้าง 1.4 มิลลิเมตร ยาว 3.39 มิลลิเมตร เพศเมียขนาดกว้าง 1.28 มิลลิเมตร ยาว 2.93 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ

ส่วนอก

รูปร่างของ pronotum ด้านที่ติดกับปีก เป็นรูปสามเหลี่ยม

ในเพศผู้ ตาสีน้ำตาลอ่อน ผิวด้านบน pronotum มีรอยขรุขระตรงขอบด้านบนหรือไหล่มีปุ่มนูนข้างละปุ่ม เวลาหุบปีก ตรงกลางเป็นสันนูนเล็กน้อย ตรงกลางปีกจะมีกลุ่มขน 2 กลุ่ม ขอบปีกมีขนขึ้นโดยรอบ ปีกคลุมมิดส่วนท้อง รูปร่างปีกค่อนข้างเรียว ปลายปีกเป็นรอยสีน้ำตาลอ่อน

ในเพศเมียจะมีความแตกต่างกันเห็นได้ชัด มีตาสีดำ ส่วนด้านบน pronotum มีรูกระจายไปทั่ว ปีกคู่บน มีรูเช่นกัน เรียงเป็นแถว ปีกคู่บนคลุมมิดส่วนท้อง ขอบปีกเรียบไม่มีขน ปลายปีกเป็นรอยสีน้ำตาลอ่อนเช่นกัน femur ขยายใหญ่ตรงกลาง tarsus formula 4-4-4 ปล้องที่ 4 ยาวกว่าปล้องอื่น ปล้องที่ 3 เป็นแผ่นกว้าง เว้าตรงกลางเป็นที่สอดของโคนปล้องที่ 4

ส่วนท้อง

ปีกปกคลุมมิดส่วนท้อง ความกว้างท้องปล้องที่ 1ยาวเท่ากับ ท้องปล้องที่ 2 เท่ากับปล้องที่ 3บวกปล้องที่4 ไม่มีรู มีขนขึ้นกระจาย

ความสำคัญ

ตัวเต็มวัยกัดกินดอกตัวผู้ของปาล์มน้ำมันเป็นอาหารและใช้เวลาบินไปตอมดอกตัวเมียแต่ไม่กิน ทำให้ละอองเกสรตัวผู้ดอกปาล์มน้ำมันที่ติดไปกับด้วงตัวเต็มวัย ไปตกหล่นที่ดอกตัวเมีย

ทำให้เกิดการผสมเกสร และติดผลมากกว่าการใช้แรงงานคนช่วยผสม อนึ่งด้วงชนิดนี้มีขนาดเล็กใกล้เคียงกับด้วงที่ทำลายดอกสละ อาจเกิดการสับสนได้ เพราะอาศัยอยู่บริเวณดอกเหมือนกัน

เขตการแพร่กระจาย

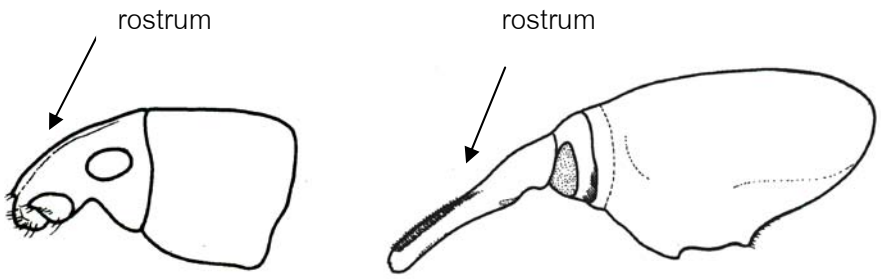
พบที่แหล่งปลูกปาล์มน้ำมันจังหวัดต่างๆ เช่น กระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร เป็นต้น

สรุปผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างแมลงจำพวกด้วง วงศ์ Curculionidae ในพืชตระกูลปาล์มซึ่งได้แก่ มะพร้าว ปาล์มน้ำมัน สละ ระกำ และอินทผาลัม พบด้วงที่ทำลายพืชดังกล่าวจำนวน 8 ชนิดคือ *Astycus lateralis* Fabricius , *Hypomeces squamosus* Fabricius , *Sepiomus sp. Rhynchophorus ferrugineus* Olivier, *Rhynchophorus vulneratus* Panzer, *Rhabdoscelus eucnemis* Heller, *Amorphoidea* sp. และ *Diocalandra frumenti* Fabricius ด้วงวงศ์นี้อีกชนิดหนึ่งเป็นแมลงที่ช่วยผสมเกสรดอกปาล์มน้ำมัน คือ *Elaeidobius kamerunicus* Faust เมื่อมีการเก็บรวบรวมตัวอย่าง และจัดทำแนวทางการวินิจฉัยด้วงในวงศ์ Curculionidae ที่พบบนพืชตระกูลปาล์ม โดยตรวจดูลักษณะที่มีความเหมือนกัน และลักษณะที่แตกต่างกันในกลุ่มแยกเป็นชนิด การวินิจฉัย ใช้ลักษณะของงวง(rostrum) สันหลังอกปล้องแรก(pronotum) ปีก(elytra) น่องขา(tibia) สามารถที่จะแยกชนิดด้วงวงศ์ curculionidae ที่พบบนพืชตระกูลปาล์มและมีรูปร่างลักษณะ และขนาดลำตัวใกล้เคียงกัน โดยการส่องดูรายละเอียด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เช่น ด้วงชนิดที่ใช้ช่วยในการผสมเกสรดอกปาล์มน้ำมัน กับชนิดที่ทำลายดอกสละและระกำ จะแตกต่างกันตรงลักษณะของ pronotum และส่วนปีกที่คลุมส่วนท้องมิดและไม่มิด

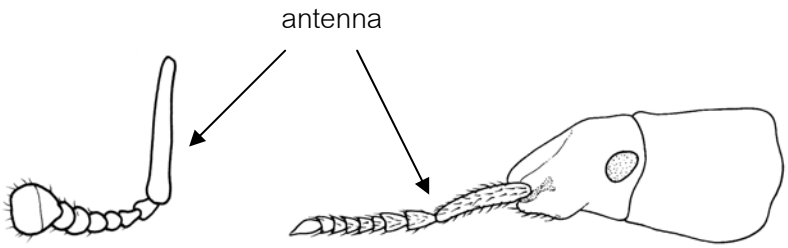
เอกสารอ้างอิง

1. พรรณเพ็ญ ชโยภาส, 2546. แมลงศัตรูระกำและสละ. ว. กีฏ. สัตว. 25(2) : 116 - 119.
2. ทวีศักดิ์ ชโยภาส, 2544. แมลงศัตรูปาล์มน้ำมันในประเทศไทย. กลุ่มวิจัยแมลงศัตรูพืชสวน อุตสาหกรรม กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 126 หน้า.
3. วิวัฒน์ เสือสะอาด และ บรรพต ณ ป้อมเพชร. 2524. การใช้ด้วงงวงผักตบชวา *Neochetina eichhorniae* (Coleoptera : Curculionidae) ควบคุมผักตบชวาในประเทศไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 9 หน้า
4. Borror,D.J.,D.W. Delong and C.A. Triplehorn . 1976. An introduction to the study of insects. Fourth edition. Holt ,Reinhart and Winston.852 pp.
5. CABI. 2003. Crop Protection Compendium. CAB International. Wallingford, UK.
6. Marshall G.A.K. 1916 Coleoptera. Rhynchophora Curculionidae in The Fauna of British India. Printed by Taylor and Francis. 367 pp.
7. Wattanapongsiri, A. 1959, A revision of the genera *Rhynchophorus* and *Dynamis* (Coleoptera : Curculionidae) Department of Agriculture Science Bulletin V1(1).
8. Zimmerman,E.C.1993. Australian Weevil (Coleoptera:Curculionidae) Tribe Diocalandrini .V.3 :99-101



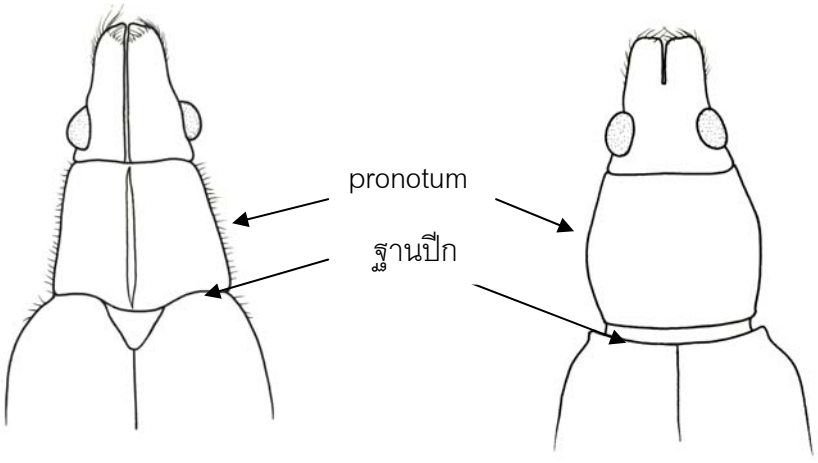
1.1 1.2

ภาพที่ 1 รูปร่างลักษณะของ rostrum ; ภาพที่ 1.1 รูปร่างทู่ สั้น ภาพที่ 1.2 รูปร่างเรียว ยาว



2.1

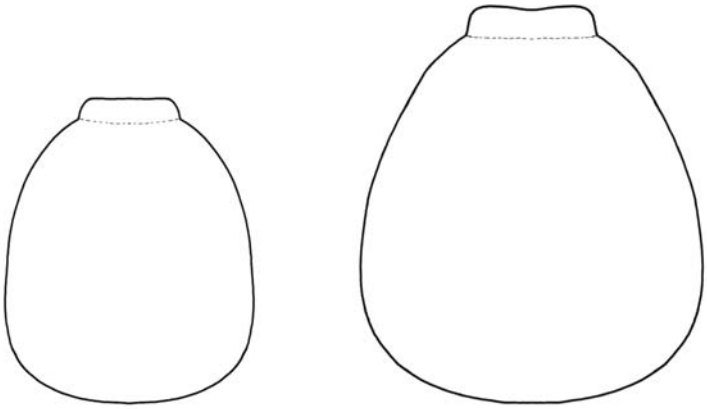
ภาพที่ 2 ลักษณะของหนวด; ภาพที่ 2.1 หนวดแบบ club ภาพที่ 2.2 หนวดของ *Sepiomus* sp.



ภาพที่ 3 ภาพที่ 4

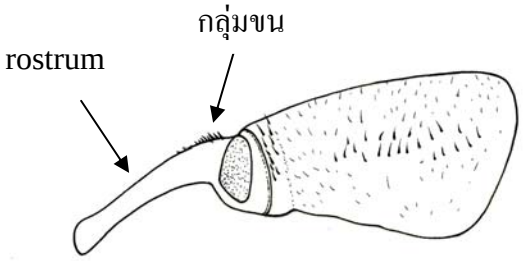
ภาพที่ 3 ลักษณะ pronotum และฐานปีก ของ *Hypomeces squamosus*

ภาพที่ 4 ลักษณะ pronotum และฐานปีก ของ *Astycus lateralis*

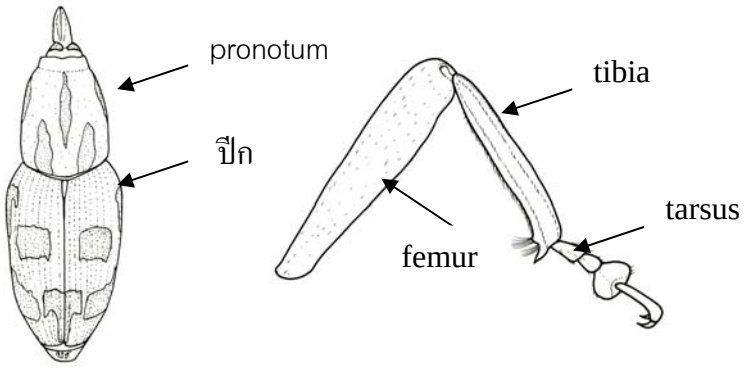


5.1 5.2

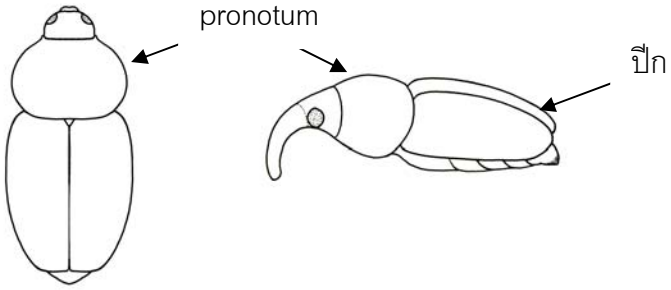
ภาพที่ 5 รูปร่างลักษณะ pronotum ;ภาพที่ 5.1 *Rhynchophorus ferrugineus* ภาพที่ 5.2 *Rhynchophorus vulneratus*



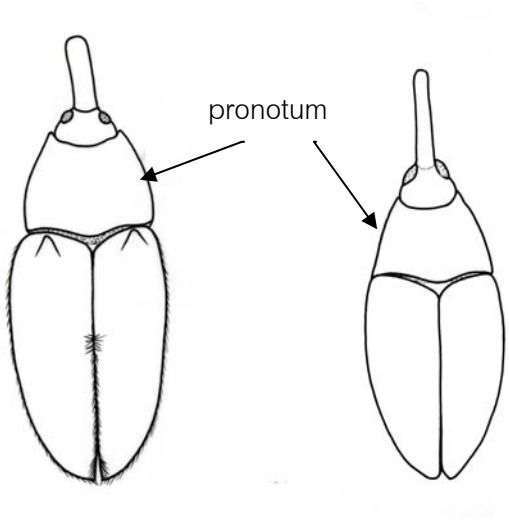
ภาพที่ 6 กลุ่มขนตรงโคน rostrum ของ *Diocalandra frumenti*

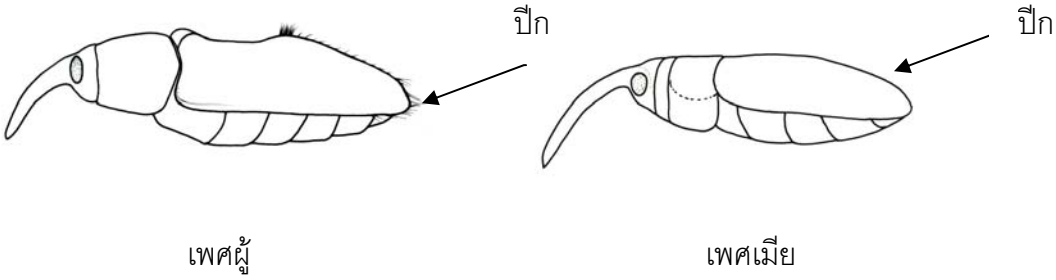


ภาพที่ 7 pronotum , ปีก , femur , tibia และ tarsus ของ *Rhabdoscelus eucnemis*



ภาพที่ 8 ลักษณะ pronotum และปีกที่คลุมส่วนท้องไม่มิด ของ *Amorphoidea* sp.





ภาพที่ 9 pronotum และ ปีกที่คลุมมิดส่วนท้อง ของ *Amorphoidea* sp.

อนุกรมวิธานของมวนในวงศ์ Reduviidae
Taxonomy of Bug in Family Reduviidae

รัตนา นชะพงษ์ ชลิดา อุณหวุฒิ
ศิริณี พูนไชยศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม
กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

---

1. คำนำ

มวนตัวห้ำ พวก Reduviidae หลายชนิดเป็นมวนที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายหนอนศัตรูพืชและเป็นพวกที่สามารถอดอาหารได้เป็นเวลานานเมื่อไม่มีเหยื่อ มวนอยู่ในอันดับ Hemiptera และมวนที่เป็นศัตรูธรรมชาติพวกตัวห้ำส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ Reduviidae ซึ่งเป็นพวกที่มีอุปนิสัยขยันและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจในการทำลายแมลงศัตรูพืช (Slater and Baranowski, 1978) Mahr (1980) กล่าวว่า มวนตัวห้ำในวงศ์นี้สามารถเจริญเติบโตอยู่ได้ทั้งใน พืชสวน พืชไร่ และสามารถฆ่าแมลงทั้งที่มีขนาดเล็กและกลาง ซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจั๊กจั่น ไข่และหนอนของด้วงที่ทำลายหน่อไม้ฝรั่งรวมทั้งแมลงศัตรูป่าไม้ Sahayaraj (2002) กล่าวว่ามวนตัวห้ำ Reduviid, *Rhynocoris marginatus* (F.) เลี้ยงขยายปริมาณได้ด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร สามารถฆ่าแมลงศัตรูพืชได้เกือบ 25 ชนิด เช่น หนอนกระทู้ผัก และ หนอนเจาะสมอฝ้าย และได้นำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นในแปลงถั่วเหลือง

สำหรับในประเทศไทยยังไม่เคยมีการศึกษาชนิดและเก็บรวบรวมตัวอย่างมวน Reduviid มาก่อนเลย จากการขาดข้อมูลตรงนี้ ซึ่งเป็นข้อมูลเริ่มต้นก่อนที่จะเริ่มดำเนินการศึกษารายละเอียดอื่น จึงทำให้ไม่มีการศึกษาการนำมวนตัวห้ำ Reduviid ชนิดที่มีประภาพสูงสุดไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเร่งทำการศึกษาชนิด รวบรวมตัวอย่างมวนตัวห้ำ Reduviid และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยเริ่มศึกษามวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus*ก่อน

2. วิธีดำเนินการ

ตรวจเอกสารโดยการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของมวนตัวห้ำ วงศ์ Reduviidae จากเอกสารที่มีรายงานไว้ในประเทศและต่างประเทศ สำรวจและเก็บรวบรวมมวนตัวห้ำวงศ์ Reduviidae ในแปลงพืชต่างๆ โดยเฉพาะในภาคเหนือ ด้วยสวิงโฉบใส่กล่องพลาสติก ตัวอย่างแมลงที่เป็นตัวอ่อนนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้เป็นตัวเต็มวัยและอีกส่วนหนึ่งที่เป็นตัวเต็มวัยที่จับได้จากในธรรมชาติมาจัดรูปร่าง (set) เพื่อวิเคราะห์หาชนิดต่อไป นำตัวอย่างมวน

รหัสกิจกรรม 05-02-47-1003-05

ที่ได้ไปตรวจดูลักษณะภายนอก โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ จัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดของมวนตัวห้ำ reduviid ที่พบ วาดภาพลักษณะสำคัญของมวน reduviid แต่ละชนิดที่พบ โดยกล้องจุลทรรศน์ จัดทำข้อมูลได้แก่ ชื่อชนิดของมวนตัวห้ำ reduviid ที่วิเคราะห์ชนิดแล้ว รวมทั้งวัน เดือน ปี สถานที่เก็บ บนกระดาษบันทึกที่ต้องติดไว้กับตัวอย่างมวนแต่ละตัว นำตัวอย่างมวนเหล่านี้มาแบ่งหมวดหมู่ตามระบบสากล และจัดเก็บไว้ในกล่องเก็บตัวอย่างแมลง แล้วจึงจัดเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์

บันทึกข้อมูล รายละเอียดของมวนตัวห้ำ reduviid ทุกชนิดที่พบ ได้แก่ ชนิด รูปร่างลักษณะ รวมทั้ง วัน เดือน ปี และสถานที่พบ

3. ผลงานที่ได้ปฏิบัติมาแล้ว

การศึกษาอนุกรมวิธานของมวนสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae ระหว่างเดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2547 โดยตรวจเอกสารด้านอนุกรมวิธาน สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องที่มีรายงานในต่างประเทศ และได้สำรวจรวบรวมมวนสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae ในแหล่งปลูกพืช จังหวัดเชียงราย ตาก ชัยภูมิ อุดร หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เพชรบุรี และราชบุรี นำตัวอย่างที่เป็นตัวอ่อนมาเลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัย พร้อมทั้ง ตัวเต็มวัยที่จับได้จากธรรมชาติมาจัดรูปร่าง และศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน โดยตรวจวิเคราะห์ชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope พร้อมจัดทำภาพประกอบและรายละเอียดของมวนที่ทราบชื่อแล้ว

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาพบมวนวงศ์ Reduviidae สกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* 4 ชนิด ทราบชื่อแล้ว 1 ชนิดคือ *Sycanus collaris* F.

5. ปัญหาและอุปสรรค

-

6. แนวทางแก้ไข

-

7. งานที่จะดำเนินการต่อไป

1. ตรวจเอกสารเกี่ยวกับ มวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae ที่มีการรายงานไว้ในประเทศไทยและต่างประเทศ

2. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่าง มวนวงศ์ Reduviidae ในสกุลดังกล่าว และบันทึกข้อมูล

3. เตรียมตัวอย่างมวนดังกล่าวเพื่อการวิเคราะห์โดยจัดรูปร่าง

4. จำแนกและวิเคราะห์ชนิดตัวอย่างของ มวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae จัดทำแนวทางวินิจฉัยและวาดภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธาน และบันทึกรายละเอียดของมวนบนแผ่นป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน/เดือน/ปี และสถาบันที่จับ และจัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล

รายงานผลงานวิจัยปี 2547

รหัสกิจกรรม	05-02-47-1003-06

47/สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

1. ชื่อแผนงานหลัก 3.1 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช ขยายพันธุ์พืช พิสูจน์พันธุ์ ตรวจสอบพืช ศัตรูพืชและจุลินทรีย์ และการอนุรักษ์พันธุ์

2. ชื่อกรอบโครงการวิจัย 3.1.2 อนุรักษ์พันธุกรรมพืช จุลินทรีย์ แมลง เห็ด สาหร่าย และไหม

3. ชื่อกิจกรรม 04 สำรวจ เก็บรักษา รวบรวมจำแนกตัวอย่างแมลง พรรณไม้ ศัตรูพืช และศัตรู ธรรมชาติ ตัวอย่างโรคพืช และผ้าไหมในพิพิธภัณฑ์

4. ชื่อการทดลอง 02 สำรวจ รวบรวม จำแนกตัวอย่างแมลงศัตรูธรรมชาติและการเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์

4.1 **ชื่อการทดลองย่อย** 06

การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในข้าวอินทรีย์

Taxonomic Study on Spider Fauna in Organic Paddy Field

5. พืช/สาขาวิชา/สาขาวิชาย่อย ข้าว/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา/อนุกรมวิธานศัตรูธรรมชาติ

6. ประเภทงานวิจัย (พื้นฐาน/ประยุกต์/พัฒนา) พื้นฐาน

7. ผู้ดำเนินงาน

หัวหน้า วิภาดา วังศิลาบัตร

ผู้ร่วมงาน มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์

พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์

8. ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2546 **สิ้นสุด** กันยายน 2549

9. รายงานความก้าวหน้า

ตรวจเอกสารด้านอนุกรมวิธานของแมงมุมในนาข้าวของประเทศต่าง ๆ ในทวีปเอเชีย นำตัวอย่างแมงมุมที่เก็บจากนาข้าวอินทรีย์และที่เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แต่ยังไม่ได้ศึกษาอนุกรมวิธานหรือศึกษายังไม่สมบูรณ์มาทำการจำแนกวิเคราะห์ชนิด พบแมงมุม 6 วงศ์ 20 ชนิด ดังนี้ วงศ์ Araneidae พบ 6 ชนิด ดังนี้ *Argiope aemula, A. catenulata*, *Araneus inustus*, *Chorizopes* sp, *Cyrtophora citricola, Neoscona theisi* วงศ์ Tetragnathidae พบ 3 ชนิด คือ *Tetragnatha javana*, *T. virescens*, *T. mandibulata* วงศ์ Salticidae พบ 5 ชนิด คือ *Zeuxippus* sp, *Plexippus* sp, *Myrmarachne* sp, *Marpissa* sp, *Euophrys* sp. วงศ์ Oxyopidae พบ 2 ชนิด คือ *Oxyopes javanus* และ *O. lineatipes* วงศ์ Lycosidae พบ 3 ชนิด คือ *Pardosa tista*, *P. pseudoannulata*, *P. nigrotibialis* วงศ์ Micryphantidae พบ 1 ชนิด คือ *Oedothorax formosana*

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแมงมุมในนาข้าวพบว่า แมงมุมวงศ์ Araneidae ชักใยกลมดักเหยื่อ สำหรับสกุล *Argiope* จะมีลักษณะพิเศษคือ ใยมีแถบลายซิกแซกสีเงินพาดตัดกันเป็นรูปตัว x วงศ์ Tetragnathidae ชักใยกลมดักเหยื่อ แต่กลางใยจะว่างเปล่า แมงมุมวงศ์นี้มีความสำคัญต่อการ ควบคุมประชากรเพลี้ยจักจั่นสีเขียว และพบปริมาณประชากรมากที่สุดในนา วงศ์ Salticidae, Oxyopidae และ Lycosidae จับเหยื่อกินโดยตรง ไม่ชักใยดักเหยื่อ ชนิดที่สำคัญคือ *Pardosa pseudoannulata* มีความสำคัญต่อการควบคุมประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนา วงศ์ Micryphantidae ชักใยไม่เป็นระเบียบดักเหยื่อ

10. คำค้น(Keywords) นาข้าวอินทรีย์ (Organic Paddy Field)

รายงานผลงานวิจัยปี 2547

รหัสกิจกรรม	05-02-47-1003 -07

47/สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

1. **ชื่อ แผนงานหลัก** 3.1 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช ขยายพันธุ์พืช พิสูจน์พันธุ์ ตรวจสอบพืช ศัตรูพืชและจุลินทรีย์ และการอนุรักษ์พันธุ์
2. **ชื่อ กรอบโครงการวิจัย** 3.1.2 อนุรักษ์พันธุกรรมพืช จุลินทรีย์ แมลง เห็ด สาหร่าย และไหม
3. **ชื่อ กิจกรรม** 04 สำรวจ เก็บรักษา รวบรวมจำแนกตัวอย่างแมลง พรรณไม้ ศัตรูพืช และศัตรู ธรรมชาติ ตัวอย่างโรคพืช และผ้าไหมในพิพิธภัณฑ์
4. **ชื่อ การทดลอง** 02 สำรวจ รวบรวม จำแนกตัวอย่างแมลงศัตรูธรรมชาติและการเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์

   4.1 **ชื่อ การทดลองย่อย** 07

   การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในมะม่วง

   Taxonomic Study on Spider Fauna in Mango Plantation

5. **พืช/สาขาวิชา/สาขาวิชาย่อย** มะม่วง/กลุ่มกีฏและสัตววิทยา/อนุกรมวิธานศัตรูธรรมชาติ
6. **ประเภทงานวิจัย (พื้นฐาน/ประยุกต์/พัฒนา)** พื้นฐาน
7. **ผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้า วิภาดา วังศิลาบัตร

   ผู้ร่วมงาน มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์

   พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์
8. **ระยะเวลา เริ่มต้น** ตุลาคม 2546 **สิ้นสุด** กันยายน 2549
9. **รายงานความก้าวหน้า**

ตรวจเอกสารด้านอนุกรมวิธานแมงมุมในสวนผลไม้ทั้งในและต่างประเทศประมาณ 20 เรื่อง สำรวจและเก็บตัวอย่างแมงมุมในสวนมะม่วงของเกษตรกรและสถานีทดลองต่างๆของทางราชการที่จังหวัดปทุมธานี ฉะเชิงเทรา กาญจนบุรี นครนายก สุพรรณบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร และกรุงเทพมหานคร นำตัวอย่างแมงมุมที่เก็บจากสวนมะม่วงและที่เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ แต่ยังไม่ได้ศึกษาอนุกรมวิธานหรือศึกษายังไม่สมบูรณ์มาทำการจำแนกวิเคราะห์ชนิด พบแมงมุมในสวนมะม่วง 5 วงศ์ 12 สกุล 16 ชนิด ดังนี้ วงศ์ Araneidae พบ 5 ชนิดดังนี้ *Araneus* sp, *Cyclosa insulana* (Costa), *Cyclosa* sp, *Eriovixia excelsa* (Simon), *Zygiella calyptrata* (Workman) วงศ์ Theridiidae พบ 3 ชนิด คือ *Argyrodes fissifrons* O.P. Cambridge, *Theridion mystaceum* L.

Koch, *T. chikunii* Yaginuma วงศ์ Thomisidae พบ 3 ชนิด คือ *Oxytate* sp, *Misumena* sp, *Thomisus* sp. วงศ์ Salticidae พบ 3 ชนิด คือ *Phintella versicolor* (C. L. Koch), *Phintella vittata* (C. L. Koch), *Telamonia dimidiata* (Simon), วงศ์ Oxyopidae พบ 2 ชนิด คือ *Oxyopes lineatipes* (C. L. Koch), *O. javanus* Thorell ทำการบรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธานและวาดภาพแมงมุมที่พบในสวนมะม่วงแต่ละชนิด

การศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแมงมุมในสวนมะม่วงพบว่าแมงมุมวงศ์ Araneidae ชักใยกลมดักเหยื่อ วงศ์ Theridiidae ชักใยแบบไม่เป็นระเบียบดักเหยื่อ วงศ์ Thomisidae ซุ่มจับเหยื่อกินโดยตรง วงศ์ Salticidae และ Oxyopidae กระโดดตะครุบเหยื่อ แมงมุมชนิดที่มีความสำคัญในสวนมะม่วง ได้แก่ *Zygiella calyptrata* ชักใยกลมดักเหยื่อช่วงเวลาเย็นและกลางคืน คอยดักกินแมลงที่บินได้มาติดใย เช่น ผีเสื้อ เพลี้ยอ่อน ชนิด *Phintella versicolor* และ *Oxyopes lineatipes* หากินกลางวันโดยการตะครุบจับเหยื่อกินโดยตรง อาหารได้แก่ แมลงวันผลไม้ เพลี้ยต่าง ๆ ผีเสื้อ

10. **คำค้น(Keywords)** มะม่วง (Mango)

สำรวจ รวบรวม จำแนกตัวอย่างสาเหตุโรคพืช และการเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์

Surveying, Collecting and Identification Plant Disease Samples for Herbarium Collection

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช พรพิมล อธิปัญญาคม ธารทิพย์ ภาสบุตร
ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี ศรีสุข พูนผลกุล วุฒิศักดิ์ บุตรธนู

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืชจาก จังหวัดสมุทรสาคร ราชบุรี เพชรบุรี สุราษฎร์ธานี ชุมพร กระบี่ พิจิตร เลย อุบลราชธานี เชียงใหม่ เชียงราย ระยอง จันทบุรี ในระหว่างเดือน ตุลาคม 2546 – กันยายน 2 547 นำตัวอย่างทำตัวอย่างแห้งได้จำนวน 204 ตัวอย่าง ซึ่งสามารถจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุได้จำนวน 75 ตัวอย่าง และกำลังดำเนินการจำแนกชนิดของตัวอย่างเหลือต่อไป

รหัสกิจกรรม 05-02-47-1004

คำนำ

ในปัจจุบันได้มีการลดกำแพงภาษีสำหรับสินค้าเกษตร เพื่อสนับสนุนการค้าเสรี จึงมีความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรฐานหรือการควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ สารพิษ โลหะหนัก และผลตกค้างจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และปราศจากแมลง โรคพืช ตลอดจนวัชพืช เพื่อเป็นการปกป้องสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช ดังนั้นจึงจะต้องมีการอ้างอิงการเกิดและระบาดของศัตรูพืชในประเทศ การเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ เป็นวิธีการที่ดีที่สุด เพื่อรวบรวมและเก็บรักษาและใช้เป็นแหล่งศึกษา ใช้ตรวจสอบกลับเมื่อมีปัญหาเกี่ยวกับโรคพืช ตลอดจนเป็นแหล่งข้อมูลที่สำคัญที่ใช้ประกอบการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชด้านโรคพืช เพื่อเสนอต่อประเทศคู่ค้าในการส่งออกสินค้าเกษตร และตรวจสอบเมื่อมีการนำเข้าสิค้าเกษตรเข้ามาในประเทศ

จากการเกิดการค้าเสรีภายใต้ WTO ในปี 1995 ได้มีการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชขึ้นมาเป็นข้อต่อรองทางการค้าสินค้าเกษตร ประเทศต่าง ๆ ที่ต้องการส่งออกหรือนำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องยึดหลัก SPS Agreement เพื่อเพิ่มการแข่งขัน และเปิดตลาดสินค้า และยกเลิกสินค้าที่มีความเสี่ยงต่อการเกษตรภายในประเทศเพื่อเป็นการป้องกันอุตสาหกรรมเกษตรจากศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศมาก่อน โดยมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์และการประเมินความเสี่ยงในการจัดการสินค้าเกษตรดังกล่าวด้วยความโปร่งใสและสามารคตรวจสอบทางเทคนิคได้

ในความตกลงระหว่างประเทศ The International Plant Protection Convention (IPPC) และ SPS Agreement ได้กำหนดความตกลงการส่งสินค้าไปยังต่างประเทศว่าจะต้องมีบัญชีรายชื่อศัตรูพืชประกอบไปด้วย ความตกลงภายใต้ SPS Agreement ข้อ 6.3 บันทึกไว้ว่า “สมาชิกผู้ส่งออกเมื่ออ้างถึงสินค้าว่าปราศจากศัตรูพืช หรืออ้างว่ามีระดับศัตรูพืชต่ำ หากประเทศผู้นำเข้าต้องการตรวจสอบ ประเทศผู้ส่งออกต้องดำเนินการตามที่ประเทศนำเข้าต้องการด้วยการตรวจสอบ ทดลอง หรือด้วยวิธีการอื่น ๆ” และ ความตกลงภายใต้ SPS Agreement ข้อ Annex B ย่อหน้า 3(b) บันทึกไว้ว่า “สมาชิกต้องมีคำตอบต่อคำถามของประเทศนำเข้าเพื่อความมั่นใจในขั้นตอนของการควบคุมและการตรวจสอบศัตรูพืช การผลิตพืชและวิธีการกักกันศัตรูพืช การควบคุมวิธีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และการตรวจสอบเพื่อการรับรองอาหาร ว่ามีการปฏิบัติจริงในประเทศผู้ส่งออก” ประเทศที่ทำการค้าเสรีภายใต้ข้อตกลง WTO ทุกประเทศจะต้องยินยอมปฏิบัติตามเงื่อนไขของ IPPC และ WTO ภายใต้มาตรการ SPS Agreement ถ้าจะต้องทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชที่ติดไปกับสินค้าเกษตร หน่วยงานกักกันศัตรูพืชของประเทศสมาชิกจะต้องมีศักยภาพในการดำเนินการได้

ความสำคัญของฐานข้อมูลที่อ้างอิงด้วยตัวอย่างพืช ได้มีการบันทึกข้อมูลศัตรูพืชและจุลินทรีย์โรคพืชไว้ในแหล่งข้อมูลต่าง ๆ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้มีระดับความน่าเชื่อถือแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในการค้าสากลข้อมูลที่ปรากฏบนกระดาษบันทึกข้อมูลที่เก็บไว้กับตัวอย่างศัตรูพืชที่มีการจัดการดูแลโดยเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เก็บตัวอย่างจะเป็นข้อมูลที่สำคัญมาก เนื่องจากเป็นข้อมูลที่มีรายละเอียด เช่น สถานที่เก็บ วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ ชื่อพืชอาศัย และการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ นอกจากข้อมูลดังกล่าวจะใช้ในการตรวจสอบชนิดของเชื้อสาเหตุของพืชแล้วจะได้ข้อมูลการแพร่กระจายของจุลินทรีย์โรคพืชได้อีกด้วย ในทางกลับกันเอกสารที่ไม่มีตัวอย่างศัตรูพืชเก็บไว้ จะเป็นเอกสารที่ไม่มีคุณค่าและเป็นสิ่งกีดขวางการส่งออก เอกสารรายงานที่ผิดพลาดจะทำให้ต้องมีการตรวจสอบและพิสูจน์สถานภาพของศัตรูพืชใหม่ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ตัวอย่างที่เก็บอย่างถูกต้อง มีการบันทึกข้อมูลที่ดี และเก็บในสถานที่ปลอดภัย สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการต่อรองในการทำ market access และการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

พิพิธภัณฑ์โรคพืชเป็นสถานที่รวบรวมตัวอย่างโรคพืช เพื่อใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงการเกิดและการระบาดของโรคพืชในแต่ละประเทศ และใช้ตรวจสอบกลับเมื่อมีปัญหาเกี่ยวกับโรคพืช และเชื้อสาเหตุตลอดจนใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อ เพื่อเสนอแก่ประเทศคู่ค้าต่อไป ปัจจุบันประเทศต่าง ๆ ได้จัดทำพิพิธภัณฑ์โรคพืชของตนเอง ดังเช่นในประเทศออสเตรเลียมีพิพิธภัณฑ์โรคพืชถึง 3 แห่ง คือ Indooroopolly QLD (BRIP) , Orange NSW (DAR) และ Knoxfield VIC (VPRI) ทั้ง 3 แหล่งมีตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรารวมทั้งหมด 180,000 ตัวอย่าง ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย ไวรัส ไส้เดือนฝอย และ Phytoplasma 10,000 ตัวอย่าง ในส่วนของ Plant Pathology Herbarium (BRIP) ในรัฐ Brisbane มีตัวอย่างโรคพืช 41,000 ตัวอย่าง (Beasley and Shivas, 2003) ในประเทศไทยมีการสำรวจและบันทึกตลอดจนรายงานถึงโรคของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทย จัดทำเป็นดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย (พัฒนา และคณะ, 2537) และมีเอกสารทางวิชาการรายงานถึงรายละเอียดของโรคพืชที่สำคัญมากมายจากกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และจากสถาบันการศึกษา เช่น คู่มือโรคพืชไร่ (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2545) โรคไม้ผลเขตกึ่งร้อน (นิพนธ์, 2542) เป็นต้น ทางด้านการเก็บตัวอย่างโรคพืชนั้นทางกลุ่มวิจัยโรคพืชได้จัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชและเก็บรักษาบางส่วนไว้ตั้งแต่เริ่มก่อตั้งหน่วยงานโรคพืชวิทยา โดยเฉพาะตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ แต่ยังไม่ได้จัดตั้งเป็นพิพิธภัณฑ์

ในระหว่างปี 2001-2002 หน่วยงาน Australian Agency for International Development (AusAID) ได้จัดประชุม ASEANET LOOP ครั้งที่ 2 ขึ้นและมีการสนับสนุนให้จัดตั้งศูนย์เก็บรักษาตัวอย่างแมลงและตัวอย่างโรคพืชในประเทศภูมิภาคเอเชียหลายประเทศ เนื่องจากได้มีการตรวจสอบศูนย์เก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืชในประเทศภูมิภาคเอเชียและพบว่าไม่มีประเทศใดที่สามารถให้ข้อมูลสถานภาพศัตรูพืชได้อย่างครบถ้วน เนื่องจากการเก็บตัวอย่างโรคพืชมีจำนวนน้อยกว่าการเก็บตัวอย่างแมลง กรมวิชาการเกษตรได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากประเทศออสเตรเลีย (Thai-Australia Government

Sector Linkages Program (TAGSLP), 2003) สำหรับการดำเนินการโครงการเสริมสร้างสมรรถนะด้านสุขอนามัยพืช : การพัฒนาพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืชและการรวบรวมเชื้อโรคพืชในประเทศ โดยจัดสัมมนาเชิงปฏิบัติการขึ้นที่โรงแรมวงศ์อำมาตย์ จ.ชลบุรี ระหว่างวันที่ 4-6 สิงหาคม 2546 โดยมีเป้าหมายให้ความรู้แก่นักวิชาการและผู้บริหารได้ทราบถึงความสำคัญของตัวอย่างโรคพืชที่จะมีบทบาทต่อการค้าระหว่างประเทศ และกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชได้จัดทำห้องพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างโรคพืชขึ้นที่ตึกอิงคศรีกสิการ ชั้น 2 ซึ่งมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการที่จะต้องปรับปรุงห้องพิพิธภัณฑ์พร้อมกับสำรวจเก็บตัวอย่างโรคที่พบในประเทศไทยเพื่อเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์อย่างเป็นหมวดหมู่ในสภาพที่คงอาการของโรคได้อย่างชัดเจน เพื่อประโยชน์ในระยะยาวต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรอบไม้อัดตัวอย่างโรคพืช
2. กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์
3. ซองกระดาษใส ซองกระดาษแข็งใส่ตัวอย่าง และกล่องกระดาษ
4. กล้องถ่ายภาพ
5. คอมพิวเตอร์ เครื่องสแกนเนอร์
6. กล้องจุลทัศน์ Light microscope และ Stereo microscope
7. อุปกรณ์แยกเชื้อ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฯลฯ
8. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น กระดาษบันทึกข้อมูล GPS ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกากรรไกร ฯลฯ

วิธีการ

1. การสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจตัวอย่างโรคพืชตามแหล่งปลูกบันทึกภาพตัวอย่างโรคพืช ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก และบรรจุลงในกล่องเก็บความเย็น บันทึกรายละเอียดชนิดพืช สถานที่ และวันที่เก็บ นำตัวอย่างมาอัดแห้งเพื่อทำตัวอย่างแห้งเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ และศึกษาลักษณะอาการและทำการแยกเชื้อสาเหตุเพื่อจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ

2. การอัดตัวอย่างแห้งโรคพืช

2.1 การอัดตัวอย่างแห้งโรคพืช

ตัดตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรคออกเป็นชิ้น วางบนกระดาษหนังสือพิมพ์หรือกระดาษฟาง พร้อมกับใบบันทึกข้อมูลของตัวอย่าง วางกระดาษหนังสือพิมพ์ทับลงบนตัวอย่าง วางตัวอย่างที่ทำเสร็จแล้วระหว่างกรอบไม้อัดตัวอย่างรัดให้แน่น เปลี่ยนกระดาษหนังสือพิมพ์หรือกระดาษฟางทุกวันเป็นเวลา 5-10 วันขึ้นกับความหนาของตัวอย่าง ระยะเวลาในการอัดตัวอย่างจนกระทั่งตัวอย่างแห้ง ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ความชื้นของตัวอย่างและสภาพแวดล้อม

นำตัวอย่างที่แห้งแล้วลงในซองกระดาษบางใสพร้อมกับ dried culture สอดซองกระดาษที่บรรจุตัวอย่างลงในซองกระดาษแข็ง ซองกระดาษแข็งบรรจุตัวอย่างต้องมีข้อมูลกำกับบนหน้าซองซึ่งประกอบด้วยข้อมูล

-รหัสหมายเลขของศูนย์และหมายเลขของตัวอย่าง

-ชื่อวิทยาศาสตร์ของเชื้อสาเหตุ

-ชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชอาศัย หรือสิ่งที่เชื้อสาเหตุอาศัย

-สถานที่เก็บประกอบด้วย ประเทศ จังหวัด เส้นรุ้ง เส้นแวงของสถานที่เก็บ

-ชื่อผู้เก็บและรหัสประจำตัวผู้เก็บ

-วันที่เก็บ

-ชื่อผู้วินิจฉัยโรค และผู้จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

-เอกสารอ้างอิง

นำตัวอย่างแห้งที่ได้ใส่ในตู้ –40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เพื่อฆ่าไข่แมลง และแมลง เสร็จแล้วนำไปเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์

2.2 การเก็บตัวอย่าง culture แห้ง (Dried culture) ของเชื้อสาเหตุ

เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจนได้อายุที่ต้องการ กลับจานอาหารเลี้ยงเชื้อลง เท glycerol-formalin solution (2.5% glycerol และ 40% formalin) ลงในฝาจานเลี้ยงเชื้อและประกบคู่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ 1-3 วัน เพื่อฆ่าเชื้อรา ดึงแผ่นวุ้นที่มีเชื้อวางบน glycerol-formalin solution ที่เหลือบนฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้อีก 1-3 วันขึ้นกับความหนาของวุ้นจนวุ้นแห้งดึงออก นำไปเก็บรวมกับตัวอย่างพืชแห้งในพิพิทธภัณฑ์เพื่อใช้ประกอบถึงลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.การจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ

3.1 การศึกษาภายใต้กล้องจุลทัศน์

ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้อง stereomicroscope และเตรียมสไลด์ของเชื้อสาเหตุตรวจดูภายใต้กล้อง microscpe ศึกษาการเจริญบนพืชด้วยการตัด section บริเวณที่แสดงอาการ และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทัศน์ ถ่ายภาพลักษณะของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้อง

3.2 การแยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplanting

แยกเชื้อจากตัวอย่างโรคพืชโดยตัดชิ้นตัวอย่างโรคที่เป็นส่วนต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติ ขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strengh Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) หรือ Potato Dextrose Agar (PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทัศน์แบบสเตอริโอ แยก hyphal tip ของเชื้อราที่เจริญออกมา ย้ายลงบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเก็บไว้เพื่อศึกษาลักษณะรายละเอียดของเชื้อประกอบกับเอกสารอ้างอิงเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อราต่อไป

4. การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลของตัวอย่างลงในคอมพิวเตอร์ เช่น ข้อมูลที่กำกับตัวอย่าง ข้อมูลภาพถ่าย ภาพวาดของเชื้อสาเหตุ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2546
สิ้นสุด กันยายน 2549

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืช

ผลจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืชจาก จังหวัดสมุทรสาคร ราชบุรี เพชรบุรี สุราษฎร์ธานี ชุมพร กระบี่ พิจิตร เลย อุบลราชธานี เชียงใหม่ เชียงราย ระยอง จันทบุรี ได้ตัวอย่างโรคพืชจำนวน 204 ตัวอย่าง พร้อมกับข้อมูลลักษณะอาการ และแหล่งเก็บตัวอย่างพร้อมกับบันทึกภาพตัวอย่างโรคพืช

2. การจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ผลการจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช ได้อัดแห้งตัวอย่างโรคพืชทั้ง 204 ตัวอย่าง และจัดใส่ลงในซองกระดาษใส่พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล อยู่ในระหว่างเตรียมนำไปเก็บในตู้แช่แข็ง –40 องศาเซลเซียสเพื่อกำจัดแมลง ก่อนจะนำไปเก็บในตู้เก็บตัวอย่างในห้องที่ปรับอุณหภูมิ

3. การจำแนกชนิดสาเหตุโรค

ตัวอย่างที่เก็บมาได้ทำการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโดยนักวิชาการที่เชี่ยวชาญในแต่ละชนิดของเชื้อประกอบกับเอกสารการจำแนกชนิดของเชื้อ สามารถจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุได้ 75ตัวอย่าง ดังตารางที่ 1 ซึ่งจัดตามชนิดเชื้อสาเหตุของโรค

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืชในระหว่าง เดือน ตุลาคม 2546-เดือน กันยายน 2547 ได้ตัวอย่างโรคพืชจำนวน 204 ตัวอย่าง ซึ่งอัดทำเป็นตัวอย่างแห้งเรียบร้อยแล้ว จากตัวอย่างที่ได้สามารถจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุได้ 75 ตัวอย่าง และจะต้องดำเนินการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุของตัวอย่างที่เหลือ รวมทั้งสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืชเพื่อเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2545. คู่มือโรคพืชไร่. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 106 หน้า.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตกึ่งร้อน. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร “ หมอพืช-ไม้ผล” โครงการเพื่อบรรเทาผลกระทบทางสังคมเนื่องจากวิกฤตการณ์ทางเศรษฐกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 144 หน้า.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า.

Beasley, D. and R. Shivas . 2003. Plant Pathogenic Fungi. Department of Primary Industries Queensland Government. Australia.

Thai-Australia Government Sector Linkages Program (TAGSLP): 2003. Workshop on Developing a National Plant Disease Herbarium in Thailand . Pattaya and Bangkok, 4-8 August 2003

.....

ตารางที่ 1 เชื้อสาเหตุของโรคพืชชนิดต่าง ๆ ที่เป็นตัวอย่างแห้ง

เชื้อสาเหตุ	พืช	โรค
Algae		
Cephaleuros virescence	ส้มเขียวหวาน (2 isolate)	ใบจุดสาหร่าย
	มะนาว	ใบจุดสาหร่าย
	ลำไย (3 isolate)	ใบจุดสาหร่าย
	ลิ้นจี่	ใบจุดสาหร่าย
	กระท้อน	ใบจุดสาหร่าย
	ลองกอง	ใบจุดสาหร่าย
	เงาะ (11 isolate)	ใบจุดสาหร่าย
	ส้ม	ใบจุดสาหร่าย
	ฝรั่ง	ใบจุดสาหร่าย
	ทุเรียน (2 isolate)	ใบจุดสาหร่าย
Bacteria		
Xanthomonas campestris	หอมแดง	ใบไหม้
Xanthomonas campestris pv. *citri*	ส้มเขียวหวาน (5 isolate)	แคงเคอร์
	มะนาว (2 isolate)	แคงเคอร์
	ส้มโอ (2 isolate)	แคงเคอร์
	มะกรูด	แคงเคอร์
Fungi		
Alternaria zinniae	บานชื่น	ใบจุด
Bipolaris maydis	ข้าวโพด	ใบไหม้แผลเล็ก
Bipolaris turcica	ข้าวโพด	ใบไหม้แผลใหญ่
Cercospora arachiticola	ถั่วลิสง	ใบจุด
Choanophora sp.	พริก	ยอดและดอกเน่า
Colletotrichum gloeosporioides	ยางพารา	ใบจุด anthracnose
	มะม่วง (6 isolate)	ใบจุด anthracnose
Coleosporium plumeriae	ลั่นทม	ราสนิม
Colletotrichum falcatum	อ้อย	ใบจุด
Corynespora cassiicola	ยางพารา	ใบจุดก้างปลา

เชื้อสาเหตุ	พืช	โรค
	ถั่วเหลือง	ใบจุดวง
	ไฮเดรนเยีย (5 isolate)	ใบจุด
Colletotrichum sp.	ถั่วลิสง	แอนแทรคโนส
Drechslera haevae	ยางพารา	ใบจุดตานก
Helminthosporium oryzae	ข้าว (4 isolate)	ใบจุดสีน้ำตาล
Hemileia vastatrix	กาแฟอาราบิก้า (2 isolate)	ราสนิม
Leptosphaeria saccharide	อ้อย	ใบจุด
Melioa sp.	ลำไย	ราดำ
Mycovellosiella koepkii	อ้อย	ใบจุด
Phakopsora ampelopsidis	องุ่น	ราสนิม
Phytophthora capsici	ลำไย (2 isolate)	ราน้ำฝน
Puccinia polysora	ข้าวโพด	ราสนิม
Puccinia thaliae	พุทธรักษา	ราสนิม
Puccinia nakanishikii	ตะไคร้	ราสนิม
Rhizoctonia solani	ลำไย	ใบติด
Rhizoctonia solani	ทุเรียน	ใบติด

สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างวัชพืชในนาข้าว

Survey and Collection of Weed Specimen in Paddy Field

คมสัน นครศรี พัชรินทร์ วณิชย์อนันตกุล ไชยยศ สุพัฒนกุล
เพ็ญศรี นันทสมสราญ
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจวัชพืชในแปลงนาของเกษตรกรในเขตนาชลประทานภาคกลาง ได้แก่ จังหวัด ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง สิงห์บุรี และ ชัยนาท เขตอาศัยน้ำฝน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ ยโสธร ร้อยเอ็ด และมหาสารคาม ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัด ลพบุรี ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-กันยายน 2547 ผลการสำรวจพบ วัชพืชประเภทใบแคบ 4 ตัวอย่าง ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.) หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.) Link.) หญ้าไม้กวาด (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees) และ หญ้าแดง (*Ischaemum rugosum* Salisb.) วัชพืชประเภทใบกว้าง 12 ตัวอย่าง ได้แก่ เทียนนา (*Ludwigia hyssopifolia* (G. Don.) Exell) ผักปอดนา (*Sphenoclea* zeylanica *Gaertn.*) ขาเขียด (*Monochoria vaginalis* (Burm.f.) Presl) โสนหางไก่ (*Aeschynomene aspera* Linn.) เซ่งใบมน (*Melochia corchorifolia* Linn.) ตาลปัตรฤาษี (*Limnocharis flava* (L.) Buchen.) ผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica* Forsk.) เงี่ยงน้ำ (*Lindernia anagallis* (Burm.f.) Pennell) ผักปราบนา (*Cyanotis axillaris* (L.) D. Don) หญ้าขี้กราก (*Xyris indica* Linn.) ตับเต่านา (*Hydrocharis dubia* (Bl.) Back.) แพงพวยน้ำ (*Jussiaea repens* Linn.) วัชพืชประเภทกก 8 ตัวอย่าง ได้แก่ กกขนาก (*Cyperus difformis* Linn.) กกทราย (*Cyperus iria* Linn.) แห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.) แห้วหมูนา (*Cyperus pulcherrimus* Willd. ex Kunth) กกสามเหลี่ยมเล็ก (*Cyperus imbricatus* Retz) หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl) ก้ามกุ้ง (*Fuirena ciliaris* (L.) Roxb.) และ แห้งทรงกระเทียมเล็ก (*Scurpus juncoides* Roxb.) และ วัชพืชประเภทเฟิน 2 ตัวอย่าง ได้แก่ ผักแว่น (*Marsilea crenata* Presl) และ ผักกูดน้ำ (*Ceratopteris thalictroides* Brongn.)

รหัสกิจกรรม 05-02-47-1005

คำนำ

วัชพืชเป็นปัญหาสำคัญในการปลูกข้าว สามารถทำให้ผลผลิตข้าวลดลงขึ้นอยู่กับวิธีการปลูกข้าว สำหรับนาหว่านน้ำตมและนาหว่านข้าวแห้งผลผลิตข้าวลดลง 58 และ 90 % ตามลำดับ (Ampong-Nyarko and De Datta, 1991) และนาดำ 23-33.6 % (ประสาน, 2540) นอกจากนั้นวัชพืชแต่ละชนิดสามารถทำให้ผลผลิตข้าวลดลงแตกต่างกัน เช่น หญ้าไม้กวาด ผลผลิตข้าวลดลงมากกว่า 40 % ส่วนหญ้าข้าวนก หญ้านกสีชมพู ผักปอดนา และ หนวดปลาดุก ผลผลิตข้าวลดลง 100, 85, 45 และ 50 % ตามลำดับ (Ampong-Nyarko and De Datta, 1991) การแพร่ระบาดของวัชพืชในแต่ละท้องที่แตกต่างกันไป ในท้องที่บางแห่งในระยะเวลาที่ผ่านมาไม่เคยมีการแพร่ระบาด แต่ปัจจุบันกลับมีการแพร่ระบาด เช่น ข้าววัชพืช (จรรยา, 2547) ซึ่งทำความเสียหายให้กับข้าวปลูกทั้งด้านปริมาณและคุณภาพของผลผลิต ดังนั้นเพื่อให้ทราบข้อมูลการแพร่ระบาดของวัชพืชในแหล่งปลูกข้าว จึงต้องทำการสำรวจวัชพืชในนาข้าว เพื่อใช้เป็นแนวทางในการจัดการวัชพืชที่เหมาะสมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ ประกอบด้วย

1. กรอบสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 0.5x0.5 เมตร
2. ถุงกระดาษและถุงพลาสติก
3. อุปกรณ์จดบันทึก
4. แผงสำหรับจัดตัวอย่างวัชพืช

วิธีการ ทำการสำรวจในแปลงปลูกข้าวเขตชลประทานเขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัด ปทุมธานี นนทบุรี สุพรรณบุรี ชัยนาท นครปฐม ราชบุรี อ่างทอง สิงห์บุรี และ สระบุรี ในเขตอาศัยน้ำฝน ภาคตะวันเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ ยโสธร ร้อยเอ็ด และมหาสารคาม ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ และ ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัด ลพบุรี สำรวจในระหว่างเดือน กุมภาพันธ์-กันยายน 2547

ผลการทดลอง

การสำรวจวัชพืชในแปลงนาในเขตชลประทาน การปลูกข้าวเป็นแบบนาหว่านน้ำตม พบว่า ชนิดของวัชพืชและการแพร่กระจายของวัชพืชจะมีมากกว่าการทำนาแบบปักดำที่อาศัยน้ำฝน วัชพืชใบแคบจะพบมากในนาหว่านน้ำตม ส่วนในนาดำจะพบวัชพืชประเภทใบกว้างมากกว่า อย่างไรก็ตามชนิดของวัชพืชจะพบคล้ายๆ กัน แต่การแพร่ระบาด และปริมาณความหนาแน่นแตกต่างกัน ซึ่งนาหว่านน้ำตมปริมาณความหนาแน่นของวัชพืชต่อพื้นที่ มีมากกว่าโดยเฉพาะวัชพืชใบแคบ วัชพืชที่สำรวจพบมีดังนี้

วัชพืชประเภทใบแคบ 4 ตัวอย่าง

1. หญ้าข้าวนก	*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.
2. หญ้านกสีชมพู	*Echinochloa colonum* (L.) Link.
3. หญ้าไม้กวาด	*Leptochloa chinensis* (L.) Nees
4. หญ้าแดง	*Iscaemum rugosum* Salisb.

วัชพืชประเภทใบกว้าง 12 ตัวอย่าง

1. เทียนนา	*Ludwigia hyssopifolia* (G. Don.) Exell
2. ผักปอดนา	*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.
3. ขาเขียด	*Monochoria vaginalis* (Burm.f.) Presl
4. โสนหางไก่	*Aeschynomene aspera* Linn.
5. เซ่งใบมน	*Melochia corchorifolia* Linn.
6. ตาลปัตรฤาษี	*Limnocharis flava* (L.) Buchen.
7. ผักบุ้ง	*Ipomoea aquatica* Forsk.
8. เงี่ยงน้ำ	*Lindernia anagallis* (Burm.f.) Pennell
9. ผักปราบนา	*Cyanotis axillaris* (L.) D. Don
10. หญ้าขี้กราก	*Xyris indica* Linn.
11. ตับเต่านา	*Hydrocharis dubia* (Bl.) Back.
12. แพงพวยน้ำ	*Jussiaea repens* Linn.

วัชพืชประเภทกก 8 ตัวอย่าง

1. กกขนาก	*Cyperus difformis* Linn.
2. กกทราย	*Cyperus iria* Linn.
3. แห้วหมู	*Cyperus rotundus* Linn.
4. แห้วหมูนา	*Cyperus pulcherrimus* Willd. ex Kunth
5. กกสามเหลี่ยมเล็ก	*Cyperus imbricatus* Retz
6. หนวดปลาดุก	*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl
7. ก้ามกุ้ง	*Fuirena ciliaris* (L.) Roxb.
8. แห้งทรงกระเทียมเล็ก	*Scurpus juncoides* Roxb.

วัชพืชประเภทเฟิน 2 ตัวอย่าง

1. ผักแว่น	*Marsilea crenata* Presl
2. ผักกูดน้ำ	*Ceratopteris thalictroides* Brongn.

สรุป

การสำรวจวัชพืชในแปลงนาของเกษตรกรในเขตนาชลประทานภาคกลาง ได้แก่ จังหวัด ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง สิงห์บุรี และ ชัยนาท เขตอาศัยน้ำฝน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ ยโสธร ร้อยเอ็ด และมหาสารคาม ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัด ลพบุรี ผลการสำรวจพบวัชพืชประเภทใบแคบ 4 ตัวอย่าง วัชพืชประเภทใบกว้าง 12 ตัวอย่าง วัชพืชประเภทกก 8 ตัวอย่าง และวัชพืชประเภทเฟิน 2 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

จรรยา มณีโชติ. 2547. ข้าวหาง ข้าวแดง ข้าวดีด ภัยคุกคามของชาวนา. *กสิกร* 77: 6-15.

ประสาน วงศาโรจน์. 2540. การจัดการวัชพืชในนาข้าว. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 175 หน้า.

Ampong-Nyarko, S. and S. K. De Datta. 1991. Weed control in rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 113 p.

ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ ..พืชต่างถิ่นชนิดรุกราน

(*Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch.Biq.: A New Alien Weed of Thailand)

ศิริพร ซึงสนธิพร วินัย สมประสงค์[1] ปราโมทย์ ไตรบุญ[1]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ (*Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch.Biq) เป็นพืชนำเข้าจากไต้หวัน เมื่อประมาณปี 2541-2542 เพื่อประโยชน์ในการเลี้ยงผึ้ง โดยนำไปปลูกที่ จ.เชียงใหม่ เป็นแห่งแรก สำรวจพบเมื่อเดือนสิงหาคม 2543 นำมาศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืชของพืชนี้ในประเทศไทย ที่เรือนทดลองกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช บริเวณเกษตรกลางบางเขน พบว่าพืชนี้พืชนี้สามารถออกดอกติดเมล็ดและแก่พร้อมงอก ภายในเวลาประมาณ 58 วันหลังงอก และสามารถออกดอกได้ตลอดปี ในหนึ่งช่อดอกให้เมล็ดมาก 19-64 เมล็ด หรือเฉลี่ยประมาณ 36 เมล็ด/ช่อดอก เมล็ดไม่มีการพักตัว สามารถงอกได้ 90-100% ในห้องปฏิบัติการ แต่ในดินงอกได้ประมาณ 70 % ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ 1 ต้น ที่เจริญอย่างอิสระ (1 ต้น/ตร.ม) สามารถสร้างเมล็ดได้ถึง 13,929 เมล็ดในหนึ่งปี หรือที่ขึ้นอย่างค่อนข้างหนานแน่น (58 ต้น/ตร.ม) สามารถผลิตเมล็ดได้ประมาณ 44,142 เมล็ดในพื้นที่ 1 ตร.ม ในหนึ่งปี เมล็ดก้นจ้ำขาวดอกใหญ่มีขนาดเมล็ดค่อนข้างใหญ่ ตรงปลายเป็นรยางค์คล้ายตะขอ 2-6 อัน ตามเมล็ดและรยางค์มีหนามเล็กๆ จำนวนมาก ทำให้ติดเสื้อผ้า สัมภาระ หรือขนสัตว์ ต่างๆ ได้ง่าย และดอกที่สวยงาม เป็นปัจจัยดึงดูดให้มนุษย์ช่วยแพร่กระจายพืชชนิดนี้ อาจเป็นวัชพืชร้ายแรงในอนาคตได้

คำนำ

ในอดีตที่ผ่านมา พืชที่เป็นวัชพืชร้ายแรง ก่อให้เกิดความเดือดร้อนแก่เกษตรกร และเสียหายต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างมาก เช่น ผักตบชวา ไมยราบยักษ์ หญ้าขจรจบ หญ้าข้าวนก ล้วนเป็นพืชที่มิได้มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย แต่ถูกนำเข้าจากต่างประเทศ ด้วยความตั้งใจ (Intentional introduction) เพื่อวัตถุประสงค์ใดวัตถุประสงค์หนึ่ง เช่น เพื่อเป็นพืชอาหารสัตว์ ปรับปรุงบำรุงดิน หรือเป็นไม้ประดับ ถูกต้องตามกฎหมายระเบียบ (legal introduction) หรือไม่ถูก (illegal introduction) บางครั้งเป็นการนำเข้าโดยรู้เท่าไม่ถึงการณ์ (ignorant introduction) หรือโดยไม่ตั้งใจ (unintentional introduction) เช่น การปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชในสินค้าเกษตร การติดตามสัมภาระ เสื้อผ้า หรือติดตามสัตว์เลี้ยง

รหัสกิจกรรม 05-02-47-1005-03

[1]กองคุ้มครองพันธุ์พืช

พืชต่างถิ่นเมื่อถูกชักนำเข้าถิ่นใหม่ จะมีการปรับตัว (adaptation) เพื่อความอยู่รอดในสภาพนิเวศใหม่ การตั้งตัว (establishment) ซึ่งหากปรับตัวได้ดี มีความแข็งแกร่ง หรือรุกราน (aggressive) ก็จะกลายเป็นวัชพืชร้ายแรง (noxious weed) ได้ พืชบางชนิดแพร่กระจายปะปนไปกับพืชอื่น และพบขึ้นทั่วไป โดยมิได้ก่อให้เกิดปัญหา เสมือนเป็นพืชพื้นเมือง (naturalization) หรือวัชพืชร้ายแรงที่ถูกควบคุม/จัดการกับพืชอาจเปลี่ยนสถานะเป็นเสมือนพืชพื้นเมือง เช่น ผักตบชวา (*Eichornia crassipes* (Mart.) Solms) หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* (L.) Klotzsch & Garcke) การเปลี่ยนแปลงในแต่ละขั้นตอนมีระยะเวลาแตต่างกันไป และไม่สามารถแบ่งแยกได้ชัดเจน เช่น ผักตบชวา ถูกนำเข้าเมื่อ พ.ศ. 2444 ต่อมาในปี พ.ศ. 2456 มีการประกาศใช้พระราชบัญญัติผักตบชวา เพื่อควบคุมการระบาด แต่ยังคงเป็นปัญหาวัชพืชน้ำที่สำคัญของประเทศไทยจนถึงปัจจุบัน ในท้องที่ที่ต้องสัญจรทางน้ำ หรือสถานที่ท่องเที่ยวทางน้ำ ถึงแม้ในบางท้องสามารถใช้ประโยชน์จากผักตบชวาทำเครื่องจักสาน ยอดอ่อนใช้ประกอบอาหารก็ตาม แต่ในปริมาณจำกัดมาก ซึ่งจะเห็นได้ว่า ผักตบชวาใช้เวลาประมาณ 12 ปี หลังจากนำเข้า กลายเป็นวัชพืชร้ายแรง (ตารางที่ 1) และหลังจากนั้น อีก 90 ปี (พ.ศ.2456-พ.ศ.2546) หรือประมาณ 102 ปี ก็ยังไม่สามารถกำจัดได้

ตารางที่ 1 การนำเข้าพืชต่างถิ่นและระยะเวลาการเกิดเป็นปัญหาในประเทศไทย

พืช	ปีที่นำเข้า (พ.ศ.)	ปีที่เป็นปัญหา (พ.ศ.)	ระยะเวลา (ปี)
ผักตบชวา	2444	2456	12
ไมยราบยักษ์	2495	2517	22
ขจรจบ	2498	2507	9
ขจรจบดอกเหลือง	2498	2530	32

นอกจากนี้ยังมีพืชหลายชนิดที่นำเข้าเพื่อประโยชน์ทางการเกษตร และกลายเป็นวัชพืชร้ายแรง เช่น ไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* Linn.) ขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* (L.) Schult) ขจรจบดอกใหญ่ (*Pennisetum pedicellatum* Trin.) ขจรจบดอกเหลือง (*Pennisetum setosum* (Swz.) L.C. Rich) หญ้าข้าวนก (*Echinocloa crus-galli* Beauv) ขี้ไก่ย่าน (*Mikania micrantha* H.B.K.) เป็นต้น ปัจจุบันการคมนาคมมีความสะดวกรวดเร็วมากขึ้น การแพร่กระจายพันธุ์โดยมนุษย์มีส่วนเกี่ยวข้องข้ามสิ่งกีดขวางทางภูมิศาสตร์ (Geographic barrier) โดยตรงหรือปนเปื้อนมากับวัสดุต่างๆ มีโอกาสมีชีวิตรอด สามารถงอกและ/หรือเจริญเติบโตได้เมื่อพบอากาศที่เหมาะสม โดยเฉพาะในประเทศไทย ที่อุณหภูมิตลอดปีแตกต่างกันไม่มากนัก

การศึกษาวิจัยนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบและเฝ้าระวังพืชต่างถิ่นที่เข้ามาในประเทศไทย ในรูปแบบต่างๆ กัน เช่น ไม้ประดับ พืชอาหารสัตว์ หรือการนำเข้าโดยไม่ทราบสาเหตุแต่พบในสภาพธรรมชาติ กลายเป็นวัชพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเกษตรและเศรษฐกิจของประเทศได้ โดยการสำรวจพืชในพื้นที่การเกษตร และนอกพื้นที่การเกษตร ตลอดจนพรรณพืชที่มีจำหน่ายในท้องตลาด นำพืช

ที่อาจมีลักษณะเป็นพืชชนิดรุกราน มาศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม เพื่อประเมินศักยภาพการเป็นวัชพืชของพืชนั้นๆ เช่น การเจริญเติบโต การขยายพันธุ์ ความสามารถในการปรับตัวหรือมีชีวิตรอดในสภาพธรรมชาติ ความสามารถในการแข่งขันกับพืชอื่น และข้อมูลอื่นๆ ที่จำเป็น ตลอดจนหาแนวทางป้องกันก่อนที่พืชนั้นจะกลายเป็นปัญหา

ผลการสำรวจวัชพืชต่างถิ่นในประเทศไทย เมื่อปลายปี 2543 พบว่าก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ เป็นพืชที่ไม่เคยพบรายงานในประเทศไทย และขึ้นกระจัดกระจายตามข้างถนนใน จ.เชียงรายและ จ.พะเยา ในปริมาณเล็กน้อย จึงนำมาศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และติดตามการระบาดในท้องที่ต่างๆ ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจ

การสำรวจ เป็นการตรวจสอบการดำรงอยู่ของพืชนั้น ในท้องที่ต่างๆ ทั้งในพื้นที่การเกษตร และนอกพื้นที่การเกษตร เนื่องจากการแพร่กระจายของเมล็ดวัชพืชตามธรรมชาติ หากมีเมล็ดเล็กมาก และ/หรือมีรยางค์ ช่วยพยุงเมล็ดปลิวไปตามกระแสลม ก็จะกระจายไปได้ไกลๆ แต่เมล็ดก้นจ้ำขาวดอกใหญ่มีเมล็ดค่อนข้างใหญ่ ไม่มีรยางค์ช่วยในการกระจายพันธุ์ด้วยลม การกระจายพันธุ์เป็นระยะทางไกลต้องอาศัยมนุษย์ หรือสัตว์ จึงทำการสำรวจในพื้นที่เส้นทางที่พบคมนาคม และพื้นที่เกษตรกรรมในบริเวณนั้นๆ บันทึกสภาพพื้นที่ที่พบและบริเวณใกล้เคียง

2. การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์และการนำเข้า

2.1 การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ ศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างพืชที่มีในพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร ตรวจสอบกับเอกสารวิชาการ และฐานข้อมูลในและต่างประเทศ ที่สามารถสืบค้นจากอินเตอร์เน็ต

2.2 ประวัติการนำเข้า ใช้วิธีการสอบถามแบบเจาะลึก หรือสัมภาษณ์ประชาชนในพื้นที่ และนักวิชาการที่อาจเกี่ยวข้องในวงการเกษตร

3. การศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืช

เพื่อให้ได้ข้อมูลประกอบการประเมินศักยภาพการเป็นวัชพืชของก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ เก็บก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ในจาก จ.เชียงใหม่และนำมาศึกษาเพิ่มเติมที่เรือนทดลองกลุ่มวิจัยวัชพืช ดังต่อไปนี้

3.1 การงอกของเมล็ดแก่ เก็บรวมรวบเมล็ดพืชจากแหล่งที่พบ นำมาทดสอบการงอกในห้องปฏิบัติการ โดยเพาะในจานแก้ว ขนาด ϕ 95 มม. จานละ 100 เมล็ด จำนวน 6 ซ้ำ วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจนับจำนวนเมล็ดงอกหลังเริ่มทดลอง 10 วัน

3.2 การงอกของเมล็ดที่ระยะต่างๆ เก็บเมล็ดในระยะต่าง ๆ 5 ระยะคือ 1) กลีบดอกวงนอกเริ่มโรย 2) กลีบดอกวงนอกโรยหมดแล้ว 3) กลีบดอกวงในโรยหมดแล้ว 4) เมล็ดเปลี่ยนเป็นสีดำ และเริ่มแห้ง 5) เมล็ดแก่เต็มที่ นำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และนำมาเพาะในจานแก้ว ขนาด ϕ 95 มม 3 ซ้ำ ต่อหนึ่งระยะเมล็ด ซ้ำละ 10 เมล็ด เป็นเวลา 5 วัน บันทึกจำนวนเมล็ดงอกในแต่ละวัน

3.3 การเจริญเติบโต หว่านเมล็ดก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ 100 เมล็ดในแปลงทดลองขนาด 1 ตร.ม จำนวน 12 แปลง รดน้ำ และจดบันทึกจำนวนเมล็ดงอกในแต่ละวัน เมื่อครบ 1 เดือน ถอนให้เหลือ 1, 2, 4 และปล่อยตามธรรมชาติ อย่างละ 3 แปลง บันทึกการเจริญเติบ ความสูง จำนวนสาขา การออกดอก จำนวนช่อเมล็ดแก่ เก็บเมล็ดแก่ที่มีสีน้ำตาลดำของแต่ละต้น และนำมานับแยกแต่ละแปลงทุกวันเว้นวัน

3.4 คุณสมบัติทางอัลลิโลพาธียับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอื่นในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ไมยราบยักษ์เป็นพืชทดสอบ เปรียบเทียบกับก้นจ้ำขาวที่มีอยู่เดิมในประเทศไทย คือ *B. pilosa* var. *pilosa* และ *B. pilosa* var. *minor* ใช้ใบแห้งและใบสด พืชทั้งสามชนิด น้ำหนัก 0.01, 0.05,และ 0.1 กรัม วางตรงกลางระหว่างชั้นวุ้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร (ในหลอดแก้วก้นตัด เส้นผ่าศูนย์กลาง 29 มิลลิเมตร สูง 130 มิลลิเมตร) ปล่อยให้เย็น และนำเมล็ดไมยราบยักษ์ที่เริ่มงอก วางด้านบน 6 เมล็ดต่อหลอด ปิดปากหลอดด้วยพลาสติก สำหรับชุดควบคุมใช้วุ้นเปล่าไม่ใส่ใบพืช อย่างละ 3 ซ้ำ นำหลอดทดลองวางในที่อุณหภูมิคงที่ 30 องศาเซลเซียส แสง 24 ชั่วโมง วัดความยาวรากไมยราบยักษ์ เมื่อครบ 7 วัน คำนวนความยาวรากพืชทดสอบเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแพร่ระบาด

พบครั้งแรกใน จ.เชียงรายและ จ.พะเยา เมื่อเดือนสิงหาคม พ.ศ.2543 ในปริมาณเล็กน้อย ต่อมาในเดือนธันวาคม พ.ศ.2544 พบขึ้นกระจัดกระจายเป็นกอเล็กๆ ข้างทางใน จ.แพร่ น่าน พะเยา เชียงราย และลำปาง และขึ้นหนาแน่นในเขต อ.พญาเม็งราย อ.เชียงของ จ.เชียงราย และ อ.เมือง จ.พะเยา เป็นกลุ่มหนาแน่น มีพืชอื่นขึ้นปะปนน้อยมาก ทั้งสองฟากถนน เป็นระยะทางยาวมากกว่า 100 เมตร บางแห่งลามเข้าไปในสวนมะม่วง และแปลงผัก

การสำรวจในปี 2546 พบก้นจ้ำข้าวดอกใหญ่ขึ้นหนาแน่นตามเส้นทางสายหลัก ในกิ่ง อ.ภูกามยาว จ.พะเยา อ.เวียงชัย พญาเม็งราย จ.เชียงราย และได้ระบาดเข้าในพื้นที่การเกษตร เช่น แปลงข้าวโพด สวนมะม่วง สวนลำไย คันนา และแปลงผักใน อ.เวียงชัย ซึ่งพื้นที่ที่พบพืชส่วนมากอยู่ในเขตทางหลวง ซึ่งมีทั้งเป็นที่ชุ่มน้ำ ในช่องระบายน้ำข้างทาง หรือที่แห้งแล้ง เช่น เกาะกลางถนน หรือแม้แต่รอยแตกระหว่างปูนซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของเขื่อนริมฝั่งโขง ใน อ.เชียงของ จ.เชียงราย ในแปลงปลูกพืชไร่ ระบาดเข้าไปลึกจากถนนมากกว่า 10 เมตร และมีความหนาแน่นแตกต่างกันไป เช่นแปลงข้าวโพดที่ตำบลผางาม อ.เวียงชัย จ.เชียงราย อายุประมาณ 45 วัน มีพืชนี้ขึ้นกระจัดกระจาย 0-2 ต้น/ตร.ม. และเมื่อสำรวจซ้ำใน 8 เดือนต่อมาพบว่าพื้นนี้ขึ้นปกคลุมไปทั่ว (Fig.1)

มิถุนายน 2545

Fig.1 Invasion of *B. pilosa* var. *radiata* in corn field at Pha-ngam district, Amphor WiangChai, Chiangrai province, June, 2002 (above) and February, 2003 (below)

การสำรวจในปี 2547 ถึง ปี 2548 พบพืชชนิดนี้ขึ้นใน จ.กาญจนบุรี พระนครศรีอยุธยาภาคเหนือพบทุก จ.ยกเว้นแม่ฮ่องสอน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบกระจัดกระจายใน จ.อุบลราชธานี มุกดาหาร และเลย

2. การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์และการนำเข้า

2.1 การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ ศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างพืชที่มีในพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร ไม่พบตัวอย่างแห้งของพืชชนิดนี้แต่อย่างใด และเมื่อตรวจสอบกับเอกสารวิชาการต่างๆ เช่น หนังสือพันธุ์ไม้แห่งประเทศไทย (ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้, 2544) ระบุมีพืชสกุลนี้สามชนิดคือ ดาวกระจาย (*B. bipinnata* L) ก้นจ้ำขาวหรือปืนนกไส้ (*B. pilosa* L.) และก้นจ้ำ (*B. biternata* (Lour.) Merr. & Sherff) ก้นจ้ำขาวที่พบในประเทศไทยนี้อแบ่งละเอียดถึง variety มีสองพันธุ์คือ *B. pilosa* L. var. *minor* ซึ่งดอกวงนอกอาจมีกลีบดอกสีขาว หรือไม่มีก็ได้ และ *B. pilosa* L. var.*pilosa* ซึ่งดอกวงนอกไม่มีกลีบดอก (Shimizu *et al*., 2001, Lanna-world.com, 2545, http://ss.ngri.affrc.go.jp/weedlist/6.html.; http://wagnerzo.ntu.edu.tw/presserverve/ vascular_34/Book2/365/html) นอกจากนี้เอกสารเกี่ยวกับพืชสมุนไพรของไทย ก็กล่าวถึงพืชสองชนิดนี้เท่านั้น (วิทย์, 2539; คณะเภสัชศาสตร์, 2540)

สำหรับก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ที่พบนี้เป็นพืชอายุฤดูเดียวหรือหลายฤดู ต้นตรง สูง 1-1.5 เมตร แตกแขนงมาก ใบเป็นใบประกอบ 3-9 ใบย่อย ขอบใบหยัก ออกตรงข้าม ดอกเกิดที่ปลายกิ่ง เป็นช่อดอก (head) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-4 ซม. ดอกวงนอก (ray flower) จำนวน 5-10 ดอก มีกลีบดอกสีขาวประมาณ 1 ซม ดอกกลาง (disc flower) สีเหลือง เมล็ดสีดำ เรียวยาว มีรยางค์แข็ง คล้ายตะขอที่ปลาย 2-6 อัน ลักษณะที่แตกต่างจากก้นจ้ำขาว คือมีขนาดช่อดอก (head) ใหญ่กว่า ดอกวงนอกของทุกช่อดอกมีกลีบดอกสีขาว แต่ดอกวงนอกของก้นจ้ำขาวอาจมีกลีบดอกหรือไม่มีก็ได้ (Table.2) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า (*Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch.Biq)

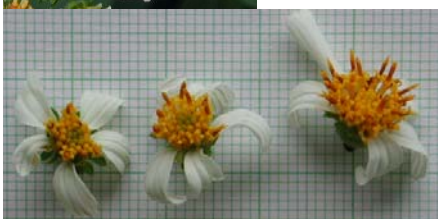
Table. 2. Comparison of *B. pilosa* var *radiata* and *B. pilosa* var *minor*

B. pilosa var *radiata* (ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่)	*B. pilosa* var *minor* (ก้นจ้ำขาว)
Habit	

B. pilosa var *radiata* (ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่)	*B. pilosa* var *minor* (ก้นจ้ำขาว)

Leaf

Inflorescent



seed

B. pilosa var *radiata* (ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่) *B. pilosa* var *minor* (ก้นจ้ำขาว)

ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ จัดอยู่ในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) สกุล *Bidens* ซึ่งมีประมาณ 200 ชนิด กระจัดกระจายอยู่ทั่วโลก ศูนย์กลางความหลากหลายอยู่ที่เขตร้อนและกึ่งร้อนของทวีปอเมริกา และอาฟริกา ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบเพียง 4-5 ชนิด ชนิดที่พบมากสุดคือ *B. pilosa* Linn. ในอดีตมีการแบ่งพืชนี้ออกเป็น 7 varieties อาจย่อยถึงขั้น forma ต่อมาพบว่ามีความแปรปรวนมาก ดังนั้น *B. pilosa* ในเขตนี้อาจประกอบด้วยหลายชนิด อย่างไรก็ตามการจัดหมวดหมู่ของพืชสกุลนี้ยังไม่มีข้อยุติแต่อย่างใด (Alonzo and Hidebrand, 1999)

การสืบค้นจากฐานข้อมูลต่างประเทศ พบว่าฐานข้อมูลพืชของสหรัฐอเมริกา (USDA PLANTS Database, 2003) ระบุว่า ในสหรัฐอเมริกามีพืชสกุลนี้ 48 ชนิด และ 1 variety ใน *B. alba* (L.) DC คือ *B. alba* (L.) DC. var. *radiata* (Schultz-Biz.) Ballard ex T.E. Melchert โดย *B. pilosa* L. var. *radiata* Scherff เป็นชื่อพ้อง ส่วน Atlas of Florida Vascular Plants (2000) ระบุว่าพืชนี้มีชื่อพ้องถึง 14 ชื่อ (Hall and Vandiver, 2000) ได้แก่ *B. abortiva* Schumach. & Thonn; *B. leucantha* Willd.; *B. leucanthema* (L.) E.H.L.Krause; *B. oxyodonta* DC; *B. pilosa* L. subvar. *radiata* (Sch.Bip.) Pitard; *B. pilosa* L. var. *radiata* Sch.Bip.; *B. pilosa* L. forma *indivisa* Sherff; *B. pilosa* L. forma *leucantha* Kuntze; *B. pilosa* L. forma *radiata* (Sch.Bip.)Sch.Bip.; *B. pilosa* L. var. *leucantha* Harv.; *Coreopsis leucantha* L.; *Coreopsis leucanthema* L.; *Kerneria leucantha* Cass. ; *Kerneria pilosa* (L.)Lowe var. *radiata* (Sch.Bip.) Lowe

การแพร่ระบาดในต่างประเทศมีรายงานระบุว่าเป็นวัชพืชร้ายแรงที่สุดของ American Samoa (IPM Plans of Work – Alabama to Hawaii) ญี่ปุ่นระบาดมากในเกาะโอกินาวา ไต้หวันพบขึ้นทั่วไป และพบระบาดในออสเตรเลีย กัวเตมาลา ฮอนดูรัส เม็กซิโก ปาปัว นิวกินี (GBIF, 2004) และสหรัฐอเมริกา ซึ่งพบระบาดในหลายรัฐ เช่น Alabama, Connecticut, Florida, Hawaii, Louisiana, Missouri และ Pennsylvania เป็นต้น

2.2 ประวัติการนำเข้า

จากการสอบถามประชาชนในพื้นที่การระบาด ได้คำตอบแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากมีการสับสนกับก้นจ้ำดอกขาวที่มีอยู่เดิม แต่มีบางคนบอกว่าไม่เคยเห็นดอกมากเท่านี้มาก่อน เมื่อสอบถาม รศ.ดร. สาวิตรี มาไลยพันธุ์ แห่งภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และคุณสุภา ยาวิเลิศ นายกสมาคมผู้เลี้ยงผึ้งแห่งประเทศไทย เมื่อเดือนกรกฎาคม พ.ศ.2545 ได้ข้อมูลตรงกันว่า เกษตรกรเลี้ยงผึ้งชาวไต้หวัน นำเมล็ดมา เมื่อ 4-5 ปี ที่ผ่านมา (ปี 2541-2542) เพื่อเป็นแหล่งอาหารให้ผึ้ง เนื่องจากพืชชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็ว ไม่ต้องดูแลรักษา ออกดอกทั้งปี โดยนำเมล็ดไปหว่านในที่ต่างๆ ที่ใกล้กับแหล่งเลี้ยงผึ้ง จึงมีผู้ตั้งชื่อพืชนี้ว่า ดาวกระจายไต้หวัน และบางแห่งเรียกเชียงรายเดซี่

3. การศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืช

ดอกใหญ่ในจาก จ.เชียงใหม่และนำมาศึกษาเพิ่มเติมที่เรือนทดลองกลุ่มวิจัยวัชพืช ดังต่อไปนี้

3.1 การงอกของเมล็ดแก่

การศึกษาเบื้องต้นโดยใช้เมล็ดที่เก็บจาก จ.เชียงราย ในเดือนธันวาคม 2544 เพาะในจานแก้ว จานละ 100 เมล็ด พบว่าสามารถงอกได้ถึงร้อยละ 90-100 แต่เมื่อนำเมล็ดที่ได้จากต้นที่ปลูกในบริเวณกลุ่มวิจัยวัชพืชมาศึกษาปรากฏว่า เมล็ดงอกได้หลังเริ่มทดลองเพียง 1 วัน และเมื่อครบ 10 วัน สามารถงอกได้ร้อยละ 59-86 เฉลี่ยเท่ากับ 72.3 เปอร์เซ็นต์

3.2 การงอกของเมล็ดที่ระยะต่าง ๆ

การงอกของเมล็ดที่อายุต่างๆ กัน เมล็ดที่นำมาทดสอบทั้ง 5 ระยะ (Fig. 2) เมื่อเพาะทุกวันทุกวันหลังจากเก็บจากต้น 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน ปรากฏว่า เมล็ดที่ได้จากดอกที่กลีบดอกวงในยังไม่โรย (1) และ (2) นั้นไม่งอกเลย ยกเว้นเมล็ดที่ระยะ (2) ที่เพาะในวันที่ 3 หลังเก็บจากต้นงอกได้เล็กน้อย แต่หลังจากนั้นก็ไม่งอก ส่วนเมล็ดที่เก็บเมื่อดอกวงในโรยแล้ว (3) สามารถงอกได้ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อเก็บทิ้งไว้นานขึ้น เปอร์เซ็นต์การงอกสูงขึ้นด้วย ส่วนเมล็ดเก็บเมื่อเริ่มเป็นสีดำ (4) และ แก่เต็มที่ (5) สามารถงอกได้มากมากถึง 50-100 เปอร์เซ็นต์ (Fig. 3)

Fig. 2 Seed stage for germination testing

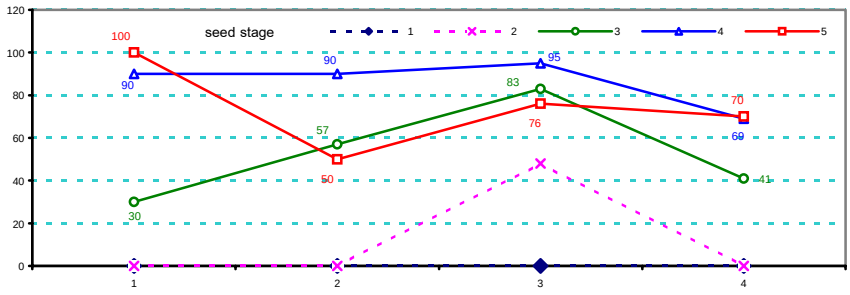


Fig. 3 Germination of the seeds of various stages

3.4 การเจริญเติบโต

ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ เริ่มงอกหลังจากหว่านเมล็ด 4-5 วัน และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น 65 เปอร์เซ็นต์ ในช่วง 5-9 วัน หลังหว่าน หลังจากนี้จึงงอกเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อ 42 วันหลังหว่านจำนวนเมล็ดงอกเท่ากับ 74 เปอร์เซ็นต์ (Fig.4)

1) ความสูงของก้นจ้ำขาวเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในช่วง 25 วัน หรือ 4 สัปดาห์หลังงอก โดยมีค่าเฉลี่ยความสูงเพียงประมาณ 10 ซม. เท่านั้น หลังจากนี้ความสูงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อดอกใกล้บาน ก้านช่อดอกยืดตัวมาก ทำให้ความสูงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว พืชอายุ 52 วัน และหลังจากนี้ความสูงยังคงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงระยะ 75 วัน หลังงอก ความสูงค่อนข้างคงที่ (Fig. 4)

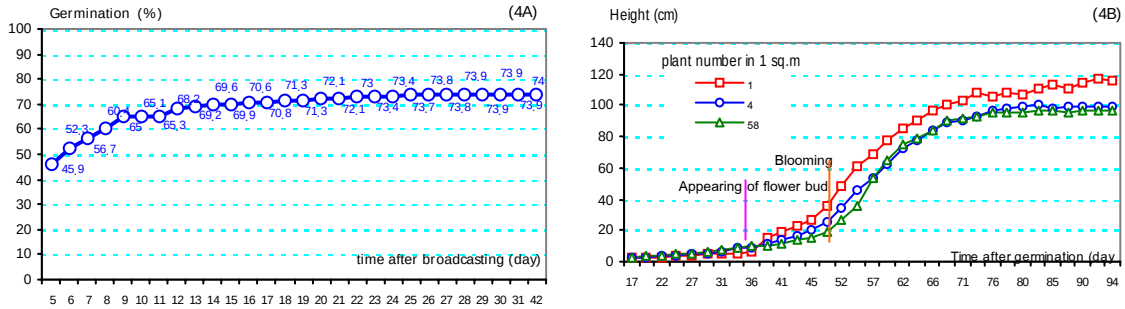


Fig. 4. Germination (4A) and height (4B) of *B. pilosa* var. *radiata* in 1 m^2 plots

2) จำนวนกิ่งสาขาต่อต้น ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่สร้างดอกที่ปลายกิ่ง หากมีกิ่งสาขามาก ก็จะสามารถสร้างดอกได้มาก นั่นคือจะมีเมล็ดเพื่อการขยายพันธุ์มากด้วยเช่นกัน การตรวจนับจำนวนกิ่งสาขาต่อต้นของก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ ในช่วงระยะเวลา 120 วัน พบว่าจำนวนกิ่งสาขาเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังออกดอกแล้ว ต้นที่ขึ้นอยู่อย่างอิสระ ไม่ต้องแก่งแย่งกับต้นอื่น มีการสร้างกิ่งสาขามากกว่าต้นขึ้นเบียดเสียดกันอย่างเห็นชัดเจน

3) การสร้างเมล็ด เมื่อพืชอายุ 92 วัน ต้นที่ขึ้นอย่างอิสระ (1 ต้น/ตร.ม.) มีจำนวนช่อเมล็ดแก่ 55 ช่อ/ต้น ส่วนแปลงที่มี 4 และ เฉลี่ย 58 ต้น/ตร.ม มีจำนวนช่อเมล็ดแก่เฉลี่ยเท่ากับ 34 และ 2 ช่อ/ต้น ตามลำดับ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหรือลดลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งจำนวนช่อดอกสะสมของแต่ละต้น (37 วันหลังจากเริ่มมีเมล็ดแก่) เท่ากับ 499, 267 และ 23 ช่อตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนเมล็ดต่อช่อเท่ากับ 29, 32 และ 33 เมล็ด ตามลำดับ หรือเฉลี่ยรวมเท่ากับ 31 เมล็ด/ช่อ เมื่อพืชอายุได้ 95 วัน เท่ากับ 1,211, 968 และ 63 เมล็ด/ต้น ตามลำดับ จำนวนเมล็ดสะสมที่ผลิตได้ทั้งหมดจนถึงอายุ 95 วันเท่ากับ 13,929, 8404 และ 761 เมล็ดต่อต้น หรือคิดเป็น 13,929, 33,619 และ 44,142 เมล็ด/ตร.ม. ตามลำดับ (Fig.5)

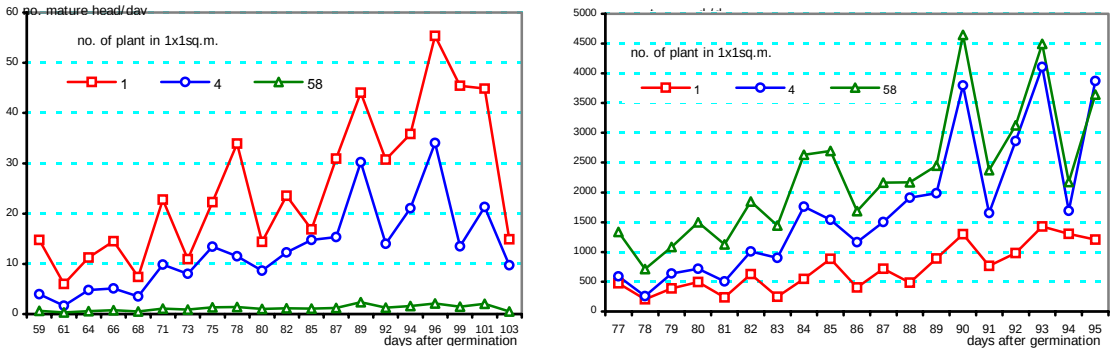


Fig.5. Seed production of *B. pilosa* var. *radiata* at various density in 1m^2 plot

แต่ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ที่พบขึ้นในภาคเหนือ เช่น ที่ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ จำนวนเมล็ดต่อช่อแตกต่างกันไป มีค่าระหว่าง 19-64 (32, 37, 23, 28, 25, 41, 39, 24, 37, 28, 38, 30, 30, 31, 25, 36, 19, 43, 40, 55, 43, 47, 28, 30, 31, 51, 44, 39, 32, 64, 56, 31, 37 และ 43) และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 36 เมล็ด/ช่อ

3.5 คุณสมบัติทางอัลลิโลพาธิ

ต้นอ่อนไมยราบยักษ์ที่ปลูกในหลอดที่มีใบสด และ/หรือใบแห้ง มีความยาวรากน้อยกว่าชุดควบคุมทั้งสิ้น โดยก้นจ้ำขาวดอกใหญ่มีค่าเฉลี่ยความยาวรากสั้นกว่า พืชที่ปลูกในหลอดที่มีใบก้นจ้ำขาวอีกสองชนิด ทั้งใบสดและใบแห้ง โดยใบแห้งให้ผลชัดเจนกว่าใบสด และความยาวรากไมยราบยักษ์ลดลงเมื่อน้ำหนักของใบก้นจ้ำขาวดอกใหญ่เพิ่มขึ้น หรือระดับความรุนแรงของการยับยั้งสูงขึ้นตามน้ำหนักของใบก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ที่เพิ่มขึ้น และให้ผลเช่นเดียวกันในพืชอีกสองชนิด (Fig.6)

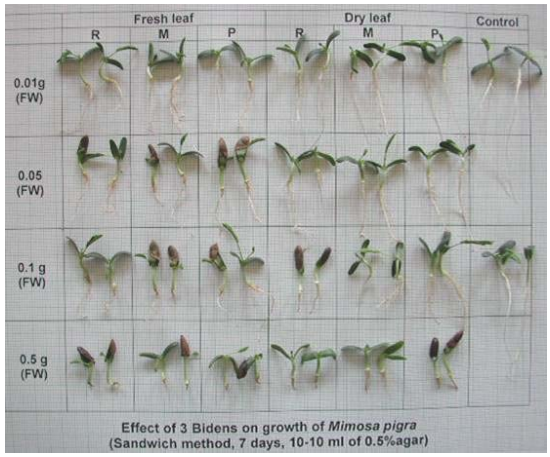


Fig. 6. Effect of *Bidens* on growth of *Mimosa pigra* L. in 0.5% agar by sandwich method (R = *B pilosa* .var. *radiata*; P = *B pilosa* var.pilosa; and M= *B pilosa* var minor)

นอกจากนี้ ยังพบว่าการตัดกิ่งที่ค่อนข้างแก่ของก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ใส่ถุงพลาสติก ให้มีความ ชื้นเล็กน้อย ทิ้งไว้ 7 วัน จะมีรากออกตามกิ่งเดิมตั้งแต่โคนกิ่ง จนถึงใบที่ 4-5 จากยอด และเมื่อนำพืชนี้ไปปลูก สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ในสภาพธรรมชาติ กิ่งหรือต้นที่เจริญเต็มที่มักมีรากงอกออกมา ช่วยพยุงต้น และยังสามารถช่วยหาอาหาร และเพิ่มความสามารถในการแข่งขันกับพืชอื่นด้วย และพืชนี้สามารถขยายพันธุ์โดยใช้กิ่งปักชำได้ และให้ดอกเร็วกว่าปลูกจากเมล็ด

ดอกสีขาว ขนาดใหญ่ สวยงาม เป็นที่ดึงดูดใจผู้พบเห็น ประกอบกับปลูกได้ง่าย ไม่ต้องดูแลรักษา ทำให้ผู้คนที่พบเห็นเก็บเมล็ดไปปลูก เป็นการช่วยให้พืชนี้แพร่กระจายได้มากขึ้น การสอบถามเกษตรกรปลูกข้าวโพดในตำบลผางาม อ.เวียงชัย รายหนึ่งเล่าให้ฟังว่า คนงานหญิงซึ่งอยู่บ้านใกล้เคียงกัน ได้เก็บเมล็ดก้นจ้ำขาวดอกใหญ่จาก จ.เชียงใหม่มาปลูก เพราะดอกสวยงามดี

เกษตรกรรายดังกล่าวเสริมว่า เมื่อประมาณ 3 ปีมาแล้ว ตนเองมีอาชีพรับจ้างและมีแปลงปลูกพืชหลายแห่ง มีทั้งนาและไร่ เมื่อไปที่ไหน ก็จะมีวัชพืชนี้ติด ชาวบ้านในบริเวณนี้จึงเรียกวัชพืชชนิดนี้ว่า หญ้าไอ้จง เนื่องจากเมล็ดวัชพืชนี้ติดไปกับฟางข้าว เพราะการขนย้ายจะนำมากองข้างถนนเพื่อใช้รถขนย้าย ทำให้เมล็ดก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ติดไปด้วย และในแปลงข้าวโพดอายุประมาณ 1 เดือน ของเกษตรรายนี้มีก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ขึ้นเต็มไปหมด และหลายต้นเริ่มมีดอกบานแล้ว กำจัดโดยฉีดพ่นด้วยอาทราซีน ค่าจ้างฉีดวันละ 200 บาทต่อคน พื้นที่ 5 ไร่ ต้องใช้แรงงาน 3-4 คน เมื่อฉีดพ่นแล้ว ไม่นานก็จะมีต้นอ่อนงอกมาอีก หากไม่กำจัดก็จะทำให้ผลผลิตลดลงกว่าครึ่ง จากพื้นที่สุ่มนับในพื้น 0.25 ตารางเมตร ที่ใกล้แปลงข้าวโพดนี้ พบต้นอ่อน ระยะ 2-4 ใบมากถึง 2,084 ต้น

นอกจากนี้เมล็ดพืชที่แก่แล้ว ตรงปลายเมล็ดจะมีรยางค์คล้ายเขี้ยว 2-6 อัน เมื่อมนุษย์เดินเข้าไปใกล้ ก็จะติดไปกับเสื้อผ้าได้ หรือแม้แต่สัตว์ที่เดินผ่านไปในบริเวณนั้น ก็จะติดขนสัตว์ไปที่อื่นได้เช่นกัน

จากผลการศึกษาข้างต้น จะเห็นว่าก้นจ้ำขาวดอกใหญ่สามารถงอกได้ทันที ไม่มีระยะพักตัว งอกถึงร้อยละ 72 และเจริญเติบโต สร้างเมล็ดได้ร้อยละ 58 หรือคิดเป็นร้อยละ 81 ของจำนวนต้นที่งอกขึ้นมา

สามารถออกดอกและสร้างเมล็ดใหม่ ที่พร้อมงอกได้ภายใน 57-70 วัน (แต่ในสภาพธรรมชาติที่ อาจใช้เวลาเพียง 45-50 วันเท่านั้น) ดังนั้นในช่วง 1 ปี พืชนี้สามารถสร้างเมล็ดและเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่อีกได้ 5-6 รอบ โดยต้นเดิมยังคงออกดอกต่อไปได้ตลอดปี การศึกษาผลผลิตเมล็ดในช่วงเวลา 4 เดือน พบว่าก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ ที่ขึ้นอิสระไม่ต้องแข่งขันกับพืชใด 1 ต้นสามารถสร้างเมล็ดได้ถึง 13,929 เมล็ดต่อต้น ส่วนต้นที่ขึ้นเบียดเสียดกันเล็กน้อย (4 ต้น/ตร.ม) และขึ้นเบียดเสียดกันอย่างแน่นหนา (58 ต้น/ตร.ม) สามารถสร้างเมล็ดได้ 8,405 และ 761 เมล็ดต่อต้น โดยมีแนวโน้มการผลิตเมล็ดสูงขึ้น ซึ่งหากศึกษาจนครบ 1 ปี พืชนี้น่าจะสร้างเมล็ดได้มากถึง 41,787, 25,215 และ 2,283 เมล็ด/ต้น

เมื่อนำผลที่ได้นี้มาคำนวณการระบาด หากมีการนำพืชนี้ไปปลูก 1 ต้น ซึ่งจะขึ้นอย่างอิสระ สามารถผลิตเมล็ดได้ 41,787 เมล็ด/ต้น/ปี เมล็ดสามารถงอกได้ 72% และอยู่รอด 80% ความสามารถในการผลิตเมล็ดในปีที่ 2 และ ปีถัดๆ ไป ได้เท่ากับครึ่งหนึ่งของที่ขึ้นอย่างหนาแน่นคือ 58 ต้น/ตร.ม ที่ได้จากการศึกษานี้ 2,283 เมล็ด/ต้น/ปี และคิดว่าเกิดการเจริญเพียงรอบเดียว (ซึ่งอาจเกิดจริงได้ 5-6 รอบ) โดยเมล็ดที่ยังไม่งอก (38%) ถือว่าไม่สามารถงอกได้แล้ว จะพบว่าพืชนี้จะมีจำนวนเพิ่มเป็น 31 ล้านต้นในเวลาเพียง 2 ปีเท่านั้น (Table 3)

Table 3. Estimation of seed production of *B. pilosa* var. *radiata* in Thailand

year	Number of seed	Germination (~72%)	Survival (~80%)	production
1			1	41,787
2	41,787	30,087	24,069	54,950,239
3	54,950,239	39,564,172	31,651,338	72,260,004,276
4	72,260,004,276	52,027,203,079	41,621,762,463	95,022,483,703,177
5	95,022,483,703,177	68,416,188,266,288	54,732,950,613,030	124,955,326,249,548,000
6	124,955,326,249,548,000	89,967,834,899,674,400	71,974,267,919,739,500	164,317,253,660,765,000,000

เปรียบเทียบกับก้นจ้ำขาว (*B. pilosa* Linn.) ที่มีอยู่แล้วในประเทศไทย ซึ่ง Holm *et a*l, (1977) ได้รายงานว่าพืชนี้เมื่อขึ้นเดี่ยวๆ สามารถผลิตเมล็ดได้ 3,000-6,000 เมล็ด เมล็ดพร้อมที่จะงอก ทำให้พืชนี้สามารถเกิดได้ 3-4 รุ่น ใน 1 ปี เมล็ดนิ้งอกได้ 95% และมีชีวิตนาน 3-5 ปี สามารถงอกได้ 80%

ดังนั้นหากนำข้อมูลที่ได้จากการสำรวจพบ ประกอบกับข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเพิ่มเติม เปรียบเทียบกับลักษณะวัชพืชร้ายแรง ซึ่ง Muenscher (1980) ได้สรุปไว้ ได้ผลตาม Table 4

Table 4 Some characteristic of ideal weed compare with *B. pilosa* var. *radiata*

Ideal weed	*B. pilosa* var. *radiata*
1. **การเจริญเติบโต**	
- สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่ไม่เหมาะสม เช่นเดียวกับสภาพเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพืชประธาน	- ขึ้นได้ดีในที่ชื้น และในสภาพแห้งแล้ง เช่น เกาะกลางถนน รอยแยกบนพื้นปูน หรือในร่มเงา
- มักมีสารบางอย่างที่ทำให้เกิดกลิ่นหรือรสชาติไม่ดี มีสิ่งปกคลุม เช่น ขน หนาม หรือ เมือก ทำให้รอดพ้นจากแมลงหรือสัตว์อื่น	- มีสารอัลลิโลเคมิค ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอื่น มีกลิ่นเมื่อขยี้ดม ใบสมบูรณ์ไม่ถูกทำลายโดยแมลง และยังไม่พบศัตรูธรรมชาติในประเทศไทย
2. **การสร้างเมล็ด**	
- สามารถสร้างเมล็ดได้จำนวนมากในแต่ละปี เช่น ผักเบี้ยใหญ่ (*Porulaca oleracea*) = 193,213, ลำโพง (*Datura stramonim*) = 23,400 เมล็ด เป็นต้น (Muencher, 1980)	- ต้นเดี่ยวขึ้นอย่างอิสระ 1 ต้น/ตร.ม ขึ้นหนาแน่น 4 และ 58 ต้น/ตร.ม สามารถผลิตเมล็ดได้ประมาณ 41,787, 25,215 และ 2,283 เมล็ด/ต้น/ปี ตามลำดับ
- เมล็ดมีชีวิตอยู่ได้นาน สามารถงอกได้แม้อยู่ในดินเป็นเวลาหลายปี	- ยังไม่มีข้อมูล แต่เมล็ดวัชพืชที่คล้ายกัน คือ ก้นจ้ำขาว มีชีวิตอยู่ได้นานถึง 6 ปี
- เมล็ดสามารถเจริญหรือพัฒนาจนเป็นเมล็ดแก่ถึงแม้จะถูกตัดออกจากต้น บางชนิดเมล็ดแก่ตั้งแต่ยังมีสภาพเป็นดอก	- เมล็ดแก่หลังดอกบาน 10-15 วัน แต่เมื่อเก็บเมล็ดหลังดอกบาน 6-7 วัน ซึ่งยังไม่แก่ ก็สามารถงอกเป็นต้นอ่อนได้เช่นกัน
- เมล็ดมักแยกออกจากเมล็ดพืชประธานยาก คืออาจมีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกัน	-ยังไม่พบรายงานการปะปนไปกับเมล็ดของพืชปลูกใด
- ผล หรือเมล็ด มักมีส่วนพิเศษที่ช่วยในการกระจายพันธุ์ เช่น สาบเสือ dandellion ฐูปฤาษี มีรยางค์เป็นขนอ่อนนุ่มที่ปลายเมล็ดช่วยให้ปลิวไปได้ไกล กระชับ มีหนามเป็นตาขอทั้งผล ทำให้ติดไปกับสัตว์	- เมล็ดมีรยางค์เป็นตาขอที่ปลาย และเป็นหนามเล็กๆ ตลอดเมล็ด ทำให้ติดไปกับเสื้อผ้า หรือขนสัตว์เลี้ยงได้ง่าย
3. การขยายพันธุ์	
- สามารถขยายพันธุ์โดยส่วนของต้น ราก	- ขยายพันธุ์ได้ทั้งเมล็ดและตัดกิ่งปักชำ

จากข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการศึกษานี้ จึงประเมินว่า ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่มีศักยภาพเป็นวัชพืชที่กระจายขึ้นได้ในหลายท้องที่ของประเทศไทย โดยมีมนุษย์ช่วยในการแพร่กระจายเมล็ดให้ไปได้ไกลๆ หากไม่มีการจัดการใดๆ โดยอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่างๆ ได้แก่

ผลกระทบต่อทรัพยากรชีวภาพ อันได้แก่ พืชพรรณอื่นๆ ที่มีอยู่เดิมในประเทศไทย โดยเฉพาะผักพื้นบ้าน เนื่องจากก้นจ้ำขาวดอกใหญ่เจริญเติบโตเร็ว มีความสูงถึง 100-150 ซม. และมีสารอัลลิโลเคมิค ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอื่นได้ และในธรรมชาติพบพืชอื่นขึ้นปะปนน้อย ในพื้นที่ที่ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ขึ้น พืชอื่นขึ้นได้น้อยมาก พืชผักพื้นบ้านที่เป็นประโยชน์ต่อประชาชนในถิ่นนั้นจึงอาจถูกแย่งพื้นที่ และอาจรุนแรงถึงหายไปจากพื้นที่นั้นได้ นับเป็นผลกระทบทางด้านลบ แต่ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่เป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับผึ้ง เนื่องจากออกดอกตลอดปี ซึ่งเป็นผลกระทบทางบวก

ผลกระทบต่อทรัยกรกายภาพ ถึงแม้ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่จะมีดอกสวยงามในช่วงแรก เมื่อออกดอกหลายรุ่น ก้านช่อดอกจะยืดยาว ไม่เป็นระเบียบ และมีเมล็ดแก่สีดำ ไม่สวยงามแต่ประการใด ทำให้พื้นที่ข้างทางไม่สวยงาม

ผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ที่ดิน พื้นที่ที่มีพืชนี้ขึ้นจำนวนมาก อาจทำให้เกษตรกรไม่สามารถปลูกพืชได้ หรือปลูกได้แต่ต้องมีการจัดการ เช่น การใช้สารเคมี ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย มีต้นทุนในการผลิตเพิ่มขึ้น และขณะเดียวกันธาตุอาหารในดินถูกใช้ไปในการเจริญเติบโตของก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ ซึ่งถึงแม้จะยังไม่มีการศึกษาว่ามากน้อยประการใด แต่การที่พืชนี้ดูดซึมออกไป ย่อมเป็นการนำออกจากดินโดยไม่เกิดประโยชน์ใดเลย ซึ่งหากจะนำมาใช้เป็นปุ๋ยพืชสด อาจเป็นการนำเอาสารอัลลิโลเคมิคที่อยู่ในพืชนี้ออกมา ซึ่งจะเกิดผลเสียต่อพืชปลูกด้วย

ผลกระทบต่อคุณภาพชีวิต แปลงพืชของเกษตรที่มีพืชนี้ขึ้น โดยเฉพาะในแปลงผัก พืชไร่อายุสั้น เช่น ข้าวโพด เกษตรกรจะต้องทำการกำจัด ซึ่งอาจเป็นการถอนด้วยมือ หรือใช้สารเคมี เป็นการเพิ่มค่าใช้จ่าย และสิ้นเปลืองเวลา นอกจากนี้หากมีการนำพืชนี้ไปใช้เป็นพืชสมุนไพร เนื่องจากความเข้าใจผิดคิดว่าเป็นชนิดเดียวกับก้นจ้ำขาว อาจเกิดผลลบต่อสุขภาพอนามัยของผู้บริโภคนั้น ทั้งนี้เนื่องจากในเอกสารด้านสมุนไพรทั้งของไทยและจีน ไม่มีการระบุถึงสรรพคุณของก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ มีแต่ก้นจ้ำขาว (*B. pilosa* Linn. หรือ *B. pilosa* L. var. *minor*) และก้นจ้ำ (*B. biternata*) เท่านั้น

การควบคุมกำจัด

การควบคุมในพื้นที่การเกษตร ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่จัดเป็นวัชพืชประเภทใบกว้าง การควบคุมกำจัดในข้าวโพด อาจใช้สารเคมีฉีดพ่นในระยะก่อนข้าวโพดงอก ในพื้นที่ที่ไม่มีการปลูกพืช การใช้สารเคมีควรทำในช่วงก่อนพืชออกดอก เนื่องจากพืชนี้เป็นแหล่งอาหารที่ดีของผึ้ง หากใช้สารเคมีในช่วงที่พืชออกดอกแล้ว อาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อผึ้ง และผลิตภัณฑ์จากผึ้งได้ อย่างไรก็ตามเพื่อป้องกันความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นกับอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้ง และผลกระทบที่มีต่อการเกษตร อาจจำเป็นต้องมีการแบ่งพื้นที่หรือจำกัดพื้นที่การปลูกก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ เพื่อประโยชน์ทางอุตสาหกรรมเลี้ยงผึ้งโดยเฉพาะ

การควบคุมนอกพื้นที่การเกษตร เช่น ถนนริมทางหลวง ซึ่งนับเป็นแหล่งเมล็ดพันธุ์ที่กระจายเข้าสู่พื้นที่การเกษตรได้ง่ายที่สุด เนื่องจากเกษตรกรต้องสัญจรผ่านพื้นที่เหล่านี้ก่อนเข้าสู่ไร่ นา ของตนเอง การควบคุมวัชพืชชนิดนี้โดยการตัดฟัน ควรทำในระยะก่อนออกดอก เนื่องจากการตัดฟันและทิ้งให้กองทับถมกันนั้น ต้นที่อยู่ด้านล่าง ได้รับความชื้นในเวลากลางคืน สามารถเจริญแตกรากและเจริญต่อไปได้ และเมล็ดที่ติดอยู่สามารถพัฒนาและงอกได้อีกด้วย ดังนั้นหากต้องตัดหลังจากพืชออกดอกแล้ว ควรเก็บซากที่ตัดแล้วออก และทำลายไม่ให้เป็นแหล่งสร้างเมล็ดพันธุ์ต่อไป

อย่างไรก็ตาม ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่นี้เป็นพืชต่างถิ่นถูกชักนำเข้ามาในประเทศไทย และสามารถตรวจสอบได้เร็ว แต่ถึงกระนั้นพืชชนิดนี้ก็ได้มีการกระจายไปเกือบทั่วไปประเทศแล้ว ในปัจจุบันยังคงมีการนำเข้าพันธุ์ไม้จากต่างประเทศอย่างต่อเนื่อง หลายชนิดเป็นพืชที่มีประโยชน์ แต่หลายชนิดก็เป็นพืชชนิดรุกราน และกลายเป็นวัชพืชร้ายแรงในประเทศไทย ซึ่งจะมีผลกระทบต่อการเกษตร และความหลากหลายทางชีวภาพของพืชในประเทศไทย ซึ่งไม่สามารถคำนวณความเสียหายได้เลย สิ่งเหล่านี้เป็นสิ่งที่ต้องคำนึงถึง และสร้างจิตสำนึกให้ตระหนักถึงผลกระทบที่ตามมาของพืชต่างถิ่นชนิดรุกราน จะเป็นสิ่งที่ปกป้องความเสียหายจากพืชต่างถิ่นชนิดรุกรานได้ทางหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย เต็ม สมิติ นันทน์ ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม. หน้า 74.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2539. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. ประชุมทองการพิมพ์ หน้า 2.

Alonzo, D.S. and J.W. Hidebrand. 1999. *Bidens* L. in: de Padua, L.S., Bunyapraphatsara, N. and Lemmens, R.H.MJ. (Editors): Plant Resources of South-East Asia Vol.12 (1) Medicinal and poisonous plants 1. Backhuy Publishers, Leiden, the Netherlands. pp 150-155.

Atlas of Florida Vascular Plants 2000. Institute for Systematic Botany. http://www.plantatlas.usf.edu./main.asp?plantID=3604

Florida: Bidens alba. 2000. http://www.floridata.com/ref/b/ bide_alba. Cfm

GBIF, 2004. Global Biodiversity Information Facility: Biodiversity Data Portal. http://www.gbif.net/portal/ecat_browser.jsp?taxonKey=647512&countryKey=0&resourceKey=0&showIncertae=false&nextTask=ecat_browser.jsp

Hall, D.W. and V.V. Vandiver. 2002. Common Beggar's-tick (Hairy Beggar's-tick), *Bidens alba* (L.) DC. Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Service, University of Florida. http://edis.ifas.ufl.edu/BODY_FW005

http://plant.usda.gov/cgi/bin/plant_profile.cgi?symbol=BSALR& mode=print

http://seed.agron.ntu.edu.tw/ENG/tech/2000-2.html

http://ss.ngri.affrc.go.jp/weedlist/k6.html.

http://wagner.zo.ntu.edu.tw/presserve/vascular_34/Book2/365. html)

IPM Plans of Work – Alabama to Hawaii. http://www.reeusda.gov/ipm/ipm-pows/al-to-hi.html

Lannaworld.com. โลกล้านนา สมุนไพรล้านนา 2545. http://www.lannaworld.com/herb/herb02.html.

Liu, T.Y. and S.M. Discovering our campus plants, Institute of Botany. http://www.sinica.edu.tw/as/weekly/91/ 858/08.txt

Mitsumi, N., H. Morita and S. Hirota. 2001. Plant invader. Pp.328-9. (in Japanese)

Muenscher, W.C. 1981. Weeds 2nd ed. Cornell University Press. USA. 586p.

USDA PLANTS Database (2003). http://plants.usda.gov/

Zhang Z.P. & Hirota, S. (Eds) (2000). Chinese Colored Weed Illustrated Book Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, P.R.China, and the Japan Association For Advancement of Phyto-Regulators

การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของมันฝรั่งโดยใช้สารเคมี

Chemical Control of Potato Late Blight Disease

***ศิริพงษ์ คุ้มภัย **ไพศาล รัตนเสถียร *ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี**
***ธารทิพย ภาสบุตร *อรพรรณ วิเศษสังข์**
***กลุ่มวิจัยโรคพืช **กลุ่มกีฏและสัตววิทยา**
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคใบไหม้ของมันฝรั่งเนื่องจากมันฝรั่งเป็นพืชนำเข้าที่ไม่มีถิ่นกำเนิดในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พร้อมกันนั้นโรคใบไหม้ที่เกิดขึ้นก็เป็นโรคที่ไม่พบในภูมิภาคนี้ พืชอาศัยของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ *Phytophthora infestans* มีเพียง มันฝรั่งและมะเขือเทศ และในต่างประเทศยังพบว่าเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้สามารถติดมากับหัวพันธุ์ และเป็นต้นตอของการเกิดโรคในแปลงปลูก (initial inoculum) และได้มีการชุบหัวพันธุ์ก่อนปลูกเป็นสิ่งที่ต้องปฏิบัติ

การทดลองที่สถานีทดลองพืชสวนฝาง ในปี 2547 ไม่พบโรคระบาดเนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ความชื้นต่ำเพราะมีฝนตกน้อย อากาศแห้งรวดเร็วในช่วงฤดูปลูก ทำให้เชื้อสาเหตุไม่สามารถพัฒนาและทำให้เกิดโรคได้ การทดลองที่สถานีทดลองที่สถานีพืชสวนพบพระ จ. ตาก พบว่าวิธีการฉีดพ่นสารเคมีโดยใช้การนำวิธีการคิดอัตราความเข้มข้นสารเคมีตามอัตราแนะนำต่อพื้นที่โดยใช้น้ำน้อย หรือใช้วิธีการฉีดพ่นสารเคมีโดยใช้การนำวิธีการคิดอัตราความเข้มข้นสารเคมีตามอัตราแนะนำต่อพื้น ไม่มีความเหมาะสม ซึ่งเกิดจากสารเคมีที่ฉีดพ่นไม่สามารถครอบคลุมพื้นที่ทรงพุ่มของมันฝรั่งได้ทั่วถึง ต้นมันฝรั่งเติบโตมากและทรงพุ่มหนาแน่น ทำให้การฉีดพ่นสารเคมีจึงไม่สามารถที่จะครอบคลุมต้นมันฝรั่งได้ และสภาพแวดล้อมที่มีฝนตกอย่างต่อเนื่อง ทำให้โรคลุกลามและเกิดการระบาดโดยไม่สามารถควบคุมได้ ทำให้ไม่สามารถแสดงประสิทธิภาพสารเคมีป้องกันกำจัดโรคใบไหม้

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0101-03

คำนำ

โรคใบไหม้การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง ได้ดำเนินการส่วนใหญ่โดยการใช้สารเคมีชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ในต่างประเทศมีการทดสอบสารป้องกันกำจัดโรคพืชสำหรับโรคใบไหม้เป็นงานที่กระทำกันเป็นระยะๆ เช่นในมลรัฐที่ปลูกมันฝรั่งในประเทศสหรัฐอเมริกา เช่น Oregon Idaho Minisota (http://www.bcc.orst.edu/lateblight/, http://www.ndsu. nodak. edu/ instruct/ gudmesta/ lateblight/ เพื่อป้องกันการดื้อต่อสารป้องกันกำจัดโรคพืชเมื่อมีการใช้ต่อเนื่อง (Dubey,. James and Stevenson. 1997, Mizubuti, and Fry,1998., Fry, 2000, Dubey, James and Stevenson 2003) นอกจากนี้การคลุกเมล็ดด้วยสารป้องกันกำจัด โรคพืชเป็นวิธีการที่สำคัญที่จะป้องกันโรค ซึ่งวิธีการดังกล่าวจะได้ผลดี ก็ต่อเมื่อการคลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งกระทำก่อนที่เชื้อสาเหตุจะเข้าทำลายหัวพันธุ์มันฝรั่ง และที่สำคัญสารป้องกันกำจัดที่ใช้คลุกจะต้องประกอบไปด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชที่มี ส่วน ประกอบ active ingredient 1 ชนิดหรือมากกว่า ที่มีผลในการทำลายต่อเชื้อสาเหตุโดยตรงโดยเฉพาะเชื้อสาเหตุของโรคใบไหม้ ซึ่งถ้าใช้สารป้องกันกำจัดที่ไม่มีผลต่อการป้องกันกำจัดเชื้อโดยตรงหรือมีผลน้อย จะมีผลให้ หัวพันธุ์เกิดเน่าเสียได้ง่าย ซึ่งจะมีผลต่อการงอกและลดความสมบูรณ์ของต้นกล้า และความสม่ำเสมอของต้นในแปลงปลูก และยังจะเป็น source of inoculum อีกด้วย ที่จะแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุจากส่วนหัวพันธุ์สู่ส่วนใบและลำต้น และต้นอื่นๆในแปลงปลูก (Powelson and Inglis 2003, Roberts 2003 vlboyd@worldnet.att.net) :ซึ่งเป็นแนวทางที่จะนำวิธีการทดสอบสารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกับวิธีการคลุกหัวพันธุ์มาพัฒนาเพื่อลดการระบาดของโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง

วิธีดำเนินงาน

สิ่งที่ใช้ในการทดลองและวิธีการทดลอง

<u>สิ่งที่ใช้ในการทดลอง</u>

1.สารป้องกันกำจัดโรคใบไหม้มันฝรั่ง 6 ชนิด

1.1. สารเพนโคเซบ (mancozeb)

1.2. สารฟอรัม

1.3. สารอินเวนโต (propineb+Iprovalicarb) 66.8 WP

1.4. ฟังกูราน 1.5 กรัม (copper hydroxide)

1.5. เคอร์เซท เอ็ม8 (cymoxzanil +mancozeb)

1.6. สารอิเควชั่น Equation Pro (Cymoxanil 30%+Famoxadone 22.5 %)

2. มันฝรั่งสายพันธุ์ Atlantic ซึ่งมีความอ่อนแอต่อโรค ใบไหม้

3.เครื่องฉีดพ่นสารเคมี

4. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์

5. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

แบบและวิธีการทดลอง

แผนการทดลอง วางแผนให้มีการทดลอง 3 การทดลอง

1.การทดลองที่ 1 เป็นการทดลองที่ใช้สารเคมีตามระบบปริมาณสารต่อพื้นที่การทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี (สารเคมีที่ใช้ 6 ชนิด ตามสิ่งที่ใช้ในการทดลอง) 4 ซ้ำ โดยฉีดพ่นตามกรรมวิธี ทุก 7 วัน

2. การทดลองที่ 2 เป็นการทดลองที่ใช้สารเคมีฉีดพ่นตาม ฉลากสารเคมี ปฏิบัติการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี (สารเคมีที่ใช้ 6 ชนิด ตามสิ่งที่ใช้ในการทดลอง) 4 ซ้ำ โดยฉีดพ่นตามกรรมวิธี ทุก 7 วัน

3. การทดลองเพื่อหาการระบาดของโรคใบไหม้ การทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ

กรรมวิธี สารเคมีป้องกันกำจัดโรคใบไหม้มันฝรั่ง 6 ชนิด และ control เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

การบันทึกข้อมูล

ประเมินการเกิดโรค และประเมิน ระดับความรุนแรงของโรคทุกๆ 7 วัน โดยแบ่งความรุนแรงของการเกิดโรคออกเป็น 7 ระดับ

ระดับ 1 ไม่เป็นโรค
ระดับ 2 เป็นโรคระหว่าง 1- 10% ของพื้นที่ใบทั้งต้น
ระดับ 3 เป็นโรคระหว่าง 11- 20% ของพื้นที่ใบทั้งต้น
ระดับ 4 เป็นโรคระหว่าง 21-40% ของพื้นที่ใบทั้งต้น
ระดับ 5 เป็นโรคระหว่าง 41-70% ของพื้นที่ใบทั้งต้น
ระดับ 6 เป็นโรคระหว่าง 71-90% ของพื้นที่ใบทั้งต้น
ระดับ 7 เป็นโรคระหว่าง 91-100% ของพื้นที่ใบทั้งต้น

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดลองใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง

1.1 ผลการทดลองที่ สถานีทดลองพืชสวนฝาง ในฤดูปลูก เดือนธันวาคม 2546–กุมภาพันธุ์ 2547 ไม่พบโรคระบาดเนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เนื่องจากความชื้นต่ำมีฝนตกน้อยในฤดูฝน และอากาศแห้งรวดเร็วในช่วงฤดูปลูก ทำให้เชื้อสาเหตุไม่สามารถพัฒนาและทำให้เกิดโรคได้

1.2 การทดลองที่สถานีทดลองพืชสวนพบพระในฤดูปลูก กรกฎาคม–กันยายน 2547 โรคใบไหม้มันฝรั่งรุนแรงทั่วทั้งแปลงทดลองตลอดฤดูปลูก ข้อมูลอุตุนิยมวิทยาในพื้นที่ปลูกมีฝนตกอย่างต่อเนื่องเป็นระยะๆ อย่างสม่ำเสมอตลอดฤดูปลูก มีฝนทิ้งช่วงในบางครั้งไม่เกิน 3 วัน ทำให้สภาพแปลงทดลองมีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยสูงมากและต่อเนื่อง ที่สำคัญละอองน้ำฝนเป็นสาเหตุที่สำคัญในการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุทำให้การระบาดของโรคใบไหม้ลุกลามเป็นไปอย่างรวดเร็ว โรคใบไหม้เริ่มตรวจพบเริ่มในเดือนสิงหาคม

การทดลองที่ 1 การทดลองโดยใช้วิธีการฉีดพ่นสารเคมีโดยใช้การนำวิธีการคิดอัตราความเข้มข้นสารเคมีตามอัตราแนะนำต่อพื้นที่ สามารถสรุปการเกิดโรคและและความรุนแรงของโรค ทดลองตาม (ตารางที่ 1) ซึ่งได้ตรวจโรคความรุนแรงในแปลงทดลองทั้งหมด 6 ครั้ง ตลอดการการทดลองของสารเคมีที่ทดลอง 6 ชนิด พบว่าในระยะแรก สารเคมีสามารถควบคุมโรคได้ระยะหนึ่งตรวจผลครั้งที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงเปรียบเทียบ แต่หลังครั้งที่ 3 พบว่า โรคเกิดระบาดอย่างรวดเร็ว โรคจะพัฒนาจนถึงระดับ 7 อย่างรวดเร็วหลังตรวจผลครั้งที่ ซึ่งทั้งต้นจะเน่าตายหมด ซึ่งสามารถให้เหตุผลได้ว่า การวิธีการฉีดพ่นสารเคมีที่ใช้สารเคมีตามอัตราแนะนำต่อพื้นที่ ไม่สามารถครอบคลุมส่วนต่างๆของต้นมันฝรั่ง ทำให้ไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค (ตารางที่ 1)พบว่าต้นมันฝรั่งได้เติบโตจนทรงพุ่มคลุมแปลงปลูกโรคระบาดรุนแรงมากขึ้นๆอย่างรวดเร็วหลังจากการตรวจครั้งที่ 5

การทดลองที่ 2 การทดลองโดยใช้วิธีการฉีดพ่นสารเคมีโดยใช้การนำวิธีการคิดอัตราความเข้มข้นสารเคมีตามอัตราแนะนำต่อพื้นที่โดยใช้น้ำน้อย ความรุนแรงของโรคเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ผลการทดลอง (ตรวจผลในแปลงทดลองทั้งหมด 6 ครั้ง) พบว่าในระยะแรกโรคเกิดขึ้นในอัตราไม่รุนแรง แสดงให้เห็นว่าสารเคมีที่ใช้มีประสิทธิภาพ (ตารางที่ 2) การเกิดและความรุนแรงของโรค ประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ทดลองทั้ง 6 ชนิด พบว่า สารเคมีสามารถควบคุมโรคได้โดยไม่พบความแตกต่างกันในระยะแรก หลังจากต้นมันฝรั่งได้เติบโตจนทรงพุ่มปกคลุมแปลงปลูกทดลอง โรคระบาดรุนแรงมากขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจากการตรวจครั้งที่ 3 (21 วัน) โรคพัฒนาอย่างรวดเร็วจนถึงระดับ 7 อย่างรวดเร็ว หลังตรวจผลครั้งที่ 5 และ 6 ซึ่งแปลงเปรียบเทียบ ความรุนแรงอยู่ที่ระดับ 6 เมื่อตรวจผลครั้งที่ 4 และระดับ 7 เมื่อตรวจผลครั้งที่ 6 จากการวิเคราะห์ พบว่าสารเคมี สารอิเควชั่น สามารถที่จะป้องกันโรคได้ดีจนถึงการตรวจผลครั้งที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีชนิดอื่นๆ ซึ่งระดับ 7 หมายถึง ทั้งต้นมันฝรั่งจะเน่าตายทั้งหมด จากการทดลองที่ สล.พส. พบพระ สามารถวิเคราะห์ในเบื้องต้นได้ว่า 1. ลักษณะของวิธีการฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัด โดยใช้วิธีการคำนวณปริมาณของสารเคมีต่อพื้นที่ทำให้มีเวลาน้อยในการฉีดพ่นในแต่ละแปลง ไม่สามารถที่จะทำให้สารเคมีครอบคลุมส่วนของต้นมันฝรั่งได้ ประกอบกับ 2. ต้นมันฝรั่งมีการเจริญเติบโตในส่วนของ vegetative อย่างรวดร็วมีทรงพุ่มที่แน่น หลังการตรวจผลครั้งที่ 4 ซึ่งทำให้การหลังตรวจผลครั้งที่ 5-6 ซึ่งสามารถสรุปผลในเบื้องต้นได้ว่า การวิธีการฉีดพ่นสารเคมีที่ใช้สารเคมีตามอัตราแนะนำต่อพื้นที่ไม่สามารถ

ครอบคลุมส่วนต่างๆของต้นมันฝรั่งได้ ทำให้สารเคมีที่ใช้ทดลองไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ได้

สารเคมีที่ทดลองใช้ทดสอบในการ สารป้องกันกำจัด 6 ชนิด สารเพนโคเซบ สารฟอรัม สารอินเวนโต ฟังกูราน เคอร์เซท เอ็ม8 และสารอิเควชั่น การวิเคราะห์ในเบื้องต้นจากการวิเคราะห์จากการตรวจ วัดความรุนแรงของโรคในระยะเวลาต่างๆ พบว่า สารอิเควชั่น สารเคอร์เซท เอ็ม8 และสารอินเวนโต มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดที่ให้ผลในการควบคุมโรคใบไหม้ของมันฝรั่งตามลำดับ (ตารางที่ .....) เปรียบเทียบกับแปลงเปรียบเทียบ (พ่นน้ำ)

2. การระบาดและ วิเคราะห์รูปแบบ (pattern) ของการระบาดของโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง

เนื่องจากมันฝรั่งเป็นพืชนำเข้าที่ไม่มีถิ่นกำเนิดในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พร้อมกันนั้นโรคใบไหม้ที่เกิดขึ้นก็เป็นโรคที่ไม่พบในภูมิภาคนี้ พืชอาศัยของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ *Phytophthora infestans* มีเพียง มันฝรั่งและมะเขือเทศ และในต่างประเทศยังพบว่าเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้สามารถติดมากับหัวพันธุ์ tuber seed หรือ หัวพันธุ์ที่ตกค้างในแปลงปลูกจากปีการปลูกก่อนๆ (Volunteer tuberseed) ซึ่งเป็นแหล่งกำเหนิดของการเกิดโรคในแปลงปลูก (initial inoculum) และได้มีการแนะนำและถือปฏิบัติคือให้ชุบหัวพันธุ์ก่อนปลูกด้วยสารป้องกันกำจัดโรค.(M. L. Powelson and D A. Inglis 2002) ซึ่งจากการทดลองพบว่าในอนาคตจะต้องมีการวิจัยเพื่อการป้องกันกำจัดโรคที่ติดกับหัวพันธุ์ที่ปลูกและ กำจัดหัวพันธุ์ที่ตกค้างในแปลงปลูกจากปีการปลูกก่อนๆ (Volunteer tuberseed) ซึ่งจะมีเป็นจุดกำเหนิดของเชื้อสาเหตุ (initial inoculum) จากหัวพันธุ์ที่ใช้ปลูก โดยสามารถที่จะตัดประเด็นหนึ่งของโรคได้

2.1 การทดลองที่สถานีทดลองพืชสวนพบพระ จ. ตาก

การวิเคราะห์รูปแบบ (pattern) ของการระบาดของโรค (ตารางที่ 5)โดยการติดตามการเกิดของโรคและการขยายตัวของโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง โดยตรวจผลของโรคในแปลงปลูก ทุก 7 วัน โรคเริ่มปรากฏจากการตรวจพบในครั้งแรกจากในแปลงทดลองในเดือนสิงหาคม โดยพบว่าไม่ได้มีการระบาดมาจากภายนอก เพราะในบริเวณใกล้เคียงแปลงปลูกไม่มีการปลูกมันฝรั่ง หรือมะเขือเทศ และมีการปลูกข้าวโพดล้อมรอบแปลงปลูกโรคจะระบาดจากภายในและลุกลามออกไปสู่ต้นอื่นๆ ซึ่งไม่เหมือนลักษณะของการระบาดของโรคที่ปกติจะมาจากภายนอก และมักพบโรคจากด้านใดด้านหนึ่งของแปลงปลูก การทดลองในการทดลองเดือนสิงหาคม 2547 ที่สถานีทดลองพืชสวนพบพระ สามารถวิเคราะห์ในเบื้องต้นได้ว่าจุดกำเนิดของโรค (initial inoculum) จะมาจาก หัวพันธุ์ที่ใช้ปลูกหรือหัวพันธุ์ที่ตกค้างในแปลงปลูกจากปีการปลูกก่อนๆ (Volunteer tuberseed)

2.1 การทดลองที่สถานีทดลองพืชสวนฝาง

ไม่พบการระบาดของโรค

การทดลองที่ สล.พส. พบพระ จ. ตาก 2547

ตารางที่ 1. ค่าเฉลี่ยของความรุนแรงของโรคเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ จากการทดลองฉีดพ่นสารเคมี 6 ชนิด โดยวิธีการคำนวณอัตราส่วนตามอัตราแนะนำ ที่ สล. พส. พบพระ การตรวจโรค 6 ครั้ง

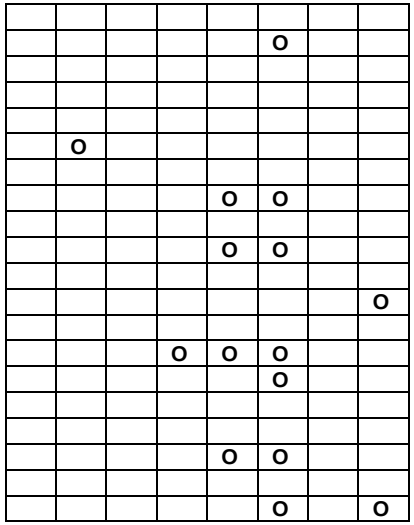
ตรวจผล ครั้งที่	สารเคมีที่ใช้						ฉีดพ่น น้ำเปล่า
	สารเพนโคเซบ	สารฟอรัม	สารอินเวนโต	สารฟังกูราน	สารเคอร์เซท เอ็ม8	สารอิเควชั่น	
1	0.056	0.16	0.14	0.08	0.08	0.025	0.06
2	0.35	0.3	0.23	0.24	0.23	0.1	0.6
3	0.49	0.41	0.32	0.38	0.26	0.1	0.88
4	0.9	0.56	0.58	0.69	0.64	0.39	2.76
5	2.96	3.06	2.98	2.62	3.15	3.74	7.0
6	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0

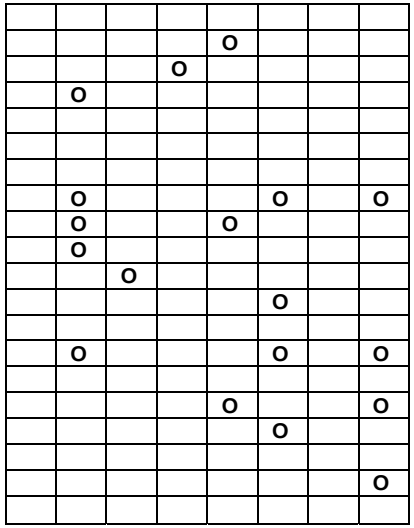
ตารางที่ 2. ความรุนแรงของโรคเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำ จากการทดลองฉีดพ่นสารเคมี6 ชนิด โดยวิธีการคำนวนอัตราส่วนต่อไร่ ที่ใช้น้ำน้อยที่ สล. พส. พบพระ โดยวิธีการใช้น้ำน้อย การตรวจโรค 6 ครั้ง

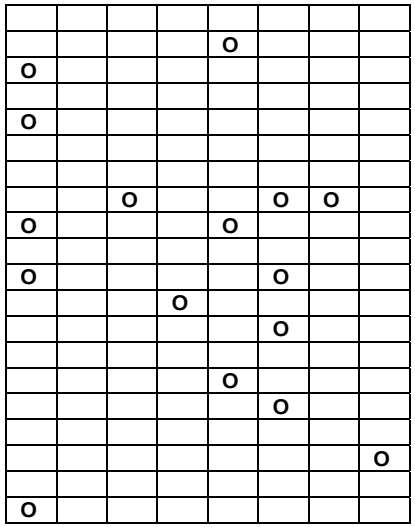
ตรวจผล ครั้งที่	สารเคมีที่ใช้						ฉีดพ่น น้ำเปล่า
	สารเพนโคเซบ	สารฟอรัม	สารอินเวนโต	สารฟังกูราน	สารเคอร์เซท เอ็ม8	สารอิเควชั่น	
1	0.13	0.13	0.15	0.11	0.23	0.15	1.3
2	0.2	1.43	0.23	0.168	0.26	0.2	1.7
3	1.75	3.37	1.79	1.86	1.41	1.48	2.8
4	4.24	4.93	4.53	4.49	4.01	1.80	6.0
5	6.89	6.96	6.93	6.96	6.78	5.43	7.0
6	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0

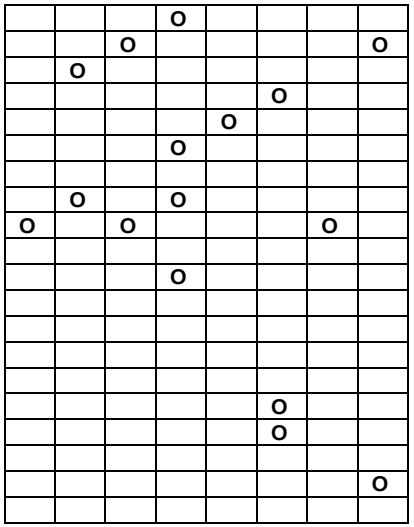
ตารางที่ 5..แสดงการระบาดและการกระจายตัวของโรคใบไหม้ของมันฝรั่งในแปลงทดลอง ที่สถานีทดลองพืชสวนพบพระ อ. พบพระ จ. ตาก

(**O** แสดงต้นมันฝรั่งที่เป็นโรค) ตรวจผลครั้งที่ 1

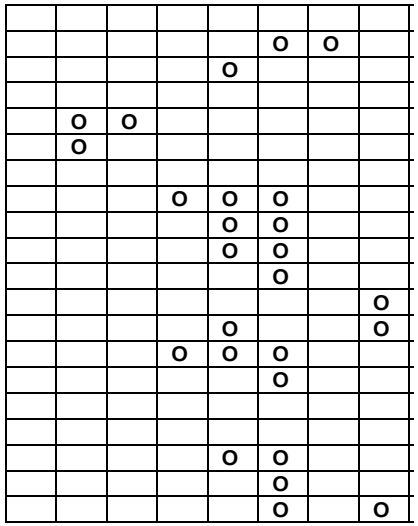


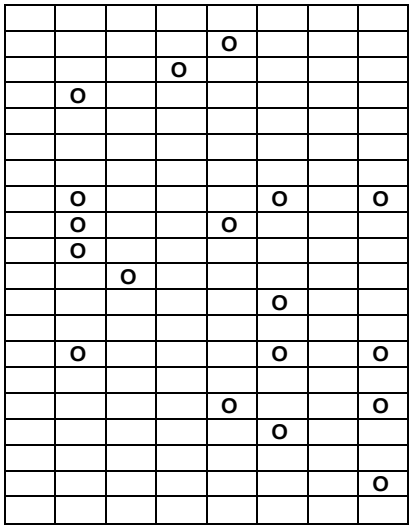


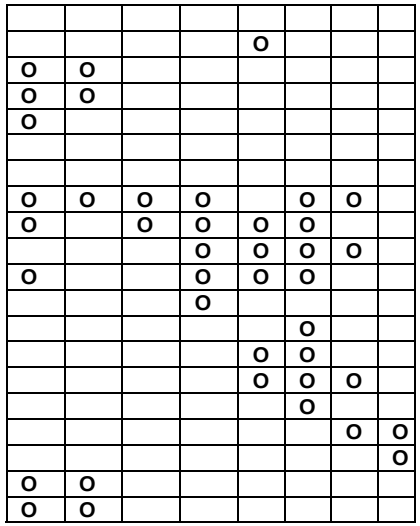


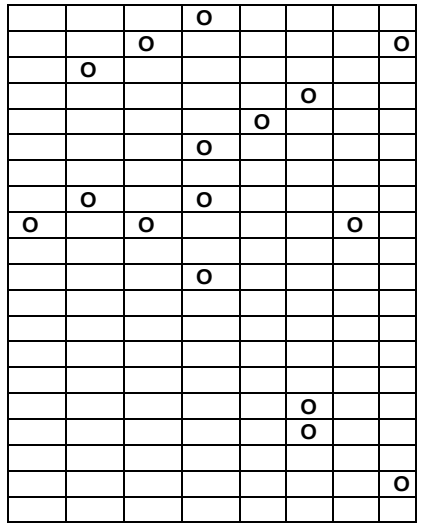


ตรวจผลครั้งที่ 2

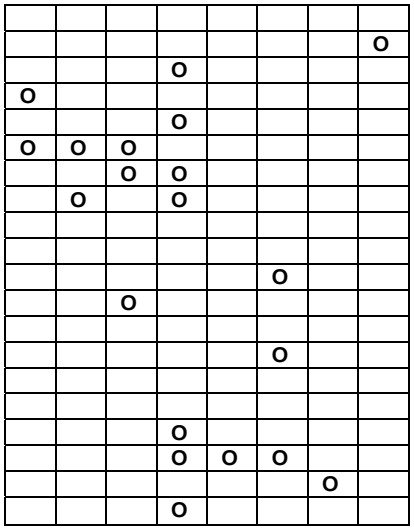


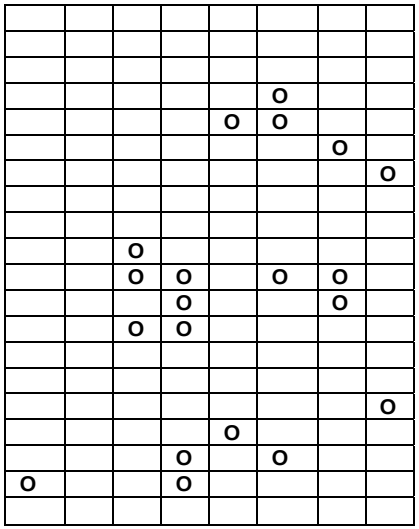


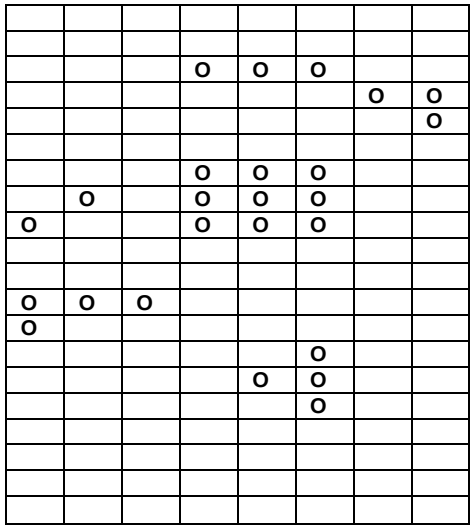


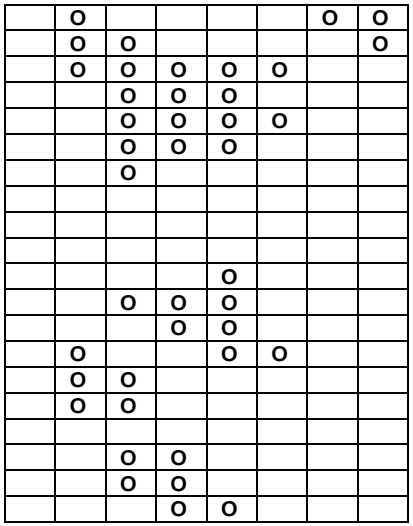


ตรวจผลครั้งที่ 3

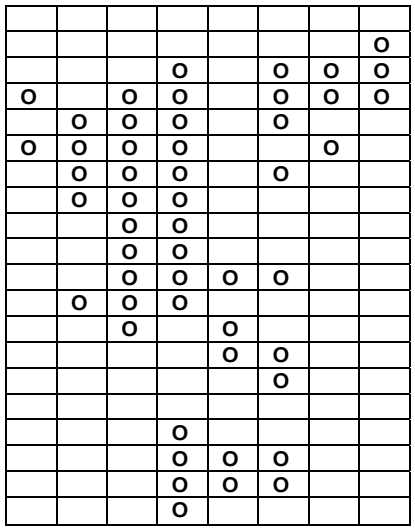


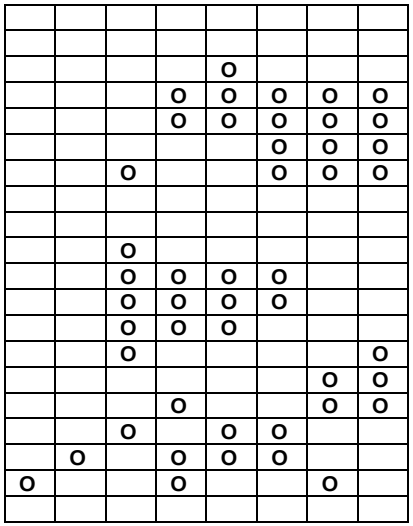


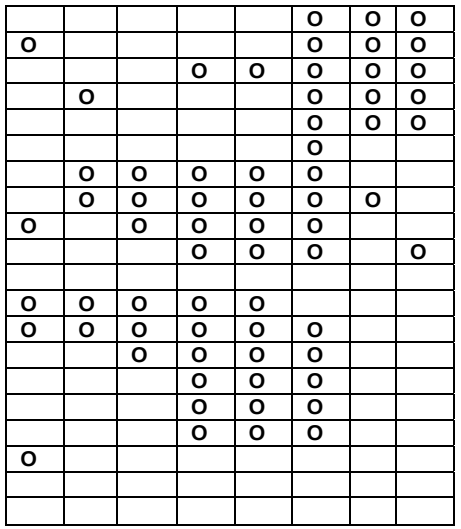


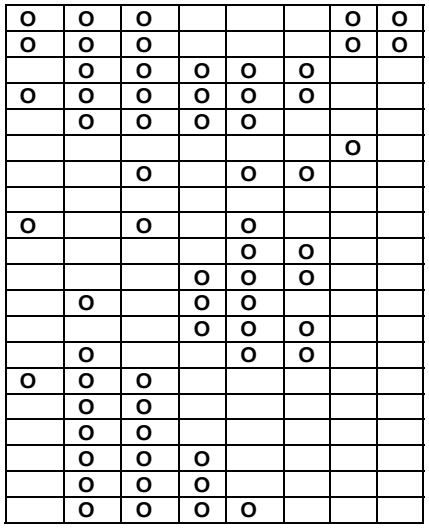


ตรวจผลครั้งที่ 4

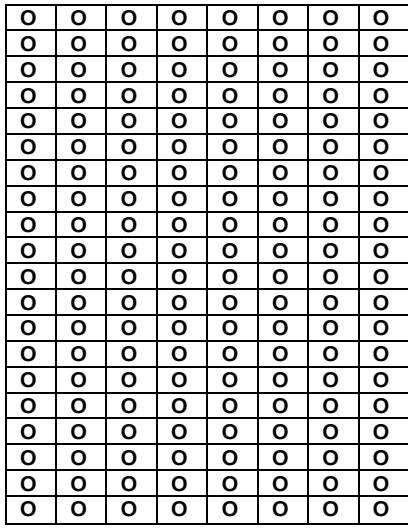
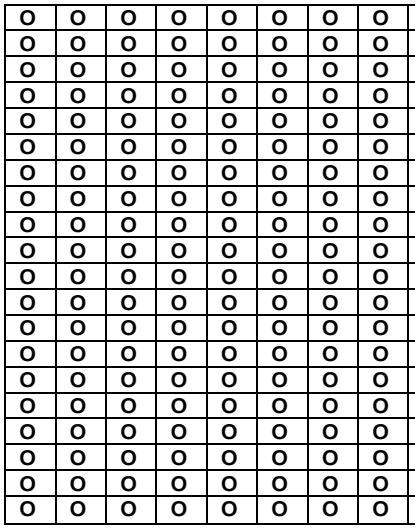
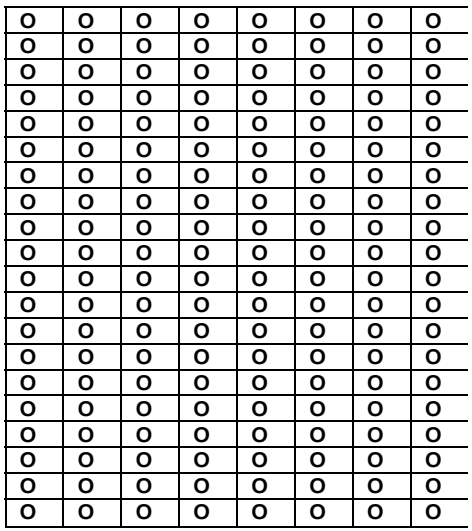
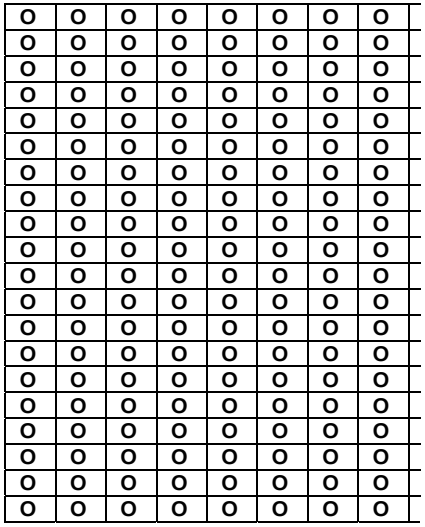








ตรวจผลครั้งที่ 5

10 เอกสารอ้างอิง

1. Dubey, T., R. V. James and W. R. Stevenson, 2002 The effect of 15 fungicides on viability of Phytophthora infestans sporangia in soil. Dept. Plant Pathology, University of Wisconsin, Madison, WI 53706.

2. Fernández-Northcote, E.N., Navia, O., and Gandarillas, A. 2000. Basis of strategies for chemical control of potato late blight developed by PROINPA in Bolivia. FITOPATOLOGIA 35(3): 137-149.

3. Gudmestad, N. C., Enz, J. W., Preston, D. A., and Secor, G. A. 1995. Late blight forecasting and dissemination system using an automated weather monitoring network. Pages 209-213 in Phytophthora infestans 150; edited by L. J. Dowley, E. Bannon, L. R. Cooke, T. Keane, and E. O'Sullivan. Boole Press Ltd., Dublin Ireland.

Krause, R. A., Massie, L. B., and Hyre, R. A. 1975. BLITECAST, a computerized forecast of potato late blight. Plant Disease Reporter 59:95-98.

4. Lynn Jensen, OSU Malheur 2000 Late Blight Information County Extension Office, Clint Shock, OSU Malheur Experiment Station,

5. MacKenzie, D. R. 1984. BLITECAST in retrospect -- a look at what was learned. FAO Plant Prot. Bull. 32:45-48.

6. Mary L. Powelson and Debra A. Inglis 2002 Seed Piece Treatment key to Protecting Against Potato Late Blight, OSU-Corvallis and WSU-Mount Vernon Vegetable Pathology Programs.

7. Mizubuti, E. S. G., Aylor, D. E., and Fry, W. E. 1999. Survival of *Phytophthora infestans* Sporangia Exposed to Solar Radiation. *Phytopathology*, p. 78-84.

8. Zimnoch-Guzowska, E. Late Blight and Late Blight research in Central and Eastern Europe. GILB, Late Blight: *Proceedings from the Global Conference on Potatoes, New Delhi, India.*

11. ภาคผนวก

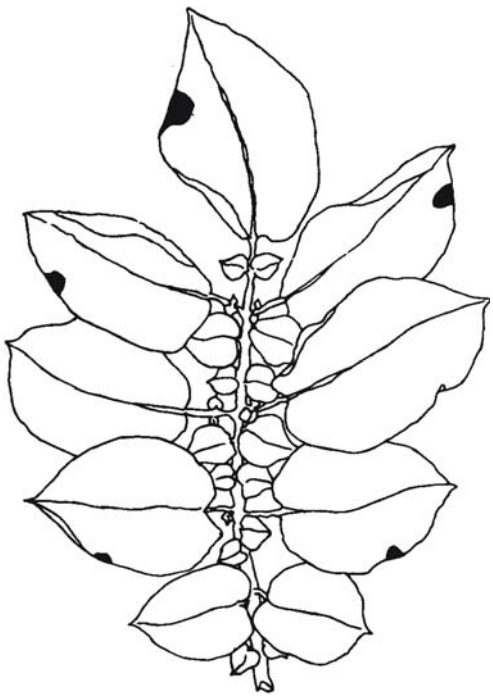
เอกสารแนบท้าย

ระดับที่ใช้ประเมินความรุนแรงของโรค

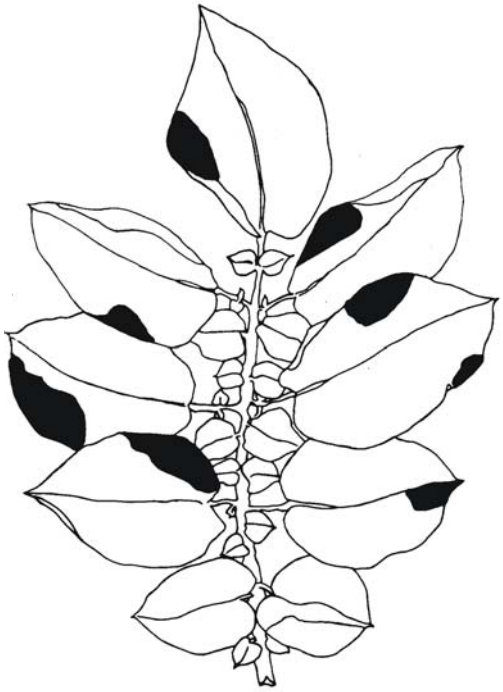
ระดับประเมินความรุนแรง	เปอร์เซ็นต์โรค	ลักษณะอาการที่พบและสังเกตพบในแปลงปลูก
1	0.0	ไม่พบโรค
-----	1.0	พบอาการของโรค เป็นจุดเล็กๆ กระจาย ทั่วไม่เกิน
2		10-20 จุดเล็กๆ ไม่มีการขยายตัว
---	10	พบอาการของโรคกระจายตัว **20-50** จุด แต่มีขนาด
3		ใหญ่ขึ้น และมีการกระจายตัวของแผลที่เป็นโรคอาจ
		จะถึง **5** ใน **10** ใบของใบย่อย ที่มีแผลอาการของโรค
---	20	เกือบทุกใบย่อย พบแผลอาการของโรค แต่ต้นมันฝรั่ง
		ยังมีอาการปกติในสภาพแปลงยังดูเขียวเป็นปกติ
4		ถึงแม้ว่าจะพบโรคในทุกต้นก็ตาม
---	50	พบโรคในทุกต้นและ ใบของต้นมันถูกโรคทำลาย
		ประมาณร้อยละ 50 ของทั้งหมด สภาพในแปลงยังมี
5		สีเขียว โดยพบมีสีน้ำตาลกระจายเป็นจุดๆ
----	70	พื้นที่ใบประมาณร้อยละ 70 ถูกทำลาย สภาพในแปลง
6		มีสีน้ำตาลเกือบทั้งหมดจะมีสีเขียวน้อยมาก
---	90	มีเพียงใบเหลือบนต้นเพียงเล็กน้อย พบเพียงแต่ต้นที่
7		พบยังมีสีเขียว
-----	100	ใบทั้งหมดตาย ต้นในแปลงตายหมด และเริ่มแห้ง

Percent Disease

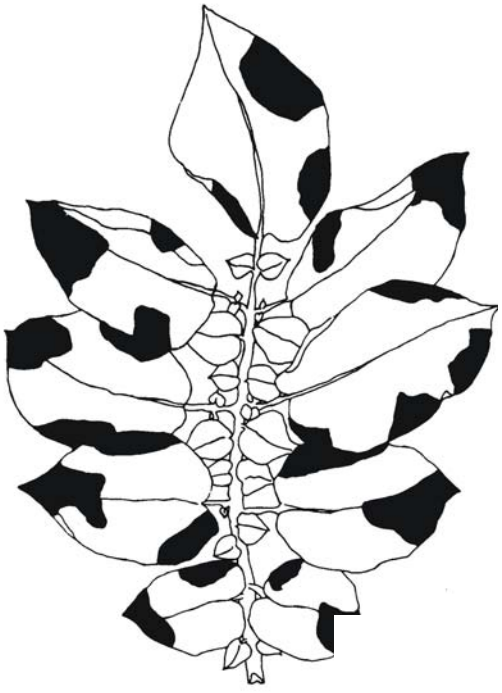
Disease rating



1%(2)



10%(2-4)



25%(4-5)

50%>(6-7)

Currently active \โครงการวิจัย late blight\percent diseased ศิริพงษ์ 254

การป้องกันกำจัดโรคสแคปของส้มโดยใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช

Effectiveness of Some Chemicals against Citrus Scab Disease

วุฒิศักดิ์ บุตรธนู ไมตรี พรหมมินทร์ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
สุธามาศ ณ น่าน [1] สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชต่อโรคสแคปของส้ม(Citrus scab : *Sphaceloma fawcetii*) ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง 2 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 12 กรรมวิธี และสภาพแปลงปลูก 1 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี การทดลองในสภาพโรงเรือนปลูกพืชโดยใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช 11 ชนิด ใช้ส้มพันธุ์ Rangpur lime ปลูกโดยเพาะเมล็ด ย้ายปลูกในถุงพลาสติก อายุได้ 90 วัน ทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคโดยใช้ spore suspension ความเข้มข้นสปอร์ $1x10^{7}$- $1x10^{10}$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชตามแผนการทดลองที่กำหนด 2 ครั้ง หลังการปลูกเชื้อ 3 วัน และ 15 วัน ตรวจการเกิดโรคสแคปและความรุนแรงของโรค 15 วัน และ 30 วันหลังการพ่นสาร ผลการทดลองพบว่า สาร tebuconazole 250 EC และ carbendazim 50 %WP อัตรา 20 มล./กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูง (คะแนนความรุนแรงของโรค 2.29 และ 1.67 ในช่วง 15 วัน 1.62 และ 2.43 ในช่วง 30 วัน ตามลำดับ) สารที่มีประสิทธิภาพรองลงมา 6 ชนิด คือ cuprous oxide 86.2 %WP, tetraconazole 4 %WP, Kresoxim methyl 50 %WG, chlorotharonil 75 %WP, copper hydroxide 53.87 %WP และ propineb 70 %WP ส่วนการศึกษาในสภาพแปลงปลูกพบว่าสาร tolclofos methyl 50 %WP, metalxyl 8%+mancozeb 64 %WP, benomyl 50 %WP และ cuprous oxide 86.2 %WP มีประสิทธิภาพสูง สารดังกล่าวจะนำไปศึกษาอัตราการใช้และช่วงเวลาการใช้ที่เหมาะสมต่อไป

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0101-04

[1]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

คำนำ

โรคสแคปของส้ม(Citrus scab)เกิดจากเชื้อรา *Sphaceloma fawcetii.* (Telemorp : *Elsinoe fawcetii*) พบระบาดทำความเสียหายรุนแรงใน เขตมลรัฐ California Florida และ Arizona ของสหรัฐอเมริกา ใน Australia South Africa และประเทศในแถบเมดิเตอร์เรเนียน (Whiteside *et al*.,1988) ส่วนในประเทศไทยพบโรคสแคปบนผลส้มเขียวหวาน รวมทั้งบนยอดอ่อนของ ส้มโอ ส้มเขียวหวาน และส้มพรีมองต์(กรรณิการ์ และคณะ, 2544;นิพนธ์, 2545) ระยะต่อมา รายงานการแพร่ระบาดของโรคนี้จากเกษตรกรปลูกส้มในเขตอำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร และอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ หลังจากการสำรวจและประเมินการเป็นโรคของส้มโดยคณะของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในช่วงเดือน กรกฎาคม-กันยายน 2546 พบว่า การแพร่ระบาดของโรคสแคปได้แพร่กระจายไปทั่วทั้งภาคเหนือ เช่นที่อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอหลังสวน จังหวัดชุมพร และในเขตอำเภอเมือง จังหวัดกำแพงเพชร พบโรครุนแรงมากในส้มโชกุน Sour orange Rangpur lime Carrizo orange และ rough lemon เชื้อราทำลายยอดอ่อน ใบอ่อน และผลอ่อน ทำให้ต้นส้มชะงักการเจริญเติบโต ผลส้มเป็นแผลสะเก็ด แคระแกร็น ผลผลิตเสียหายทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ และ/หรืออาจเก็บเกี่ยวไม่ได้เลย การศึกษาด้านเชื้อสาเหตุของโรคสแคปของส้มที่สหรัฐอเมริกา พบว่าเกิดจากเชื้อรา 3 ชนิด คือ citrus scab เกิดจาก *Elsinoe fawcetii (Sphaceloma fawcetii)* sweet orange เกิดจาก *E. australis(S. australis*) และ tryon's scab เกิดจาก *S. fawcetii* var. *scabiosa*. ซึ่งเชื้อราแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยาของ ascospore conidia conidiophore สภาพภูมิศาสตร์ที่มีการแพร่ระบาด และพืชอาศัย (Whiteside *et al*.,1988) ส่วนในประเทศไทย พบว่าเป็นเชื้อรา *S. fawcetii*(กรรณิการ์ และคณะ, 2544)

ด้านการป้องกันกำจัด ที่สหรัฐอเมริกาแนะนำการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชพวก captafol benomyl สารประกอบพวกทองแดง thiophanate-methyl และ benzimidazole สารเคมี captafol ถึงแม้ว่ามีรายงานว่ามีประสิทธิภาพสูงมากในการควบคุมโรคสแคบ แต่ก็ได้สั่งห้ามนำเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทยเนื่องจากอาจเป็นสารก่อให้เกิดโรคมะเร็ง อย่างไรก็ดีสารชนิดอื่นๆส่วนใหญ่มีผลในการป้องกันอย่างกว้างๆ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาเพื่อคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพสูงและปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม เพื่อแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ป้องกันกำจัดโรคนี้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

-โรงเรือนปลูกพืช

-แปลงปลูกพืชทดลอง

-ต้นกล้าส้มพันธุ์ Rangpur Lime

-กระถางปลูกพืช และ ถุงพลาสติกปลูกพืช

-ดินผสมปลูกพืช

-ปุ๋ยเคมี สูตร 15-15-15 N-P_2O_5-K_2O และ ไบโฟลาน(46 %N)

-สารเคมีฆ่าแมลง เช่น Admide (ส้ม) คอนฟิดอร์

-สารป้องกันกำจัดโรคพืช คือ carbendazim 50 %WP, benomyl 50 %WP, tolclofos methyl 50 %WP, metalaxyl 8%+mancozeb 64 %WP, propineb 70 %WP, mancozeb 80 %WP, cuprous oxide 86.20%WP , copper hydroxide 53.87 %WP, chlorotharonil 75 %WP, kresoxim-methyl 50 %WG. Tetraconazole 4 %WP, และ tebuconazole 250 EC

-อุปกรณ์การให้น้ำพืช ได้แก่ สายยาง บัวรดน้ำ หัวพ่นฝอย

-เชื้อราสาเหตุโรค *Sphaceloma fawcetii*

-อุปกรณ์การปลูกเชื้อสาเหตุโรค ได้แก่ กระบอกพ่นน้ำอัดแรงดัน กระบอกตวง ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง พู่กันปัดสปอร์ น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ฯ

-ถังพ่นสารฆ่าแมลงชีดอัดแรงดัน

-อุปกรณ์การบันทึกข้อมูล ได้แก่ สมุดบันทึก แผ่นคลิบบอร์ด แผ่นบันทึกข้อมูล

วิธีการ

การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในสภาพเรือนปลูกพืช ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้งๆที่ 1 ระหว่างเดือนตุลาคม 2547-มกราคม 2548 ครั้งที่ 2 ระหว่างเดือนมีนาคม –มิถุนายน 2548 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 12 กรรมวิธี เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช 11 ชนิดต่อการเกิดโรคและความรุนแรงของโรค ได้แก่ สาร carbendazim 50 %WP, tolclofos methyl 50 %WP, metalaxyl 8%+mancozeb 64 %WP, propineb 70 %WP, mancozeb 80 %WP, cuprous oxide 86.20%WP , copper hydroxide 53.87 %WP, chlorotharonil 75 %WP, kresoxim-methyl 50 %WG. Tetraconazole 4 %WP, และ tebuconazole 250 EC และกรรมวิธีเปรียบเทียบ

ทำการเพาะกล้าและย้ายปลูกส้มพันธุ์ Rangpur lime ในถุงพลาสติก ภายในโรงเรือนปลูกพืช ต้นกล้าส้มอายุ 3 เดือน ตัดยอดอ่อน พ่นปุ๋ยไนโตรเจน(ไบโฟลาน 46 %N) เพื่อกระตุ้นให้

พืชแตกยอดอ่อน หลังจากนั้น 3 สัปดาห์ ทำการปลูกเชื้อรา *Sphaceloma fawcetii* สาเหตุโรค พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 2 ครั้ง ตามแผนการทดลองที่กำหนดหลังการปลูกเชื้อรา 3 วันและ 15 วัน บันทึกการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคสแคป หลังการพ่นสารครั้งแรก 15 และ 30 วัน โดยให้คะแนน 1-6 (1=ไม่พบอาการโรคสแคปบนพืช 2=พบแผลสแคปน้อยกว่า 5 %, 3=พบแผลสแคป 5-10%, 4=พบแผลสแคป 11-25%, 5=พบแผลสแคป 26-50%, 6=พบแผลสแคปมากกว่า 50%,)

การทดลองที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 10 กรรมวิธี เป็นการศึกษาเพื่อประเมินผลของสารต่อการเกิดโรคสแคปตามธรรมชาติ การดำเนินงาน โดยใช้แปลงปลูกส้มพันธุ์ Rangpur lime (พันธุ์อ่อนแอต่อโรค) เช่นเดียวกัน ต้นส้มอายุ 3 ปี ทำการตัดแต่งรูปทรงต้น กำจัดวัชพืช พรวนดิน ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 (N-P_2O_5-K_2O) และพ่นปุ๋ยทางใบ(ไบโฟลาน 46 %N) กระตุ้นให้แตกยอดอ่อน แล้วพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 9 ชนิด ตามแผนการทดลองที่กำหนด จำนวน 3 ครั้ง ห่างกันช่วงละ 7 วัน บันทึกการเป็นโรคและความรุนแรงของโรค เมื่อ 15 30 และ 60 วันหลังการพ่นสาร เช่นเดียวกับการศึกษาในโรงเรือน

เวลาและสถานที่ในการทดลอง

ระยะเวลาดำเนินการ ตุลาคม 2547 สิ้นสุด กันยายน 2549

สถานที่ดำเนินการ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาในโรงเรือนปลูกพืช

การทดลองครั้งที่ 1 ระหว่างเดือน ตุลาคม 2547-มกราคม 2548 ผลการประเมินการเป็นโรคสแคปในช่วง 15 หลังการพ่นสารครั้งแรก ส้มเป็นโรครุนแรงระหว่าง 1.04-1.67 เปรียบเทียบระหว่างสารป้องกันกำจัดโรคพืช 11 ชนิด ความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ทุกชนิดแตกต่างกับการไม่ใช้สาร ช่วง 30 วัน พืชเป็นโรครุนแรงมากขึ้น(คะแนนความรุนแรง =1.37-2.75) เปรียบเทียบระหว่างสารป้องกันกำจัดโรคพืช 11 ชนิด พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ สาร carbendazim 50 %WP อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงที่สุด (คะแนนความรุนแรงของโรค = 1.37) แตกต่างกับสารชนิดอื่นๆ และแตกต่างกับการไม่ใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช สารที่มีประสิทธิภาพรองลงมา คือ propineb 70 %WP, copper hydroxide 53.87 %WP และ metalaxyl 8 %+mancozeb 60 %WP ส่วนสาร tebuconazole 250 EC, chlorotharonil 75 %WP, tolclofos methyl 50 %WP, mancozeb 80 %WP, cuprous oxide

86.20 %WP, tetraconazole 4 %WP และ kresoxim metjyl 50 WG ความรุนแรงของโรคสแคปไม่แตกต่างกับการไม่ใช้สาร

การทดลองครั้งที่ 2 ระหว่างเดือน มีนาคม –มิถุนายน 2548 การเกิดโรคสม่ำเสมอและรุนแรงกว่าการทดลองครั้งที่ 1 คือ ช่วง 15 วันหลังการพ่นสารครั้งแรก พืชเป็นโรครุนแรง 1.67-3.25 เปรียบเทียบระหว่างการใช้สารชนิดต่างๆมีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ carbendazim 50 %WP และ copper hydroxide 53.87 %WP พืชเป็นโรครุนแรงต่ำ(คะแนนความรุนแรงของโรค=1.67 และ 1.83) สารที่มีประสิทธิภาพรองลงมา ได้แก่ tebuconazole 250 EC, chlorotharonil 75 %WP, cuprous oxide 86.20 %WP และ tetraconazole 4 %WG ช่วงอายุ 30 วัน พบว่า สาร tebuconazole 250 EC มีประสิทธิภาพสูงสุด(คะแนนความรุนแรงของโรค = 1.62) รองลงมาคือ carbendazim 50 %WP (คะแนนความรุนแรงของโรค = 2.43) ส่วนสาร propineb 70 %WP, chlorotharonil 75 %WP, cuprous oxide 86.20 %WP, tetraconazole 4 %WP และ kresoxim methyl 50 %WG มีประสิทธิภาพรองลงมา(คะแนนความรุนแรงของโรค = 3.06-3.43)

ผลการทดลองศึกษา 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 เป็นช่วงที่มีอุณหภูมิต่ำ และความชื้นในอากาศต่ำ มีลมพัดแรงและต่อเนื่อง การพัฒนาอาการของโรคสแคปค่อนข้างช้า(ตารางที่ 1) เนื่องจากสภาพฟ้าอากาศไม่เหมาะสมต่อการระบาดของโรค(Whiteside *et al*., 1988) ส่งผลให้ประสิทธิภาพของสารเคมีไม่มีความแตกต่างปรากฏอย่างเด่นชัด ส่วนผลการศึกษาครั้งที่ 2 อุณหภูมิค่อนข้างต่ำ แต่ความชื้นสูงขึ้น เนื่องจากไม่มีลมพัดรุนแรง การพัฒนาอาการของโรคเป็นไปอย่างรวดเร็ว และรุนแรง(ตารางที่ 1) ส่งผลให้ประสิทธิภาพของสารปรากฏเด่นชัดมากขึ้น โดยเฉพาะสารประเภทดูดซึม หรือ กึ่งดูดซึม เช่น tebuconazole 250 EC การตรวจความรุนแรงของโรคหลังจากการพ่นสารครั้งที่ 2 พบว่าอาการของโรคไม่พัฒนา แผลบางจุดยุบตัว การลุกลามของแผลน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับสารชนิดอื่นๆ รวมทั้งการไม่ใช้สาร ซึ่งแผลลุกลามมากกว่า 80 % ของพื้นที่ใบ และยอดอ่อนบางยอดถูกทำลาย 100 % ส่วนสาร carbendazim 50 %WP ผลการทดลองสอดคล้องกันทั้ง 2 การทดลอง แสดงว่าการทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชมีเสถียรภาพค่อนข้างคงที่ และผลการทดสอบเด่นชัดมากขึ้นเมื่อพืชเป็นโรครุนแรงมากขึ้น ดังนั้นจึงคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืช 8 ชนิด คือ carbendazim 50 %WP, propineb 70 %WP, cuprous oxide 86.20%WP , copper hydroxide 53.87 %WP, chlorotharonil 75 %WP, kresoxim-methyl 50 %WG. Tetraconazole 4 %WP, และ tebuconazole 250 EC เพื่อทดสอบอัตราการใช้ และวิธีการใช้สารต่อไป

2. การศึกษาในสภาพแปลงทดลอง

ดำเนินการ ระหว่างเดือนสิงหาคม 2547-มีนาคม 2548 การเกิดโรคสแคปบนต้นพืชค่อนข้างสม่ำเสมอ ยกเว้นกรรมวิธีที่มีต้นส้มแสดงอาการของโรคกรีนนิ่งที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ

Bacteria Like Organism(BLO) จะเป็นโรคแคปน้อยมาก และบางต้นจะไม่แสดงอาการสแคปเลย อย่างไรก็ดี ผลการตรวจความรุนแรงของโรค 3 ครั้ง พบว่า ช่วงหลังการพ่นสารครั้งแรก 15 วัน การใช้สารทุกชนิดพืชเป็นโรครุนแรงน้อยกว่าการไม่ใช้สาร ในช่วง 30 และ 60 วัน ให้ผลไปในทำนองเดียวกัน คือ สาร metalaxyl 8 %+mancozeb 64 %WP และ tolclofos methyl 50 %WP พืชเป็นโรครุนแรงต่ำที่สุด(คะแนนความรุนแรงของโรค = 1.87, 2.82 และ 2.25, 2.57 ในช่วง30 และ 60 วันตามลำดับ) สาร benomyl 50 %WP, copper hydroxide 53.87 %WP และ cuprous oxide 86.20 %WP พันพืชเป็นโรครุนแรงมากขึ้น แต่น้อยกว่าการไม่ใช้สาร(ตารางที่ 2)

อย่างไรก็ดี จากสังเกตและบันทึกการเกิดโรคสแคปในแปลง พบว่าต้นส้มในบางซ้ำของกรรมวิธีการใช้สาร metalaxyl 8 %+mancozeb 64 %WP และ tolclofos methyl 50 %WP แสดงอาการโรคกรีนนิ่ง จึงทำให้ผลการทดลองแตกต่างไปจากการทดลองในสภาพเรื่อนทดลองซึ่งต้นพืชทดลองไม่มีการปนเปื้อนของโรคกรีนนิ่ง ดังนั้นการทดลองศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของสารเคมีต่อโรคสแคป เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของผลการทดลองจะต้องคำนึงถึงการระบาดของโรคกรีนนิ่งด้วย

สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง และในสภาพแปลงปลูก พบว่าสารป้องกันกำจัดโรคพืช tebuconazole 250 EC อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ carbendazim 50 %WP อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคสแคปของส้มได้สูงที่สุด สารที่มีประสิทธิภาพดีรองลงมา คือ propineb 70 %WP, cuprous oxide 86.20%WP ,copper hydroxide 53.87 %WP, chlorotharonil 75 %WP, kresoxim-methyl 50 %WG. และ Tetraconazole 4 %WP จึงทำการคัดเลือกสาร 8 ชนิดดังกล่าวเพื่อทดสอบอัตราการใช้ และวิธีการใช้สารต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์ วิรัช ชูบำรุง และ อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2544. เชื้อรา *Sphaceloma* spp. สาเหตุโรคสแคปของพืชชนิดต่างๆ. หน้า 277-286. ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 5 อารักขาพืช : ผลิตอาหารเพื่อประชากรโลก เรื่องเต็ม 1 ภาค บรรยาย 21-23 พฤศจิกายน 2544 ณ โรงแรมเฟลิกซ์ ริเวอร์แคว จังหวัดกาญจนบุรี

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2545.. โรคไม้ผลเขตกึ่งร้อน. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร “หมอพืช-ไม้ผล” ฉบับที่ 2 ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 145 หน้า

อำไพวรรณ ภราดร์นุวัฒน์ วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล วิเชียร กำจายภัย สุพัฒน์ อรรถธรรม และ นิพนธ์ ทวีชัย. 2527. โรคส้มในประเทศไทย (Citrus Diseases in Thailand) ฟันนี่พับบลิชชิ่ง กรุงเทพมหานคร. 126 หน้า.

Persley D. 1993. Diseases of Fruit Crops. Division of Crop Protection, Department of Primary Industries, Queenlands, Australia. 180 pp.

Whiteside J.O., S.M. Garnsey, L.W. Timmer. 1988. Compendium of Citrus Diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 80 pp.

Table 1 Efficacies of some fungicides against citrus scab (Sphaceloma fawcetii) under greenhouse conditions with artificial inoculation.

Treatment	App. Rate	Experiment I		Experiment II	
	g or ml/20 lit	15 DAA	30 DAA	15 DAA	30 DAA
1. propineb 70 %WP	60	1.21 a	2.04 bc	2.45 a-d	3.43 b-d
2. .tebuconazole 250 EC	20	1.12 a	2.21bd	2.29 a-c	1.62 a
3. carbendazim 50 % WP	20	1.04 a	1.37 a	1.67 a	2.43 ab
4. Chlorotharonil 75 %WP	40	1.15 a	2.33 cd	2.29 a-c	3.31 bc
5.. copper hydroxide 53.87 %WP	45	1.29 a	2.04 bc	1.83 ab	3.66 cd
6. mancozeb 80 %WP	40	1.33 a	2.30 cd	3.18 cd	4.65 de
7. metalaxyl 8%+mancozeb 64%WP	50	1.13 a	2.04 bc	2.71 b-d	4.94 e
8. tolclofos methyl 50 %WP	50	1.29 a	2.42 cd	2.50 a-d	3.85 cd
9. cuprous oxide 86.2 %WP	20	1.24 a	2.16 bd	2.29 a-c	3.36 bc
10. tetraconazole 4 % WP	20	1.33 a	2.20 bd	2.33 a-c	3.25 bc
11.kresoxim-methyl 50 %WG	4	1.08 a	2.18 bd	2.50 a-d	3.06 bc
12. Water	-	1.67 b	2.75 d	3.25 d	6.00 f
CV (%)		16.76	8.60	22.31	18.05

Table 2 Efficacies of some fungicides against citrus scab (*Sphaceloma fawcetii*) under field conditions with natural inoculation.

Treatment	App. Rate	Scab Disease Severity		
	g or ml/20 lit	15 DAA	30 DAA	60 DAA
1. carbendazim 50 % WP	20	3.75 dc	4.12 b	6.00 e
2. tolclofos methyl 50 %WP	50	2.12 ab	2.25 a	2.37 a
3. metalaxyl 8%+mancozeb 64%WP	50	1.75 a	1.87 a	2.62 a
4. benomyl 50 %WP	20	2.50 b	4.06 b	4.31 b
5.. copper hydroxide 53.87 %WP	45	3.18 c	4.56 c	5.50 d
6. propineb 70 %WP	60	3.50 cd	5.00 d	6.00 e
7. mancozeb 80 %WP	40	4.75 f	6.00 e	6.00 e
8. Chlorotharonil 75 %WP	40	3.93 e	6.00 e	6.00 e
9. cuprous oxide 86.2 %WO	20	4.68 f	5.75 e	4.75 c
10. Water	-	6.00 g	6.00 e	6.00 e
CV (%)		7.63	8.78	4.74

ชนิดและปริมาณแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักสวนครัวส่งออก 3 ชนิด (กะเพรา โหระพา และผักชีฝรั่ง)

Insect Species and Densities of Three Selected Kitchen Garden Plants (Holy basil, *Ocimum sanctum* Linn.; Sweet basil, *Ocimum basilicum* Linn.; and Stinking, *Eryngium foetidum*)

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุฑธ์ ไพศาล รัตนเสถียร อัจฉรา หวังอาษา วรจิต ผาภูมิ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจชนิดและปริมาณแมลงศัตรู กะเพรา และโหระพา ในแหล่งปลูกเขตจังหวัดนนทบุรี และ ปทุมธานี พบแมลงศัตรูที่สำคัญ 7 ชนิด คือ หนอนม้วนใบ (*Ophanostigma abruptalis*(Walker)) หนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (Fabricius) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera* Hubner) เพลี้ยไฟ (*Dorcadothrips* sp.) และมวนปีกแก้ว (*Monanthia globulifera* Walk.) ความเสียหายจากการทำลายของแมลงศัตรูทุกชนิดอยู่ในช่วงประมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ ในแหล่งที่ไม่มีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรู พบความเสียหายเนื่องจากหนอนม้วนใบอยู่ในช่วง 30-40 เปอร์เซ็นต์ ผักชีฝรั่งในแหล่งปลูก ต.บ้านใหม่ อ.บางใหญ่ อ. บางกรวย จ.นนทบุรี อ. บางเลน จ. นครปฐม พบเพลี้ยแป้ง (ยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์) ไรแดง (*Tetranychus tumidus* Banks) และหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* F.) สารฆ่าแมลงที่เกษตรกรใช้พ่น ได้แก่ profenofos, abamectin, cypermethrinและ imidacloprid

ชีววิทยาของหนอนม้วนใบทำลายโหระพาและกะเพรา (*Ophanostigma abruptalis*(Walker) วงศ์ Pyralidae อันดับ Lepidoptera) ระยะไข่ 3-4 วัน ระยะหนอน 10-12 วัน ระยะดักแด้ 8 วัน และระยะตัวเต็มวัย 2-21 วัน ตลอดวงจรชีวิตใช้เวลา 23-45 วัน ความสามารถในการวางไข่ 130 ฟอง เปอร์เซ็นต์ไข่ฟัก 96.50 % ชีววิทยาของหนอนชอนใบโหระพา (*Liriomyza* sp.วงศ์ Agromyzidae อันดับ Diptera) ระยะไข่ 2-3 วัน ระยะหนอน 3-4 วัน ระยะดักแด้ 7-9 วัน ระยะตัวเต็มวัย 7-17วัน ตลอดวงจรชีวิตใช้เวลา 15-33 วัน

คำนำ

ในอดีตพืชผักสวนครัวปลูกเพื่อบริโภคภายในประเทศเท่านั้น แต่ปัจจุบันมีการส่งออกไปจำหน่ายในต่างประเทศหลายชนิด เช่น โหระพา กระเพรา แมงลัก ผักชีฝรั่ง ผักชีลาว ใบบัวบก สะระแหน่ ขิง ข่า กระชาย และ ตะไคร้ เป็นต้น

รหัสกิจกรรม 06-01- 47- 0102-02

ญี่ปุ่นเป็นประเทศนำเข้าพืชผักสวนครัวมีปริมาณรวมทั้งสิ้นมากกว่า 200 ตัน ต่อปี แต่การนำเข้าส่วนมากเป็นประเทศสมาชิกสหภาพยุโรป (EU) ได้แก่ ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ เบลเยี่ยม เดนมาร์ก และเยอรมัน มีรายงานของสำนักที่ปรึกษาการเกษตรต่างประเทศ ประจำสหภาพยุโรป เกี่ยวกับปัญหาการนำเข้าสินค้าประเภทเครื่องปรุง และพืชสมุนไพร ในช่วงเดือน สิงหาคม 2545 ถึง พฤษภาคม 2546 การตรวจยึด/ปฏิเสธการนำเข้า/ทำลายสินค้า ของประเทศเดนมาร์ก เนื่องจากมีแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* Gennadius) ในผักชีสด และหนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.)ในโหระพา จำนวน 11 รายการ จาก 124 รายการ หรือ 8.87 เปอร์เซ็นต์ ของสินค้าทั้งหมดที่ถูกกัก/ทำลาย ซึ่งนำเข้าจากประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีการตรวจพบสารพิษตกค้างในปริมาณตั้งแต่ 15 –100 % ในพืชประเภทเครื่องปรุงและพืชสมุนไพรเพื่อการส่งออก และเป็นชนิดที่ไม่เหมาะสมในการใช้กับพืชดังกล่าว

ในปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลในด้าน ชนิด ปริมาณศัตรูพืช ความรุนแรงในการเข้าทำลายพืช ความสูญเสียของพืช ตลอดจนวิธีการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม Polboon (1965) รายงานว่าในประเทศไทยพบมีแมลงศัตรูกัดกินใบกะเพรา, *Borbo beyani* Moor, F. Hesperiidae O. Lepidoptera เพียงชนิดเดียวเท่านั้น และปัญหาโรคแมลงศัตรูของกะเพราและโหระพายังมีน้อยไม่จำเป็นต้องทำการป้องกันกำจัด (นิรนาม, 2543) อย่างไรก็ดีเคยมีการรายงานอย่างไม่ถูกต้องของประเทศคู่ค้าเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูพืชที่ติดไปกับพืชที่ส่งออกไปจากประเทศไทย ทำให้เสียโอกาสในการแข่งขันการส่งออกพืชของประเทศ จึงควรมีการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลที่ถูกกล่าวหา โดยทำการสำรวจ ศึกษา วิจัย เพื่อให้ได้ข้อมูลศัตรูพืชที่ถูกต้อง อันจะเป็นประโยชน์ในการต่อรองทางการค้า ตลอดจนเป็นแนวทางในการตัดสินใจป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อเป็นการลดปัญหาการส่งออกพืชผักสวนครัวให้ปลอดจากแมลงศัตรูพืช และส่งเสริมให้วัสดุปรุงอาหารจากไทยเป็นวัสดุที่มีคุณภาพและปลอดจากสารพิษ เพื่อสนับสนุนนโยบายรัฐบาลที่ประกาศให้ประเทศไทยเป็นครัวโลก และ ปี 2547 เป็น Food Safety Year ซึ่งจะเป็นการเพิ่มศักยภาพในการแข่งขัน และนำชื่อเสียงมาสู่ประเทศไทย จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลหรือเทคโนโลยีที่เหมาะสม ไม่มีผลกระทบต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม รวมทั้งมีความยั่งยืนในการผลิตพืชผักสวนครัวเพื่อการส่งออก

สำหรับปีนี้เน้นงานวิจัยทดลองเพื่อทราบชนิดและปริมาณแมลงศัตรูที่สำคัญของกะเพรา โหระพา และ ผักชีฝรั่ง และความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของแมลงศัตรูสำคัญ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกพืชผักสวนครัว 3 ชนิด ได้แก่ กะเพรา โหระพา และผักชีฝรั่ง
2. อุปกรณ์ในการเก็บรวบรวมแมลง เช่น ขวดฆ่าแมลง ขวดดอง พู่กัน ปากคีบ เข็มเขี่ย มีด ถุงพลาสติก และกล่องพลาสติกขนาดใหญ่ ฯ

3. อุปกรณ์เลี้ยงแมลง เช่น ถ้วยพลาสติก โป๊ะตะเกียง ผ้าขาวบาง สำลี กลูโคส ฯ
4. กรงเลี้ยงแมลงขนาดกลาง
5. กล้องจุลทรรศน์ และแว่นขยาย
6. กระถางปลูกต้นไม้ และ ดิน

วิธีการ แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้ คือ

ขั้นตอนที่ 1 การสำรวจชนิดและปริมาณแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักสวนครัวส่งออก

ทำการสำรวจชนิดและปริมาณแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักสวนครัวส่งออก 3 ชนิด คือ กะเพรา โหระพา และผักชีฝรั่ง ในแหล่งปลูกของเกษตรกร อย่างมีระบบและแบบแผนโดยทำการสำรวจทุกสัปดาห์หรือสองสัปดาห์ จำนวน 5-10 ครั้ง จากทั้ง 3 พืช จำนวนพืชละ 100 ต้น/ แปลง/ สถานที่ปลูก บันทึกชนิด ปริมาณแมลงศัตรูที่เข้าทำลาย และความเสียหายจากการทำลายของแมลงศัตรูที่สำคัญในแต่ละพืชแล้วเก็บรวบรวมแมลงศัตรูที่สำคัญของแต่ละพืชนำมาเลี้ยงและศึกษาชีววิทยาในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนส่งจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ จากการทดลองครั้งนี้ได้ทำการศึกษาชีววิทยาของแมลงศัตรูผักสวนครัว 2 ชนิด คือ 1)หนอนม้วนใบทำลายกะเพราและโหระพา และ2) หนอนชอนใบทำลายโหระพาและแมงลัก

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาชีววิทยาแมลงศัตรูที่สำคัญของกะเพราและโหระพาในห้องปฏิบัติการ

2.1 <u>การศึกษาชีววิทยาหนอนม้วนใบทำลายกะเพราและโหระพา</u>

เก็บรวบรวมตัวหนอนม้วนใบกะเพราและโหระพาจากแปลงของเกษตรกรนำมาเลี้ยงรวมกันในกรงเลี้ยงแมลง จนกระทั่งหนอนเข้าดักแด้ และเปลี่ยนเป็นผีเสื้อ จับคู่เพศผู้และเพศเมีย จำนวน 10 คู่ ให้ผสมพันธุ์และวางไข่บนใบกะเพรา เมื่อไข่เริ่มฟักเป็นตัวหนอนวัยที่ 1 ใช้พู่กันเขี่ยตัวหนอนแต่ละตัวแยกลงในถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร และมีฝาปิด ภายในถ้วยใส่ใบกะเพราที่มีสำลีชุบน้ำพันก้านใบเพื่อชลอความเหี่ยว ให้ไว้เป็นอาหารของตัวหนอน ทำ 20 ซ้ำ ตรวจวัดการเจริญเติบโตของหนอนม้วนใบกะเพราและเปลี่ยนอาหารทุกวัน จดบันทึกระยะการเจริญเติบโต วัดขนาดของแต่ละระยะ จำนวนครั้งในการลอกคราบ และความสามารถในการวางไข่ของผีเสื้อ

2.2 <u>การศึกษาชีววิทยาหนอนชอนใบทำลายโหระพา</u>

เก็บรวบรวมใบโหระพาและใบแมงลักที่มีรอยทำลายของหนอนชอนใบจากแปลงของเกษตรกรและแปลงปลูกทดลอง นำมาเลี้ยงรวมกันไว้ในกล่องพลาสติกเลี้ยงแมลงขนาดใหญ่ จัดเตรียมเพาะต้นกล้าโหระพาในถ้วยปลูกพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร ให้มีอายุ 5 วันหรือมีใบจริงประมาณ 4-5 ใบ ขณะเดียวกันเตรียมชุดสำหรับให้ตัวเต็มวัยวางไข่ โดยการนำต้นกล้าที่เพาะไว้และต้องปราศจากการทำลายของแมลงศัตรู วางลงในแผ่นโฟมที่เจาะรูตรงกลางให้มีขนาดเท่ากับหรือพอดีกับขนาดถ้วยปลูกและให้ขอบถ้วยปลูกเสมอกับแผ่นโฟม ใช้โป๊ะตะเกียงแก้วทีมีผ้าขาวบางปิดด้านบน

มาครอบต้นกล้าไว้ แล้วนำไปวางลงในขันน้ำพลาสติกที่มีขนาดพอดีกับแผ่นโฟม และใส่น้ำไว้เพื่อให้ความชื้นแก่ต้นกล้า จับคู่ตัวเต็มวัยเพศผู้เพศเมียปล่อยใส่ในโป๊ะ และใช้สำลีชุบกลูโคส 5 % วางใส่ในถาดเล็กๆเพื่อให้เป็นอาหารทำ10 ซ้ำ ตรวจการวางไข่ของแมลงวันหนอนชอนใบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวัน และบันทึกข้อมูลระยะการเจริญเติบโต

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2546-กันยายน 2547

สถานที่ แปลงเกษตรกร อ.ไทรน้อย จ.นนทบุรี อ. เมือง อ.คูบางหลวง และอ. ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี และ ห้องปฏิบัติการเลี้ยงแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ขั้นตอนที่ 1 ชนิดและปริมาณแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักสวนครัวส่งออก (ตารางที่ 1)

จากการสำรวจผักสวนครัว ในแหล่งปลูกเขต อำเภอเมือง อำเภอคูบางหลวง อำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี อำเภอไทรน้อย จ. นนทบุรี อ. ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี พบแมลงศัตรูที่ทำความเสียหายใน โหระพา แมงลัก และกะเพรา คือ เพลี้ยไฟ (*Dorcadothrips* sp. F.Thripidae O. Thysanoptera) หนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp. F. Agromyzidae O. Diptera) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera* Hubner F. Noctuidae O. Lepidoptera) หนอนกระทู้ผัก(*Spodoptera litura* (Fabricius) F. Noctuidae O. Lepidoptera) หนอนม้วนใบ(*Ophanostigma abruptalis* (Walker) F.Pyralidae O. Lepidoptera) มวนปีกแก้ว (*Monanthia globulifera* Walk. F. Tingidae O. Hemiptera) และเพลี้ยอ่อน (ยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์)

เปอร์เซ็นต์ความเสียหายจากการทำลายของแมลงศัตรูทุกชนิดที่กล่าวมาแล้วข้างต้นอยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ พบในช่วงประมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ในแปลงที่ปลูกโหระพาและแมงลักเป็นแปลงใหญ่ พบว่ามีแมลงศัตรูธรรมชาติที่เป็นตัวเบียน ของหนอนชอนใบ คือ *Hemiptarsenus varieornis* (F.Eulophidae, O. Hymenoptera) อยู่ด้วย แต่ในกรณีแปลงโหระพาที่ไม่มีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรู ความเสียหายจากหนอนม้วนใบพบค่อนข้างมาก อยู่ในช่วง 30-40 เปอร์เซ็นต์

ชนิดและปริมาณแมลงศัตรูของกะเพราและโหระพา ในแต่ละแหล่งปลูกพบว่ามีความแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสาเหตุหลายประการด้วยกัน กล่าวคือความแตกต่างของวิธีการปลูกซึ่งบางแห่งจะทำการเพาะกล้าก่อนแล้วย้ายปลูกในหลุม และมีการเก็บผลผลิตหลายครั้งหรือเกือบทุกสัปดาห์เป็นเวลาหลายเดือน แต่บางแห่งก็ปลูกโดยหว่านแล้วเก็บผลผลิตครั้งเดียว ในช่วงที่ได้ราคาดีหรือตลาดมีความต้องการสูงก็จะมีการดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี เช่น มีการใส่ปุ๋ยเร่งใบหรือฉีดพ่นฮอร์โมน และการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ถ้าราคาตกก็จะปล่อยทิ้งไว้ไม่ได้เอาใจใส่เท่าที่ควร หรือบางแห่งก็นำมาตกแต่งใบที่ถูกทำลายเนื่องจากศัตรูพืชหรือนำมาเด็ดใบที่เสียหายทิ้งไป ในระยะที่ตัดเก็บเกี่ยว แล้วมัด

เอาไว้เป็นกำๆเพื่อส่งตลาด ซึ่งการคัดเลือกใบที่เสียเนื่องจากศัตรูพืชออกไป โดยเฉลี่ยแล้วน้ำหนักผลผลิตก็อาจจะหายไปมากกว่า ¼ หรือประมาณ 25 % ของผลผลิตทั้งหมดที่ตัดเก็บมาจากแปลงปลูก

ราคาของกะเพราและโหระพาที่เกษตรกรขายส่งตลาดไทย ณ กรุงเทพฯ โดยเกษตรกรอาจเป็นผู้นำไปขายเอง หรือมีพ่อค้าคนกลางมารับซื้อถึงที่แปลงปลูก จะเปลี่ยนแปลงขึ้นๆ ลงๆ อยู่ในช่วง 2-27 บาท/กิโลกรัม ซึ่งนับว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการกระตุ้นให้เกษตรกรละเลยหรือเอาใจใส่ดูแลรักษา

สารฆ่าแมลงที่ใช้ในแปลงโหระพา ของเกษตรกร อ.ไทรน้อย จ.นนทบุรี เป็นการใช้สารที่เหลือจากการใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูในนาข้าว ซึ่งเป็นสารที่ทางราชการไม่ได้แนะนำ และบางชนิดถูกห้ามใช้แล้ว เช่น parathion-methyl เป็นต้น

แหล่งปลูกผักชีฝรั่ง ต.บ้านใหม่ อ.บางใหญ่ อ. บางกรวย จ.นนทบุรี อ. บางเลน จ. นครปฐม พบแมลงศัตรูเข้าทำลาย ได้แก่ เพลี้ยแป้ง (ยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์) ไรแดง (*Tetranychus tumidus* Banks F. Tetranychidae O. Acarina) และหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* F.) สารฆ่าแมลงที่เกษตรกรใช้พ่น ได้แก่ profenofos, abamectin, cypermethrin และ imidacloprid

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาชีววิทยาแมลงศัตรูที่สำคัญของกะเพราและโหระพาในห้องปฏิบัติการ

2.1 การศึกษาชีววิทยาหนอนม้วนใบทำลายกะเพราและโหระพา

หนอนม้วนใบทำลายกะเพรา และ โหระพา มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Ophanostigma abruptalis* (Walker) จัดอยู่ในวงศ์ Pyralidae อันดับ Lepidoptera ทำการศึกษาชีววิทยาในห้องปฏิบัติการภายใต้ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซนเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 % โดยใช้โหระพาเท่านั้น สรุปผลได้ดังนี้

ระยะไข่ ผีเสื้อชอบวางไข่ด้านหลังใบมากกว่าด้านบนใบ มักจะพบตามแขนงของเส้นใบ โดยวางเรียงเป็นแนวเดียวกันหลายฟองหรือเป็นฟองเดี่ยวๆ ไข่มีลักษณะกลมรีเหมือนไข่ไก่ สีขาวใส ขนาดกว้างXยาวประมาณ 0.44X 0.57 มิลลิเมตร เมื่อไข่ใกล้ฟัก ส่วนที่รีของไข่จะค่อยๆเปลี่ยนเป็นจุดสีน้ำตาลปนดำ เมื่อส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศ์จะเห็นเป็นส่วนหัวและตัวหนอนจะขดอยู่ภานในเปลือกไข่นั้น ระยะไข่ 3-4 วัน

ระยะหนอน เมื่อฟักออกจากไข่ใหม่ๆ ลำตัวหนอนมีสีขาวใส หัวสีน้ำตาลอ่อน กระจายตัวกัดกินส่วนผิวใบ เมื่อหนอนมีขนาดโตขึ้นจะสร้างใยและดึงใบพืชมาห่อตัวไว้ มักพบการทำลายที่ใบส่วนยอดและช่อดอกมากว่าส่วนอื่น ในแต่ละปล้องของลำตัวหนอนจะมีจุดจำนวน 6 จุด โดยพบด้านบนลำตัว 4 จุด และด้านข้างลำตัวข้างละ 1 จุด และมีขนแข็ง(setae) ขึ้นบนจุดนั้นๆ แต่ยังมองไม่เห็นลายจุดในหนอนวัยที่ 1 จะเริ่มมองเห็นชัดเจนขึ้นเรื่อยๆตั้งแต่หนอนวัยที่ 2 จนถึงวัยที่ 5 หนอนลอกคราบ 4 ครั้ง ลำตัวมีสีเขียวในวัยที่ 1- 4 และจะค่อยๆเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมแดงเมื่อใกล้เข้าวัยที่ 5 แล้วจึงสร้างใยและหดตัวเพื่อเข้าดักแด้ หนอนจะอาศัยกัดกินอาหารและหลบซ่อนอยู่ภายในใบหรือดอกที่

หนอนชักใยดึงมาห่อตัวไว้ หากเมื่อถูกรบกวนมักจะดีดตัวหนีและเคลื่อนไหวได้อย่างรวดเร็ว ระยะหนอนประมาณ10-12 วัน

ระยะดักแด้ ดักแด้เป็นแบบ obtected pupae ลักษณะคล้ายดักแด้ของหนอนผีเสื้อ สีน้ำตาล มีขนาดกว้างXยาว ประมาณ 0.22x0.88 เซนติเมตร มักจะพบเข้าดักแด้บริเวณใบหรือช่อดอกพืชที่ถูกหนอนทำลายโดยสร้างใยปกคลุมเอาไว้ ระยะดักแด้ ประมาณ 7-8 วัน

ระยะตัวเต็มวัย เป็นผีเสื้อขนาดเล็ก เมื่อกางปีกออกวัดได้ประมาณ 1.5 เซนติเมตร ลำตัวยาวประมาณ 0.8 -1.0 เซนติเมตร สีเหลืองอมส้ม ส่วนของปีกมีลายเส้นหรือแถบสีน้ำตาลพาดตามขวาง โดยบริเณขอบปีกแถบสีจะหนากว่าโคนปีก ผีเสื้อจะบินฉวัดเฉวียนไปมาอย่างรวดเร็วและมักจะเกาะหลบซ่อนบริเวณส่วนใต้ใบมากกว่าด้านบนของใบ ผสมพันธุ์และวางไข่ตั้งแต่ 2 วันเป็นต้นไป ความสามารถในการวางไข่ได้ประมาณ 130 ฟอง พบได้บนทุกส่วนของต้นพืช เปอร์เซ็นต์ไข่ฟัก 96.50 % ระยะตัวเต็มวัย 2-21 วัน ตลอดวงจรชีวิตของหนอนม้วนใบทำลายโหระพาใช้เวลาประมาณ 23-45 วัน

2.2 การศึกษาชีววิทยาหนอนชอนใบทำลายโหระพา

หนอนชอนใบทำลายโหระพา และแมงลัก มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Liriomyza* sp., จัดอยู่ในวงศ์ Agromyzidae อันดับ Diptera ทำการศึกษาชีววิทยาในห้องปฏิบัติการ โดยใช้โหระพา เท่านั้น ภายใต้ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซนเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 % สรุปผลได้ดังนี้

ระยะไข่ ตัวเต็มวัยวางไข่โดยใช้อวัยวะที่เรียกว่า ovipositor แทงลงไปใต้ส่วนของผิวใบ มีขนาดเล็กมากประมาณ 1 มิลลิเมตร ใบที่ถูกวางไข่จะมองเห็นเป็นจุดๆ ซ้ำๆ กระจายอยู่ทั่วใบ ต้องส่องดูใต้กล้องจุลทรรศน์และค่อยๆเขี่ยผิวใบออกจึงจะเห็นไข่มีลักษณะกลมรี สีขาวนวล ระยะไข่ 2-3 วัน

ระยะหนอน ตัวหนอนแมลงวันจะมีลักษณะเช่นเดียวกับหนอนแมลงวันทั่วๆไป กล่าวคือ มีส่วนหัวแหลมส่วนท้ายป้าน หรือรูปร่างคล้ายกระสวย ลำตัวไม่เป็นปล้องชัดเจน ไม่มีขา เคลื่อนไหวโดยการดีดตัว มีขนาดยาวประมาณ 0.5 - 1 มิลลิเมตร หนอนเมื่อฟักออกจากไข่จะชอนไชกินเนื้อเยื่อพืชอยู่ภายใต้ผิวใบ ความเสียหายเนื่องจากการทำลายโหระพาของหนอนชอนใบ ทำให้เห็นลักษณะเป็นลายเส้นวกวนคดเคี้ยวไปมาทั่วใบ ภายในรอยทำลายจะมองเห็นเป็นเส้นประสีดำนั่นคือมูลของหนอนที่ถูกขับถ่ายออกมา เพราะหนอนอาศัยอยู่ภายในรอยทำลายนั้นจนกระทั่งเข้าดักแด้ ระยะหนอนประมาณ 3-4 วัน

ระยะดักแด้ ดักแด้เป็นแบบ coarctate pupae ลักษณะคล้ายกับเมล็ดข้าวสาร สีเหลืองส้ม มีขนาด 0.8 - 1 .0 มิลลิเมตร ระยะดักแด้ประมาณ 7-9 วัน

ระยะตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยเป็นแมลงวันขนาดเล็กประมาณ 1.5-2.0 มิลลิเมตร ลำตัวมีสีดำปนเหลือง ความสามารถในการวางไข่ประมาณ 1,511 ฟอง และวางไข่ได้นานติดต่อกันหลายวัน ระยะตัว

เต็มวัย 7-17 วัน ตลอดวงจรชีวิตของหนอนชอนใบ *Liriomyza* sp. ทำลายโหระพาใช้เวลาประมาณ 15-33 วัน

สรุป

ในแหล่งปลูกเขตจังหวัดนนทบุรี และ ปทุมธานี พบแมลงศัตรูสำคัญของ โหระพา และกะเพรา 7 ชนิด คือ หนอนม้วนใบ (*Ophanostigma abruptalis*(Walker)) หนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (Fabricius) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera* Hubner) เพลี้ยไฟ (*Dorcadothrips* sp.) และมวนปีกแก้ว (*Monanthia globulifera* Walk.) ความเสียหายจากการทำลายของแมลงศัตรูทุกชนิดอยู่ในช่วงประมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ ในแหล่งที่ไม่มีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรู พบความเสียหายเนื่องจากหนอนม้วนใบอยู่ในช่วง 30-40 เปอร์เซ็นต์ ผักชีฝรั่งในแหล่งปลูก ต.บ้านใหม่ อ.บางใหญ่ อ. บางกรวย จ.นนทบุรี อ. บางเลน จ. นครปฐม พบเพลี้ยแป้ง (ยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์) ไรแดง (*Tetranychus tumidus* Banks) และหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* F.) สารฆ่าแมลงที่เกษตรกรใช้พ่น ได้แก่ profenofos, abamectin, cypermethrinและ imidacloprid

ชีววิทยาหนอนม้วนใบทำลายโหระพา (*Ophanostigma abruptalis*(Walker) ระยะไข่ 3-4 วัน ระยะหนอน 10-12 วัน ระยะดักแด้ 8 วัน และ ระยะตัวเต็มวัย 2-21 วัน ตลอดวงจรชีวิตใช้เวลา 23-45 วัน ความสามารถในการวางไข่ 130 ฟอง เปอร์เซ็นต์ไข่ฟัก 96.50 % ชีววิทยาหนอนชอนใบโหระพา (*Liriomyza* sp.) ระยะไข่ 2-3 วัน ระยะหนอน 3-4 วัน ระยะดักแด้ 7-9 วัน ระยะตัวเต็มวัย 7-17วัน ตลอดวงจรชีวิตใช้เวลา 15-33 วัน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นางศิริณี พูนไชยศรี นางรัตนา นชะพงษ์ และนางอัมพร วิโนทัย นักกีฏวิทยา 8 ว. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และนางวัฒนา จารณศรี ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านศัตรูพืช สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยจำแนกชนิดแมลงศัตรูและไร ตลอดจนพนักงานราชการและลูกจ้างทุกคนที่มีส่วนช่วยปฏิบัติงานทั้งในห้องปฏิบัติการและแปลงทดลอง จนทำให้งานสำเร็จไปได้ด้วยดี จึงขอขอบคุณทุกท่าน ไว้ ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2543. ผักพื้นบ้าน. เล่ม1. เอกสารวิชาการ กลุ่มพืชผัก. กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร.98 หน้า.

Polboon, P. 1965. A Host List of the Insect of Thailand. Department of Agriculture, Royal Thai Government and the United States Operations Mission, Bangkok, Thailand. 149 p.

ตารางที่ 1 แสดงชนิดแมลงศัตรูพืชและเปอร์เซ็นต์การทำลายบนกะเพรา โหระพา แมงลัก และผักชีฝรั่ง ในแหล่งปลูก จ. นนทบุรี จ.ปทุมธานี จ. นครปฐม และ จ. ราชบุรี ตุลาคม 2546- กันยายน 2547

ชนิดแมลง/ศัตรูพืช	ระดับการเข้าทำลายของแมลงศัตรูชนิดต่างๆ (%) [1/]										
	อ. ไทรน้อย จ. นนทบุรี		อ.เมือง อ.บางคูหลวง จ.ปทุมธานี		อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี		อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี		อ.บางเลน จ. นครปฐม		
	กะเพรา	โหระพา	กะเพรา	โหระพา	กะเพรา	โหระพา	กะเพรา	โหระพา	กะเพรา	โหระพา	ผักชีฝรั่ง
1. หนอนม้วนใบ(*Ophanostigma abruptalis*(Walker))	5-20	5-40	0-5	5-30	5-20	10-30	5-10	5-20	x	0-5	x
2. หนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.)	0-5	0-5	x	0-5	x	0-5	x	0-5	x	0-5	x
3. หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (Fabricius))	x	x	x	0-2	x	5-20	x	5-10	x	x	1-10
4. หนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* (Hubner))	x	0-5	x	x	0-5	0-5	x	x	x	x	x
5. หนอนเจาะสมอฝ้าย(*Helicoverpa armigera* Hubner)	x	0-5	x	0-2	x	0-2	x	x	x	x	x
6. มวนปีกแก้ว (*Monanthia globulifera* Walk.)	0-10	x	0-2	x	0-1	0-5	x	x	x	x	x
7. เพลี้ยไฟ (*Dorcadothrips* sp.)	5-10	5-20	5-10	5-10	5-10	5-20	x	x	x	x	x
8. เพลี้ยอ่อน (ยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	5-10
9. เพลี้ยแป้ง (ยังไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์)	x	0-5	x	0-2	x	0-1	x	x	x	x	1-10
10. ไรแดง (*Tetranychus tumidus* Banks)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	1-10

1/ สุ่มตรวจจำนวน 100 ต้น/ แหล่งปลูก จำนวน 5 –10 ครั้ง (X = ไม่พบการทำลาย)

ศึกษาการใช้สารกำจัดวัชพืชในหน่อไม้ฝรั่ง

Study of Herbicides Used in Asparagus (*Asparagus officinalis* L.).

เสริมศิริ คงแสงดาว อำไพ ประเสริฐสุข[1/] บุญยิ่ง สุวรรณคช[1/]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้สารกำจัดวัชพืชในหน่อไม่ฝรั่ง ดำเนินการทดลองในฤดูฝน ที่แปลงทดลอง ของศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ตั้งแต่เดือนสิงหาคม-เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2547 ประกอบด้วย 3 การทดลองย่อย 1). การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกกับต้นหน่อไม้ฝรั่งต้นโต พบว่าวิธีพ่นชิดโคนสัมผัสต้น fluazifop-p-butyl, haloxyfop-R-methyl ester, propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, cyholofop, fenoxaprop-p-ethyl อัตรา 30, 13.5, 14, 15, 18, 25, 15 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ metribuzin อัตรา 84 และ 105 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ไม่เป็นพิษต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ 2,4-D amine อัตรา 127.3 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เป็นพิษปานกลางต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง วิธีการพ่นระหว่างแถวปลูกระวังละอองสารไม่ให้สัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง ได้ผลผลิตหน่อไม้ฝรั่งสูงกว่าวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชชิดโคนต้นหน่อไม้ฝรั่ง 2). การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงพักต้นหน่อไม้ฝรั่งต้นโต ทันทีหลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกจากแปลงให้หมด พ่นในร่องทางเดินระวังไม่ให้ละอองสารสัมผัสร่องปลูก พบว่าไม่เป็นพิษต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าการพ่นกำจัดวัชพืชที่ระยะ 0-2 ใบ สารกำจัดวัชพืชมีผลการทำลายวัชพืชแตกต่างกันไป เช่น ตาย แกรน ชะงักหรือโตปกติ พบว่า diuron อัตรา 280 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชต่ำสุด น้ำหนักแห้งรองลงมาตามลำดับ ได้แก่ imazethapyr, trifluralin, metribuzin, oxadiazon, metribuzin, oxyfluorfen, clomazone, pendimethalin และ alachlor อัตรา 18, 360, 105, 160, 84, 48, 100, 231 และ 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ส่วนการไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืชสูงสุด 3). การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงเริ่มปลูกหน่อไม้ฝรั่ง เมื่อใช้ต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งที่เพาะในถุง พบว่าการใช้ diuron อัตรา 280 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ต้นหน่อไม้ฝรั่งมีน้ำหนักมากที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ pendimethalin, metribuzin, oxyfluorfen, oxadiazon และ alachlor อัตรา 231, 84, 48, 150 และ 288 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เมื่อใช้ต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งที่เพาะในแปลงถอนล้างรากตัดต้นแล้วย้ายปลูก พบว่า imazethapyr อัตรา 18 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ต้นหน่อไม้ฝรั่งมีน้ำหนักมากที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ metribuzin, pendimethalin, การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และ alachlor สำหรับการใช้ oxyfluorfen และ oxadiazon เป็นพิษต่อหน่อไม้ฝรั่งที่ล้างรากย้ายปลูก

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0103-0101

[1/]นักวิชาการเกษตร ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี

คำนำ

หน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* L.) อยู่ในวงศ์ Liliaceae จัดเป็นอาหารแคลอรี่ต่ำที่เป็นแหล่งของโฟเลตและโพแตสเซียม อุดมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ใยอาหาร ไวตามินเอ บี ซี แคลเซียมและเหล็ก ปลูกได้ในดินแทบทุกชนิด ถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปยุโรปและเอเชีย หน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชอายุยาว 3-10 ปี หน่อไม้ฝรั่งต้นสูงประมาณ 1.5 เมตร มีเหง้าซึ่งเต็มไปด้วยกลุ่มของตา ต้นมีกิ่งก้านมาก ใบเป็นเส้นตรงแคบ รูปร่างคล้ายเข็ม ใบจริงถูกลดรูปเป็นใบเกล็ดรูปสามเหลี่ยมสีน้ำตาล กิ่งย่อย (cladodes) ยาว 1-2 เซนติเมตร ดอกเพศผู้และเพศเมียแยกกันอยู่คนละต้น ภายในผลมี 1-3 เมล็ด ขยายพันธุ์เริ่มแรกด้วยเมล็ด (Tindall, 1983) แล้วจึงย้ายลงแปลงปลูก ต้นหน่อไม้ฝรั่งอายุ 12 สัปดาห์จึงเริ่มเก็บเกี่ยว เลี้ยงต้นแม่ไว้ให้สังเคราะห์แสง 3-5 ต้น เก็บเกี่ยวหน่ออ่อนทุกวัน แปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งจะเก็บเกี่ยวได้นานแค่ไหน ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของต้นแม่

วัชพืชเป็นปัญหาทุกช่วงการเจริญเติบโต ตั้งแต่ช่วงแรกเริ่มปลูกหน่อไม้ฝรั่งจากต้นเล็กให้ได้ต้นแม่ที่สมบูรณ์แข็งแรง ช่วงที่สองเป็นช่วงที่เก็บเกี่ยวผลผลิต ช่วงที่สามคือช่วงพักต้น วัชพืชไม่เพียงแต่แข่งขันกับหน่อไม่ฝรั่งเท่านั้น วัชพืชยังบังไม่ให้เห็นหน่อที่จะเก็บเกี่ยว การกำจัดวัชพืชเริ่มตั้งแต่ขณะต้นยังเล็ก ช่วยลดการแข่งขันกับวัชพืช เพื่อให้ได้ต้นแม่หน่อไม้ฝรั่งที่โตสมบูรณ์แข็งแรง เสริมศิริ และคณะ (2546) พบว่าช่วงวิกฤตของการแข่งขันระหว่างวัชพืชกับหน่อไม้ฝรั่ง อยู่ระหว่าง 5-7 สัปดาห์หลังจากย้ายปลูก และหน่อไม้ฝรั่งจะได้ผลผลิตสูงสุด เมื่อรักษาแปลงให้สะอาดนาน 9 สัปดาห์หลังย้ายปลูก ระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดวัชพืชคือ 3 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายปลูก และควรกำจัดวัชพืชต่อเนื่องทุกช่วง 2-3 สัปดาห์ จะช่วยลดปริมาณวัชพืชในแปลงปลูกและประหยัดแรงงานกำจัดวัชพืชในระยะยาวลงได้ ในระยะพักต้นเป็นช่วงที่ไม่ให้มีต้นแม่หน่อไม้ฝรั่งอยู่ในแปลง ต้นวัชพืชโตเต็มแปลงสามารถจัดการวัชพืชได้หลายวิธี เช่นแรงงานหรือสารกำจัดวัชพืช แต่มีรายงานว่าการถากกำจัดในร่องทางเดินแม้เพียงตื้น ๆ ก็อาจทำให้เหง้าของหน่อไม้ฝรั่ง เกิดบาดแผล ทำให้เกิดโรค Fusarium root rot fungus บ่อยครั้งที่ทำให้ต้นหน่อไม้ฝรั่งตาย (Cantaluppi, 2002)

สารกำจัดวัชพืชที่มีรายงานการใช้ในหน่อไม้ฝรั่งในต่างประเทศ สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกได้แก่ linuron, diuron, napropamide, metribuzin, trifluralin สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกได้แก่ 2,4-D amine, sethoxydim, fluazifop-butyl glyphosate, sulphosate และ paraquat (Ahrens, 1994; Aston and Monaco, 1991; Cobb, 1992; Warren *et al*, 2002) วิธีการใช้ เวลาการใช้และวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการกำจัดวัชพืช

วัตถุประสงค์ของการทดลองในปี 2547 คือ 1) เพื่อศึกษาหาวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง 2) เพื่อศึกษาหาวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงพักต้นหน่อไม้ฝรั่ง 3) ศึกษาหาวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงเริ่มปลูกหน่อไม้ฝรั่ง

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นหน่อไม้ฝรั่งพันธุ์บร็อคอิมปรู๊ฟ อายุ 2 ปี เมล็ดพันธุ์และกล้าหน่อไม้ฝรั่งพันธุ์บร็อคอิมปรู๊ฟ
2. สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก propaquizafop 10%EC, quizalofop-P-tefuryl 6%EC, cletodim 12%EC, haloxyfop-R-methyl ester 10%EC, cyholofop 10%EC, fluazifop-p-butyl 15%EC, fenoxaprop-p-ethyl 7.5%F, metribuzin 70%WP, 2,4-D amine 82.1%EC
3. สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก trifluralin 48%EC, oxyfluorfen 23.5%EC, oxadiazon 25%EC, diuron 80%WP, clomazone 48%EC, imazethapyr 5.3%EC, pendimethalin 33%EC, metribuzin 70%WP, alachlor 48%EC
4. ถังพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบโยกสะพายหลัง หัวพ่นรูปพัด ถังพ่นสารกำจัดศัตรูพืช และสารกำจัดศัตรูพืชตามความจำเป็น

วิธีดำเนินการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 12 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ระยะปลูกระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถว 100 เซนติเมตร การทดลองที่ 1 และ 2 ขนาดแปลงย่อย 7.5x10.0 เมตร

การทดลองที่ 1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง

แบ่งแปลงทดลองย่อยตามความยาวออกเป็นสองส่วน ยาวส่วนละ 5.0 เมตร ส่วนที่หนึ่งพ่นระหว่างแถวปลูกระวังละอองสารไม่ให้สัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง และส่วนที่สองพ่นชิดโคนต้นหน่อไม้ฝรั่ง ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก 8 ชนิด ๆ ละ 1 อัตรา ได้แก่ fluazifop-p-butyl, haloxyfop-R-methyl ester, propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, cyholofop, fenoxaprop-p-ethyl และ 2,4-D amine อัตรา 30, 13.5, 14, 15, 18, 25, 15 และ127 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ metribuzin อัตรา 84 และ 105 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน พ่นสารกำจัดวัชพืชเมื่อ 25 วันหลังกำจัดวัชพืช

การทดลองที่ 2. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงพักต้นหน่อไม้ฝรั่ง

กำจัดวัชพืชในแปลงหน่อไม้ฝรั่งที่จะพักต้นโดยวิธีการถาก ที่ 10 วันหลังกำจัดวัชพืชดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกจากแปลงให้หมดแล้วพ่นสารกำจัดวัชพืชทันที ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกชนิดละ 1 อัตรา ได้แก่ trifluralin, oxyfluorfen, oxadiazon, diuron, clomazone, imazethapyr, pendimethalin และ alachlor อัตรา 360, 48, 160, 280, 18, 25, 231 และ 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ metribuzin อัตรา 84 และ 105 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน พ่นสารกำจัดวัชพืชเฉพาะในร่องทางเดินระวังไม่ให้โดนร่องปลูกต้นหน่อไม้ฝรั่ง

การทดลองที่ 3. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงเริ่มปลูกหน่อไม้ฝรั่ง

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 9 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ระยะปลูกระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถว 100 เซนติเมตร ขนาดแปลงย่อย 3.0x5.0 เมตร ประกอบด้วย 2 การทดลองย่อย 1) ต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งเพาะกล้าในถุงพลาสติก 2) ต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งเพาะกล้าในแปลง อายุกล้า 4 เดือน ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 7 ชนิด ๆ ละ 1 อัตรา ได้แก่ oxyfluorfen, oxadiazon, diuron, imazethapyr, pendimethalin, alachlor และ metribuzin อัตรา 48, 150, 280, 18, 231, 288 และ 84 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อหน่อไม้ฝรั่ง บันทึกประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช การทดลองที่ 1 เมื่อ 7, 14 และ 21 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 2 และ 3 เมื่อ 15 และ 30 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช บันทึกชนิดและปริมาณวัชพืชการทดลองที่ 1 เมื่อ 21 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 2 เมื่อ 30 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 3 เมื่อ 40 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช สุ่มเก็บวัชพืชแปลงย่อยละ 2 จุด ๆ ละ 0.5x0.5 เมตร บันทึกชนิด จำนวนต้นและน้ำหนักวัชพืชแห้ง บันทึกจำนวนต้นวัดความสูงต้น การทดลองที่ 1 และ 2 เก็บเกี่ยวหลังจากพักต้นหน่อไม้ฝรั่งได้ 45 วัน บันทึกผลผลิตโดยนับจำนวนหน่อและน้ำหนักทุกครั้งเมื่อเก็บเกี่ยว เก็บเกี่ยวหน่อทุกวันเป็นเวลา 1 เดือน การทดลองที่ 3 เก็บเกี่ยวที่ 60 วันหลังย้ายปลูก โดยขุดต้นหน่อไม้ฝรั่งขึ้นมาล้างรากเอาดินออกให้หมด นับจำนวนต้นต่อกอและชั่งน้ำหนักต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ดำเนินการที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ปี พ. ศ. 2547 การทดลองที่ 1 เดือนสิงหาคม-เดือนกันยายน การทดลองที่ 2 เดือนตุลาคม-เดือนธันวาคม การทดลองที่ 3 เดือนพฤษภาคม-เดือนพฤศจิกายน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง

ชนิดและปริมาณวัชพืช

ที่ 21 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่ามีวัชพืช 671 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบแคบ 72.1 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบกว้าง 27.9 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบแคบได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.) Link.), หญ้าดอกแดง (*Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E. Hubb.), หญ้าตีนนกเล็ก (*Digitaria longifolia* (Retz.) Pers.), หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gardn. & Hubb.), หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* (L.) P. Beauv.) และหญ้านก (*Leptochloa panicea* (Retz.) Ohwi.) คิดเป็น 20, 14.1, 33.4, 4.0, 0.4 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ วัชพืชใบกว้างได้แก่ หญ้ากำมะหยี่

(*Lagascea mollis* Cav.), ผักโขมหิน (*Boerhavia diffusa* L.), หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata* Ortega), น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta* L.), ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* L.) และปอวัชพืช (*Corchorus olitorius* L.) คิดเป็น 21.0, 4.7, 0.8, 1.0 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะพ่นสารต้นวัชพืชสูง 15-25 เซนติเมตร บางต้นแตกกอ บางต้นเริ่มออกดอก

อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 1)

ที่ 21 วันหลังพ่นสารทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืช fluazifop-p-butyl, haloxyfop-R-methyl ester, propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, cyholofop, fenoxaprop-p-ethyl และ metribuzin ที่ใช้วิธีพ่นชิดโคนสัมผัสต้น ไม่พบอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่งอายุ 2 ปี ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ 2,4-D amine หน่อไม้ฝรั่งมีอาการเป็นพิษปานกลางทำให้ต้นและใบเหลือง

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

พ่นกำจัดวัชพืชอายุ 25 วัน ต้นโตและหนาแน่น พบว่าที่ 21 วันหลังพ่นสาร ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้าของสารกำจัดวัชพืช fluazifop-p-butyl, haloxyfop-R-methyl ester, propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, cyholofop, fenoxaprop-p-ethyl อยู่ในระดับปานกลางถึงดี ไม่ควบคุมวัชพืชใบกว้าง สำหรับ metribuzin ควบคุมวัชพืชใบกว้างได้ดีกว่าวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า โดยเฉพาะวัชพืชต้นต้นเล็ก วัชพืชต้นโตมีอาการปลายใบนอกแห้ง การใช้ 2,4-D amine วัชพืชใบกว้างต้นเล็กตาย ต้นโตมีอาการใบเหลือง ยอดบิด ไม่มีผลควบคุมวัชพืชใบแคบ (ตารางที่ 1)

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช

การพ่นสารกำจัดวัชพืชขณะที่วัชพืชต้นโต ทำให้วัชพืชใบแคบตายลงมาไม่ถึงโคนต้น บางต้นมีการแตกแขนงจำนวนมากที่โคนต้น บางต้นแตกแขนงปกติที่โคนต้นแล้วออกดอก ทำให้จำนวนต้นวัชพืชทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน และน้ำหนักแห้งวัชพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีน้ำหนักแห้งวัชพืชใบแคบต่ำสุด รองลงมาตามลำดับคือ haloxyfop-R-methyl ester, fenoxaprop-p-ethyl, propaquizafop, fluazifop-p-butyl, cyholofop, metribuzin, quizalofop-P-tefuryl และ cletodim น้ำหนักแห้งวัชพืชรวมของกรรมวิธีใช้สารกำจัดวัชพืชไม่แตกต่างจากการไม่กำจัดวัชพืช ส่วนการใช้ metribuzin มีน้ำหนักแห้งวัชพืชใบกว้างต่ำสุดไม่ต่างจากการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน (ตารางที่ 1)

ผลผลิตหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 2 และ 3)

จากการเก็บเกี่ยวหน่อไม้ฝรั่งทุกวันเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชพ่นระหว่างแถวปลูกระวังละอองสารไม่ให้สัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง ได้จำนวนหน่อ 4,819 หน่อต่อไร่ และน้ำหนักหน่อ 48.2 กิโลกรัมต่อไร่ สูงกว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการพ่นชิดโคนต้นหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งได้จำนวนหน่อ 3,744 หน่อต่อไร่ และน้ำหนักหน่อ 37.6 กิโลกรัมต่อไร่ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานได้ผลผลิตสูงสุดเฉลี่ย

91.4 กิโลกรัมต่อไร่ และมีจำนวนหน่อมากที่สุดเฉลี่ย 7,915 หน่อต่อไร่ การไม่กำจัดวัชพืชได้ผลผลิตต่ำสุดเฉลี่ย 15.0 กิโลกรัมต่อไร่ และมีจำนวนหน่อน้อยที่สุดเฉลี่ย 1,742 หน่อต่อไร่

วิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชพ่นระหว่างแถวปลูกระวังละอองสารไม่ให้สัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช การใช้ propaquizafop อัตรา 14 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลผลิตสูงสุด 69.7 กิโลกรัมต่อไร่ metribuzin อัตรา 84 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ 2,4-D amine อัตรา 127 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลผลิตสูงไม่แตกต่างกัน 65.2 และ 64.1 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาไม่แตกต่างกันคือ metribuzin, fluazifop-p-butyl, cyholofop, cletodim, quizalofop-P-tefuryl, fenoxaprop-p-ethyl และ haloxyfop-R-methyl ester อัตรา 105, 30, 25, 18, 15, 15 และ 13.5 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลผลิต 42.0, 40.3, 38.3, 37.2, 36.5, 33.0 และ 26.7 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ

วิธีการพ่นชิดโคนต้นหน่อไม้ฝรั่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช การใช้ cletodim อัตรา 18 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลผลิตสูงสุด 59.0 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาไม่แตกต่างกันคือ cyholofop, metribuzin, fluazifop-p-butyl, propaquizafop, fenoxaprop-p-ethyl และ quizalofop-P-tefuryl อัตรา 25, 84, 30, 14, 15 และ 15 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลผลิต 41.8, 39.9, 37.3, , 35.8, 34.6 และ 32.8 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ รองลงมาคือ haloxyfop-R-methyl ester อัตรา 13.5 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ metribuzin อัตรา 105 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลผลิตเท่ากัน 28.0 กิโลกรัมต่อไร่ และ 2,4-D amine อัตรา 127 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ได้ผลผลิตต่ำ 25.5 กิโลกรัมต่อไร่

การทดลองนี้พบว่าวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชพ่นระหว่างแถวปลูกระวังละอองสารไม่ให้สัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง ได้ผลผลิตหน่อไม้ฝรั่งสูงกว่าวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชชิดโคนต้นหน่อไม้ฝรั่ง หากปรับปรุงเวลาการพ่นโดยพ่นสารกำจัดในระยะที่วัชพืชต้นเล็กอายุไม่เกิน 20 วัน จะทำให้ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชได้ผลสูงสุด ลดปัญหาวัชพืช และเป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อหน่อไม้ฝรั่ง

การทดลองที่ 2. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงพักต้นหน่อไม้ฝรั่ง ชนิดและปริมาณวัชพืช

ที่ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่ามีวัชพืช 725.4 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบแคบ 63.7 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบกว้าง 36.3 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบแคบได้แก่ หญ้าตีนติด, หญ้าตีนนก,หญ้านกสีชมพู, หญ้าดอกแดง, หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.), หญ้าหางนกยูงใหญ่ (*Acrachne racemosa* Ohwi.), หญ้าปากควาย, หญ้าหวาย (*Eragrostis tenella* (L.) Beauv.) และหญ้าปุ้ง (*Cenchrus echinatus* L.) คิดเป็น13.05, 36.97, 2.81, 10.0, 0.14, 0.14, 0.5, 0.05 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ วัชพืชใบกว้างได้แก่ ผักโขมหิน, หญ้ายาง, ตีนตุ๊กแก, น้ำนมราชสีห์, หญ้ากำมะหยี่, พรมพระอินทร์ (*Portulaca pilosa* L.), โคกกระสุน (*Tribulus terrestris* L.) และสอึก คิดเป็น 29.76, 6.02, 0.10, 0.15, 0.10, 0.10, 0.05 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง

พักต้นหน่อไม้ฝรั่งโดยถอนต้นหน่อไม้ฝรั่งออกทั้งหมดทันที ก่อนพ่นสารกำจัดวัชพืช พ่นสารเฉพาะในร่องทางเดินระวังไม่ให้โดนร่องปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ที่ 20 หลังพ่นสารทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก ไม่พบอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง หน่อไม้ฝรั่งมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน มีความสูงต้น 112.9-128.6 เซนติเมตร (ตารางที่ 4)

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

การทดลองเริ่มในช่วงปลายฤดูฝน หลังจากถากกำจัดวัชพืชออกไปแล้ว 10 วัน จึงพ่นสาร ขณะพ่นวัชพืชเริ่มงอกหนาแน่น อายุ 0-2 ใบจริง พบว่าของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก เมื่อใช้หลังจากวัชพืชเริ่มงอกมีผลทำลายวัชพืชแตกต่างกันไปเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่กำจัดวัชพืช ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชที่ 40 วันหลังพ่นสาร (ตารางที่ 4)

diuron). ควบคุมวัชพืชได้ดีทั้งวัชพืชใบแคบและใบกว้าง วัชพืชที่รอดตายเจริญเติบโตปกติ ไม่ควบคุมหญ้ายางและแห้วหมู แปลงสะอาด imazethapyr). ควบคุมวัชพืชได้ดีทั้งวัชพืชใบแคบและใบกว้าง วัชพืชที่รอดตายแกรนมาก แปลงสะอาด trifluralin, oxadiazon และ oxyfluorfen).ไม่ควบคุมวัชพืชใบแคบส่วนวัชพืชใบกว้างแกรนเล็กน้อย วัชพืชเจริญเติบโตช้ากว่าปกติเล็กน้อย metribuzin). ควบคุมวัชพืชใบกว้างได้ดี ไม่ควบคุมวัชพืชใบแคบ และแห้วหมู เมื่อลดอัตราลงควบคุมวัชพืชใบกว้างได้น้อยลง clomazone). หลังจากพ่นใบวัชพืชจะเปลี่ยนสี ต้นอ่อนตาย ต้นโตชงักการการเจริญเติบโต ประมาณ 20 วันหลังพ่นเจริญเติบโตปกติ ผักยางปกติ pendimethalin). ควบคุมวัชพืชใบแคบได้เล็กน้อย ไม่ควบคุมวัชพืชใบกว้าง alachlor). ไม่ควบคุมทั้งวัชพืชใบแคบและใบกว้าง

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช (ตารางที่ 4 และ 5)

ที่ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช พบว่าการใช้ diuron อัตรา 280 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชต่ำสุด น้ำหนักแห้งรองลงมาตามลำดับได้แก่ imazethapyr, trifluralin, metribuzin, oxadiazon, metribuzin, oxyfluorfen, clomazone, pendimethalin และ alachlor อัตรา 18, 360, 105, 160, 84, 48, 100, 231 และ 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ส่วนการไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืชสูงสุด

การทดลองนี้มีปัญหาเรื่องน้ำ ทำให้ข้อมูลผลผลิตแปรปรวน แต่จากข้อมูลวัชพืชที่ได้ แม้ว่าวัชพืชส่วนใหญ่ไม่ตาย ก็สามารถนำวิธีการนี้มาพัฒนาใช้ได้ โดยการพ่นสารกำจัดวัชพืชหลังการกำจัดวัชพืชก่อนวัชพืชงอก และทันทีที่ถอนต้นหน่อไม้ฝรั่งออกจากแปลงจนหมด เพื่อให้ได้ผลการควบคุมวัชพืชที่สมบูรณ์ พ่นสารเฉพาะในร่องทางเดินระวังไม่ให้โดนร่องปลูกหน่อไม้ฝรั่ง และใช้วัสดุคลุมดินเช่น ฟางข้าว แกลบดิบ หรือแกลบดำ ในแนวร่องปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่ได้พ่นสาร เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของวัชพืช

การทดลองที่ 3. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงเริ่มปลูกหน่อไม้ฝรั่ง

การทดลองย่อยที่ 1. ต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งเพาะกล้าในถุงพลาสติก (ถอดต้นกล้าออกจากถุงแล้วย้ายปลูกทันที)

ชนิดและปริมาณวัชพืช

ที่ 40 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่ามีวัชพืช 173 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบแคบ 79.6 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบกว้าง 20.4 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบแคบได้แก่ หญ้าตีนติด, หญ้าตีนนก, หญ้าหวาย, หญ้าตีนกา, หญ้านกสีชมพู, หญ้าหางนกยูงใหญ่, หญ้าบุ้งและหญ้าปากควาย คิดเป็น 33.5, 12.1, 8.6, 2.9, 15.0, 4.6, 1.7 และ 1.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ วัชพืชใบกว้างได้แก่ น้ำนมราชสีห์, ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.), ตีนตุ๊กแก, ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.), ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* L.), หญ้ายาง, ผักโขมหิน, ปอวัชพืช (*Corchorus olitorius* L.) และขยุ้มตีนหมา คิดเป็น 0.6, 2.3, 4.1, 2.3, 1.2, 4.6, 0.6, 1.2 และ 2.9 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ที่ 14 วันหลังพ่นสาร การใช้ diuron, imazethapyr, alachlor และ metribuzin อัตรา 280, 18, 288 และ 84 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ต้นหน่อไม้ฝรั่งไม่แสดงอาการเป็นพิษ ส่วนการใช้ oxadiazon, pendimethalin และ oxyfluorfen อัตรา 150, 231 และ 48 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ต้นหน่อไม้ฝรั่งแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย ระดับ 1.5-2.0 ยอดอ่อนซีดเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช (ตารางที่ 6)

ที่ 28 วันหลังพ่นสาร เกือบทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชต้นหน่อไม้ฝรั่งแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย ระดับ 1.5-2.5 ยอดอ่อนซีดหรือแกรนเล็กน้อย ยกเว้นการใช้ imazethapyr ต้นหน่อไม้ฝรั่งเป็นพิษระดับ 4.0 แกรนยอดอ่อนขาว เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช

ที่ 32 วันหลังพ่นสาร ต้นหน่อไม้ฝรั่งทุกกรรมวิธียกเว้น imazethapyr และ metribuzin แสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยระดับ 0.5-1.0 การใช้ metribuzin ต้นหน่อไม้ฝรั่งปกติ การใช้ imazethapyr ต้นหน่อไม้ฝรั่งเป็นพิษระดับ 4.0 แกรนยอดอ่อนขาว

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (ตารางที่ 6)

การควบคุมวัชพืชใบแคบ ที่ 28 วันหลังพ่นสาร พบว่า ทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชควบคุมวัชพืชใบแคบได้ดีระดับ 82.5-10 และที่ 32 วันหลังพ่นสารพบว่า diuron, pendimethalin, oxadiazon, oxyfluorfen และ imazethapyr ควบคุมวัชพืชใบแคบดีระดับ 9.5, 9.5, 9.25, 8.25 และ 7.0 ตามลำดับ ส่วน alachlor และ metribuzin ควบคุมวัชพืชใบแคบปานกลางระดับ 6.5 และ 5.0

การควบคุมวัชพืชใบกว้าง ที่ 28 วันหลังพ่นสารพบว่า diuron ควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุดระดับ 10 รองลงมาตามลำดับคือ metribuzin, pendimethalin, imazethapyr, alachlor, oxadiazon และ oxyfluorfen ควบคุมวัชพืชใบกว้าง ดีระดับ 9.0, 9.0, 8.75, 8.0, 7.75 และปานกลางระดับ 6.75 ตามลำดับ

ส่วนที่ 32 วันหลังพ่นสารพบว่า oxadiazon, diuron, pendimethalin, alachlor, oxyfluorfen, imazethapyr และ metribuzin ควบคุมวัชพืชใบกว้าง ดีระดับ 8.0, 8.0, 8.0, 7.25, 7.0, 7.0 และปานกลาง ระดับ 5.0 ตามลำดับ

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช (ตารางที่ 7)

ที่ 40 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช จำนวนต้นวัชพืชและน้ำหนักแห้งวัชพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช การใช้ diuron, oxadiazon, pendimethalin และ oxyfluorfen มีจำนวนต้นวัชพืชรวมต่ำสุด 8.5, 17.0, 19.0 และ 38.5 ต้นต่อตารางเมตร ต่ำกว่าการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 113.0 ต้นต่อตารางเมตร การไม่กำจัดวัชพืชมีจำนวนต้นวัชพืชรวมมากที่สุด 173.0 ต้นต่อตารางเมตร จำนวนต้นวัชพืชใบแคบเมื่อใช้ pendimethalin, diuron, oxadiazon และ oxyfluorfen น้อยไม่แตกต่างกัน น้ำหนักแห้งวัชพืชใบแคบแสดงผลเช่นเดียวกัน เช่นเดียวกับการกำจัดวัชพืชด้วยด้วยแรงงาน การใช้ diuron มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชใบกว้างน้อยที่สุด น้ำหนักแห้งวัชพืชรวมเมื่อใช้ diuron และการกำจัดวัชพืชด้วยด้วยแรงงานต่ำสุด 12.2 และ 7.4 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาไม่ต่างกันคือการใช้ oxadiazon, pendimethalin และ oxyfluorfen มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 20.1, 34.2 และ 61.9 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาตามลำดับคือการใช้ imazethapyr, alachlor และ metribuzin มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 100.5, 118.2 และ 134.6 กรัมต่อตารางเมตร การไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืชสูงสุด 477.9 กรัมต่อตารางเมตร

การเจริญเติบโตของต้นหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่ 8)

เมื่อ 50 วันหลังพ่นสาร ความสูงต้นหน่อไม้ฝรั่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ oxyfluorfen หน่อไม้ฝรั่งต้นสูงที่สุด 69 เซนติเมตร รองลงมาไม่แตกต่างกันคือ diuron, pendimethalin, oxadiazon, metribuzin และ alachlor ต้นสูง 65-68 เซนติเมตร ต้นสูงกว่าการกำจัดวัชพืช ต้นสูง 57 เซนติเมตร และการไม่กำจัดวัชพืช ต้นเตี้ยที่สุด 49 เซนติเมตร

ที่ 60 วันหลังพ่นสาร จำนวนต้นหน่อไม้ฝรั่งไม่แตกต่างกัน 12.3-14.5 ต้นเปรียบเทียบกับจาก 15 ต้นต่อแปลง การแตกกอและน้ำหนักต้นหน่อไม้ฝรั่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ diuron, oxadiazon, pendimethalin และ oxyfluorfen มีการแตกกอสูงสุด 7.5-7.8 ต้นต่อกอ การกำจัดวัชพืชและการไม่กำจัดวัชพืชมีการแตกกอน้อยที่สุด 4.9 และ 4.4 ต้นต่อกอ หน่อไม้ฝรั่งที่ใช้ diuron มีน้ำหนักต้นสูงสุด 82 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ pendimethalin, metribuzin, oxyfluorfen, oxadiazon, alachlor, การกำจัดวัชพืช, imazethapyr และการไม่กำจัดวัชพืช น้ำหนัก 76.0, 73.1, 72.2, 70.7, 52.5, 52.1, 48.7 และ 34.0 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ

การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงเริ่มปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ใช้กับต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งเพาะกล้าในถุงพลาสติก ถึงแม้ต้นหน่อไม้ฝรั่งจะมีอาการเป็นพิษเล็กน้อย ต้นหน่อไม้ฝรั่งที่ใช้

diuron, pendimethalin, metribuzin, oxyfluorfen และ oxadiazon มีการเจริญเติบโตดีและมีน้ำหนักต้นมากกว่าการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและการไม่กำจัดวัชพืช

การทดลองย่อยที่ 2. ต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งเพาะกล้าในแปลง (ถอนต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งจากแปลงเพาะ ตัดยอดให้เหลือต้นพันธุ์ยาว 15 เซนติเมตร ล้างรากและแช่รากในน้ำผสมสารกำจัดโรคพืช)

ชนิดและปริมาณวัชพืช

ที่ 40 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช พบว่ามีวัชพืช 226 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบแคบ 89.8 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบกว้าง 10.2 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบแคบได้แก่ หญ้าตีนติด, หญ้าหวาย, หญ้าตีนนก, หญ้านกสีชมพู, หญ้าดอกขาวเล็ก, หญ้าบุ้งและหญ้าหางนกยูงใหญ่ คิดเป็น 54.5, 14.3, 0.4, 3.6, 0.9, 14.3, และ 1.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ วัชพืชใบกว้างได้แก่ หญ้ากำมะหยี่, ผักเบี้ยใหญ่, ตีนตุ๊กแก, สอึก, ผักโขม และผักโขมหิน คิดเป็น 1.3, 1.8, 4.9, 1.8, และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ที่ 14 วันหลังพ่นสาร ต้นหน่อไม้ฝรั่งแห้งทั้งต้นทุกกรรมวิธี การใช้ oxadiazon, pendimethalin, alachlor และ oxyfluorfen อัตรา 150, 231, 288 และ 48 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ยังไม่มีหน่อใหม่งอกขึ้นมา ส่วนการใช้ diuron, imazethapyr และ metribuzin อัตรา 280, 18 และ 84 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีหน่อใหม่เริ่มงอกขึ้นมา เช่นเดียวกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช (ตารางที่ 9)

ที่ 28 วันหลังพ่นสาร การใช้ imazethapyr และ metribuzin ต้นหน่อไม้ฝรั่งที่งอกขึ้นมาไม่แสดงอาการเป็นพิษ ส่วนการใช้ alachlor, diuron, oxadiazon, pendimethalin และ oxyfluorfen ต้นหน่อไม้ฝรั่งที่งอกขึ้นมาแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย ระดับ 1.0-2.5 ยอดอ่อนชีดเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัช

ที่ 32 วันหลังพ่นสาร การใช้ imazethapyr และ metribuzin ต้นหน่อไม้ฝรั่งปกติ สำหรับ alachlor, diuron และ pendimethalin เป็นพิษเล็กน้อยระดับ 1.0-1.5 ส่วน oxadiazon และ oxyfluorfen เป็นพิษเล็กน้อยระดับ 3.0

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (ตารางที่ 9)

การควบคุมวัชพืชใบแคบ ที่ 28 วันหลังพ่นสาร พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชยกเว้น metribuzin ควบคุมวัชพืชใบแคบได้ในระดับดีถึงดีมาก และที่ 32 วันหลังพ่นสาร diuron และ oxyfluorfen ควบคุมวัชพืชใบแคบได้ดีที่สุดระดับ 9.5 และ 8.25 รองลงมาตามลำดับได้แก่ oxadiazon, imazethapyr, pendimethalin และ alachlor ส่วน metribuzin ควบคุมวัชพืชใบแคบได้ระดับปานกลาง

การควบคุมวัชพืชใบกว้าง ที่ 28 วันหลังพ่นสาร พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชยกเว้น metribuzin ควบคุมวัชพืชใบแคบได้ดีระดับ 8.75-9.75 สำหรับ metribuzin ควบคุมวัชพืชใบแคบได้ปานกลางระดับ 6.75 และที่ 32 วันหลังพ่นสาร diuronควบคุมวัชพืชใบกว้างได้ดีที่สุด รองลงมาตามลำดับได้แก่ oxadiazon, oxyfluorfen, imazethapyr, alachlor, pendimethalin และ metribuzin

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช (ตารางที่ 10)

ที่ 40 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช จำนวนต้นวัชพืชและน้ำหนักแห้งวัชพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช มีจำนวนต้นวัชพืชรวม 226.0 ต้นต่อตารางเมตร การใช้ diuron และ oxadiazon มีจำนวนต้นวัชพืชรวมต่ำสุด 24.6 และ 17.9 ต้นต่อตารางเมตร และมีน้ำหนักแห้งวัชพืชรวมต่ำสุด 2.9 และ 7.4 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาตามลำดับคือการใช้ oxyfluorfen, pendimethalin, alachlor, imazethapyr, metribuzin และการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีจำนวนต้นวัชพืช 28.3, 30.6, 49.3, 56.6, 61.2 และ ต้นต่อตารางเมตร และมีน้ำหนักแห้งวัชพืช 20.2, 27.4, 29.6, 18.7, 63.2 กรัมต่อตารางเมตร สำหรับ oxadiazon มีจำนวนต้นวัชพืชใบแคบน้อยที่สุด ส่วน diuron มีจำนวนต้นวัชพืชใบกว้างน้อยที่สุด การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีจำนวนต้นวัชพืช 81.0 ต้นต่อตารางเมตร แต่มีน้ำหนักแห้งวัชพืชต่ำสุด 4.8 กรัมต่อตารางเมตร

การเจริญเติบโตของต้นหน่อไม้ฝรั่ง (ตารางที่11)

ที่ 50 วันหลังพ่นสาร ความสูงต้นหน่อไม้ฝรั่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ imazethapyr และ metribuzin หน่อไม้ฝรั่งต้นสูงที่สุด 63 และ 62 เซนติเมตร รองลงมาตามลำดับคือ pendimethalin, alachlor, การกำจัดวัชพืช, oxadiazon, diuron, oxyfluorfen และการไม่กำจัดวัชพืช ต้นสูง 59, 59, 53, 49, 48, 44 และ 39 เซนติเมตร

ที่ 60 วันหลังพ่นสาร จำนวนต้นหน่อไม้ฝรั่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้ oxadiazon, oxyfluorfen และ diuron มีจำนวนต้นน้อยที่สุด 7, 7 และ 9 ต้นเปรียบเทียบกับจาก 15 ต้นต่อแปลง การกำจัดวัชพืชมีจำนวนต้นสูงสุด 12 ต้น การแตกกอไม่แตกต่างกันทางสถิติ การใช้ imazethapyr หน่อไม้ฝรั่งแตกกอสูงสุด 3.8 ต้นต่อกอ การไม่กำจัดวัชพืชแตกกอน้อยที่สุด 2.6 ต้นต่อกอ และน้ำหนักต้นหน่อไม้ฝรั่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ การใช้ ทางสถิติ การใช้ imazethapyr ได้หน่อไม้ฝรั่งต้นโตมีน้ำหนักต้นสูงสุด 38.5 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ metribuzin, pendimethalin, การกำจัดวัชพืช, alachlor และ diuron มีน้ำหนัก 35.5, 30.8, 30.6, 30.4 และ 22.5 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนการใช้ oxadiazon, และ oxyfluorfen หน่อไม้ฝรั่งต้นเล็กน้ำหนัก 14.3 และ 14.6 กิโลกรัมต่อไร่ และการไม่กำจัดวัชพืชหน่อไม้ฝรั่งต้นเล็กที่สุด น้ำหนัก 10.4 กิโลกรัมต่อไร่

การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงเริ่มปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ใช้กับต้นกล้าที่เพาะในแปลงแล้วล้างราก หลังจากปลูกต้นหน่อไม้ฝรั่งแห้งทั้งต้น แล้วจึงแตกหน่อใหม่ ทำให้เสียเวลาตั้งต้นเจริญเติบโตใหม่ พบว่าการใช้ imazethapyr และ metribuzin ต้นหน่อไม้ฝรั่งโตดีที่สุด รองลงมาตามลำดับคือการใช้ pendimethalin, alachlor, การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และ diuron ส่วน การใช้ oxyfluorfen และ oxadiazon หน่อไม้ฝรั่งโตใกล้เคียงกับการไม่กำจัดวัชพืช

เปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงเริ่มปลูกหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าการใช้ต้นกล้าที่เพาะในถุง ได้ต้นแม่พันธุ์หน่อไม้ฝรั่งที่แข็งแรงกว่า ต้นกล้าที่เพาะในแปลงแล้วล้างราก

สรุปผลการทดลอง

1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก ใช้วิธีพ่นชิดโคนสัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง fluazifop-p-butyl, haloxyfop-R-methyl ester, propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, cyholofop, fenoxaprop-p-ethyl อัตรา 30, 13.5, 14, 15, 18, 25, 15 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ metribuzin อัตรา 84 และ 105 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ไม่เป็นพิษต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ ที่ใช้ 2,4-D amine อัตรา 127.3 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เป็นพิษปานกลางต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง การพ่นระหว่างแถวปลูกระวังละอองสารไม่ให้สัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง ได้ผลผลิตหน่อไม้ฝรั่งสูงกว่าวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชชิดโคนต้นหน่อไม้ฝรั่ง

2.การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงพักต้นหน่อไม้ฝรั่ง ทันทีหลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกจากแปลงให้หมด พ่นในร่องทางเดินระวังไม่ให้ละอองสารสัมผัสแนวปลูก พบว่าไม่เป็นพิษต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าการพ่นกำจัดวัชพืชที่ระยะ 0-2 ใบ สารกำจัดวัชพืชมีผลการทำลายวัชพืชแตกต่างกันไป เช่น ตาย แกรน ชงักหรือโตปกติ พบว่า diuron อัตรา 280 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชต่ำสุด น้ำหนักแห้งรองลงมาตามลำดับได้แก่ imazethapyr, trifluralin, metribuzin, oxadiazon, metribuzin, oxyfluorfen, clomazone, pendimethalin และ alachlor อัตรา 18, 360, 105, 160, 84, 48, 100, 231 และ 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ส่วนการไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืชสูงสุด

3. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงเริ่มปลูกหน่อไม้ฝรั่ง

3.1. ใช้ต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งที่เพาะในถุง พบว่าการใช้ diuron อัตรา 280 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ต้นหน่อไม้ฝรั่งมีน้ำหนักมากที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ pendimethalin, metribuzin, oxyfluorfen, oxadiazon และ alachlor อัตรา 231, 84, 48, 150 และ 288 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และการไม่กำจัดวัชพืชหน่อไม้ฝรั่งต้นเล็กที่สุด

3.2. ใช้ต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งที่เพาะในแปลงถอนล้างรากตัดต้นแล้วย้ายปลูก พบว่า imazethapyr อัตรา 18 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ metribuzin อัตรา 84 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ต้นหน่อไม้ฝรั่งมีน้ำหนักมากที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ pendimethalin, การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และ alachlor สำหรับการใช้ oxyfluorfen และ oxadiazon เป็นพิษต่อหน่อไม้ฝรั่งที่ล้างรากย้ายปลูก

เอกสารอ้างอิง

เสริมศิริ คงแสงดาว, วิลาวัลย์ ใคร่ครวญ และ เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2546. การศึกษาช่วงวิกฤตของการแข่งขันกับวัชพืชและระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดวัชพืชในหน่อไม้ฝรั่ง. รายงานประจำปี. กลุ่มวิจัยวัชพืช, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร.

Ahrens, W. H. 1994. Herbicide Handbook. 7th Edition. Weed Science Society of America, Illinois, USA. 352 pp.

Ashton, F. M. and T. J. Monaco. 1991. Weed Science : Principle and Practices. Third Edition. John Wiley & Sons, Inc, New York, USA. 439 pp.

Cantaluppi, C. 2002. Getting started in asparagus production part 4 : Field care. Verginia Vegetable, Small Fruit and Specialty Crops. June 2002 ; Volume 1, Issue 6. 3 p.

Cobb, A. 1992. Herbicides and Plant Physiology. Chapman & Hall, London, UK. 176 pp.

Tindall, H. D. 1983. Vegetable in the Tropics. Avi Publishing Company. Inc. Westport, Connecticut. 410 pp.

Warren, R., L. Brandenberger and J. Shrefler. 2002. Weed control in vegetables-2002. Current Report, Divition of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University. 13 p.

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง และประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช และน้ำหนักแห้งวัชพืช การทดลองที่1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในหน่อไม้ฝรั่ง ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai./ไร่	ความเป็นพิษ	การควบคุมวัชพืช	น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตารางเมตร)		
				ใบแคบ	ใบกว้าง	รวม
1. fluazifop-p-butyl	30	0	6.5	80.7 abc	43.0 abc	123.7 bc
2. haloxyfop-R-methyl ester	13.5	0	7.8	49.6 ab	29.4 ab	79.0 ab
3. propaquizafop	14	0	7.0	76.0 abc	60.8 abc	136.8 bcd
4. quizalofop-p-tefuryl	15	0	6.0	103.8 bcd	36.6 ab	140.4 bcd
5. cletodim	18	0	6.5	121.2 cd	92.4 c	213.6 e
6. cyhalofop	25	0	6.0	85.0 bc	69.5 bc	154.5 cde
7. fenoxaprop-p-ethyl	15	0	6.5	67.2 abc	49.6 abc	116.8 bc
8. metribuzin	84	0	7.5	85.0 bc	6.0 a	91.0 abc
9. metribuzin	105	0	7.0	100.9 bcd	31.5 ab	132.4 bcd
10. 2,4-D amine	127	5.0	5.5	152.0 d	40.4 abc	192.4 de
11. handweeding		0		17.7 a	24.5 a	42.2 a
12. weedy		0		114.8 bcd	77.4 bc	192.2 bc
C.V. (%)				56.2	99.9	37.8
F-test				*	ns	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

คะแนนอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=หน่อไม้ฝรั่งปกติ, 10= หน่อไม้ฝรั่งตาย

คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=ควบคุมวัชพืชไม่ได้, 10= ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์

ตารางที่ 2 จำนวนหน่อหน่อไม้ฝรั่งต่อไร่ เมื่อเก็บเกี่ยวทุกวันเป็นเวลา 1 เดือน

การทดลองที่1.การใช้สารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในหน่อไม้ฝรั่ง ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	วิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืช		ค่าเฉลี่ย
		ทับโคนต้น	ร่องทางเดิน	
1. fluazifop-p-butyl	30	3,584 ab	4,809 bc	4,202 bc
2. haloxyfop-R-methyl ester	13.5	2,957 ab	3,286 bc	3,116 bc
3. propaquizafop	14	3,654 ab	6,970 ab	5,307 b
4. quizalofop-p-tefuryl	15	3,256 ab	3,783 bc	3,515 bc
5. cletodim	18	5,606 ab	3,554 bc	4,580 b
6. cyhalofop	25	3,953 ab	4,411 bc	4,182 bc
7. fenoxaprop-p-ethyl	15	3,953 ab	3,584 bc	3,764 bc
8. metribuzin	84	4,052 ab	6,273 ab	5,157 b
9. metribuzin	105	2,718 b	4,451 bc	3,584 bc
10. 2,4-D amine	127	2,718 b	5,904 ab	4,311 bc
11. handweeding		6,840 a	8,991 a	7,915 a
12. weedy		1,693 b	1,792 c	1,742 c
mean		3,744	4,819	4,281
C.V. (%)				48.7

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3 น้ำหนักหน่อหน่อไม้ฝรั่ง (กิโลกรัมต่อไร่) เมื่อเก็บเกี่ยวทุกวันเป็นเวลา 1 เดือน
การทดลองที่ 1. การใช้สารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในหน่อไม้ฝรั่ง ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	วิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืช		ค่าเฉลี่ย
		ทับโคนต้น	ร่องทางเดิน	
1. fluazifop-p-butyl	30	37.3 abc	40.3 bc	38.8 bc
2. haloxyfop-R-methyl ester	13.5	28.0 bc	26.7 bc	27.3 bc
3. propaquizafop	14	35.8 abc	69.7 b	52.7 b
4. quizalofop-p-tefuryl	15	32.8 abc	36.5 bc	34.6 bc
5. cletodim	18	59.0 ab	37.2 bc	48.1 b
6. cyhalofop	25	41.8 abc	38.3 bc	40.1 bc
7. fenoxaprop-p-ethyl	15	34.6 abc	33.0 bc	33.8 bc
8. metribuzin	84	39.9 abc	65.2 b	52.6 b
9. metribuzin	105	28.0 bc	42.0 bc	35.0 bc
10. 2,4-D amine	127	25.5 bc	64.1 b	44.8 bc
11. handweeding		73.7 a	109.2 a	91.4 a
12. weedy		14.2 c	15.8 c	15.0 c
mean		37.6	48.2	42.9
C.V. (%)				53.7

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง และประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ปริมาณวัชพืชและความสูงของต้นหน่อไม้ฝรั่ง การทดลองที่ 2. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงพักต้นหน่อไม้ฝรั่ง ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai./ไร่	ความเป็นพิษ	การควบคุมวัชพืช	ความสูงหน่อไม้ฝรั่ง (ซม.)	วัชพืช/ตารางเมตร	
					จำนวนต้น	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
1. trifluralin	360	0	6.5	125.7	243.0 ab	67.6 ab
2. oxyfluorfen	48	0	6.0	120	432.4 abc	104.4 bcd
3. oxadiazon	160	0	6.5	117.3	213.4 a	73.6 abc
4. diuron	280	0	8.5	125.1	53.6 a	41.6 a
5. clomazone	100	0	7.0	115.8	437.0 abc	123.8 cd
6. imazethapyr	18	0	8.5	112.8	228.0.0 a	45.0 a
7. pendimethalin	231	0	5.0	117.2	899.0 c	126.8 d
8. alachlor	300	0	4.5	117.4	854.4 c	155.2 de
9. metribuzin	84	0	8.0	126.9	349.4 ab	75.8 abc
10. metribuzin	105	5.0	9.0	112.9	197.0 a	68.6 ab
11. handweeding		0		116.5	146.4 a	30.4 a
12. weedy		0		128.6	725.4 bc	177.8 e
C.V. (%)				9.6	199.1	44.7
F-test				<1	* *	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

คะแนนอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=หน่อไม้ฝรั่งปกติ, 10= หน่อไม้ฝรั่งตาย

คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=ควบคุมวัชพืชไม่ได้, 10= ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์

ตารางที่ 5 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชต่อตารางเมตรที่ 30 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 2 .การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงพักต้นหน่อไม้ฝรั่ง ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	จำนวนต้นวัชพืช (ต้น)		น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม)	
		ใบแคบ	ใบกว้าง	ใบแคบ	ใบกว้าง
1. trifluralin	360	23.4 a	219.6 a	31.6 ab	36.0 ab
2. oxyfluorfen	48	150.8 abc	281.6 a	44.2 ab	60.2 ab
3. oxadiazon	160	35.8 a	177.6 a	15.6 ab	58.0 ab
4. diuron	280	42.2 a	11.4 a	22.8 ab	18.8 ab
5. clomazone	100	312.0 abc	125.0 a	42.2 ab	81.6 b
6. imazethapyr	18	18.4 a	209.6 a	1.8 a	43.2 ab
7. pendimethalin	231	35.6 a	863.4 b	43.4 ab	83.4 b
8. alachlor	300	479.0 c	375.4 a	98.4 cd	56.8 ab
9. metribuzin	84	334.8 abc	14.6 a	57.6 abc	18.2 ab
10. metribuzin	105	190.0 abc	7.0 a	61.4 bcd	7.2 a
11. handweeding		119.8 ab	26.6 a	27.8 ab	2.6 a
12. weedy		462.0 bc	263.4 a	111.8 d	67.0 ab
C.V. (%)		144.8	158.9	88.9	107.9
F-test		*	* *	* *	*

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 6 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อหน่อไม้ฝรั่ง และประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 3.1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง ใช้ต้นกล้าเพาะในถุง ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai./ไร่	ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช(วันหลังพ่น)			ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช			
					28 วันหลังพ่น		32 วันหลังพ่น	
		14 วัน	28 วัน	32 วัน	ใบแคบ	ใบกว้าง	ใบแคบ	ใบกว้าง
1. oxyfluorfen	48	2.0	2.5	1.0	9.0	6.75	8.25	7.0
2. oxadiazon	150	2.0	2.0	1.0	9.5	7.75	9.25	8.0
3. diuron	280	0	1.5	0.5	10.0	10.0	9.5	8.0
4. imazethapyr	18	0	4.0	4.0	10.0	8.75	7.0	7.0
5. pendimethalin	231	1.5	2.0	0.5	10.0	9.0	9.5	8.0
6. alachlor	288	0	2.0	1.0	9.25	8.0	6.5	7.25
7. metribuzin	84	0	1.5	0	8.25	9.0	5.0	5.0
8. handweeding					9.0	9.0	8.5	8.5
9. weedy					0	0	0	0

คะแนนอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=หน่อไม้ฝรั่งปกติ, 10= หน่อไม้ฝรั่งตาย

คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=ควบคุมวัชพืชไม่ได้, 10= ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์

ตารางที่ 7 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 40 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 3.1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง ใช้ต้นกล้าเพาะในถุง ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai./ไร่	จำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)			น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตารางเมตร)		
		ใบแคบ	ใบกว้าง	รวม	ใบแคบ	ใบกว้าง	รวม
1. oxyfluorfen	48	20.5 a	18.0 abc	38.5 a	18.0 ab	43.9 abc	61.9 abc
2. oxadiazon	150	8.5 a	8.5 ab	17.0 a	6.9 a	13.2 abc	20.1 ab
3. diuron	280	5.5 a	3.0 a	8.5 a	1.6 a	10.6 ab	12.2 a
4. imazethapyr	18	47.0 b	35.5 cd	82.5 bc	45.5 ab	55.0 bc	100.5 bc
5. pendimethalin	231	4.0 a	15.0 ab	19.0 a	3.2 a	31.0 abc	34.2 ab
6. alachlor	288	55.5 bc	23.0 bcd	78.5 b	61.3 bc	56.9 c	118.2 c
7. metribuzin	84	73.5 c	12.5 ab	86.0 bc	100.3 c	34.3 abc	134.6 c
8. handweeding		76.0 c	37.0 d	113.0 c	4.9 a	2.5 a	7.4 a
9. weedy		138.0 d	35.0 cd	173.0 d	342.4 d	135.5 d	477.9 d
C.V. (%)		28.7	54.3	31.1	49.2	64.1	48.4
F-test		* *	* *	* *	* *	* *	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 8 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 40 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 3.1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง ต้นกล้าเพาะในถุง ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	ความสูงต้น (ซม.)		จำนวนต้นที่ 60วัน (ต้น/15ต้น)	การแตกกอ (ต้น/กอ)	น้ำหนักต้น (กก./ไร่)
		40 วัน	50 วัน			
1. oxyfluorfen	48	41 ab	69 a	13.8 ab	7.5 a	72.2 abc
2. oxadiazon	150	37 bc	66 ab	14.0 a	7.8 a	70.7 abc
3. diuron	280	41 ab	68 ab	13.8 ab	7.8 a	82.0 a
4. imazethapyr	18	38 bc	60 bc	13.5 ab	5.8 ab	48.7 cd
5. pendimethalin	231	42 ab	67 ab	14.3 a12	7.7 a	76.0 ab
6. alachlor	288	37 bc	65 ab	12.3 b15	6.0 ab	52.5 bcd
7. metribuzin	84	45 a	66 ab	14.5 a	6.1 ab	73.1 abc
8. handweeding		34 c	57 c	14.5 a	4.9 b	52.1 bcd
9. weedy		39 abc	49 d	14.5 a	4.4 b	34.0 d
C.V. (%)		10.4	7.2	7.3	20.2	26.0
F-test		*	* *	ns	* *	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 9 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อหน่อไม้ฝรั่ง และประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 3.2. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง ใช้ต้นกล้าเพาะในแปลง (รากเปลือย) ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai./ไร่	ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช (วันหลังพ่น)			ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช			
					28 วันหลังพ่น		32 วันหลังพ่น	
		14 วัน	28 วัน	32 วัน	ใบแคบ	ใบกว้าง	ใบแคบ	ใบกว้าง
1. oxyfluorfen	48	0	2.0	3.0	10.0	9.0	8.25	8.75
2. oxadiazon	150	0	2.5	3.0	10.0	9.0	7.5	9.0
3. diuron	280	0	2.0	1.5	9.8	9.0	9.5	9.5
4. imazethapyr	18	0	0	0	9.75	9.75	7.5	8.25
5. pendimethalin	231	0	2.0	1.0	10.0	8.5	7.25	7.25
6. alachlor	288	0	1.0	1.0	8.25	8.75	6.5	8.0
7. metribuzin	84	0	0	0	6.75	6.75	4.5	7.0
8. handweeding		0			9.0	9.0	8.5	8.5
9. weedy		0			0	0	0	0

คะแนนอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=หน่อไม้ฝรั่งปกติ, 10= หน่อไม้ฝรั่งตาย

คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=ควบคุมวัชพืชไม่ได้, 10= ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์

ตารางที่ 10 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 40 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ทดลองการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง ต้นกล้าเพาะในแปลง (รากเปลือย) ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai./ไร่	จำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)			น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตารางเมตร)		
		ใบแคบ	ใบกว้าง	รวม	ใบแคบ	ใบกว้าง	รวม
1. oxyfluorfen	48	16.0 ab	12.3 ab	28.3 abc	11.3 a	8.9 ab	20.2 ab
2. oxadiazon	150	5.6 a	12.3 ab	17.9 ab	0.7 a	6.7 ab	7.4 a
3. diuron	280	20.0 ab	4.6 a	24.6 ab	2.6 a	0.3 a	2.9 a
4. imazethapyr	18	41.6 ab	15.0 ab	56.6 abc	7.7 a	11.0 abc	18.7 ab
5. pendimethalin	231	16.6 ab	14.0 ab	30.6 abc	8.0 a	19.4 bc	27.4 ab
6. alachlor	288	33.0 ab	16.3 ab	49.3 abc	17.2 a	12.4 abc	29.6 ab
7. metribuzin	84	48.6 b	12.6 ab	61.2 bc	45.7 a	17.5 bc	63.2 b
8. handweeding		40.0 ab	41.0 c	81.0 c	2.3 a	2.5 a	4.8 a
9. weedy		201.0 c	25.0 bc	226.0 d	186.8 b	25.5 c	212.3 c
C.V. (%)		56.2	67.7	46.5	108.6	78.0	77.4
F-test		* *	* *	* *	* *	*	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 11 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 40 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 3.2. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง ต้นกล้าเพาะในแปลง (รากเปลือย) ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	ความสูงต้น (ซม.)		จำนวนต้นที่ 60วัน (ต้น/15ต้น)	การแตกกอ (ต้น/กอ)	น้ำหนักต้น (กก./ไร่)
		40 วัน	50 วัน			
1. oxyfluorfen	48	26 ab	44 bc	7 b	3.2 ab	14.6 bc
2. oxadiazon	150	23 b	49 abc	7 b	2.8 ab	14.3 bc
3. diuron	280	25 ab	48 abc	9 b	3.5 ab	22.5 abc
4. imazethapyr	18	31 ab	63 a	11 a	3.8 a	38.5 a
5. pendimethalin	231	28 ab	59 ab	10 ab	3.4 ab	30.8 ab
6. alachlor	288	29 ab	59 ab	9 ab	3.5 ab	30.4 ab
7. metribuzin	84	34 a	62 a	11 a	3.3 ab	35.5 a
8. handweeding		28 ab	53 abc	12 a	2.7 ab	30.6 ab
9. weedy		22 b	39 c	8 ab	2.6 b	10.4 c
C.V. (%)		20.7	19.1	24.4	23.7	48.1
F-test		ns	*	*	ns	*

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

การศึกษาการใช้สารกำจัดวัชพืชในพริก

Study of Herbicides Used in Pepper (*Capsicum annuum*).

เสริมศิริ คงแสงดาว รักชัย คุรุบรรเจิดจิต[1/] จีรพรรณ พนาลิกุล[1/]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้สารกำจัดวัชพืชในพริก ดำเนินการทดลองในฤดูฝน ที่แปลงทดลอง ของศูนย์วิจัยพืชสวนหนองคาย อำเภอโพนพิสัย จังหวัดหนองคาย ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม-เดือนกันยายน พ.ศ. 2547 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ ขนาดแปลงย่อย 3.0x3.5 เมตร การทดลองเบื้องต้นใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก พ่นทับต้นกล้าพริกอายุ 83 วัน พบว่า propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, haloxyfop-R-methyl ester, cyholofop, fluazifop-p-butyl อัตรา 12 และ 14, 12 และ 15, 15 และ 18, 10.8 และ 13.5, 16 และ 24, 24 และ 30 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ไม่เป็นพิษต่อต้นพริก และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของต้นพริก เมื่อทดลองใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก พ่นเมื่อ 20 วันหลังย้ายปลูก ต้นกล้าพริกอายุ 63 วัน พ่นระวังไม่ให้สารสัมผัสต้นพริก พบว่า propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, haloxyfop-R-methyl ester, cyholofop, fluazifop-p-butyl อัตรา 14, 15, 18, 13.5, 24, 30 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชแคบวงศ์หญ้าได้ดี แต่ไม่ควบคุมวัชพืชใบกว้างและกก การใช้ cletodim พริกได้ผลผลิตสูงสุด รองลงมาตามลำดับคือ quizalofop-P-tefuryl, cyholofop, การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน, fluazifop-p-butyl, haloxyfop-R-methyl ester, propaquizafop และการไม่กำจัดวัชพืชได้ผลผลิตต่ำสุด วัชพืชใบแคบที่พบในพื้นที่ทดลอง ได้แก่ หญ้าดอกแดง (*Rhynchelytrum repens* (Wild.) C.E. Hubb.), หญ้าขจรจบ (*Pennisetum polystachyon* (L.) Schult.), หญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens* (H.B.K.) Henr.), หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) และหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees.) การทดลองใช้วัสดุคลุมดินร่วมกับการกำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังปลูก พบว่าใบหญ้าคาได้ผลผลิตพริกสูงสุด รองลงมา คือ ใบหญ้าแฝก, พลาสติกทา-ดำและฟางข้าวไม่แตกต่างกัน แกลบดิบได้ผลผลิตต่ำสุดเท่ากับการไม่คลุมดินไม่กำจัดวัชพืช การทดลองหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดวัชพืชในพริก พบว่าเมื่อไม่คลุมดินกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 20 และ 40 วันหลังย้ายปลูกพริกได้ผลผลิตสูงสุด

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0103-0201

[1/]นักวิชาการเกษตร ศูนย์วิจัยพืชสวนหนองคาย จังหวัดหนองคาย

คำนำ

พริก (*Capsicum annuum* L.) อยู่ในวงศ์ Solanaceae เป็นไม้พุ่มล้มลุก ต้นสูง 1.5 เมตร ต้นตั้งตรงแตกกิ่งก้านสาขา ใบออกแบบสลับ ดอกเดี่ยว ผลแบบ berry กลวงยาว เมล็ดแบนรูปไต (Tindall, 1983) จัดเป็นผักและเครื่องเทศที่มีความสำคัญในการประกอบอาหารประจำวันของคนไทยเป็นอย่างมาก พริกสดมีไวตามินซีและไวตามินเอ สารแคปไซซินทำให้พริกมีรสเผ็ด ถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณประเทศเม็กซิโกและอเมริกาใต้ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เพาะกล้าพริกในแปลงเพาะจนมีใบจริง 2 ใบ ย้ายปลูกลงถุง เมื่อมีใบจริง 8-10 ใบ จึงย้ายลงแปลงปลูก พริกขี้หนูอายุตั้งแต่ย้ายกล้าปลูกจนถึงเก็บเกี่ยว 60-90 วัน (วิชัย, 2532)

สุขอนามัยในแปลงปลูกพริก ต้องเริ่มตั้งแต่การรักษาแปลงให้สะอาด ไม่มีวัชพืชขึ้นรบกวน เพื่อให้โรคและแมลงศัตรูพริกไม่มีที่หลบซ่อน ช่วยลดการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช การสูญเสียผลผลิตพริกเนื่องจากวัชพืชประมาณว่าไม่ต่ำกว่า 90%เมื่อไม่มีการกำจัดวัชพืชตลอดฤดูปลูก ค่าแรงงานในการกำจัดวัชพืชประมาณ 20%ของค่าแรงงานทั้งหมด (Jayawardena and Senevirathne, 2001) แปลงปลูกพริกไม่จำเป็นต้องสะอาดปราศจากวัชพืช เพียงแต่รักษาปริมาณวัชพืชให้อยู่ในระดับที่ต่ำสุดตลอดฤดูปลูก (Stall and Gileath, 2003)

พริกเจริญเติบโตช้ากว่าจะปกคลุมพื้นที่ ทำให้มีปัญหาวัชพืชรบกวนมาก การปลูกพริกแบบย้ายกล้าช่วยให้วัชพืชโตช้ากว่าพริก ทำให้การเข้าไปพรวนหรือถากทำได้ง่าย (Scheuerman, 1985) แนวทางการจัดการให้แปลงปราศจากวัชพืชกระทำได้หลายวิธี ตั้งแต่การเตรียมดิน ใช้วัสดุคลุมดินให้วัชพืชงอกและโตช้ากว่าพริก ควรมีการกำจัดวัชพืชบ่อยครั้งในระยะที่ต้นพริกยังเล็กอยู่ เพื่อช่วยให้ดินมีการถ่ายเทอากาศและระบายน้ำดี หากวัชพืชโตคลุมต้นพริกทำให้พริกแคระแกรนได้ผลผลิตต่ำ การออกดอกติดผลของพริกค่อนข้างอ่อนไหวต่อแรงกระทบกระเทือน การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานจึงควรกำจัดในเวลาที่เหมาะสม และวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยต่อพริก จะช่วยลดปัญหาวัชพืชได้ เสริมศิริและเกลียวพันธ์ (2526) รายงานว่าควรใช้ oxyfluorfen และ oxadiazon พ่นก่อนย้ายปลูกพริก 1 วัน หากใช้หลังปลูกพริกจะเป็นอันตรายต่อต้นพริก Jayawardena and Senevirathne (2001) รายงานว่า alachlor, metolachlor, oxadiazon, pendimethalin ใช้พ่นหลังย้ายปลูกพริก 4 วัน oxyfluorfen ใช้พ่นก่อนย้ายปลูกพริก 1 วัน และ sethoxydim ใช้พ่นหลังย้ายปลูกพริก 7 วัน แล้วตามด้วยการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 5 และ 8 สัปดาห์หลังย้ายปลูก Stall and Gileath (2003) แนะนำให้ใช้ trifluralin พ่นแล้วคลุกดินก่อนย้ายปลูกพริก หรือใช้ clomazone, metolachlor และ oxyfluorfen พ่นก่อนย้ายปลูกพริก หรือใช้ sethoxydim กำจัดวัชพืชวงศ์หญ้าในแปลงหลังจากย้ายปลูก

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้คือ เพื่อหาวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในแปลงปลูกพริก คัดเลือกชนิดวัสดุคลุมดินที่ช่วยลดปริมาณวัชพืช และระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดวัชพืชในแปลงปลูกพริก

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

การทดลองประกอบด้วย 4 การทดลองย่อย ได้แก่ 1) การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริกเบื้องต้น 2) การใช้สารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริก 3) การใช้วัสดุคลุมดินชนิดต่าง ๆ เพื่อควบคุมวัชพืชในพริก 4) ระยะเวลาที่เหมะสมในการกำจัดวัชพืชในพริก

อุปกรณ์

1. เมล็ดพริกขี้หนูใหญ่พันธุ์ ศรีสะเกษ 1
2. ถุงพลาสติกดำเพาะกล้าขนาด 4x6 เซนติเมตร ปุ๋ยสูตร 15-15-15
3. แกลบดิบ ฟางข้าว ใบหญ้าคา ใบหญ้าแฝก พลาสติกเทา-ดำ
4. สารกำจัดวัชพืช propaquizafop 10%EC, quizalofop-P-tefuryl 6%EC, cletodim 12%EC, haloxyfop-R-methyl ester 10%EC, cyholofop 10%EC, fluazifop-p-butyl 15%EC
5. ถังพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบโยกสะพายหลัง หัวพ่นรูปพัด ถังพ่นสารกำจัดศัตรูพืช และสารกำจัดศัตรูพืชตามความจำเป็น

วิธีการ

เพาะต้นกล้าพริกในกะบะ แล้วย้ายลงถุงพลาสติก ย้ายปลูกลงแปลงระยะปลูกระหว่างต้น 50 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถว 100 เซนติเมตร ขนาดแปลงย่อย 3.0x3.5 เมตร

การทดลองที่ 1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริกเบื้องต้น

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 13 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ต้นกล้าพริกต้นละถุง ซ้ำละ 5 ต้น ประกอบด้วย สารกำจัดวัชพืช 6 ชนิด ๆ ละ 2 อัตรา เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช ใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นทับต้นกล้าพริกอายุ 83 วัน และเก็บเกี่ยวพริกเมื่อ 30 วันหลังพ่น บันทึกความสูงต้น จำนวนดอกและน้ำหนักแห้งต้นพริก

การทดลองที่ 2-4 ดำเนินการในแปลงทดลอง ดินชุดโพนพิสัย ต้นกล้าพริกอายุ 63 วัน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ

การทดลองที่ 2. การใช้สารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริก

มี 8 กรรมวิธี ประกอบด้วย สารกำจัดวัชพืช 6 ชนิด ๆ ละ 1 อัตรา เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช และกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 50 วันหลังปลูก พ่นสารกำจัดวัชพืชเมื่อ 20 วันหลังย้ายปลูก พ่นในแปลงปลูกระวังละอองสารไม่ให้สัมผัสต้นพริก บันทึกประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช และอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริก

การทดลองที่ 3. การใช้วัสดุคลุมดินชนิดต่าง ๆ เพื่อควบคุมวัชพืชในพริก

มี 7 กรรมวิธี ประกอบด้วย แกลบดิบ ฟางข้าว ใบหญ้าคา ใบหญ้าแฝก และพลาสติกเทา-ดำ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่คลุมดินกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 20 และ 40 วันหลังย้ายปลูก และกรรมวิธีไม่คลุมดินไม่กำจัดวัชพืช ทุกกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 40 วันหลังย้ายปลูก

การทดลองที่ 4. ระยะเวลาที่เหมะสมในการกำจัดวัชพืชในพริก

มี 8 กรรมวิธี ประกอบด้วยกรรมวิธีกำจัดวัชพืชที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน บันทึกชนิด จำนวนต้นและน้ำหนักวัชพืชแห้งเมื่อกำจัดวัชพืชที่เวลาต่าง ๆ กันตามกรรมวิธีที่กำหนด

การบันทึกข้อมูล

บันทึกความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อพริก บันทึกประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชเมื่อ 7, 14 และ 21 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช บันทึกชนิดและปริมาณวัชพืชที่ 21 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช สุ่มแปลงย่อยละ 2 จุด ๆ ละ 0.5x0.5 เมตร การทดลองวัสดุคลุมดินกำจัดวัชพืชออกทุกกรรมวิธีที่ 40 วันหลังย้ายปลูก สุ่มแปลงย่อยละ 2 จุด ๆ ละ 0.5x0.5 เมตร บันทึกชนิด จำนวนต้นและน้ำหนักวัชพืชแห้งเมื่อกำจัดวัชพืช สุ่มต้นพริกแปลงย่อยละ 10 ต้น บันทึกการเจริญเติบโตของพริก (ความสูงต้น และค่าเฉลี่ยความกว้างของทรงพุ่มต้นพริกระหว่างแนวทิศเหนือ-ใต้และแนวทิศตะวันออก-ตะวันตก) ที่ 30, 60 และ 90 วันหลังปลูกและบันทึกผลผลิตพริกทุกครั้งเมื่อเก็บเกี่ยว (เก็บเกี่ยวพริก 5 ครั้ง)

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ดำเนินการทดลองในฤดูฝน ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม-เดือนกันยายน พ.ศ. 2547 ที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนหนองคาย อำเภอโพนพิสัย จังหวัดหนองคาย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริกเบื้องต้น

จากการใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นทับต้นกล้าพริก อายุ 83 วันหลังจากพ่นสารกำจัดวัชพืช 14 วัน ไม่พบอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริก ความสูงของต้นพริกที่ 14 และ 30 วันหลังพ่นสารไม่แตกต่างกันทางสถิติ ต้นสูงเฉลี่ย 23.8 และ 24.4 เซนติเมตรตามลำดับ เมื่อ 30 วันหลังใช้สารสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของต้นพริก น้ำหนักแห้งต้นพริกไม่แตกต่างกันทางสถิติ เฉลี่ย 3.55 กรัมต่อต้น แต่จำนวนดอกของพริกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีไม่พ่นสารและกรรมวิธีที่ใช้ fluazifop-p-butyl อัตรา 24 และ 30 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีจำนวนดอกพริกมากที่สุด 7.9-8.3 ดอกต่อต้น ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช พริกมีดอก 7.9 ดอกต่อต้น รองลงมาคือ propaquizafop อัตรา 12 และ 14 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ cletodim อัตรา 15 และ 18 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีจำนวนดอกพริก 7.2-7.7 ดอกต่อต้น ส่วน quizalofop-p-tefuryl อัตรา 12 และ 15 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ และ cyhalofop อัตรา 16 และ 24 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีจำนวนดอกรองลงมา 6.3-7.0 ดอกต่อต้น การใช้สาร haloxyfop-R-methyl ester อัตรา 10.8 และ 13.5 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พริกมีจำนวนดอกต่ำสุด 5.0-5.6 ดอกต่อต้น (ตารางที่ 1)

ชนิดและปริมาณวัชพืชที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนหนองคาย จังหวัดหนองคาย

ที่ 40 วันหลังย้ายปลูก พบว่ามีวัชพืช 213.6 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบแคบ 41.3 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบกว้าง 30.3 เปอร์เซ็นต์ และวัชพืชพวกกก 28.4 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบแคบได้แก่ หญ้าดอกแดง (*Rhynchelytrum repens* (Wild.) C.E. Hubb.), หญ้าขจรจบ (*Pennisetum polystachyon* (L.) Schult.), หญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens* (H.B.K.) Henr.), หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) และหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees.) วัชพืชใบกว้างได้แก่ ผักโขม (*Amaranthus viridis* Linn.), โสนขน (*Aeschynomene americana* L.), ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schum. & Th. Kongl.), หญ้าละออง (*Vernonia cinerea* (L.) Less.), เทียนนา (*Ludwigia hyssopifolia* (C.Don.) Exell.), ปอวัชพืช (*Corchorus olitorius* Linn.), กระดุมใบใหญ่ (*Borreria latifolia* (Audl.) Schum.), ผักเผ็ด (*Spiranthes paniculata* Wall. ex DC.), เส้งใบมน (*Melochia corchorifolia* L.), กระทืบยอบ (*Mimosa pudica* Linn.) ผักปลาบนา (*Commelina diffusa* Burm.f.) วัชพืชพวกกกได้แก่ กกทราย (*Cyperus iria* Linn.),หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl.)

การทดลองที่ 2. การใช้สารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริก

จากการใช้สารกำจัดวัชพืช propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, haloxyfop-R-methyl ester, cyholofop, fluazifop-p-butyl อัตรา 14, 15, 18, 13.5, 24 และ 30 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ กล้าพริกอายุ 63 วัน พ่นที่ 20 วันหลังย้ายปลูก พ่นระหว่างต้นพริกระวังไม่ให้ละอองสารสัมผัสต้นพริก พบว่าที่ 24 วันหลังพ่นสาร ไม่พบอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริก (ตารางที่ 2)

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

ทดลองในช่วงฤดูฝน วัชพืชโตเร็ว ขณะพ่นสารวัชพืชส่วนใหญ่แตกกอแล้วแต่ยังไม่ออกดอก ที่ 24 วันหลังพ่นสาร พบว่าประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้าของสารกำจัดวัชพืชที่ทดลองอยู่ในระดับดีถึงดีมาก แต่ไม่ควบคุมวัชพืชใบกว้างและกก หลังจากวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้าถูกกำจัดไป วัชพืชใบกว้างและกกเจริญขึ้นมาแทนที่ โดยเฉพาะกกทราย จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชรวมของกรรมวิธีใช้สารกำจัดวัชพืชไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช ซึ่งมีปริมาณวัชพืชมากที่สุด ส่วนการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีปริมาณวัชพืชต่ำที่สุด (ตารางที่ 2)

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช

วัชพืชใบแคบในกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชมีปริมาณวัชพืชน้อยไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช วัชพืชใบกว้างก็แสดงผลเช่นเดียวกับวัชพืชใบแคบ ส่วนวัชพืชพวกกกในกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชมีปริมาณวัชพืช 133.2-260.0 กรัมต่อตารางเมตร มากกว่าการไม่กำจัดวัชพืชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีน้ำหนักกก 31.0 กรัมต่อตารางเมตร (ตารางที่ 2 และ 3)

การเจริญเติบโตของพริก

ความสูงต้นพริกที่ 30 วันหลังย้ายปลูก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การไม่กำจัดวัชพืชและการใช้ cletodim ต้นพริกสูงสุดไม่ต่างกัน 46.0 และ 44.9 เซนติเมตร รองลงมาคือ quizalofop-P-tefuryl ต้นพริกสูง 42.9 เซนติเมตร ส่วนการใช้ propaquizafop ต้นพริกเตี้ยที่สุด 36.1 เซนติเมตร ความสูงต้นพริกที่ 60 และ 90 วัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ต้นพริกมีความสูงเฉลี่ย 68.6 เซนติเมตรที่ 90 วันหลังย้ายปลูก มีแนวโน้มว่าการใช้ cletodim ต้นพริกที่สูงสุด (ตารางที่ 4)

ทรงพุ่มของต้นพริกแสดงผลเช่นเดียวกับความสูงต้น พบว่าที่ 30 และ 60 วันหลังย้ายปลูก ทรงพุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ cletodim ต้นพริกมีทรงพุ่มกว้างที่สุด 41.4 และ 67.8 เซนติเมตร ส่วนการใช้ propaquizafop ต้นพริกมีทรงพุ่มแคบที่สุด 31.3 และ 49.6 เซนติเมตร เมื่อ 90 วันหลังย้ายปลูกพริกทุกรรมวิธีมีทรงพุ่มไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 58.7 เซนติเมตร (ตารางที่ 4)

ผลผลิตพริก

ผลรวมจากการเก็บเกี่ยวพริก 5 ครั้ง พบว่าจำนวนผลพริกต่อต้นไม่มีความแตกต่างกัน ผลผลิตพริกต่อไร่แสดงผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การใช้ cletodim ผลผลิตพริกสดต่อไร่สูงสุด 548.0 กิโลกรัมต่อไร่ ตากเป็นพริกแห้งได้ 146.3 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ผลผลิตรองลงมาคือ quizalofop-P-tefuryl 378.5 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับการใช้ fluazifop-p-butyl ได้ผลผลิตไม่แตกต่างจากการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและการไม่กำจัดวัชพืช ได้ผลผลิต 269.3-283.2 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนการใช้ propaquizafop ได้ผลผลิตพริกน้อยที่สุด 162.1 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 5)

การทดลองที่ 3. การใช้วัสดุคลุมดินชนิดต่าง ๆ เพื่อควบคุมวัชพืชในพริก

จากการใช้วัสดุคลุมแปลงปลูกพริกได้แก่ แกลบดิบ ฟางข้าว ใบหญ้าคา ใบหญ้าแฝก อัตรา 2033, 427, 762, 823 กิโลกรัมต่อไร่ และพลาสติกเทา-ดำ กำจัดวัชพืชออกจากแปลงที่ 40 วันหลังย้ายปลูก เปรียบเทียบกับการไม่คลุมดินกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 20 และ 40 วันหลังย้ายปลูก และการไม่คลุมดินไม่กำจัดวัชพืช ทุกกรรมวิธีกำจัดวัชพืชออกที่ 40 วันหลังย้ายปลูก

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช

พบว่าจำนวนต้นวัชพืชไม่แตกต่างกัน แต่น้ำหนักแห้งวัชพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การใช้พลาสติกเทา-ดำและการไม่คลุมดินกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีน้ำหนักแห้งวัชพืชต่ำสุด 49.6-45.0 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาคือการใช้ใบหญ้าแฝกคลุมดิน 109.6 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาตามลำดับคือ แกลบดิบ ใบหญ้าคาและฟางข้าว มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 336.8, 363.2 และ 506.6 กรัมต่อตารางเมตร การไม่คลุมดินและไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืชสูงสุด 953.8 กรัมต่อตารางเมตร น้ำหนักแห้งของวัชพืชใบแคบ ใบกว้างและกก แสดงผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6 และ 8)

การเจริญเติบโตของพริก

ความสูงต้นพริกที่ 30, 60 และ 90 วันหลังย้ายปลูกมีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ 30 วันการใช้ฟางข้าวคลุมดินต้นพริกสูงที่สุด เมื่อระยะเวลานานขึ้นที่ 60 และ 90 วัน การไม่คลุมดินกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน ต้นพริกสูงมากที่สุด ความกว้างของทรงพุ่มที่ 30 วันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ฟางข้าวและใบหญ้าคาต้นพริกมีทรงพุ่มกว้างที่สุด 38 และ 39 เซนติเมตร การใช้พลาสติกเทา-ดำ ต้นพริกมีทรงพุ่มแคบที่สุด 28 เซนติเมตร ที่ 60 และ 90 วัน การไม่คลุมดินและการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานต้นมีทรงพุ่มกว้างที่สุด 64 และ 59 เซนติเมตร การไม่คลุมดินไม่กำจัดวัชพืชและการใช้แกลบดิบคลุมดินพริกต้นเล็กที่สุด 46 และ 45 เซนติเมตร (ตารางที่ 7)

ผลผลิตพริก

การไม่คลุมดินร่วมกับกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีจำนวนผลสูงสุด 127.8 ผลต่อต้น และผลผลิตพริกสูงสุด 466.9 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การใช้ใบหญ้าคาคลุมดินได้ผลผลิตพริกสูงรองลงมา 379.7 กิโลกรัมต่อไร่ การใช้ใบหญ้าแฝก, พลาสติกทา-ดำและฟางข้าวคลุมดิน ได้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน 291.4, 285.3 และ 282.2 กิโลกรัมต่อไร่ การใช้แกลบดิบและการไม่คลุมดินไม่กำจัดวัชพืชได้ผลผลิตต่ำสุดไม่ต่างกัน 210.9 และ 219.4 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 8)

การทดลองที่ 4. ระยะเวลาที่เหมะสมในการกำจัดวัชพืชในพริก

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช

การเริ่มกำจัดวัชพืชที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน 15, 20, 30, 40, 50 และ 60 วันหลังย้ายปลูกพริก มีจำนวนต้นวัชพืช 216.7, 167.4, 537.9, 227.4, 96.6 และ 90 ต้นต่อตารางเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 9) พบว่าวัชพืชมีจำนวนต้นสูงสุดที่ 30 วันหลังจากย้ายปลูก หลังจากนั้นจำนวนต้นวัชพืชจะน้อยลงเนื่องจากวัชพืชมีการแข่งขันกันเอง ชั่งน้ำหนักแห้งวัชพืชได้ 31.7, 167.4, 1044.9, 953.9, 951.8 และ 1031.8 กรัมต่อตารางเมตรตามลำดับ น้ำหนักวัชพืชจะสูงสุดที่ 30 วันหลังปลูกเช่นเดียวกับจำนวนต้นวัชพืช (ตารางที่ 10) จะเห็นว่าการกำจัดวัชพืชยิ่งช้าต้นวัชพืชยิ่งโต ทำให้กำจัดได้ยากและเสียแรงงานเพิ่มขึ้น

ส่วนการกำจัดวัชพืชมากกว่าหนึ่งครั้ง พบว่าเมื่อกำจัดวัชพืชซ้ำ จำนวนต้นวัชพืชแม้ว่าจะลดลงเพียงเล็กน้อย แต่ต้นวัชพืชจะมีขนาดเล็ก (ดูจากน้ำหนักแห้งวัชพืช) เป็นการกำจัดขณะต้นวัชพืชยังเล็ก จะกำจัดได้ง่ายรวดเร็วและประหยัดแรงงานกว่าการกำจัดวัชพืชต้นโต (ตารางที่ 9 และ 10)

การเจริญเติบโตของพริก

ความสูงของต้นพริกทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันที่ 30, 60 และ 90 วันหลังย้ายปลูก ทรงพุ่มต้นพริกเฉลี่ย 40.6, 67.4 และ 68.2 เซนติเมตรตามลำดับ ที่ 90 วันหลังย้ายปลูกการกำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังย้ายปลูก ต้นพริกเตี้ยที่สุด 62.8 เซนติเมตร (ตารางที่ 11)

ความกว้างของทรงพุ่มต้นพริก เมื่อ 30 วันหลังปลูกไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 34.5 เซนติเมตร เมื่อ 60 วันหลังย้ายปลูกทรงพุ่มต้นพริก แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังย้ายปลูก และการกำจัดวัชพืชที่ 20, 40 ละ 60 วันหลังย้ายปลูก ทรงพุ่มต้นพริกกว้างที่สุด 63.6 และ 64.6 เซนติเมตร การกำจัดวัชพืชที่ 60 วันหลังย้ายปลูกพริกทรงพุ่มเล็กที่สุด 45.5 เซนติเมตร เมื่อ 90 วันหลังย้ายปลูกทรงพุ่มต้นพริกไม่แตกต่างกัน การกำจัดวัชพืชที่ 20, 40 และ 60 วันหลังย้ายปลูก และการกำจัดวัชพืชที่ 15, 30, 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก ต้นพริกโตที่สุดมีทรงพุ่ม 65.8 และ 61.7 เซนติเมตรตามลำดับ การกำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังย้ายปลูกต้นพริกเล็กที่สุดทรงพุ่ม 45.9 เซนติเมตร (ตารางที่ 11)

ผลผลิตพริก

จำนวนผลพริกต่อต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังย้ายปลูกมีจำนวนผลพริกมากที่สุด 127.8 ผล รองลงมาคือการกำจัดวัชพืชที่ 15,30,45 และ60 วันหลังย้ายปลูก และการกำจัดวัชพืชที่ 15,30 และ 45 วันหลังย้ายปลูก มีจำนวนผลพริกไม่แตกต่างกัน 90.8 และ 83.9 ผล ส่วนการกำจัดวัชพืชที่ 60 วันหลังย้ายปลูกมีจำนวนผลพริกน้อยที่สุด 29.7 ผล

ผลผลิตพริกต่อไร่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังย้ายปลูกได้ผลผลิตพริกสูงสุด 466.9 กิโลกรัม รองลงมาคือการกำจัดวัชพืชที่ 15,30,45 และ60 วันหลังย้ายปลูกได้ผลผลิต 398.6 กิโลกรัม การกำจัดวัชพืชที่ 20, 40 และ 60 วันหลังย้ายปลูก, การกำจัดวัชพืชที่ 50 วันหลังย้ายปลูก, การกำจัดวัชพืชที่ 30, 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก, การกำจัดวัชพืชที่ 15, 30 และ 45 วันหลังย้ายปลูก และการกำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังย้ายปลูกได้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน 285.3, 283.2, 277.9, 276.7 และ 219.4 กิโลกรัมตามลำดับ ส่วนการกำจัดวัชพืชที่ 60 วันหลังย้ายปลูกได้ผลผลิตพริกต่ำสุด 136.5 กิโลกรัม (ตารางที่ 12)

มีแนวโน้มว่าการเริ่มเข้าไปกำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังย้ายปลูก มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกมากกว่าการเริ่มเข้าไปกำจัดวัชพืชที่ 50 วันหลังย้ายปลูก และการกำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังย้ายปลูกได้ผลผลิตพริกต่ำกว่าการกำจัดวัชพืชที่ 50 วันหลังย้ายปลูก

สรุปผลการทดลอง (ในฤดูฝนปี 2547)

1. สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก พ่นทับต้นกล้าพริกอายุ 83 วัน พบว่า propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, haloxyfop-R-methyl ester, cyholofop, fluazifop-p-butyl อัตรา 12 และ 14, 12 และ 15, 15 และ 18, 10.8 และ 13.5, 16 และ 24, 24 และ 30 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ไม่เป็นพิษต่อต้นพริก

2. สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก พ่นเมื่อ 20 วันหลังย้ายปลูก ต้นกล้าพริกอายุ 63 วัน พ่นระวังไม่ให้สารสัมผัสต้นพริก พบว่า propaquizafop, quizalofop-P-tefuryl, cletodim, haloxyfop-R-methyl ester, cyholofop, fluazifop-p-butyl อัตรา 14, 15, 18, 13.5, 24, 30 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชแคบวงศ์หญ้าได้ดี แต่ไม่ควบคุมวัชพืชใบกว้างและกก

3. การใช้ cletodim พริกได้ผลผลิตสูงสุด รองลงมาตามลำดับคือ quizalofop-P-tefuryl, cyholofop, การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน, fluazifop-p-butyl, haloxyfop-R-methyl ester, propaquizafop และการไม่กำจัดวัชพืชได้ผลผลิตต่ำสุด

4. การใช้วัสดุคลุมดินร่วมกับการกำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังปลูก พบว่าใบหญ้าคาได้ผลผลิตพริกสูงสุด รองลงมา คือ ใบหญ้าแฝก, พลาสติกทา-ดำและฟางข้าวไม่แตกต่างกัน แกลบดิบได้ผลผลิตต่ำสุดเท่ากับการไม่คลุมดินไม่กำจัดวัชพืช

5. การไม่คลุมดินร่วมกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 20 และ 40 วันหลังย้ายปลูก เป็นระยะเวลากำจัดวัชพืชที่เหมาะสม ทำให้ได้ผลผลิตพริกสูงสุด

เอกสารอ้างอิง

วิชัย ซ้อนมณี, 2532. เอกสารคำแนะนำที่ 20 เรื่องการปลูกพริก. กองเกษตรสัมพันธ์, กรมส่งเสริมการเกษตร. 13 หน้า.

เสริมศิริ คงแสงดาว, เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ และเสรี ทรงศักดิ์, 2528. การศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชหกชนิดในพริก. รายงานประจำปีกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช,กรมวิชาการเกษตร.

Jayawardena, J.D.K.M. and A.M. Senevirathne. 2001. Chemical control of weed in chilli (*Capsicum annum*).*In* The Proc. Of the 18th Asian-Pacific Weed Sci. Soc. Conf. May 28-June 2, 2001. Beijing, China. P. 804-807.

Scheuerman, B. 1985. Bell pepper 9Capsicum annum var. annum) : Vegetable crops. Principle of Weed Control in California. 285-287 p. California Weed Conference.

Stall, W.M. and J.P. Gilreath. 2003. Weed control in pepper. Horticultural Sciences Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of food and Agricultural Sciences, University of Florida. 7p. http://edis. Ifas.ufl,edu.

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริก และการเจริญเติบโตของต้นพริกใน การทดลองที่ 1. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริกเบื้องต้น ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai./ไร่	ความเป็นพิษ	สูง (เซนติเมตร)		จำนวนดอก (ดอก/ต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)
			14	30		
1.propaquizafop	12	0	21.0 b	22.1 b	7.4 ab	3.88
2.propaquizafop	14	0	23.6 a	23.5 ab	7.2 ab	3.64
3. quizalofop-p-tefuryl	12	0	23.6 a	23.9 ab	6.9 abc	3.65
4. quizalofop-p-tefuryl	15	0	24.6 a	25.3 a	6.8 abc	3.52
5. cletodim	15	0	24.3 a	24.7 ab	7.2 ab	3.88
6. cletodim	18	0	23.4 ab	24.4 ab	7.7 ab	3.33
7. haloxyfop-R-methyl ester	10.8	0	25.2 a	26.2 a	5.6 bc	3.37
8. haloxyfop-R-methyl ester	13.5	0	23.3 ab	24.2 ab	5.0 c	3.02
9. cyhalofop	16	0	24.1 a	24.5 ab	7.0 abc	3.85
10. cyhalofop	24	0	24.5 a	24.8 ab	6.3 abc	3.54
11. fluazifop-p-butyl	24	0	24.3 a	24.5 ab	8.3 a	3.53
12. fluazifop-p-butyl	30	0	24.6 a	24.3 ab	8.0 a	3.54
13. untreated		0	22.9 ab	24.8ab	7.9 a	3.39
Mean			23.8	24.4	7.0	3.55
C.V. (%)			7.6	7.8	21.3	19.4
F-test			ns	ns	*	<1

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

คะแนนอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริก

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=พริกปกติ, 10= พริกตาย

คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=ควบคุมวัชพืชไม่ได้, 10= ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริกประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชใบแคบ และปริมาณวัชพืชรวมต่อตารางเมตร ที่ 24 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 2. การใช้สารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริก ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	ความเป็นพิษ	การควบคุมวัชพืช.ใบแคบ	วัชพืชรวม/ตารางเมตร	
				จำนวน (ต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
1.propaquizafop	14	0	9.0	136.6 a	155.1 a
2.quizalofop-p-tefuryl	15	0	8.2	87.4 a	284.8 a
3. cletodim	18	0	8.5	131.4 a	210.6 a
4. haloxyfop-R-methyl ester	13.5	0	9.2	118.0 a	275.6 a
5. cyhalofop	24	0	7.8	122.0 a	183.2 a
6. fluazifop-p-butyl	30	0	9.5	226.8 b	195.6 a
7. handweeding			8.0	59.2 a	38.2 a
8. weedy 50			0	96.8 a	952.0 b
C.V. (%)				35.4	54.0
F-test				*	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

คะแนนอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริก

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=พริกปกติ, 10= พริกตาย

คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืช

ระดับคะแนนประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0=ควบคุมวัชพืชไม่ได้, 10= ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์

ตารางที่ 3 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชต่อตารางเมตร ที่ 24 วันหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 2. การใช้สารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริก ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา	จำนวนต้นวัชพืช			น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม)		
	กรัมai./ไร่	แคบ	กว้าง	กก	แคบ	กว้าง	กก
1.propaquizafop	14	6.6 ab	39.4 ab	90.6 b	11.5 a	10.4 a	133.2 abc
2.quizalofop-p-tefuryl	15	10.6 abc	25.4 ab	51.4 ab	25.6 a	19.2 a	240.0 c
3. cletodim	18	16.0 abc	18.0 a	97.4 b	16.8 a	6.6 a	187.2 bc
4. haloxyfop-R-methyl ester	13.5	6.0 ab	34.6 ab	77.4 b	7.6 a	8.0 a	260.0 c
5. cyhalofop	24	24.6 cd	30.0 ab	67.4 ab	36.6 a	11.4 a	135.2 abc
6. fluazifop-p-butyl	30	3.4 a	61.4 b	162.0 c	3.61 a	12.2 a	179.8 abc
7. handweeding		22.6 bcd	22.6 ab	14.0 a	28.4 a	6.6 a	3.2 a
8. weedy 50		36.0 d	51.4 ab	9.4 a	668.0 b	253.0 b	31.0 ab
C.V. (%)		55.5	55.8	45.7	111.3	71.2	64.0
F-test		* *	ns	* *	* *	* *	*

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของพริก การทดลองที่ 2. การใช้สารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริก ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา	ความสูง (เซนติเมตร)			ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)		
	กรัมai./ไร่	30	60	90	30	60	90
1.propaquizafop	14	36.1 c	58.8 c	63.6	31.3 c	49.6 c	46.1 b
2.quizalofop-p-tefuryl	15	42.9 ab	68.9 abc	67.7	39.8 ab	64.9 ab	62.6 ab
3. cletodim	18	44.9 a	73.6 a	78.4	41.4 a	67.8 a	69.7 a
4. haloxyfop-R-methyl ester	13.5	39.5 bc	62.3 bc	63.3	34.7 abc	54.9 bc	57.1 ab
5. cyhalofop	24	38.8 bc	67.5 abc	67.3	35.7 abc	60.1 abc	59.2 ab
6. fluazifop-p-butyl	30	39.4 bc	62.7 bc	65.6	34.0 bc	54.4 bc	53.1 ab
7. handweeding		40.1 bc	71.7 ab	72.3	39.1 ab	64.6 ab	65.8 a
8. weedy 50		46.0 a	69.7 ab	70.2	39.2 ab	59.5 abc	55.8 ab
Mean		41.0	66.9	68.6	36.9	59.5	58.7
C.V. (%)		5.5	8.3	13.9	9.5	8.8	16.7
F-test		* *	ns	<1	*	*	ns

ตารางที่ 5 ผลผลิตพริกเมื่อเก็บเกี่ยว 5 ครั้ง การทดลองที่ 2. การใช้สารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในพริก ปี พ.ศ. 2547

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	จำนวนผลพริก (ผล/ต้น)	ผลผลิตพริก (กิโลกรัม/ไร่)	
			พริกสด	พริกแห้ง
1.propaquizafop	14	91.2 ab	162.1 d	46.9 c
2.quizalofop-p-tefuryl	15	113.8 a	378.5 b	100.6 b
3. cletodim	18	99.0 ab	548.0 a	146.3 a
4. haloxyfop-R-methyl ester	13.5	55.6 b	208.2 cd	56.7 c
5. cyhalofop	24	65.0 ab	343.2 cd	98.1 b
6. fluazifop-p-butyl	30	98.8 ab	269.3 bcd	71.3 bc
7. handweeding		65.0 ab	283.2 bcd	83.5 bc
8. weedy	50	55.1 b	277.9 bcd	73.1 bc
C.V. (%)		33.6	24.6	25.5
F-test		ns	* *	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 6 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชต่อตารางเมตร ที่ 40 วันหลังย้ายปลูก การทดลองที่ 3. การใช้วัสดุคลุมดินชนิดต่าง ๆ เพื่อควบคุมวัชพืชในพริก ปี 2547

กรรมวิธีคลุมดิน	วัสดุคลุม กิโลกรัม/ไร่	จำนวนต้นวัชพืช			น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม)		
		แคบ	กว้าง	กก	แคบ	กว้าง	กก
1. แกลบดิบ	2033	54 ab	115	19 ab	76.2 a	189.8 c	70.8 a
2. ฟางข้าว	427	96 b	89	35 abc	297.8 ab	120.4 bc	88.4 a
3. ใบหญ้าคา	762	59 ab	89	15 ab	252.2 ab	94.2 abc	16.8 a
4. ใบหญ้าแฝก	823	92 b	133	36 bc	25.0 a	44.0 ab	40.6 a
5. พลาสติกเทา-ดำ		4 a	7	5 a	45.4 a	1.8 a	2.4 a
6.ไม่คลุมดิน+กำจัดวัชพืช ที่ 20, 40 วัน		36 ab	21	13 ab	34.8 a	2.6 a	7.6 a
7. ไม่คลุมดิน+ไม่กำจัดวัชพืช		88 b	79	61 c	405.0 b	162.8 c	386.0 b
C.V. (%)		52.7	85.0	58.5	90.0	68.2	124.0
F-test		*	ns	*	*	*	*

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 7 การเจริญเติบโตของพริก การทดลองที่ 3. การใช้วัสดุคลุมดินชนิดต่าง ๆ เพื่อควบคุมวัชพืชในพริก ปี 2547

กรรมวิธีคลุมดิน	วัสดุคลุม กิโลกรัม/ไร่	ความสูง (เซนติเมตร)			ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)		
		30	60	90	30	60	90
1. แกลบดิบ	2033	38 bc	54 c	56 b	33 bc	48 b	45 c
2. ฟางข้าว	427	42 a	57 bc	58 b	38 a	49 b	47 bc
3. ใบหญ้าคา	762	38 bc	64 ab	64 ab	39 a	54 b	53 abc
4. ใบหญ้าแฝก	823	39 ab	60 bc	65 ab	36 ab	51 b	49 abc
5. พลาสติกเทา-ดำ		35 c	57 bc	60 b	28 d	55 ab	57 ab
6. ไม่คลุมดิน+กำจัดวัชพืช ที่ 20, 40 วัน		38 bc	71 a	74 a	33 bc	64 a	59 a
7. ไม่คลุมดิน+ไม่กำจัดวัชพืช		40 ab	64 ab	63 b	30 cd	49 b	46 bc
Mean		38.4	60.9	62.9	33.8	52.9	50.7
C.V. (%)		5.2	7.9	8.7	6.8	8.8	11.0
F-test		*	*	*	* *	*	ns

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 8 ปริมาณวัชพืชรวมต่อตารางเมตร ที่ 40 วันหลังย้ายปลูก และผลผลิตพริกเมื่อเก็บเกี่ยว 5 ครั้ง การทดลองที่ 3. การใช้วัสดุคลุมดินชนิดต่าง ๆ เพื่อควบคุมวัชพืชในพริก ปี 2547

กรรมวิธีคลุมดิน	วัสดุคลุม กิโลกรัม/ไร่	วัชพืชรวม		จำนวน ผล พริก (ผล/ต้น)	ผลผลิตพริก (กิโลกรัม/ไร่)	
		จำนวน (ต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)		พริกสด	พริกแห้ง
1. แกลบดิบ	2033	188 bc	336.8 bc	45.0 c	210.9 c	62.8 c
2. ฟางข้าว	427	220 bc	506.6 c	53.1 bc	282.2 bc	74.2 bc
3. ใบหญ้าคา	762	163 abc	363.2 c	70.3 bc	379.7 ab	97.5 ab
4. ใบหญ้าแฝก	823	261 c	109.6 ab	62.9 bc	291.4 bc	82.3 bc
5. พลาสติกเทา-ดำ		16 a	49.6 a	94.2 ab	285.3 bc	78.6 bc
6. ไม่คลุมดิน+กำจัดวัชพืช ที่ 20, 40 วัน		70 ab	45.0 a	127.8 a	466.9 a	121.3 a
7. ไม่คลุมดิน+ไม่กำจัดวัชพืช		228 bc	953.8 d	52.2 bc	219.4 c	60.3 c
C.V. (%)		54.5	37.9	30.8	17.5	19.6
F-test		ns	* *	* *	* *	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 9 จำนวนต้นวัชพืชรวมต่อตารางเมตร เมื่อกำจัดวัชพืชที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน การทดลองที่ 4. ระยะเวลาที่เหมะสมในการกำจัดวัชพืชในพริก ปี 2547

ระยะเวลากำจัดวัชพืช	จำนวนต้นวัชพืชรวมเมื่อกำจัดวัชพืช ที่ (วันหลังย้ายปลูก)						
(วันหลังย้ายปลูก)	15	20	30	40	45	50	60
1. 20 และ 40 วัน	-	*	-	95.7	-	-	-
2. 15, 30 และ 45 วัน	216.7	-	220.1	-	114.7	-	-
3. 20, 40 และ 60 วัน	-	167.4	-	59.4	-	-	*
4. 30, 45 และ 60 วัน	-	-	537.9	-	64	-	*
5. 15, 30, 45 และ 60 วัน	251.3	-	199.4	-	80.6	-	*
6. 40 วัน	-	-	-	227.4	-	-	-
7. 50 วัน	-	-	-	-	-	96.6	-
8. 60 วัน	-	-	-	-	-	-	90

* กำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีที่กำหนดแต่ไม่ได้เก็บข้อมูลวัชพืช

ตารางที่ 10 น้ำหนักแห้งวัชพืชรวมต่อตารางเมตร เมื่อกำจัดวัชพืชที่ระยะเวลาต่าง ๆ กัน การทดลองที่ 4. ระยะเวลาที่เหมะสมในการกำจัดวัชพืชในพริก ปี 2547

ระยะเวลากำจัดวัชพืช	น้ำหนักแห้งวัชพืชรวมเมื่อกำจัดวัชพืช ที่ (วันหลังย้ายปลูก)						
(วันหลังย้ายปลูก)	15	20	30	40	45	50	60
1. 20 และ 40 วัน	-	*	-	44.9	-	-	-
2. 15, 30 และ 45 วัน	31.7	-	208.8	-	73.0	-	-
3. 20, 40 และ 60 วัน	-	167.4	-	59.4	-	-	*
4. 30, 45 และ 60 วัน	-	-	1044.9	-	21.2	-	*
5. 15, 30, 45 และ 60 วัน	32.7	-	155.5	-	66.5	-	*
6. 40 วัน	-	-	-	953.9	-	-	-
7. 50 วัน	-	-	-	-	-	951.8	-
8. 60 วัน	-	-	-	-	-	-	1031.8

* กำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีที่กำหนดแต่ไม่ได้เก็บข้อมูลวัชพืช

ตารางที่ 11 การเจริญเติบโตของพริก การทดลองที่ 4. ระยะเวลาที่เหมะสมในการกำจัดวัชพืชในพริก

ระยะเวลากำจัดวัชพืช (วันหลังย้ายปลูก)	ความสูง (เซนติเมตร)			ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)		
	30	60	90	30	60	90
1. 20 และ 40 วัน	37.8 b	70.9	73.6	32.9 ab	63.6 a	57.3 ab
2. 15, 30 และ 45 วัน	39.0 b	63.9	67.1	33.9 ab	61.3 ab	55.9 ab
3. 20, 40 และ 60 วัน	40.3 ab	71.7	72.3	38.8 a	64.6 a	65.8 a
4. 30, 45 และ 60 วัน	40.3 ab	63.7	66.0	32.6 ab	54.1 abc	51.7 ab
5. 15, 30, 45 และ 60 วัน	39.5 b	67.1	69.2	37.2 ab	60.9 ab	61.7 a
6. 40 วัน	39.9 ab	63.8	62.8	30.4 b	48.8 bc	45.9 b
7. 50 วัน	46.0 a	69.7	70.2	39.2 a	59.5 ab	55.8 ab
8. 60 วัน	41.7 ab	68.5	64.5	31.3 ab	45.5 c	51.7 ab
mean	40.6	67.4	68.2	34.5	57.3	55.8
C.V. (%)	8.0	7.1	8.8	12.1	11.7	13.4
F-test	ns	ns	ns	ns	*	ns

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 12 ผลผลิตพริกเมื่อเก็บเกี่ยว 5 ครั้ง การทดลองที่ 4.ระยะเวลาที่เหมะสมในการกำจัดวัชพืชในพริก

ระยะเวลากำจัดวัชพืช (วันหลังย้ายปลูก)	จำนวน ผลพริก (ผล/ต้น)	ผลผลิตพริก (กิโลกรัม/ไร่)	
		พริกสด	พริกแห้ง
1. 20 และ 40 วัน	127.8 a	466.9 a	123.1 a
2. 15, 30 และ 45 วัน	83.9 ab	276.7 bc	68.3 bc
3. 20, 40 และ 60 วัน	55.1 bc	285.3 bc	81.7 bc
4. 30, 45 และ 60 วัน	63.7 bc	277.9 bc	86.7 abc
5. 15, 30, 45 และ 60 วัน	90.8 ab	398.6 ab	94.5 ab
6. 40 วัน	52.2 bc	219.4 bc	63.4 bc
7. 50 วัน	65.0 bc	283.2 bc	76.8 bc
8. 60 วัน	29.7 c	136.5 c	48.9 c
C.V. (%)	33.7	32.2	25.8
F-test	* *	*	*

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

การวิจัยการใช้สารอนินทรีย์ และน้ำหมักในการกำจัดวัชพืช

Efficacy of Inorganic Chemecal and Weeds Fermentation Water for Weedkiller

นายไชยยศ สุพัฒนกุล
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ทำการทดสอบเบื้องต้นที่เรือนทดลองกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในปี พ.ศ. 2547 พบว่าการพ่นด้วยอัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อ Potassium chloride ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 30% กับวัชพืชใบกว้าง คือหญ้ายาง (Euphorbia geniculata) อายุ 7 - 10 วัน และวัชพืชใบแคบ หญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) อายุ 7 - 10 วัน จากการตรวจผลเมื่อ 5 วันหลังพ่นสาร Potassium chloride ที่ความเข้มข้น 10% ไม่ทำให้วัชพืชทั้ง 2 ชนิดแสดงอาการเป็นพิษเลย ที่ความเข้มข้น 30% ต้นตีนกา และหญ้ายางแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยระดับ 2.0 – 2.3 โดยหญ้ายางแสดงอาการเป็นพิษมากกว่าหญ้าตีนกา การใช้ Sodium chloride และ Ammonium sulphate มีลักษณะการเป็นพิษในทำนองเดียวกัน เพียงแต่ใน Sodium chloride ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ต้นวัชพืชจะแสดงอาการเป็นพิษมากกว่าใน Potassium chloride และต้นวัชพืชที่ได้รับ Ammonium sulphate แสดงอาการความเป็นพิษน้อยที่สุด หลังจากพ่นสารแล้ว 20 วัน ต้นวัชพืชจะฟื้นตัวทั้งหมด ส่วนต้นหญ้าตีนกา และหญ้ายาง ที่ถูกพ่นด้วย used oil ผสมกับน้ำแสดงอาการเป็นพิษมีลักษณะไหม้ที่ต้นและใบโดยเฉพาะที่ขอบและปลายใบ มากกว่า การใช้ Potassium chloride, Sodium chloride และ Ammonium sulphate โดย จากการตรวจผลที่ 5 วันหลังพ่นพบว่าต้นวัชพืชที่ถูกพ่นด้วย used oil ผสมน้ำเข้มข้น 10% แสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย แต่ที่ความเข้มข้น 40% ต้นหญ้าตีนกาแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยระดับ 3.6 และหญ้ายางแสดงอาการเป็นพิษปานกลางระดับ 5.0 และที่ความเข้มข้น 50% ต้นหญ้าตีนกาแสดงอาการเป็นพิษปานกลางระดับ 5.3 และหญ้ายางแสดงอาการเป็นพิษปานกลางระดับ 5.6 หลังจากพ่นแล้ว 20 วัน ต้นวัชพืชจะฟื้นตัว อาการเป็นพิษลดลง แต่ที่ความเข้มข้น 50% ต้นวัชพืชแสดงอาการฟื้นตัวช้า โดยเฉพาะหญ้ายาง เกือบไม่ฟื้นตัว และการใช้น้ำ 70 ลิตรต่อไร่ กับวัชพืชประเภทใบแคบคือหญ้าข้าวนก และวัชพืชประเภทใบกว้างคือผักโขม มีผลในทำนองเดียวกัน เพียงแต่คสามเป็นพิษต่อ ต้นวัชพืชน้อยกว่า

คำนำ

แมลงศัตรูพืช โรคพืช และวัชพืช เป็นปัญหาสำคัญในการผลิตพืชทุกชนิด ซึ่งในแต่ละปีศัตรูพืชเหล่านี้ ทำความเสียหายแก่ผลผลิตทางการเกษตรทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ ในแต่ละปีประเทศไทยต้องสูญเสียเงินตราออกต่างประเทศปีละหลายพันล้านบาทเพื่อใช้ซื้อสารกำจัดศัตรูพืช เช่น ในปี 2545 นำเข้าสารกำจัดแมลง 2,930,673,681 บาท สารกำจัดหนู 131,430 บาท สารกำจัดหอยและหอย

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0103-03

ทาก 11,778,348 บาท สารป้องกันกำจัดโรคพืช 1,443,637,579 บาท และสารกำจัดวัชพืช 4,348,679,334 บาท นอกจากผลกระทบจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืชที่ก่อให้เกิดพิษภัยต่อผู้ใช้และผู้บริโภค ตลอดจนสิ่งแวดล้อม ปัญหาเหล่าส่วนหนึ่งเกิดจากการใช้สารไม่ถูกต้อง และไม่เข้าใจเทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จึงทำให้เกิดการต้านทานสารของศัตรูพืช ต้องใช้สารเปลืองมากแต่ประสิทธิภาพไม่เพิ่มขึ้น เกิดพิษต่อผู้ใช้ พิษตกค้างสู่ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมการวิจัย เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นสำหรับนำไปสู่การใช้สารกำจัดศัตรูที่ปลอดภัย และลดการใช้สารในที่สุด

พืชปลูกบางชนิด เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ทานตะวัน และงา มีสารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอื่น ผักเบี้ยหิน ผักปอดนา มีสารยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าว (Premasthira *et al*.,1985) ผักเบี้ยหิน มีผลต่อการงอกของแตงกวา ผักกาดขาวและ ผักบุ้ง (ชอุ่ม, 2543). เทียนหยดมีสารที่สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญของ ไมยราบยักษ์ โสนยาง หญ้าข้าวนก (ศิริพร, 2543) สารเคมีหลายชนิดสามารถนำมาใช้ฆ่าวัชพืชได้ (Mercado, 1979) ที่เป็นกรด ได้แก่ Arsenic acid, Arsenious acid, Arsenic trixide, Suifuric acid เป็นเกลือ ได้แก่ Ammonium sulfamate, Ammonum Sulfate, Ammonum thiocyanate, Borax, Copper nitrate, Copper sulfate, Hexafluorate, Iron Sulfate, Potassium chloride, Potassium cyanate, Sodium arsenate , Sodium arsenite, Sodium chloride, Potassium cyanate, Sodium arsenate, Sodium arsenite, Sodium chlorate, Sodium chloride, Sodium dichromate, Sodium pentaborate, Tricalcium arsenate เป็นน้ำมัน ได้แก่ Diesel oil, Polycyclic aromatic oils, Paraffinic additives, Stoddaard solvent, Stove oil, Xylene-type aromatic oils (Ashton, 1973)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องพ่นสารแบบหลอดฉีดยา
2. กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว สูง 12 นิ้ว จำนวน 60 ใบ กระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว สูง 3.5 นิ้ว จำนวน 120 ใบ
3. ดินปลูกต้นไม้
4. เครื่องวัด pH
5. เมล็ดวัชพืช ได้แก่ หญ้าข้าวนก ผักโขม

วิธีการ

1. การปลูกพืชทดสอบ

ปลูกวัชพืชที่ใช้ทดสอบในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว สูง 3.5 นิ้ว โดยการใช้เมล็ด จนงอกได้ขนาดตามที่กำหนดจึงนำไปทดสอบกับสาร

วัชพืชที่ใช้ทดสอบ เป็นวัชพืชประเภทใบแคบ 2 ชนิด คือ หญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) และ หญ้าข้าวนก (*Echinochloe crus-galli*) ประเภทใบกว้าง 2 ชนิด คือ หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata*) และ ผักโขม (*Amaranthus viridis*) *crus-galli*) ขนาดอายุ 7 – 10 วัน

2. การใช้สารแบ่งเป็น

2.1 การใช้สารอนินทรีย์ และน้ำมัน โดยการนำสารอนินทรีย์ และน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วผสมกับน้ำในความเข้มข้นต่างๆกัน สำหรับน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วต้องเติมสารช่วยผสมให้ผสมเข้ากับน้ำ นำสารละลายที่มาพ่นทดสอบกับต้นวัชพืชที่ได้เตรียมไว้

โดยเลือกใช้สารที่เกษตรกรสามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่นส่วนมากเป็น ปุ๋ย ส่วนน้ำมันนั้น ใช้น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ถ่ายทิ้งจากเครื่องยนต์ที่ใช้ในการเกษตร เช่นรถไถนา เครื่องสูบน้ำ หรือจากยานพาหนะที่เกษตรกรใช้ในชีวิตประจำวัน เช่น รถมอเตอร์ไซด์ รถยนต์ ดังนี้

1. Potassium chloride	ความเข้มข้น	10%
2. Potassium chloride	ความเข้มข้น	20%
3. Potassium chloride	ความเข้มข้น	30%
4. Sodium chloride	ความเข้มข้น	10%
5. Sodium chloride	ความเข้มข้น	20%
6. Sodium chloride	ความเข้มข้น	30%
7. Ammonium sulphate	ความเข้มข้น	10%
8. Ammonium sulphate	ความเข้มข้น	20%
9. Ammonium sulphate	ความเข้มข้น	30%
10. used oil	ความเข้มข้น	10%
11. used oil	ความเข้มข้น	20%
12. used oil	ความเข้มข้น	30%
13. used oil	ความเข้มข้น	40%
14. used oil	ความเข้มข้น	50%

2.2 การใช้น้ำหมัก

โดยเลือกวัชพืชและพืชทั่วไปหาได้ง่ายและมีข้อมูลว่ามีสาร allelopathy ที่อาจทำลายพืชได้ มาหมักในน้ำ ใช้ทั้งสดและแห้ง นำน้ำหมักที่ได้มาพ่นทดสอบกับต้นวัชพืชที่ได้เตรียมไว้

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองที่เรือนทดลองและห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จัตุจักร กรุงเทพ ปี พ.ศ. 2547

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลต่อหญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) และหญ้ายาง (*Euphorbia geniculata*)

จากการทดสอบโดยเครื่องพ่นสารอัตราการใช้น้ำ 80 ลิตรต่อไร่ กับวัชพืชประเภทใบแคบคือหญ้าตีนกา และวัชพืชประเภทใบกว้างคือหญ้ายาง จากการตรวจผลหลังจากพ่น 5 วัน พบว่า Potassium chloride ที่ความเข้มข้น 10% ไม่ทำให้วัชพืชทั้ง 2 ชนิดแสดงอาการเป็นพิษเลย ที่ความเข้มข้น 30% ต้นตีนกา และหญ้ายางแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยระดับ 2.0 – 2.3 โดยปลายใบและยอดอ่อนแสดงอาการไหม้เหลือง และหลังจาก 10 วันแล้วอาการดังกล่าวจะค่อยๆหายไป ส่วนต้นวัชพืชที่ได้รับ Sodium chloride และ Ammonium sulphate มีลักษณะการเป็นพิษในทำนองเดียวกัน เพียงแต่ใน Sodium chloride ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ต้นวัชพืชจะแสดงอาการเป็นพิษมากกว่าใน Potassium chloride และต้นวัชพืชที่ได้รับ Ammonium sulphate แสดงอาการความเป็นพิษน้อยที่สุด หลังจากพ่นสารแล้ว 20 วัน ต้นวัชพืชจะฟื้นตัวทั้งหมด (ตารางที่ 1, 2 และ 3)

ต้นหญ้าตีนกา และหญ้ายาง ที่ถูกพ่นด้วย used oil ผสมกับน้ำ แสดงอาการเป็นพิษมีลักษณะไหม้ที่ต้นและใบโดยเฉพาะที่ขอบและปลายใบ มากกว่า การใช้ Potassium chloride, Sodium chloride และ Ammonium sulphate โดย จากการตรวจผลที่ 5 วันหลังพ่นพบว่าต้นวัชพืชที่ถูกพ่นด้วย used oil ผสมน้ำเข้มข้น 10% แสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย แต่ที่ความเข้มข้น 40% ต้นหญ้าตีนกาแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยระดับ 3.6 และหญ้ายางแสดงอาการเป็นพิษปานกลางระดับ 5.0 และที่ความเข้มข้น 50% ต้นหญ้าตีนกาแสดงอาการเป็นพิษปานกลางระดับ 5.3 และหญ้ายางแสดงอาการเป็นพิษปานกลางระดับ 5.6 หลังจากพ่นแล้ว 20 วัน ต้นวัชพืชจะฟื้นตัว อาการเป็นพิษลดลง แต่ที่ความเข้มข้น 50% ต้นวัชพืชแสดงอาการฟื้นตัวช้า โดยเฉพาะหญ้ายาง เกือบไม่ฟื้นตัว (ตารางที่ 1, 2 และ 3)

ผลต่อหญ้าข้าวนก (*Echinochloe crus-galli*) และผักโขม (*Amaranthus viridis*)

จากการทดสอบโดยเครื่องพ่นสารอัตราการใช้น้ำ 70 ลิตรต่อไร่ กับวัชพืชประเภทใบแคบคือหญ้าข้าวนก และวัชพืชประเภทใบกว้างคือผักโขม จากการตรวจผลหลังจากพ่น 5 วัน พบว่า Potassium chloride เกือบทุกความเข้มข้น ไม่ทำให้วัชพืชทั้ง 2 ชนิดแสดงอาการเป็นพิษเลย โดยที่ความเข้มข้น 30% ต้นหญ้าข้าวนก และผักโขมแสดงอาการเป็นพิษในระดับ 0.3 และ 0.5 ตามลำดับ โดยปลายใบและยอดอ่อนแสดงอาการไหม้เล็กน้อย และหลังจาก 10 วันแล้วอาการดังกล่าวจะค่อยๆหายไป ส่วนต้นวัชพืชที่ได้รับ Sodium chloride และ Ammonium sulphate มีลักษณะการเป็นพิษในทำนองเดียวกัน เพียงแต่ใน Sodium chloride ที่ความเข้มข้น 30% ต้นหญ้าข้าวนก และผักโขมแสดงอาการเป็นพิษในระดับ 1.1 และ 1.3 ตามลำดับ และต้นวัชพืชที่ได้รับ Ammonium sulphate ที่ความเข้มข้น 30% ต้นหญ้าข้าวนก และผักโขมแสดงอาการเป็นพิษในระดับ 1.1 และ 1.1 ตามลำดับ และที่ความเข้มข้น 10% ต้นวัชพืชจะเจริญเติบโตดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้พ่นสาร หลังจากพ่นสารแล้ว 10 วัน ต้นวัชพืชจะฟื้นตัวทั้งหมด (ตารางที่ 4, 5 และ 6)

ต้นหญ้าข้าวนก และผักโขมที่ถูกพ่นด้วย used oil ผสมกับน้ำ แสดงอาการเป็นพิษมีลักษณะไหม้ที่ต้นและใบโดยเฉพาะที่ขอบและปลายใบ มากกว่า การใช้ Potassium chloride, Sodium chloride และ Ammonium sulphate โดย จากการตรวจผลที่ 5 วันหลังพ่นพบว่าต้นวัชพืชที่ถูกพ่นด้วย used oil ผสมน้ำเข้มข้น 10% แสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อย แต่ที่ความเข้มข้น 40% ต้นหญ้าตีนกาแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยระดับ 3.6 และหญ้ายางแสดงอาการเป็นพิษปานกลางระดับ 4.0 และที่ความเข้มข้น 50% ต้นหญ้าข้าวนกแสดงอาการเป็นพิษปานกลางระดับ 4.0 และผักโขมแสดงอาการเป็นพิษปานกลางระดับ 4.3 หลังจากพ่นแล้ว 20 วัน ต้นวัชพืชจะฟื้นตัว อาการเป็นพิษลดลง แต่ที่ความเข้มข้น 50% ต้นวัชพืชแสดงอาการฟื้นตัวช้า โดยเฉพาะหญ้ายาง เกือบไม่ฟื้นตัว (ตารางที่ 4, 5 และ 6)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองเบื้องต้นนี้ทำให้ทราบว่าแนวทางการนำสารสารอนินทรีย์ และน้ำมัน มาใช้ในการกำจัดวัชพืชขึ้นอยู่ความเข้มข้นและอัตราการใช้น้ำคือต้องใช้ความเข้มข้นและอัตราการใช้น้ำสูงจึงจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืช

เอกสารอ้างอิง

ชอุ่ม เปรมัษเฐียร และ ศิริพร ซึงสนธิพร 2543 ผลของสารสกัดจากผักเบี้ย *(Trianthema porturacastrum* Linn.) รายงานการประชุมวิชาการกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช 14 – 16 มีนาคม 2543 คลองทรายรีสอร์ท เขาใหญ่ จ.นครราชสีมา 288 หน้า

ศิริพร ซึงสนธิพร และชอุ่ม เปรมัษเฐียร 2543 ผลของเทียนหยดต่อการเจริญเติบโตของไมยราบยักษ์ รายงานการประชุมวิชาการกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช 14 – 16 มีนาคม 2543 คลองทรายรีสอร์ท เขาใหญ่ จ.นครราชสีมา 288 หน้า

Ashton, Floyd M., A. S. Crafts.1973. Mode of Action of Herbicide. A Wiley - Interscience Publication. New York. 504 pp.

Premasthira, C. and S Zuingsontiporn. 1985. Plant growth inhibiting effects of weed species with references to allelopathy. Proceeding 2 The Thenth Conference of The Asian – Pacific Weed Sciences Society, Nov. 24 – 30 1985. Chiangmai Thailand. P 258 - 262

Mercado, Beatriz I. 1979. Introduction to Weed Science. Southeast Asian Regional Crnter for Graduate Study and Research in Agriculture. SEARCA, College, Laguna, Philippines. 292 pp.

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช ขณะ 5 วันหลังพ่น

สาร	ความเข้มข้น (%)	ประสิทธิภาพการควบคุม	
		หญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) อายุ 7 - 10	หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata*) อายุ 7 - 10 วัน
1. Potassium chloride	10	0	0
2. Potassium chloride	20	1.7	2.0
3. Potassium chloride	30	2.3	2.3
4. Sodium chloride	10	0	0.3
5. Sodium chloride	20	2.3	2
6. Sodium chloride	30	2.3	2.6
7. Ammonium sulphate	10	0	0
8. Ammonium sulphate	20	1.6	1.6
9. Ammonium sulphate	30	1.6	1.6
10. used oil	10	1.1	1.3
11. used oil	20	2.3	3.0
12. used oil	30	2.6	3.0
13. used oil	40	3.6	5.0
14. used oil	50	5.3	5.6

ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช : ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้

0 = normal

1-3 = slightly toxic

4-6 = moderately toxic

7-9 = severely toxic

10 = completely killed

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช ขณะ 10 วันหลังพ่น

สาร	ความเข้มข้น (%)	ประสิทธิภาพการควบคุม	
		หญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) อายุ 7 - 10	หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata*) อายุ 7 - 10 วัน
1. Potassium chloride	10	0	0
2. Potassium chloride	20	1.1	1.5
3. Potassium chloride	30	1.1	1.5
4. Sodium chloride	10	0	0
5. Sodium chloride	20	1.1	1.0
6. Sodium chloride	30	1.3	1.3
7. Ammonium sulphate	10	0	0
8. Ammonium sulphate	20	1.1	1.1
9. Ammonium sulphate	30	1.1	1.3
10. used oil	10	0	
11. used oil	20	0	0
12. used oil	30	2.3	2.6
13. used oil	40	3.3	4.0
14. used oil	50	5.0	5.6

ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช : ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้

0 = normal

1-3 = slightly toxic

4-6 = moderately toxic

7-9 = severely toxic

10 = completely killed

ตารางที่ 3 ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช ขณะ 20 วันหลังพ่น

สาร	ความเข้มข้น (%)	ประสิทธิภาพการควบคุม	
		หญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) อายุ 7 - 10	หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata*) อายุ 7 - 10 วัน
1. Potassium chloride	10	0	0
2. Potassium chloride	20	0	0
3. Potassium chloride	30	0	0
4. Sodium chloride	10	0	0
5. Sodium chloride	20	0	0
6. Sodium chloride	30	0	0
7. Ammonium sulphate	10	0	0
8. Ammonium sulphate	20	0	0
9. Ammonium sulphate	30	0	0
10. used oil	10	0	0
11. used oil	20	0	0
12. used oil	30	1.3	1.6
13. used oil	40	2.0	4.6
14. used oil	50	4.6	5.6

ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช : ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้

0 = normal

1-3 = slightly toxic

4-6 = moderately toxic

7-9 = severely toxic

10 = completely killed

ตารางที่ 4 ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช ขณะ 5 วันหลังพ่น

สาร	ความเข้มข้น (%)	ประสิทธิภาพการควบคุม	
		หญ้าข้าวนก (*Echinochloe crus-galli*) อายุ 7 - 10	ผักโขม (*Amaranthus viridis*) อายุ 7 - 10 วัน
1. Potassium chloride	10	0	0
2. Potassium chloride	20	0	0
3. Potassium chloride	30	0.3	0.5
4. Sodium chloride	10	0	0
5. Sodium chloride	20	0	0
6. Sodium chloride	30	1.1	1.3
7. Ammonium sulphate	10	0	0
8. Ammonium sulphate	20	0	0
9. Ammonium sulphate	30	1.1	1.1
10. used oil	10	1.3	1.3
11. used oil	20	2.0	2.3
12. used oil	30	3.3	3.6
13. used oil	40	3.6	4.0
14. used oil	50	4.0	4.3

ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช : ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้

0 = normal

1-3 = slightly toxic

4-6 = moderately toxic

7-9 = severely toxic

10 = completely killed

ตารางที่ 5 ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช ขณะ 10 วันหลังพ่น

สาร	ความเข้มข้น (%)	ประสิทธิภาพการควบคุม	
		หญ้าข้าวนก (*Echinochloe crus-galli*) อายุ 7 - 10	ผักโขม (*Amaranthus viridis*) อายุ 7 - 10 วัน
1. Potassium chloride	10	0	0
2. Potassium chloride	20	0	0
3. Potassium chloride	30	0	0
4. Sodium chloride	10	0	0
5. Sodium chloride	20	0	0
6. Sodium chloride	30	0	0
7. Ammonium sulphate	10	0	0
8. Ammonium sulphate	20	0	0
9. Ammonium sulphate	30	0	0
10. used oil	10	0	0
11. used oil	20	0	0
12. used oil	30	2.0	2.3
13. used oil	40	3.3	3.6
14. used oil	50	3.6	4.0

ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช : ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้

0 = normal

1-3 = slightly toxic

4-6 = moderately toxic

7-9 = severely toxic

10 = completely killed

ตารางที่ 6 ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช ขณะ 20 วันหลังพ่น

สาร	ความเข้มข้น (%)	ประสิทธิภาพการควบคุม	
		หญ้าข้าวนก (*Echinochloe crus-galli*) อายุ 7 - 10	ผักโขม (*Amaranthus viridis*) อายุ 7 - 10 วัน
1. Potassium chloride	10	0	0
2. Potassium chloride	20	0	0
3. Potassium chloride	30	0	0
4. Sodium chloride	10	0	0
5. Sodium chloride	20	0	0
6. Sodium chloride	30	0	0
7. Ammonium sulphate	10	0	0
8. Ammonium sulphate	20	0	0
9. Ammonium sulphate	30	0	0
10. used oil	10	0	0
11. used oil	20	0	0
12. used oil	30	1.6	1.6
13. used oil	40	3.0	3.3
14. used oil	50	4.0	4.0

ความเป็นพิษของสารต่อวัชพืช : ให้คะแนนโดยวิธีประเมินด้วยสายตาตามระบบ 0-10 ตามลักษณะที่ปรากฏดังนี้

0 = normal

1-3 = slightly toxic

4-6 = moderately toxic

7-9 = severely toxic

10 = completely killed

ทดสอบประสิทธิภาพและวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทคุมและฆ่าในนาข้าว

Testing and Application Method of Pre and Post Herbicide in Paddy Field

คมสัน นครศรี [1] **ประจักขณ์ เล็กคำ** [1] **เจริญ ทองระย้า** [1]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบอัตราการใช้สารกำจัดวัชพืชและปริมาณน้ำกับเครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลังที่ใช้แรงลม วางแผนการทดลองแบบ 3x4+1+1+1 factorial in RCB มี 4 ซ้ำ ประกอบด้วยการใช้สารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D จำนวน 4 อัตรา คือ 6/80, 9/120 และ 12/160 กรัมai/ไร่ และการใช้ปริมาณน้ำ 4 อัตรา คือ 20, 30, 40 และ 50 ลิตรต่อไร่ เปรียบเทียบกับการใช้เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังที่ใช้สารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 9/120 กรัมai/ไร่ การกำจัดวัชพืชด้วยมือ และ วิธีการไม่กำจัดวัชพืช ทำการทดลองที่ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตราชบุรี จ. ราชบุรี ระหว่างเดือน มิถุนายน – พฤศจิกายน 2547 พบว่า การใช้สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D และปริมาณน้ำ อัตราต่างๆ เป็นพิษต่อต้นข้าวเพียงเล็กน้อย และให้การควบคุมวัชพืชได้ดี โดยเฉพาะสาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 12/160 กรัมai/ไร่ และปริมาณน้ำตั้งแต่อัตรา 30 ลิตรต่อไร่ขึ้นไป มีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่า และ สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 12/160 กรัมai/ไร่ มีความสูงต้นข้าว จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่ และผลผลิตข้าวมากกว่า ส่วนปริมาณน้ำตั้งแต่อัตรา 30 ลิตรต่อไร่ขึ้นไป มีจำนวนต้นต่อพื้นที่ และผลผลิตข้าวมากกว่า

คำนำ

ข้าวเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่ทำรายได้เข้าประเทศในแต่ละปีเป็นเงินจำนวนมาก วัชพืชเป็นปัญหาหนึ่งที่มีผลกระทบในวงจรการปลูกข้าว การแก้ไขปัญหาวัชพืชของเกษตรกรที่ปฏิบัติกันทั่วๆ ไป คือ การใช้สารกำจัดวัชพืช ซึ่งสารกำจัดวัชพืชจะมีคุณสมบัติและประสิทธิภาพแตกต่างกันไป เช่น คุณสมบัติในการเลือกทำ อัตราการใช้ วิธีการใช้ รูปแบบ และเวลาการใช้ (สมบัติ, 2525) การใช้สารกำจัดวัชพืชเพียงชนิดเดียวอาจมีความสามารถควบคุมวัชพืชได้น้อยชนิด เช่น สาร 2,4-D สามารถควบคุมวัชพืชใบกว้างและกก หรือ สาร fenoxaprop-p-ethyl สามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้ดี (พรชัย, 2540) แต่ถ้าเอาสารกำจัดวัชพืชตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปมารวมกันจะเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้มากขึ้น (สมบัติ และคณะ, 2527) การพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก (post emergence) ให้ได้ผลดีนั้นจะต้องให้ละอองสารละลายสัมผัสตามส่วนต่างๆ ของต้นวัชพืชได้อย่างทั่วถึง การใช้น้ำปริมาณมากพ่นสารละลายจนต้นเปียกโชกจะมีสารละลายที่มีสารกำจัดวัชพืชผสมอยู่ส่วนหนึ่งไหลลงสู่ดิน

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0103-04

1. ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตราชบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

เมื่อต้องการลดการสูญเสียสารกำจัดวัชพืชจำเป็นต้องใช้ปริมาณน้ำลดลง ซึ่งจะต้องใช้วิธีการพ่นให้มีขนาดละอองสารละลายเล็กลงและมีจำนวนของละอองสารมากขึ้นเพื่อให้สารละลายครอบคลุมต้นวัชพืชได้ทั่วทรงพุ่ม เมื่อปริมาณน้ำลดลงแต่อัตราการใช้สารเท่าเดิมจะได้ความเข้มข้นของสารละลายมากขึ้น (ไพศาล, 2538) ดังนั้นถ้าต้องการให้สารกำจัดวัชพืชมีประสิทธิภาพเท่าเดิมจึงน่าจะลดอัตราการใช้สารกำจัดวัชพืชลงมาได้อีก เทคนิคการพ่นสารมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้สารกำจัดวัชพืช คำแนะนำการใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชเป็นแบบโยกสะพายหลังมีหัวพ่นแบบปะทะหรือรูปพัด (ไพศาล, 2538) ส่วนปริมาณที่ใช้อยู่ระหว่าง 60-80 ลิตรต่อไร่ (นิรนาม, 2545) ซึ่งการใช้เครื่องพ่นที่มีหัวพ่นและปริมาณน้ำดังกล่าวทำให้กาควบคุมวัชพืชได้ดีและไม่มีผลกระทบต่อพืชปลูก อย่างไรก็ตามในสภาพปัจจุบันเกษตรกรนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชกับเครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลังที่ใช้แรงลมในการควบคุมวัชพืชในนาข้าวซึ่งข้อมูลของางราชการยังไม่มีรองรับการใช้เครื่องพ่นชนิดนี้ จึงได้ศึกษาเทคนิคการใช้เครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลังที่ใช้แรงลมที่ใช้ปริมาณน้ำและการใช้สารกำจัดวัชพืชอัตราต่างกันในนาหว่านน้ำตมเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำและอัตราสารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพในการแนะนำเกษตรกรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ ประกอบด้วย

1. สารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-p-ethyl 6.9 % EC และ 2,4-D 72 % EC
2. เครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลังที่ใช้แรงลม (mist blower)
3. เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลัง (knapsack sprayer)
4. ปุ๋ยสูตร 16-20-0 และ ปุ๋ยยูเรีย 46 %(N)
5. สารป้องกันกำจัดโรคและแมลง

วิธีการ วางแผนการทดลองแบบ 3x4+1+1+1 factorial in RCB มี 4 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบด้วยการพ่นสาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D มี 3 อัตรา คือ 6/80, 9/120 และ 12/160 กรัมai/ไร่ และปริมาณน้ำ 4 อัตรา คือ 20, 30, 40 และ 50 ลิตรต่อไร่ ใช้กับเครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลังที่ใช้แรงลม เปรียบเทียบกับการพ่นด้วยเครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังที่ใช้สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 9/120 กรัมai/ไร่ ใช้ปริมาณน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ การถอนวัชพืชด้วยมือ และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช

ภายหลังการหว่านข้าวแล้ว 15 วัน พ่นสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D ตามอัตราที่กำหนด ถอนวัชพืชด้วยมือหลังหว่านข้าวแล้ว 30 วัน บันทึกความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช น้ำหนักวัชพืชแห้ง การเจริญเติบโต และ ผลผลิตข้าว

ทำการทดลองที่ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการราชบุรี จ. ราชบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายน – พฤศจิกายน 2547

ผลการทดลองและวิจารณ์

วัชพืช

การประเมินความเป็นพิษของสาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D หลังการพ่นสาร 15 วัน พบว่า การใช้เครื่องพ่นแบบเครื่องยนต์สะพายหลังที่ใช้แรงลม ข้าวแสดงอาการเป็นพิษเพียงเล็กน้อย เช่นเดียวกับการใช้เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลัง (ตารางที่ 1) ส่วนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชหลังการพ่นสาร 15 วัน พบว่า สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 9/120 และ 12/160 กรัมai/ไร่ ควบคุมวัชพืชได้ดี ส่วนปริมาณน้ำทุกอัตราให้การควบคุมวัชพืชได้ดี แต่ปริมาณน้ำตั้งแต่ 30 ลิตรต่อไร่ขึ้นไปมีแนวโน้มให้การควบคุมวัชพืชได้ดีกว่า เช่นเดียวกับการใช้เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลัง (ตารางที่ 2) สำหรับน้ำหนักวัชพืชแห้ง คล้อยตามกับประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช โดยสาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 9/120 และ 12/160 กรัมai/ไร่ และปริมาณน้ำตั้งแต่ 30 ลิตร/ไร่ ขึ้นไปมีแนวโน้มให้น้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่า ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลัง (ตารางที่ 3) วัชพืชที่พบในการทดลอง ได้แก่ หญ้าแดง (*Ischeamum rogusum* Slisb.) หญ้าไม้กวาด (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees) กกทราย (*Cyperus iria* Linn.) และ หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl)

การเจริญเติบโตของข้าว

ความสูงของต้นข้าว พบว่า กรรมวิธีการทดลองไม่มีผลต่อความสูงของข้าว ในระยะ 30 วัน และ 60 วัน หลังหว่านข้าว (ตารางที่ 4 และ 5) แต่มีแนวโน้มว่าในระยะข้าวอายุ 60 วัน การใช้สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 12/160 กรัมai/ไร่ มีความสูงของต้นข้าวสูงกว่า (ตารางที่ 5) ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนในระยะเก็บเกี่ยวข้าว (ตารางที่ 6) เนื่องจากสาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 12/160 กรัมai/ไร่ ควบคุมวัชพืชได้ดีกว่า (ตารางที่ 2) และมีวัชพืชน้อยกว่า (ตารางที่ 3) ส่วนการใช้ปริมาณน้ำ พบว่า ปริมาณน้ำทุกอัตรา ไม่มีผลต่อความสูงของต้นข้าวทั้งในระยะข้าวอายุ 30 วัน 60 วัน และระยะเก็บเกี่ยวข้าว (ตารางที่ 4, 5 และ 6) อย่างไรก็ตามในระยะเก็บเกี่ยวข้าวความสูงของต้นข้าวมีแนวโน้มสูงมากขึ้น เมื่อใช้ปริมาณน้ำตั้งแต่ 30 ลิตรต่อไร่ขึ้นไป อาจเป็นเพราะว่า ปริมาณน้ำอัตราดังกล่าวให้การควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 2) และมีแนวโน้มมีวัชพืชน้อยกว่า (ตารางที่ 3)

จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่ พบว่า ในระยะข้าวอายุ 30 วัน อัตราการใช้สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D และ ปริมาณน้ำ ไม่ทำให้จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 7) เช่นเดียวกันกับระยะข้าวอายุ 60 วัน และระยะเก็บเกี่ยวข้าว (ตารางที่ 8 และ 9) แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 12/162 กรัมai/ไร่ มีแนวโน้มของจำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่มากกว่าโดยเฉพาะในระยะข้าวอายุ 60 วัน และระยะเก็บเกี่ยวข้าว เนื่องจาก สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 12/160 กรัมai/ไร่ ควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 2) และมีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่า (ตารางที่ 3)

ส่วนปริมาณน้ำตั้งแต่อัตรา 30 ลิตรต่อไร่ขึ้นไป มีจำนวนต้นต่อพื้นที่มากกว่า เนื่องจากปริมาณน้ำนี้มีแนวโน้มให้การควบคุมวัชพืชได้ดีกว่า (ตารางที่ 2) และมีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่า (ตารางที่ 3)

ผลผลิตข้าว

ผลผลิตข้าวพบว่า อัตราการใช้สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D/2,4-D และปริมาณน้ำให้ผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 10) โดยสาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 12/160 กรัมai/ไร่ และปริมาณน้ำตั้งแต่อัตรา 30 ลิตรต่อไร่ขึ้นไปให้ผลผลิตข้าวมากกว่า เนื่องจากมีจำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่มากกว่า (ตารางที่ 9) โดยสาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 6/80, 9/120 และ 13/160 กรัมai/ไร่ ให้ผลผลิตข้าว 416.7, 459.4 และ 506.3 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนปริมาณน้ำอัตรา 20, 30, 40 และ 50 ลิตรต่อไร่ ให้ผลผลิตข้าว 377.3, 480.7, 492.8 และ 492.5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ขณะการใช้เครื่องแบบโยกสะพายหลังให้ผลผลิตข้าว 530.5 กิโลกรัม

สรุป

การใช้สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D และปริมาณน้ำ อัตราต่างๆ เป็นพิษต่อต้นข้าวเพียงเล็กน้อย และให้การควบคุมวัชพืชได้ดี โดยเฉพาะสาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 12/160 กรัมai/ไร่ และปริมาณน้ำตั้งแต่อัตรา 30 ลิตรต่อไร่ขึ้นไป มีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่า และ สาร fenoxaprop-p-ethyl/2,4-D อัตรา 12/160 กรัมai/ไร่ มีความสูงต้นข้าว จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่ และผลผลิตข้าวมากกว่า ส่วนปริมาณน้ำตั้งแต่อัตรา 30 ลิตรต่อไร่ขึ้นไป มีจำนวนต้นต่อพื้นที่ และผลผลิตข้าวมากกว่า

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2545. คำแนะนำการทำแผนและรายงานผลการทดลองประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชเพื่อขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 67 หน้า.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540. วัชพืชศาสตร์. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 585 หน้า.

ไพศาล รัตนเสถียร. 2538. การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช. การอบรมหลักสูตร แมลง สัตว์ ศัตรูพืช และการป้องกันกำจัด ครั้งที่ 8 , 20-31 มีนาคม, กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 76 หน้า.

สมบัติ ชิณะวงศ์. 2525. สารกำจัดวัชพืชใช้อย่างไรจึงจะได้ผลและคุ้มค่า. *วัชพืช* 1(4):39-49.

สมบัติ ชิณะวงศ์ ประสาน วงศาโรจน์ เพ็ญศรี นันทสมสราญ และ อัศวิน โนทะยะ. 2527. เปรียบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังงอกในนาหว่านน้ำตม. *วัชพืช* 2(2): 89-97.

ตารางที่ 1 คะแนนความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อข้าว หลังการพ่นสารกำจัดวัชพืช 15 วัน

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	1.5[1]	1.4	1.6	1.9	1.6
9/120	1.4	1.8	1.8	1.1	1.5
12/160	1.5	2.0	1.8	1.5	1.7
เฉลี่ย	1.5	1.7	1.7	1.5	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีระดับคะแนนความเป็นพิษ = 2.3

1/ ระดับคะแนนความเป็นพิษ

0 = ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก 4-6 = เป็นพิษต่อพืชปลูกปานกลาง 10 = พืชปลูกตายหมด

1-3 = เป็นพิษต่อพืชปลูกเล็กน้อย 7-9 = เป็นพิษต่อพืชปลูกรุนแรง

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชหลังการพ่นสารกำจัดวัชพืช 15 วัน

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	5.8[1]	7.3	7.3	6.8	6.8
9/120	7.3	7.0	7.5	7.4	7.3
12/160	8.1	8.5	8.6	8.3	8.4
เฉลี่ย	7.1	7.6	7.8	7.5	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีระดับคะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช = 8.0

1/ ระดับคะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้ 4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

1-4 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย 7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 3 น้ำหนักวัชพืชแห้ง (กรัม/ตร.ม.) หลังการพ่นสารกำจัดวัชพืช 30 วัน

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	7.2 [1]	4.2	3.9	5.0	5.1
9/120	4.5	5.3	5.7	4.2	4.9
12/160	4.8	4.1	5.7	3.5	4.5
เฉลี่ย	5.5	4.5	5.1	4.2	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 5.0 กรัม/ตร.ม.

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 5.5 กรัม/ตร.ม.

วิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 6.2 กรัม/ตร.ม.

CV= 43.0 %

1/ ค่าเฉลี่ยกรรมวิธีการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 4 ความสูงของต้นข้าว (เซนติเมตร) หลังหว่านข้าว 30 วัน

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	42.9 [1]	39.0	37.8	40.6	40.1
9/120	38.6	38.4	40.3	40.2	39.4
12/160	40.5	40.7	39.6	38.3	39.8
เฉลี่ย	40.7	39.4	39.2	39.7	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 38.6 เซนติเมตร

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 32.6 เซนติเมตร

วิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 42.0 เซนติเมตร

CV= 6.3 %

1/ ค่าเฉลี่ยกรรมวิธีการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 5 ความสูงของต้นข้าว (เซนติเมตร) หลังการหว่านข้าว 60 วัน

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	78.4 [1]	78.8	77.3	77.4	78.0
9/120	77.6	79.5	77.8	77.6	78.1
12/160	80.8	81.6	79.6	78.8	80.2
เฉลี่ย	78.9	80.0	78.2	77.9	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 80.6 เซนติเมตร

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 78.5 เซนติเมตร

วิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 74.4 เซนติเมตร

CV= 5.5 %

1/ ค่าเฉลี่ยกรรมวิธีการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 6 ความสูงของต้นข้าว (เซนติเมตร) ในระยะเก็บเกี่ยวข้าว

กรรมวิธีการทดลอง	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย [1]
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	103.7	108.5	107.9	104.9	106.2b
9/120	107.3	108.7	103.1	109.2	107.1b
12/160	109.4	109.9	109.3	109.6	109.7a
เฉลี่ย [1]	106.8a	109.0a	107.0a	107.9a	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 107.0 เซนติเมตร

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 104.3 เซนติเมตร

วิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 105.6 เซนติเมตร

CV= 3.5 %

1/ ค่าเฉลี่ยของอัตราสารกำจัดวัชพืชและปริมาณน้ำที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกัน ทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 7 จำนวนต้นข้าว (ต้น/ตารางเมตร) หลังการหว่านข้าว 30 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	230.0 [1]	318.5	280.0	309.0	286.3
9/120	267.5	282.5	262.5	284.0	274.1
12/160	235.0	225.0	268.5	283.5	253.0
เฉลี่ย	244.1	275.3	270.3	292.1	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 291.0 ต้น/ตารางเมตร

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 204.5 ต้น/ตารางเมตร

วิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 186.5 ต้น/ตารางเมตร

CV= 22.1 %

1/ ค่าเฉลี่ยกรรมวิธีการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 8 จำนวนต้นข้าว (ต้น/ตารางเมตร) หลังการหว่านข้าว 60 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย [2]
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	168.0 [1]	262.5	320.0	323.5	268.5
9/120	339.5	257.5	291.0	309.0	299.2
12/160	287.5	343.5	318.5	366.5	329.0
เฉลี่ย [2]	265.0	287.8	309.8	333.0	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 330.5 ต้น/ตารางเมตร

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 352.5 ต้น/ตารางเมตร

วิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 222.0 ต้น/ตารางเมตร

CV= 23.3 %

1/ $LSD_{.05}$ ของกรรมวิธีการทดลอง = 49.4 ต้น/ตารางเมตร

2/ ค่าเฉลี่ยอัตราสารกำจัดวัชพืชและปริมาณน้ำไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 9 จำนวนต้นข้าว (ต้น/ตารางเมตร) ในระยะการเก็บเกี่ยวข้าว

กรรมวิธี	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย [2]
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	277.5 [1]	263.0	290.0	249.0	269.8
9/120	239.0	299.5	246.5	240.0	266.2
12/160	232.5	244.0	320.0	340.0	282.1
เฉลี่ย [2]	249.6	268.8	385.5	289.6	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 315.0 ต้น/ตารางเมตร

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 232.5 ต้น/ตารางเมตร

วิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 124.0 ต้น/ตารางเมตร

CV= 22.2 %

1/ $LSD_{.05}$ ของกรรมวิธีการทดลอง = 41.6 ต้น/ตารางเมตร

2/ ค่าเฉลี่ยอัตราสารกำจัดวัชพืชและปริมาณน้ำไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 10 ผลผลิตข้าว (กิโลกรัมต่อไร่)

กรรมวิธี	ปริมาณน้ำ (ลิตร/ไร่)				เฉลี่ย [2]
	20	30	40	50	
Fenoxaprop/2,4-D(กรัมai/ไร่)					
6/80	229.9 [1]	521.3	458.4	457.4	416.7
9/120	502.1	411.0	477.7	446.7	459.4
12/160	399.9	509.8	542.2	573.3	506.3
เฉลี่ย [2]	377.3	480.7	492.8	492.5	

เครื่องพ่นแบบโยกสะพายหลังมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 530.5 กิโลกรัมต่อไร่

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 621.3 กิโลกรัมต่อไร่

วิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง = 108.2 กิโลกรัมต่อไร่

CV= 26.7 %

1/ $LSD_{.05}$ ของกรรมวิธีการทดลอง = 171.1 กิโลกรัมต่อไร่

2/ ค่าเฉลี่ยอัตราสารกำจัดวัชพืชและปริมาณน้ำไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทคุมและคุมฆ่าในข้าวหอมพันธุ์ต่าง ๆ

Efficacy of Herbicides in Various Aromatic Rice Varieties

เพ็ญศรี นันทสมสราญ คมสัน นครศรี โอภาส วรวาท[1]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาสารกำจัดวัชพืชประเภทคุมและคุมฆ่า จำนวน 5 ชนิด ในข้าวหอม 4 พันธุ์ ในนาหว่านน้ำตม ทำการทดลองระหว่างเดือน กรกฎาคม 2547 – มกราคม 2548 ที่สถานีทดลองข้าวส่วนแยกของสถานีทดลองข้าวบางเขน จังหวัดฉะเชิงเทรา เพื่อหาสารกำจัดวัชพืชประเภทคุมและคุมฆ่า ที่เหมาะสมกับข้าวหอมในแต่ละพันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Split plot in RCB จำนวน 3 ซ้ำ main plot คือ การใช้สารกำจัดวัชพืช 5 ชนิด ได้แก่ pretilachlor, bispyribac sodium, pyribenzoxim, butachlor/propanil และไม่กำจัดวัชพืช ส่วน sub plot ได้แก่ พันธุ์ข้าวหอม จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105 หอมคลองหลวง 1 หอมสุพรรณบุรี และปทุมธานี 1 พบว่า ค่าเฉลี่ยข้าวหอมคลองหลวง 1 ให้ผลผลิตสูงที่สุด 690.2 กิโลกรัม/ไร่ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับผลผลิตข้าวปทุมธานี 1 คือ 561.8 กิโลกรัม/ไร่ และทั้ง 2 พันธุ์ให้ผลผลิตแตกต่างทางสถิติกับอีก 2 พันธุ์ คือ หอมสุพรรณบุรี และขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งได้ 330.5 และ 245.5 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ และข้าวปทุมธานี 1 มีการแตกกอดีคือเฉลี่ย 620 ต้น/ตารางเมตร ตามด้วยข้าวหอมสุพรรณบุรี หอมคลองหลวง 1 และ ขาวดอกมะลิ 105 คือ 589, 544 และ 535 ต้น/ตารางเมตร ตามลำดับ สำหรับความสูงของข้าวที่ 60 วันข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีความสูงเฉลี่ย 123 เซนติเมตรมากกว่าหอมสุพรรณบุรี หอมคลองหลวง 1 และข้าวปทุมธานี 1 ซึ่งสูง 69,64 และ 58 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนผลผลิตของกรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 กรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช สาร bispyribac sodium ให้ผลผลิตสูงที่สุด 519.9 กิโลกรัม/ไร่ และตามด้วยสารกำจัดวัชพืช pyribenzoxim, pretilachlor, butachlor/propanil 495.0 493.5 และ486.7 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ ส่วนวิธีไม่กำจัดวัชพืชได้ผลผลิต 290.0 กิโลกรัม/ไร่

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0103-0401

[1] นักวิชาการเกษตร สถานีทดลองข้าวบางเขน สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร

คำนำ

การทำนาหว่านน้ำตม มีการปลูกเพิ่มมากขึ้นทั้งเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทั้งนี้เนื่องจากประหยัดแรงงานและค่าใช้จ่าย ประกอบกับสารกำจัดวัชพืชมีประสิทธิภาพในการกำจัดวัชพืชได้ดี ทำให้เกษตรกรยอมรับเพิ่มมากขึ้นแทบทุกภูมิภาคของการทำนา (Pandey and Velasco, 2002) วัชพืชเป็นปัจจัยสำคัญในการลดผลผลิตของพืช เนื่องจากข้าวและวัชพืชจะงอกในระยะเวลาใกล้เคียงกัน ทำให้การแข่งขันกันมีมากกว่าการปลูกข้าวนาดำ อย่างไรก็ตามการลดความสูญเสียของผลผลิตข้าวเป็นสิ่งสำคัญ ดังเช่นในประเทศไทยมีรายงานการแข่งขันของวัชพืชที่ทำให้ผลผลิตข้าวในนาหว่านน้ำตม นาข้าวไร่ นาหว่านแห้ง และนาดำ ลดลง 20, 60.6, 38.7 และ 16.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ประสาน, 2540) นอกจากนี้สถาบันวิจัยข้าวระหว่างประเทศได้วิจัยตั้งแต่ปี พ.ศ.2520-2531 ค่าเฉลี่ยของความสูญเสียของผลผลิตในนาหว่านน้ำตมทำให้ผลผลิตลดลง 44 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในนาข้าวไร่ สูญเสีย 96 เปอร์เซ็นต์ นาหว่านแห้ง 74 เปอร์เซ็นต์ และนาดำ 48 เปอร์เซ็นต์ (Ampong-Nyarko and De Datta, 1991)

เกษตรกรส่วนใหญ่มีความจำเป็นต้องใช้สารกำจัดวัชพืชในการทำนาหว่านน้ำตม ซึ่งในนาข้าวสามารถใช้สารกำจัดวัชพืชในช่วงเวลาที่แตกต่างกันได้ คือ สารกำจัดวัชพืชประเภทคุม ใช้ในช่วงเวลาปลูกข้าว 0-4 วัน เช่น สาร pretilachlor สารกำจัดวัชพืชประเภทคุมฆ่า ใช้ในช่วงเวลาปลูกข้าว 5-12 วัน เช่น สาร bispyribac sodium, pyribenzoxim, butachlor/propanil, thiobencarb/2,4-D สารกำจัดวัชพืชประเภทฆ่า ใช้ในช่วงเวลา 15-30 วัน เช่น สาร 2,4-D, propanil, fenoxaprop-p-ethyl เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2545)

วัชพืชที่สำคัญในนาหว่านน้ำตม ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) หญ้าดอกขาว หรือหญ้าไม้กวาด (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees) ผักปอดนา (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.) และกกทราย (*Cyperus iria* L.) เป็นต้น (กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช, 2538)

พันธุ์ข้าวหอมที่นิยมเป็นที่ต้องการของตลาด คือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แต่เป็นพันธุ์ที่ปลูกได้ฤดูเดียว เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่ไวแสง นักปรับปรุงพันธุ์ประสบความสำเร็จที่สามารถแนะนำข้าวที่ไม่ไวแสงปลูกได้ตลอดปี แต่มีลักษณะต้นเตี้ย ใบตั้งขึ้น รากดิ่งลงในแนวตั้ง ซึ่งเป็นลักษณะที่ทำให้มีวัชพืชขึ้นมาก (ประสานและคณะ, 2519 และ เพ็ญศรีและคณะ ,2540)

ข้าวหอมที่นำมาใช้ในการทดลองศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในครั้งนี้ ประกอบด้วย 4 พันธุ์ ซึ่งแต่ละพันธุ์มีคุณสมบัติและลักษณะเด่นดังนี้ (เอกสงวน,2542)

1) ขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวเจ้าต้นสูงประมาณ 140 – 150 เซนติเมตร ที่ไวต่อช่วงแสง อายุการเก็บเกี่ยวประมาณปลายเดือนพฤศจิกายนของทุกปี จุดเด่นของพันธุ์คือ เป็นพันธุ์ต้นสูง ลักษณะใบปรกดิน ทำให้แข่งขันกับวัชพืชได้ดี มีวัชพืชเบียดเบียนน้อยกว่าพันธุ์ปรับปรุงใหม่

2) หอมคลองหลวง 1 เป็นข้าวหอมที่มีลักษณะต้นเตี้ย สูงประมาณ 110 เซนติเมตร เป็นข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง ปลูกได้ตลอดปี มีอายุตกกล้าถึงเก็บเกี่ยว ประมาณ 118 วัน เมื่อปลูกในฤดูนาปรัง และประมาณ 125 วันในฤดูนาปี มีคุณภาพการหุงต้มเช่นเดียวกับขาวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์ที่เมล็ดมีขนาดใหญ่ สามารถเจริญเติบโตและตั้งตัวได้เร็วในระยะแรก และเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงที่สุดจากงานทดลองของเพ็ญศรีและคณะ (2545) มีศักยภาพดีสำหรับการแข่งขันกับวัชพืช

3) หอมสุพรรณบุรี เป็นพันธุ์ข้าวต้นสูงประมาณ 126 เซนติเมตร เป็นข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง ปลูกได้ทั้งฤดูนาปีและนาปรัง แตกกอได้ในระดับปานกลาง จึงเหมาะสำหรับแนะนำให้เกษตรกรปลูกเพื่อเพิ่มปริมาณข้าวหอมให้เพียงพอกับความต้องการของตลาด และเป็นข้าวที่มีการตอบสนองต่อการกำจัดวัชพืช แต่ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ แต่ทนทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

4) ปทุมธานี 1 เป็นข้าวหอมที่ไม่ไวต่อช่วงแสง คุณภาพเมล็ดคล้ายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นข้าวที่ปลูกได้ทั้งฤดูนาปีและฤดูนาปรัง อายุการเก็บเกี่ยวนาดำ 113-126 วัน นาหว่านน้ำตม 104-114 วัน ต้นสูงประมาณ 104-113 เซนติเมตร ทรงกอตั้ง ใบสีเขียวมีขน ระยะพักตัวของเมล็ด 3 – 4 สัปดาห์ เป็นข้าวพันธุ์ที่มีการตอบสนองต่อวิธีการกำจัดวัชพืช กล่าวคือ ผลผลิตเพิ่มขึ้นในการกำจัดวัชพืชมากกว่าวิธีไม่กำจัดวัชพืช และให้ผลผลิตใกล้เคียงกับพันธุ์ข้าวหอมคลองหลวง 1

ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้ เพื่อหาสารกำจัดวัชพืชที่เหมาะสมกับข้าวหอมในแต่ละพันธุ์ เพราะข้าวแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองต่อสารกำจัดวัชพืชที่แตกต่างกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองได้ดำเนินการที่สถานีทดลองข้าวส่วนแยกของสถานีทดลองข้าวบางเขน อำเภอบางน้ำเปรี้ยว จังหวัดฉะเชิงเทรา ช่วงฤดูนาปีระหว่างเดือน กรกฎาคม พ.ศ.2547 –มกราคม พ.ศ.2548 โดยวางแผนการทดลองแบบ Split plot in RCB จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบไปด้วยปัจจัยหลัก (main plot) คือการใช้สารกำจัดวัชพืช pretilachlor, bispyribac sodium, pyribenzoxim, butachlor/propanil และไม่กำจัดวัชพืช ปัจจัยที่รอง (sub plot) คือ ข้าวหอม 4 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ข้าวหอมคลองหลวง 1 ข้าวหอมสุพรรณบุรี และข้าวปทุมธานี 1 ในแปลงทดลองย่อยขนาด 4X5 เมตร ได้เตรียมดินเริ่มจากไถดะไถแปร คราดทำเทือก ใส่ปุ๋ย16-20-0 เป็นปุ๋ยรองพื้น อัตรา 30 กิโลกรัม/ไร่ หว่านข้าวงอกของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ อัตราเมล็ด 16 กิโลกรัม/ไร่ ในแปลงทดลองย่อยขนาด 4x5 เมตร ที่ 4 วันหลังหว่านข้าวพ่นสารกำจัดวัชพืช pretilachlor อัตรา 320 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ และที่ 12 วันหลังหว่านข้าว พ่นสารกำจัดวัชพืช bispyribac sodium, pyribenzoxim, butachlor/propanil อัตรา 3.5, 3.5 และ 320 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ตามลำดับ ใส่ปุ๋ยยูเรียในระยะกำเนิดช่อดอก อัตรา 20 กิโลกรัม/ไร่

บันทึกชนิดและปริมาณของวัชพืชพร้อมน้ำหนักแห้งที่ 60 วันหลังหว่านข้าว โดยสุ่มในพื้นที่กรอบสี่เหลี่ยมขนาด 50 X 50 เซนติเมตร จำนวน 2 กรอบ นำมารวมแล้วเฉลี่ยเป็นพื้นที่ 1

ตารางเมตร บันทึกการเจริญเติบโตของข้าว ได้แก่ ความสูงของต้นข้าว และการแตกกอที่ 30, 60 วันและที่ระยะเก็บเกี่ยว ผลผลิตที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ ในพื้นที่ 3X4 เมตร และองค์ประกอบผลผลิตคือ จำนวนรวง/พื้นที่ จำนวนเมล็ดลีบ น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักฟาง

ผลการทดลองและวิจารณ์

วัชพืชที่พบในแปลงทดลองที่ไม่ใช้สารกำจัดวัชพืชมี 11 ชนิด เป็นประเภทใบแคบที่สำคัญ ได้แก่ หญ้าดอกขาว ((*Leptochloa chinensis* Nees) 121.33 ต้น / ตารางเมตร (51.4 %) รองลงมาคือ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.)P.Beauv.)46.67 ต้น/ ตารางเมตร (19.8 %) และตามด้วยกกสามเหลี่ยมเล็ก (*Cyperus pilosus* Vahl)16.67 ต้น/ ตารางเมตร (7.0 %) ผักปอดนา (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.) 15.34 ต้น/ ตารางเมตร (6.5 %) หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.)Vahl) 14.67 ต้น/ ตารางเมตร (6.2 %) กกสามเหลี่ยมแห้วกระดาน (*Scirpus grossus* L.f.) 12.01 ต้น / ตารางเมตร (5.1 %) ส่วนวัชพืชชนิดอื่นๆพบในปริมาณที่ไม่มาก คือเทียนนา(*Ludwigia hyssopifolia* (G.Don)Exell) บัวเผื่อน (*Nymphaea nouchari* Burm.) กกขนาก (*Cyperus difformis* L.) และ โสนหางไก่
(*Aeschynomene aspera* L.) (ตารางที่ 1)

น้ำหนักแห้งวัชพืช ไม่มีสหสัมพันธ์กันระหว่างพันธุ์ข้าวและสารกำจัดวัชพืช ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยที่สุด 28.98 กรัม/ ตารางเมตร ส่วน ข้าวปทุมธานี 1 มีน้ำหนักแห้งวัชพืชมากที่สุด 79.46 กรัม/ ตารางเมตร ซึ่ง ข้าวปทุมธานี 1 มีวัชพืชมากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับข้าวทั้ง 3พันธุ์ (ตารางที่ 2) ส่วนการไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักวัชพืชมากคือ 81.42 กรัม/ ตารางเมตร โดยแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีสามารถแข่งขันกับวัชพืชได้มากกว่า ข้าวปทุมธานี 1 หอมคลองหลวง 1 และหอมสุพรรณบุรี เนื่องจากมีน้ำหนักวัชพืชน้อยที่สุด

การกำจัดวัชพืชทำให้ ความสูงของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ 30 วัน มีความแตกต่างกันทางสถิติในการไม่กำจัดวัชพืชสูง 73.1 เซ็นติเมตร ส่วนการใช้สาร bispyribac sodium ต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 สูง 83.2 เซนติเมตร ส่วนข้าวอีก 3 พันธุ์ ไม่มีความแตกต่างด้านความสูงในการใช้สารกำจัดวัชพืช เฉลี่ยของข้าวแต่ละพันธุ์ พบว่าข้าวทั้ง 4 พันธุ์ ให้ความสูงแตกต่างกันทางสถิติ โดยเรียงลำดับตามความสูงดังนี้ ขาวดอกมะลิ 105 หอมสุพรรณบุรี ปทุมธานี 1 และหอมคลองหลวง 1 มีความสูง 76.8, 69.2, 64.5 และ 58.9 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ข้าวปทุมธานี 1 มีการแตกกอดีกว่าข้าวทุกๆพันธุ์ที่ทดลอง คือ 498.0 ต้น/ตารางเมตรโดยแตกต่างทางสถิติกับอีก 3 พันธุ์ ส่วนวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และไม่มีสหสัมพันธ์กันระหว่างพันธุ์ข้าวและสารกำจัดวัชพืช (ตารางที่ 4)

ที่ 60 วัน จะพบว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีความสูงกว่าข้าวหอมอีก 3 พันธุ์ที่ทดลอง คือสูงเฉลี่ย 129.6 เซนติเมตร มีความแตกต่างทางสถิติกับข้าวหอมสุพรรณบุรีคือ 113.3 เซนติเมตร และทั้ง 2 พันธุ์แตกต่างจาก หอมคลองหลวง 1 และปทุมธานี 1 ซึ่งสูง 104.1 และ 101.2 เซนติเมตร ตามลำดับ ข้าวปทุมธานี 1 มีความสูงน้อยที่สุด (ตารางที่ 5) นอกจากนี้ข้าวปทุมธานี 1 ยังมีจำนวนการแตกกอ มากกว่าข้าวพันธุ์อื่นๆ (ตารางที่ 6) เปรียบเทียบกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งมีจำนวนกอน้อยที่สุด ทั้งนี้ Toung และคณะ (2000) ได้รายงานว่าการแตกกอของข้าวและการพัฒนาใบให้ปกคลุมพื้นที่ในระยะแรกมีความสำคัญมากกว่าความแข็งแรงของต้นกล้า ในการแข่งขันกับวัชพืชยิ่งแตกกอมากยิ่งเป็นผลดี

น้ำหนักของฟางข้าวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งในวิธีการกำจัดวัชพืช และพันธุ์ข้าวทั้ง 4 พันธุ์ (ตารางที่ 7) ส่วนน้ำหนักเมล็ดข้าวนั้น ข้าวหอมคลองหลวง 1ให้น้ำหนักเมล็ดต่อพื้นที่สูงที่สุด คือ 218.7 กรัม/ตารางเมตร ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ปทุมธานี 1ได้ 186.7 กรัม/ตารางเมตร โดยพันธุ์ปทุมธานี 1 แตกต่างจากอีก 2 พันธุ์คือ หอมสุพรรณบุรี และ ขาวดอกมะลิ 105 ส่วนวิธีการกำจัดวัชพืชไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8) สำหรับน้ำหนักเมล็ดลีบ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งวิธีการกำจัดวัชพืช และพันธุ์ข้าวทั้ง 4 พันธุ์ (ตารางที่ 9)

ผลผลิตของข้าว กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืช ให้ผลผลิตข้าวสูงและแตกต่างทางสถิติ กว่าไม่มีการกำจัดวัชพืช คือให้ผลผลิตสูงตามลำดับดังนี้ bispyribac sodium, pyribenzoxim, pretilachlor, butachlor/propanil และไม่กำจัดวัชพืช 519.9, 495.0, 493.5, 486.7 และ 290.0 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ข้าวทั้ง 4 พันธุ์ ข้าวหอมคลองหลวง 1 ให้ผลผลิตสูงกว่าทุกๆ พันธุ์ คือ 690.2 กิโลกรัม/ไร่ โดยแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งให้ผลผลิต 561.8 กิโลกรัม/ไร่ โดยปทุมธานี 1 ให้ผลผลิต สูงและแตกต่างกว่าหอมสุพรรณบุรี และ ขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้ผลผลิต 330.5 และ 245.5 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 10) แสดงว่าการทดลองนี้ ข้าว หอมคลองหลวง 1ให้ผลผลิตสูง ส่วนขาวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์ที่มีวัชพืชน้อย แต่มีศักยภาพให้ผลผลิตต่ำ

ผลผลิตข้าวทั้ง 4 พันธุ์ พบว่าทุกพันธุ์ตอบสนองต่อการกำจัดวัชพืช คือมีผลผลิตเพิ่มขึ้นและแตกต่างทางสถิติกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช เมื่อเฉลี่ยจากผลผลิตทุกพันธุ์ ข้าวหอมคลองหลวง 1 ให้ผลผลิตสูงสุด รองลงมาคือข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 หอมสุพรรณบุรี และขาวดอกมะลิ 105 ตามลำดับ

การแสดงออกของพันธุ์นอกจากเป็นลักษณะประจำพันธุ์และศักยภาพของพันธุ์นั้นแล้ว สภาพแวดล้อมรวมทั้งการใช้สารกำจัดวัชพืชมีส่วนต่อการให้ผลผลิตของพันธุ์นั้นๆ (Caton *et al.*,2001)

สรุปผลการทดลอง

1. การใช้สารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด ทำให้ผลผลิตข้าวสูง กว่าวิธีไม่มีการกำจัดวัชพืช
2. ข้าวหอมคลองหลวง 1 เป็นพันธุ์ที่มีศักยภาพให้ผลผลิตสูงที่สุด
3. ข้าวปทุมธานี 1 เป็นพันธุ์ที่แตกกอได้ดีที่สุด
4. ข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีลักษณะต้นสูง ทำให้มีปริมาณวัชพืชน้อยกว่าพันธุ์อื่น

คำขอบคุณ

ผู้ทดลองขอขอบคุณ นายสมัคร ยิ่งยง ผู้อำนวยการสถานีทดลองข้าวบางเขน ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ในการทดลอง และมอบหมายนักวิชาการของสถานี พร้อมเจ้าหน้าที่อำนวยความสะดวก และร่วมงานในการทดลองครั้งนี้ จนงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2545. เกษตรดีที่เหมาะสม สำหรับข้าวนาชลประทาน. เอกสารคำแนะนำลำดับที่ 22 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 42 หน้า.

กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช. 2538. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการ เกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 143 หน้า.

ประสาน วงศาโรจน์. 2540. การจัดการวัชพืชในนาข้าว. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 175 หน้า.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ ประสาน วงศาโรจน์ และอนุชาติ คชสถิตย์. 2545. เปรียบเทียบการแข่งขันของข้าวหอมสี่พันธุ์ในสภาพที่มีการกำจัดและไม่กำจัดวัชพืชในนาหว่านน้ำตม. หน้า 31-40.*ใน:* รายงานการประชุมวิชาการกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 15-17 พฤษภาคม 2545 ณ โรงแรมพาวิเลียนริมแคว รีสอร์ท จังหวัดกาญจนบุรี.

เอกสงวน ชูวิสิฐกุล. 2542. เอกสารแนะนำข้าวและธัญพืชเมืองหนาวพันธุ์ดี 75 พันธุ์. ฝ่ายถ่ายทอดเทคโนโลยี สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. 30 หน้า.

Ampong-Nyarko, K. and S.K. De Datta. 1991. A Handbook for Weed Control in Rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 113 p.

Caton, B.P.,T.C. Foin, J.E. Hill and A.M. Mortimer. 2001. Measuring crop competitiveness and identifying associated traits in cultivar field trials. Pages 139-145. *In:* Proceedings of the 18th Asian-Pacific Weed Sciencs Society Conference. Beijing. China.

Pandey, S. and L. Velasco. 2002. Economics of direct seeding in Asia: pattern of adoption and research priorities. Pages 3-14. *In:* Direct Seeding: Research Strategies and Opportunities, 25-28 January 2000, Bangkok, Thailand.

Toung, T.P., P.P. Pablico, M. Yamauchi, R. Confesor and K. Moody. 2000. Increasing productivity and weed suppression of wet seeded rice: effect of water management and rice genotypes. Exp.Agric.36: 71-89.

ตารางที่ 1 จำนวนและชนิดของวัชพืชในแปลงไม่กำจัดวัชพืชที่ 60 วันหลังหว่านข้าว ปี 2547

ชนิดวัชพืช	จำนวนวัชพืช (ต้น/ ตารางเมตร) [1/]					
	KDML105	PTT1	SPR	KL1	รวม	%
หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* Nees)	36.00	8.00	20.00	57.33	121.33	51.4
หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.)	0.67	44.67	1.33	0	46.67	19.8
ผักปอดนา (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.)	0.67	12.67	0	2.00	15.34	6.5
เทียนนา (*Ludwigia hyssopifolia* (G.Don) Exell)	0.67	0.67	0	1.33	2.67	1.1
โสนหางไก่ (*Aeschynomene aspera* L.)	0	0.67	0	0	0.67	0.3
ผักตบไทย (*Monochoria hastata* Solms)	1.33	0	0	1.33	2.66	1.1
บัวเผื่อน (*Nymphaea nouchari* Burm.)	0.67	0.67	0.67	0	2.01	0.9
กกสามเหลี่ยมเล็ก (*Cyperus pilosus* Vahl)	0.67	0	0	16.00	16.67	7.0
กกสามเหลี่ยมแห้วกระดาน (*Scirpus grossus* L.f.)	0	0.67	0.67	10.67	12.01	5.1
กกขนาก (*Cyperus difformis* L.)	0.67	0	0	0.67	1.34	0.6
หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl)	10.67	0.67	0	3.33	14.67	6.2
รวม	52.02	68.69	22.67	92.66	236.04	100.0

1/ เป็นค่าเฉลี่ย 3ซ้ำ

KDML 105 = ขาวดอกมะลิ 105 PTT1 = ปทุมธานี 1 KL 1 = หอมคลองหลวง 1 SPR = หอมสุพรรณบุรี

ตารางที่ 2 น้ำหนักแห้งวัชพืชรวมต่อตารางเมตรที่ 60 วันหลังหว่านข้าว ปี 2547

สารกำจัดวัชพืช	KDML105	PTT1	SPR	KL1	**เฉลี่ย**
pretilachlor	21.24	61.52	39.14	21.94 b	35.96 b
bispyribac sodium	35.98	64.80	20.98	18.24 b	35.00 b
pyribenzoxim	10.18	67.06	57.5	63.54 ab	49.56 b
butachlor/propanil	23.58	81.04	48.98	39.96 ab	48.38 b
ไม่กำจัดวัชพืช	53.92	122.92	48.00	100.82 a	81.42 a
เฉลี่ย	28.98 B	79.46 A	42.92 B	48.90 B	50.06
C.V.(สารกำจัดวัชพืช)=48.0%, C.V.(พันธุ์ข้าว)=74.2%					

ตัวเลขในแนวเดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT อักษรตัวพิมพ์เล็กทางแนวตั้ง อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ทางแนวนอน

ตารางที่ 3 ความสูงของข้าวที่ 30 วัน ปี 2547

สารกำจัดวัชพืช	KDML105	PTT1	SPR	KL1	**เฉลี่ย**
pretilachlor	75.6 ab	58.1	70.2	66.5	67.6
bispyribac sodium	83.2 a	56.4	68.9	63.0	67.9
pyribenzoxim	77.4 ab	60.2	70.5	64.5	68.1
butachlor/propanil	74.9 ab	60.9	66.9	66.4	67.3
ไม่กำจัดวัชพืช	73.1 b	58.8	69.7	61.9	65.9
เฉลี่ย	76.8 A	58.9 D	69.2 B	64.5 C	67.4
C.V.(สารกำจัดวัชพืช)= 9.1 %, C.V.(พันธุ์ข้าว)= 7.2 %					

ตัวเลขในแนวเดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT อักษรตัวพิมพ์เล็กทางแนวตั้ง อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ทางแนวนอน

ตารางที่ 4 การแตกกอของข้าวต่อตารางเมตรที่ 30 วัน ปี 2547

สารกำจัดวัชพืช	KDML105	PTT1	SPR	KL1	**เฉลี่ย**
pretilachlor	302.8	435.1	332.0	324.0	348.5
bispyribac sodium	414.8	593.2	424.0	365.2	449.3
pyribenzoxim	276.0	488.0	309.2	334.8	352.0
butachlor/propanil	394.8	518.8	364.0	342.8	405.1
ไม่กำจัดวัชพืช	342.8	454.8	316.0	345.2	364.7
เฉลี่ย	346.0 B	498.0 A	349.0 B	342.4 B	383.9
C.V.(สารกำจัดวัชพืช)=31.6%, C.V.(พันธุ์ข้าว)=21.0%					

ตัวเลขในแนวเดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 ความสูงของข้าวที่ 60 วัน ปี 2547

สารกำจัดวัชพืช	KDML105	PTT1	SPR	KL1	**เฉลี่ย**
pretilachlor	125.5	99.7	108.6	102.8	109.1
bispyribac sodium	134.9	97.9	113.4	103.6	112.5
pyribenzoxim	128.8	104.6	114.9	102.0	112.6
butachlor/propanil	133.7	101.8	119.3	104.5	114.8
ไม่กำจัดวัชพืช	124.9	101.8	110.2	107.9	111.2
เฉลี่ย	129.6 A	101.2 C	113.3 B	104.1 C	112.0
C.V.(สารกำจัดวัชพืช)=8.6%, C.V.(พันธุ์ข้าว)=6.6%					

ตัวเลขในแนวเดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 6 การแตกกอของข้าวต่อตารางเมตรที่ 60 วัน ปี 2547

สารกำจัดวัชพืช	KDML105	PTT1	SPR	KL1	**เฉลี่ย**
pretilachlor	469.2	658.8 ab	526.8	529.2	546.0
bispyribac sodium	540.0	610.8 ab	626.8	597.2	593.6
pyribenzoxim	580.0	534.8 b	556.0	509.2	545.2
butachlor/propanil	576.0	564.0 b	656.0	548.0	586.0
ไม่กำจัดวัชพืช	512.0	733.2 a	580.0	540.0	591.2
เฉลี่ย	535.6 B	620.4 A	589.2 AB	544.8 B	572.4
C.V.(สารกำจัดวัชพืช)=17.9%, C.V.(พันธุ์ข้าว)=13.6%					

ตัวเลขในแนวเดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 7 น้ำหนักของฟางข้าวต่อตารางเมตร ปี 2547

สารกำจัดวัชพืช	KDML105	PTT1	SPR	KL1	**เฉลี่ย**
pretilachlor	400.0	446.4	606.6 a	433.4	471.6
bispyribac sodium	386.6	413.4	400.0 b	400.0	400.0
pyribenzoxim	386.6	480.0	400.0 b	460.6	433.4
butachlor/propanil	386.6	366.6	400.0 b	393.4	386.6
ไม่กำจัดวัชพืช	386.6	453.4	413.4 b	520.0	443.4
เฉลี่ย	389.4	431.9	444.0	442.6	427.0
C.V.(สารกำจัดวัชพืช)=20.3%, C.V.(พันธุ์ข้าว)=21.3%					

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 8 น้ำหนักของเมล็ดข้าวต่อตารางเมตร ปี 2547

สารกำจัดวัชพืช	KDML105	PTT1	SPR	KL1	**เฉลี่ย**
pretilachlor	123.6	166.8	159.4	238.6	172.1
bispyribac sodium	161.8	186.8	169.0	207.8	181.4
pyribenzoxim	124.2	210.0	108.8	245.6	172.2
butachlor/propanil	136.8	210.2	139.8	201.4	172.0
ไม่กำจัดวัชพืช	114.1	160.0	116.4	200.0	147.6
เฉลี่ย	132.2 C	186.7 B	138.6 C	218.7 A	139.5
C.V.(สารกำจัดวัชพืช)=17.2%, C.V.(พันธุ์ข้าว)=22.9%					

ตัวเลขในแนวเดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 9 น้ำหนักของเมล็ดลีบต่อตารางเมตร ปี 2547

สารกำจัดวัชพืช	KDML105	PTT1	SPR	KL1	**เฉลี่ย**
pretilachlor	980	1249	701	937	967
bispyribac sodium	1072	1228	1054	1103	1114
pyribenzoxim	896	1402	991	1010	1075
butachlor/propanil	1076	1145	1073	949	1061
ไม่กำจัดวัชพืช	1032	1400	1037	921	1098
เฉลี่ย	1011	1285	971	984	1063
C.V.(สารกำจัดวัชพืช)=29.3%, C.V.(พันธุ์ข้าว)=40.8%					

ตารางที่ 10 ผลผลิตของข้าวกิโลกรัม/ไร่ ปี 2547

สารกำจัดวัชพืช	KDML105	PTT1	SPR	KL1	**เฉลี่ย**
pretilachlor	227.0 b	586.5 a	367.0 ab	793.5 ab	493.5 a
bispyribac sodium	400.0 a	653.0 a	353.0 ab	673.5 b	519.9 a
pyribenzoxim	240.0 b	560.0 a	400.0 a	780.0 ab	495.0 a
butachlor/propanil	210.0 b	600.0 a	303.5 ab	833.5 a	486.7 a
ไม่กำจัดวัชพืช	150.7 b	409.7 b	229.0 b	370.7 c	290.0 b
เฉลี่ย	245.5 C	561.8 B	330.5 C	690.2 A	457.0
C.V.(สารกำจัดวัชพืช)=19.6%, C.V.(พันธุ์ข้าว)=16.0%					

ตัวเลขในแนวเดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT อักษรตัวพิมพ์เล็กทางแนวตั้ง อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ทางแนวนอน

เทคนิคการพ่นสารกำจัดวัชพืชในนาข้าวโพดฝักอ่อน

(Application Techniques of Herbicide in Baby Cone)

Tawee Sangtong* Damrong Vechakij** Somchai Pettamarote**

Weed Science Research Group* Entomology&Zoology research Group**

Plant Protection Research & Development Office, Department . of Agriculture

---

Abstract

Studies on Application Techniques of recommended herbicides were conducted at 2 locations of farmers farms in Nakornpathom and Kanjanaburi provinces in 2004.

เทคนิคการพ่นสารกำจัดวัชพืชในข้าวโพดฝักอ่อน

ทวี แสงทอง ดำรง เวชกิจ[1] สรรชัย เพชรธรรมรส[1]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้เทคนิคการพ่นสารกำจัดวัชพืชให้ข้าวโพดฝักอ่อน ได้ดำเนินการในไร่เกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม (มิถุนายน - สิงหาคม 2547) และไร่เกษตรกร อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี (กรกฎาคม - กันยายน 2548) โดยทำการไถเตรียมดิน ยกร่องระยะสันร่อง 120 ซม. ปลูกข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ SG17 ข้างสันร่องทั้งสองด้าน ระยะระหว่างหลุม 20 ซม. 3 – 4 ต้น/หลุม การทดลองที่จังหวัดนครปฐม ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชผสมของ อะลาคลอร์ + อะทราซีน อัตรา 250 + 200 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ทันทีหลังปลูกและให้น้ำแล้ว การทดลองที่จังหวัดกาญจนบุรี ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืช อะทราซีน อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ที่ระยะ 15 วันหลังปลูก โดยใช้เครื่องพ่นแบบสะพายหลัง และหัวฉีดพ่นสารละลายรูปพัดแบบต่างๆ เปรียบเทียบกับการพ่นของเกษตรกรที่พ่นด้วยสารกำจัดวัชพืชที่แนะนำและใช้เครื่องพ่นสะพายหลังที่ใช้แรงคนหรือใช้เครื่องยนต์ใช้หัวฉีดพ่นสารละลายรูปกรวยหรือรูปพัด จากผลการทดลองทั้งสองแปลง การพ่นสารกำจัดวัชพืชผสม alachlor + atrazine ก่อนการงอกของวัชพืชและข้าวโพดหรือพ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine ที่ ระยะ 15 วันหลังการงอกของวัชพืชและข้าวโพด ไม่มีผลความเป็นพิษต่อการงอกและการเจริญเติบโตของข้าวโพด การพ่นสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวโดยใช้เครื่องพ่นแบบสะพายหลัง ใช้หัวฉีดพ่นรูปพัดหรือแบบแรงปะทะ ตามวิธีการพ่นที่ถูกต้อง จะทำให้ได้ความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชอย่างสม่ำเสมอตามอัตราที่แนะนำ และสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และได้ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนที่สูงกว่าการไม่มีการกำจัดวัชพืชมาก การพ่นตามวิธีของเกษตรกรที่มีการใช้หัวฉีดรูปกรวยที่ทำให้ไม่มีความสม่ำเสมอของสารละลายที่พ่นลงบนดินหรือบนพืช ถึงแม้จะไม่ปรากฏความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นข้าวโพดและได้ผลผลิตข้าวโพดสูงกว่าการไม่มีการกำจัดวัชพืช แต่การพ่นด้วยวิธีดังกล่าวทำให้มีปริมาณการใช้สารสูงกว่าคำแนะนำ ใช้ปริมาณน้ำมากเกินความจำเป็น ทำให้สูญเสียค่าใช้จ่ายมากขึ้น นอกจากนี้การพ่นในอัตราสูงดังกล่าวที่มีการใช้น้ำในปริมาณมาก แต่ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชกลับด้อยกว่าการ ใช้เครื่องพ่นสะพายหลังโดยใช้หัวฉีดที่พ่นรูปพัดหรือแรงปะทะที่พ่นสารออกมาอย่างมีความเข้มข้นสม่ำเสมอ

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0103-05

[1] กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

คำนำ

ข้าวโพดฝักอ่อนเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญที่มีการส่งออกมากทั้งในรูปฝักสดและบรรจุกระป๋อง และการบริโภคภายในประเทศ มีความต้องการผลผลิตมากตลอดทั้งปี จึงมีการเพิ่มพื้นที่การปลูกมากขึ้น วัชพืชเป็นปัญหาศัตรูพืชอันดับแรก ที่ผู้ปลูกข้าวโพดฝักอ่อนจะต้องวางแผนการป้องกันกำจัดไม่ให้ขึ้นแข่งขันกับต้นข้าวโพดตั้งแต่เริ่มปลูก เพราะการปลูกข้าวโพดฝักอ่อนเป็นพืชที่มีการเก็บเกี่ยวผลผลิตที่อายุพืชประมาณ 50 – 60 วันหลังปลูก จึงจำเป็นต้องให้ข้าวโพดมีการเจริญเติบโตที่ดีตั้งแต่เริ่มงอก เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดีตามที่ตลาดต้องการ เกษตรกรจึงนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชเพื่อควบคุมวัชพืชตั้งแต่เริ่มปลูก แต่ปัจจุบันการใช้สารกำจัดวัชพืชของเกษตรกรส่วนใหญ่ ยังมีการใช้เครื่องมือพ่นสาร วิธีการพ่นสารที่ไม่ถูกต้อง ถึงแม้จะเลือกใช้ชนิดของสารถูกต้องตามคำแนะนำแล้วก็ตาม การใช้เครื่องมือพ่นและวิธีการพ่นที่ไม่ถูกต้อง มีผลทำให้อัตราการพ่นสารต่อพื้นที่ไม่ถูกต้องตามคำแนะนำ อาจทำให้เกิดผลเสียหายประการ เช่น การพ่นสารในอัตราที่ต่ำกว่าที่กำหนด ทำให้ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้ การพ่นสารที่สูงกว่าอัตราที่กำหนด อาจทำให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช ทำให้สิ้นเปลือง หรืออาจมีผลตกค้างในผลผลิตพืชหรือสิ่งแวดล้อม การพ่นที่ใช้อัตราสารละลายพ่นสูง ก็อาจไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้ เนื่องจากการถูกชะล้างไปในดินอย่างรวดเร็ว เป็นต้น ดังนั้น การพ่นสารกำจัดวัชพืชให้ถูกต้องตามวิธีการและคำแนะนำ จึงเป็นสิ่งจำเป็นต้องปฏิบัติ การทดลองนี้ เป็นการทดสอบเครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับเครื่องมือพ่นที่เกษตรกรมีการใช้ โดยการทดลองพ่นสารกำจัดวัชพืชและอัตราที่แนะนำ และอัตราที่เกษตรกรพ่น เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ความเป็นพิษต่อพืช การเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวโพดผลดีและผลเสียจากการพ่นสารตามวิธีการที่ทดสอบ เพื่อสรุปและนำมาใช้ในการให้คำแนะนำในด้านการปลูกข้าวโพดฝักสดต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดฝักอ่อน พันธุ์การค้า SG17, SG18
2. ปุ๋ยเคมี
3. เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืช
    - เครื่องพ่นสะพายหลังใช้แรงคน
    - เครื่องพ่นสะพายหลังใช้เครื่องยนต์
    - เครื่องพ่นแบบแรงเหวี่ยงใช้แบตเตอรี่(CDA)
4. หัวฉีดพ่นแบบต่างๆ
    - หัวฉีดแบบแรงปะทะ(impact)
    - หัวฉีดรูปพัดธรรมดา (flat fan)
    - หัวฉีดรูปพัดเสมอ (flat even)

- หัวฉีดพ่นแบบกรวย(cone) ที่เกษตรกรใช้

5. สารกำจัดวัชพืช alachlor atrazine acetochlor
6. สารกำจัดโรคแมลงตามความจำเป็น

วิธีการ

แบบการทดลอง ไม่มี

กรรมวิธี ประกอบด้วยวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชที่แนะนำในแต่ละแปลงย่อย ขนาด 5 x 20 เมตร โดยใช้เครื่องพ่นสาร และหัวฉีดแบบต่างๆกัน ดังนี้

แปลงทดลองเกษตรกร จ. นครปฐม

กรรมวิธี	อัตราสารละลายพ่น ลิตร/ไร่	อัตราสารกำจัดวัชพืช Alachlor+Atrazine กรัม(ai)/ไร่
1. CDA	11	250+200
2. Knapsack(flat fan 110)	40	250+200
3. Knapsack(impack)	40	250+200
4. Knapsack(flat even)	40	250+200
5. Knapsack(cone 1)เกษตรกร	40	250+200
6. Knapsack(cone 2)เกษตรกร	60	375+300
7. Weeding 20 DAP	-	-
8.Check	-	-

สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ สารผสม alachlor + atrazine พ่นทันทีหลังปลูกและให้น้ำ

แปลงเกษตรกร จ. กาญจนบุรี

กรรมวิธี	อัตราสารละลายพ่น ลิตร/ไร่	อัตราสารกำจัดวัชพืช Atrazine กรัม(ai)/ไร่
1. CDA	11	300
2. Knapsack(flat fan 110)	40	300
3. Knapsack(impack)	40	300
4. Knapsack(impack 2)	40	300
5. Knapsack(cone)เกษตรกร	40	300
6. Knapsack(fan) เกษตรกร	90	540
7 .Check	-	-

พ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine ที่ระยะ 15 วันหลังการงอกของวัชพืชและข้าวโพด

การปฏิบัติการทดลองทั้งสองแปลง

ทำการไถเตรียมดิน ยกร่องปลูกระยะสันร่องห่างกัน 1.20 เมตร ทำการปลูกข้าวโพดโดยวิธีหยอดทั้งสองข้างสันร่อง ระยะระหว่างหลุม 30 เซนติเมตร 3-4 เมล็ด/หลุม พร้อมใส่ปุ๋ยรองพื้น 14-14-14 อัตรา 50 กิโลกรัม/ไร่ หลังปลูกทำการให้น้ำตามร่อง พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีที่กำหนด ใส่ปุ๋ยยูเรีย อัตรา 50 กิโลกรัมที่ระยะ 30 วันหลังปลูก พ่นสารกำจัดโรค แมลง ตามความจำเป็น

การบันทึกข้อมูล

บันทึกผลความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นข้าวโพด ที่ระยะ 15, 30 และ 45 วันหลังการพ่นสาร

บันทึกชนิด ปริมาณ และน้ำหนังแห้งวัชพืชทุกกรรมวิธี ที่ระยะ 30 วันหลังการพ่นสาร

บันทึก ผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน

บันทึก อัตราการพ่นสาร ปริมาณการพ่นสาร ค่าใช้จ่ายการควบคุมวัชพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ อ.เมือง จ. นครปฐม

การพ่นสารด้วยเครื่องพ่นและหัวฉีดชนิดต่างๆ (พ่นก่อนการงอกของวัชพืชและข้าวโพด)

- การพ่นโดยเครื่องพ่นแบบแรงเหวี่ยงใช้แบตเตอรี่ (CDA) ต้องการอัตราการพ่นสารเคมีที่แนะนำ จะต้องเดินพ่นด้วยความเร็ว 0.84 เมตร/วินาทีหรือ 119 วินาที/ระยะทาง 100 เมตร วัดอัตราการไหลของสารได้ 400 มิลลิลิตร/นาที อัตราสารละลายพ่น 11 ลิตร/ไร่ ได้ละอองสารขนาดเล็กพอสมควร ไม่ฟุ้งกระจาย แต่ก็มีขนาดใหญ่กว่าการพ่นด้วยเครื่องพ่นสะพายหลังที่ใช้หัวฉีดแบบต่างๆ(ตารางที่ 1)

- การพ่นโดยใช้เครื่องพ่นแบบสะพายหลังกับการใช้หัวฉีดแบบต่างๆ โดยต้องการอัตราสารละลายพ่นที่ 40 ลิตรต่อไร่และอัตราที่แนะนำ ทำให้อัตราการเดินพ่น อัตราการไหลของสาร แรงดันที่ใช้ (เพื่อให้ได้ขนาดละอองสารที่พอเหมาะที่จะไม่ให้เกิดการฟุ้งกระจายของละอองสาร)แตกต่างกัน กล่าวคือ การพ่นที่ใช้หัวฉีดแบบรูปพัด (flat fan 110) ถ้าใช้แรงดันถังที่ 4 บาร์ จะใช้อัตราการไหล 770 มล./นาที และต้องเดินด้วยความเร็ว 185 วินาที / 100 เมตร แต่ถ้าใช้แรงดันถังที่ 2 บาร์ จะใช้อัตราการไหลที่ 800 มล./ นาที แต่ต้องเดินด้วยความเร็วเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่ 175 วินาที/100 เมตร ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสะพายหลังใช้หัวฉีดแบบแรงปะทะ (impack) ใช้แรงดัน 4 บาร์ จะใช้อัตราการไหล 1,300 มล./นาที ใช้ความเร็วการเดินพ่นค่อนข้างปกติ 113 วินาที / 100 เมตร ขณะที่การพ่นตามวิธีเกษตรกรโดยใช้เครื่องพ่นสะพายหลัง หัวฉีดแบบกรวย (cone) ถ้าต้องการอัตราการพ่นที่ 40 ลิตรต่อไร่ และให้ได้อัตราความเข้มข้นของสารตามคำแนะนำ ที่แรงดัน 2 บาร์ จะใช้ความเร็วในการเดิน 151 วินาที / 100 เมตร ใช้อัตราการไหล 1250 มล. / นาที แต่ถ้าการพ่นตามวิธีเกษตรกรใช้หัวฉีดรูปกรวยที่มีรูขนาดโต เดินพ่นที่ความเร็ว 149 วินาที / 100 เมตร จะต้องใช้อัตราสารละลายพ่นถึง 60 ลิตร / ไร่ และจะทำให้ความเข้มข้นของสารเคมีเพิ่มสูงขึ้นจาก 250 + 200 กรัมเป็น 375 + 300 กรัมของสารออกฤทธิ์ / ไร่

ผลของการพ่นสารกำจัดวัชพืชต่อความเป็นพิษและการควบคุมวัชพืช

การพ่นโดยใช้สารกำจัดวัชพืชผสม alachlor + atrazine อัตราสารออกฤทธิ์ต่อไร่ที่ 250 + 200 กรัม ก่อนการงอกของวัชพืชและข้าวโพดด้วยเครื่องพ่นแรงเหวี่ยง (CDA) หรือเครื่องพ่นแบบสะพายหลังที่ใช้หัวฉีดแบบต่างๆในทุกกรรมวิธีตามอัตราที่แนะนำ หรือวิธีที่เกษตรกรพ่นในอัตราสูง ไม่มีผลความเป็นพิษต่อการงอกหรือการเจริญเติบโตของข้าวโพด จากการตรวจที่ระยะ 15 30 และ 45 วันหลังปลูก เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช (ตารางที่ 2) (ทวี.2538 . ทวี และคณะ 2539).ในด้านการควบคุมวัชพืช การพ่นด้วยเครื่องพ่นสะพายหลัง ใช้อัตราสารละลายพ่น 40 ลิตรต่อไร่ ใช้หัวฉีดพ่นสารละลายรูปพัดหรือแบบแรงปะทะ ที่ให้ความเข้มข้นของสารละลายและละอองสารขนาดเล็กสม่ำเสมอให้การควบคุมวัชพืชได้ในระดับดีถึงดีมากใกล้เคียงกัน (ทวี 2544) การพ่นด้วยเครื่องพ่นแบบแรงเหวี่ยง (CDA) ให้การควบคุมวัชพืชได้ระดับดี แต่ก็มีวัชพืชบางชนิดงอกขึ้นมาได้บ้างแต่ก็มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของวัชพืชน้อยกว่าการไม่มีการกำจัดวัชพืช(ตารางที่ 2) ส่วนการพ่นที่ใช้หัวฉีดแบบกรวยที่ใช้อัตราพ่น 40 หรือ 60 ลิตร/ไร่ ของวิธีเกษตรกร จะให้ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้อยกว่าการพ่นที่ใช้หัวฉีดรูปพัดหรือแบบแรงปะทะเล็กน้อย จากการเปรียบเทียบชนิด จำนวนต้น และน้ำหนักแห้งของวัชพืช ที่สุ่มเก็บในช่วง 30 วันหลังการพ่นสาร กับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารหรือไม่มีการกำจัดวัชพืชที่มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งสูงกว่ามาก(ตารางที่ 3 และ 4)

ผลของการพ่นสารกำจัดวัชพืชต่อผลผลิตข้าวโพด

จากการสุ่มเก็บผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนในแต่ละกรรมวิธี(ตารางที่ 4) การพ่นด้วยเครื่องพ่นสะพายหลัง ใช้หัวฉีดรูปพัดหรือแบบแรงปะทะ ที่ให้การควบคุมวัชพืชได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่น ให้ผลผลิตของข้าวโพดฝักอ่อนได้สูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆเช่นเดียวกัน กล่าวคือ การพ่นโดยใช้หัวฉีดแบบรูปพัด(flat fan 110)ละแบบแรงปะทะ(impack)ให้ผลผลิต 2416 และ 2033 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ การพ่นด้วยเครื่องพ่นแรงเหวี่ยง CDA ได้ผลผลิต 1816 กิโลกรัม ขณะที่การพ่นใช้หัวฉีดแบบกรวยที่อัตรา 40 ลิตร อัตราความเข้มข้นของสารตามคำแนะนำ และการพ่นด้วยหัวฉีดรูปกรวยตามวิธีเกษตรกรที่อัตราความเข้มข้นของสารสูง ให้ผลผลิตต่ำกว่าที่ 1166 และ 933 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ แต่ก็สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการกำจัดวัชพืช ที่ได้ผลผลิต 766 กิโลกรัม

การทดลองที่ อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี

การพ่นสารด้วยเครื่องพ่นและหัวฉีดชนิดต่างๆ (พ่นที่ 15 วันหลังการงอกของวัชพืชและข้าวโพด)

- การพ่นโดยเครื่องพ่นแบบแรงเหวี่ยงใช้แบตเตอรี่ (CDA) ต้องการอัตราการพ่นสารเคมีที่ แนะนำ จะต้องเดินพ่นด้วยความเร็ว 0.75 เมตร/วินาทีหรือ 133 วินาที/ระยะทาง 100 เมตร วัดอัตราการไหลของสารได้ 480 มิลลิลิตร/นาที อัตราสารละลายพ่น 11 ลิตร/ไร่ ได้ละอองสารขนาดเล็กพอสมควร ไม่ฟุ้งกระจาย แต่ก็มีขนาดใหญ่กว่าการพ่นด้วยเครื่องพ่นสะพายหลังที่ใช้หัวฉีดแบบต่างๆ(ตารางที่ 5)

- การพ่นโดยใช้เครื่องพ่นแบบสะพายหลังกับการใช้หัวฉีดแบบต่างๆ โดยต้องการอัตราสารละลายพ่นที่ 40 ลิตรต่อไร่และอัตราที่แนะนำ ทำให้อัตราการเดินพ่น อัตราการไหลของสาร แรงดันที่ใช้ (เพื่อให้ได้ขนาดละอองสารที่พอเหมาะที่จะไม่ให้เกิดการฟุ้งกระจายของละอองสาร)แตกต่างกัน กล่าวคือ การพ่นที่ใช้หัวฉีดแบบรูปพัด (flat fan 110) จะใช้อัตราการไหล 770 มล./นาที และต้องเดินด้วยความเร็ว 200 วินาที / 100 เมตร ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสะพายหลังใช้หัวฉีดแบบแรงปะทะ (impack) จะใช้อัตราการไหล 1,300 มล./นาที ใช้ความเร็วการเดินพ่น 200 วินาที / 100 เมตร ขณะที่การพ่นตามวิธีเกษตรกรโดยใช้เครื่องพ่นสะพายหลัง หัวฉีดแบบกรวย (cone) ถ้าต้องการอัตราการพ่นที่ 40 ลิตรต่อไร่ และให้ได้อัตราความเข้มข้นของสารตามคำแนะนำ จะใช้ความเร็วในการเดิน 200 วินาที / 100 เมตร ใช้อัตราการไหลถึง 2150 มล. / นาที แต่ถ้าการพ่นตามวิธีเกษตรกรใช้หัวฉีดรูปพัดเดินด้วยความเร็ว 149 วินาที/100 เมตร จะต้องใช้อัตราสารละลายพ่นถึง 90 ลิตร / ไร่ และจะทำให้ความเข้มข้นของสารเคมีเพิ่มสูงขึ้นจาก 300 กรัมเป็น 540 กรัมของสารออกฤทธิ์ / ไร่

ผลของการพ่นสารกำจัดวัชพืชต่อความเป็นพิษและการควบคุมวัชพืช

การพ่นโดยใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine ที่ระยะ 15 วันหลังการงอกของวัชพืชและข้าวโพด ซึ่งเกษตรกรนิยมพ่นกัน และถูกต้องตามคำแนะนำ ที่อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ การพ่นด้วยเครื่องพ่นแรงเหวี่ยง (CDA) หรือเครื่องพ่นแบบสะพายหลังที่ใช้หัวฉีดแบบต่างๆในทุกกรรมวิธีตามอัตราที่แนะนำหรือวิธีที่เกษตรกรพ่นในอัตราสูง ไม่มีผลความเป็นพิษต่อการงอกหรือการเจริญเติบโตของข้าวโพด จากการตรวจที่ระยะ 15 30 และ 45 วันหลังปลูก เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารกำจัดวัชพืช (ตารางที่ 6)

ในด้านการควบคุมวัชพืช การพ่นด้วยเครื่องพ่นสะพายหลัง ใช้อัตราสารละลายพ่น 40 ลิตรต่อไร่ ใช้หัวฉีดพ่นสารละลายรูปพัดหรือแบบแรงปะทะ ที่ให้ความเข้มข้นของสารละลายและละอองสารขนาดเล็กสม่ำเสมอ ให้การควบคุมวัชพืชได้ในระดับดีถึงดีมากใกล้เคียงกัน การพ่นด้วยเครื่องพ่นแบบแรงเหวี่ยง (CDA) ให้การควบคุมวัชพืชได้ระดับดี แต่ก็มีวัชพืชบางชนิดงอกขึ้นมาได้บ้างแต่ก็มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งของวัชพืชน้อยกว่าการไม่มีการกำจัดวัชพืชมาก ส่วนการพ่นที่ใช้หัวฉีดแบบกรวยที่ใช้อัตราพ่น 40 หรือ 60 ลิตร/ไร่ ของวิธีเกษตรกร จะให้ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชด้อยกว่าการพ่นที่ใช้หัวฉีดรูปพัดหรือแบบแรงปะทะเล็กน้อย จากการเปรียบเทียบชนิด จำนวนต้น และน้ำหนักแห้งของวัชพืช ที่สุ่มเก็บในช่วง 30 วันหลังการพ่นสาร กับกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นสารหรือไม่มีการกำจัดวัชพืชที่มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งสูงกว่ามาก (ตาราง 6 และ 7)

ผลของการพ่นสารกำจัดวัชพืชต่อผลผลิตข้าวโพด

จากการสุ่มเก็บผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อนในแต่ละกรรมวิธี(ตารางที่ 8) การพ่นด้วยเครื่องพ่นสะพายหลัง ใช้หัวฉีดรูปพัดหรือแบบแรงปะทะ ที่ให้การควบคุมวัชพืชได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่น ให้ผลผลิตของข้าวโพด

ฝักอ่อนได้สูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆเช่นเดียวกัน กล่าวคือ การพ่นโดยใช้หัวฉีดแบบรูปพัด(flat fan 110)และแบบแรงปะทะ(impack 1 และ 2) ให้ผลผลิตน้ำหนักข้าวโพดฝักอ่อนรวมเปลือก 2817 2572 และ 2509 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ การพ่นด้วยเครื่องพ่นแรงเหวี่ยง CDA ได้ผลผลิต 2418 กิโลกรัม ขณะที่การพ่นใช้หัวฉีดแบบกรวยที่อัตรา 40 ลิตร อัตราความเข้มข้นของสารตามคำแนะนำ และการพ่นด้วยหัวฉีดรูปพัดตามวิธีเกษตรกรที่อัตราความเข้มข้นของสารสูง ให้ผลผลิตต่ำกว่าที่ 2345 และ 2218 กิโลกรัม/ไร่ตามลำดับ แต่ก็สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการกำจัดวัชพืช ที่ได้ผลผลิต 2163 กิโลกรัม

หมายเหตุ ; การทดลองซ้ำในช่วงฤดูฝน ปี 2548 จะทำการศึกษาผลตกค้างของสารกำจัดวัชพืชในข้าวโพดฝักอ่อน จากการพ่นสารในอัตราต่างๆกัน

สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองทั้งสองแปลง สามารถสรุปได้ดังนี้

- การพ่นสารกำจัดวัชพืชผสม alachlor + atrazine ก่อนการงอกของวัชพืชและข้าวโพดหรือพ่นสารกำจัดวัชพืช atrazine ที่ ระยะ 15 วันหลังการงอกของวัชพืชและข้าวโพด ไม่มีผลความเป็นพิษต่อการงอกและการเจริญเติบโตของข้าวโพด
- การพ่นสารกำจัดวัชพืชดังกล่าวโดยใช้เครื่องพ่นแบบสะพายหลัง ใช้หัวฉีดพ่นรูปพัดหรือแบบแรงปะทะ ตามวิธีการพ่นที่ถูกต้อง จะทำให้ได้ความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชอย่างสม่ำเสมอตามอัตราที่แนะนำ และสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี และได้ผลผลิตข้าวโพดที่สูงกว่าการไม่มีการกำจัดวัชพืชมาก
- การพ่นตามวิธีของเกษตรกรที่มีการใช้หัวฉีดรูปกรวย ที่ทำให้ไม่มีความสม่ำเสมอของสารละลายที่พ่นลงบนดินหรือบนพืช ถึงแม้จะไม่ปรากฏความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อต้นข้าวโพด แต่ก็เห็นว่า การพ่นด้วยวิธีดังกล่าวทำให้มีปริมาณการใช้สารสูงกว่าคำแนะนำ ใช้ปริมาณน้ำมากเกินความจำเป็น ทำให้สูญเสียค่าใช้จ่ายมากขึ้น นอกจากนี้การพ่นในอัตราสูงดังกล่าวที่มีการใช้น้ำในปริมาณมาก แต่ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชกลับด้อยกว่าและได้ผลผลิตต่ำกว่าการใช้เครื่องพ่นสะพายหลังโดยใช้หัวฉีดแบบรูปพัดหรือแบบแรงปะทะที่พ่นสารออกมาอย่างมีความเข้มข้นสม่ำเสมอ

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2538. การควบคุมวัชพืชในข้าวโพด คำแนะการควบคุมวัชพืช กลุ่มวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 144 หน้า

ทวี แสงทอง เทวา เมาลานนท์ และ อลงกรณ์ กรณ์ทอง 2539. ประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ผสมพ่นก่อนการงอกของวัชพืชในข้าวโพด เอกสารการโรเนียว 8 หน้า

ทวี แสงทอง 2544. ประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชต่อวัชพืชและผลผลิตข้าวโพด เอกสารการประชุมวิชาการข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 30 จังหวัดอุบลราชธานี หน้า 62

ตารางที่ 1 .ข้อมูลการใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืช อ.เมือง จ.นครปฐม , 2547.

กรรมวิธี	Alachlor+Atrazine	อัตราพ่น	แรงดัน	อัตราการไหล	ความเร็ว	ความเร็ว	ค่าสารวัชพืช
	g(ai)/rai	(L/rai)	bar	ml./sec.	m./sec.	sec./100 m	บาท/ไร่
1. CDA	250+200	11	-	400	0.84	119	105
2. Knapsack(flat fan 110)	250+200	40	4	770	0.54	185	105
3. Knapsack(impack)	250+200	40	4	1300	0.88	113	105
4. Knapsack(flat even)	250+200	40	2	800	0.57	175	105
5. Knapsack(cone 1)เกษตรกร	250+200	40	2	1250	0.66	151	105
6. Knapsack(cone 2)เกษตรกร	375+300	60	2	2150	0.67	149	172
7.weeding 20 วันหลังปลูก	-	-	-	-	-	-	500
8.check	-	-	-	-	-	-	-

พ่นสาร1 วันหลังปลูก (พ่นก่อนการงอกของวัชพืชและข้าวโพด)

ตารางที่ 2. ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อความเป็นพิษ การควบคุมวัชพืชที่ 15 30 45 วันหลังปลูก อ.เมือง จ.นครปฐม , 2547.

กรรมวิธี	อัตราพ่น	Alachlor+Atrazine	แรงดัน	ความเป็นพิษ 0 - 10			การควบคุม 0 - 10		
	(L/rai)	g(ai)/rai	bar	15	30	45	15	30	45
1. CDA	11	250+200	-	0	0	0	8.7	8.5	8.0
2. Knapsack(flat fan 110)	40	250+200	4	0	0	0	8.9	8.3	8.0
3. Knapsack(impack)	40	250+200	4	0	0	0	8.7	8.6	8.0
4. Knapsack(flat even)	40	250+200	2	0	0	0	8.7	8.5	7.8
5. Knapsack(cone 1)	40	250+200	2	0	0	0	7.8	7.5	7.2
6. Knapsack(cone 2)	60	375+300	2	0	0	0	7.0	6.8	6.0
7.weeding 20 DAP	-	-	-	0	0	0	8.9	7.0	6.5
8.check	-	-	-	0	0	0	0	0	0

ความเป็นพิษ 0 = ไม่เป็นพิษต่อพืช 10 = พืชตาย

การควบคุม 0 = ไม่ควบคุมวัชพืช 10 = ควบคุมวัชพืชได้ดีมาก

ตารางที่ 3. ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อ ชนิด จำนวนต้น น้ำหนักแห้งของวัชพืชที่ 30 วันหลังปลูก อ.เมือง จ.นครปฐม , 2547.

กรรมวิธี	อัตราพ่น (L/rai)	Alachlor+Atrazine g(ai)/rai	จำนวนต้น (นำหนักแห้ง กรัม) / ตารางเมตร				
			นกสีชมพู	ตีนกา	ตีนนก	ผักเบี้ยหิน	แห้วหมู
1. CDA	11	250+200	10 (1.70)	0 (0)	0 (0)	3(2.08)	10(2.98)
2. Knapsack(flat fan 110)	40	250+200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2(2.68)	0 (0)
3. Knapsack(impack)	40	250+200	0 (0)	0 (0)	2.(0.04)	0 (0)	2(0.04)
4. Knapsack(flat even)	40	250+200	0 (0)	3 (0.15)	0 (0)	2(0.87)	6(1.66)
5. Knapsack(cone 1)	40	250+200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8(6.38)	8(2.00)
6. Knapsack(cone 2)	60	375+300	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6(35.40)	0 (0)
7.weeding 20 DAP	-		0 (0)	6(3.50)	6(0.72)	8(12.20)	6(1.66)
8.check	-		0 (0)	12(19.74)	0 (0)	68(66.99)	2(1.48)

ตารางที่ 4. ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน อ.เมือง จ.นครปฐม , 2547.

กรรมวิธี	อัตราพ่น	Alachlor+Atrazine	จำนวนต้น	จำนวนฝัก	จำนวนฝัก	น้ำหนักฝัก กก (ทั้งเปลือก)	
	(L/rai)	g(ai)/rai	/ 9.6 ม	/ 9.6 ม	/ ไร่	9.6 ม.	1 ไร่
1. CDA	11	250+200	97	198	33000	10.9	1816.6
2. Knapsack(flat fan 110)	40	250+200	96	248	41333	14.5	2416.6
3. Knapsack(impack)	40	250+200	103	225	37500	12.2	2.33.3
4. Knapsack(flat even)	40	250+200	87	176	29333	10.9	1818.6
5. Knapsack(cone 1)	40	250+200	92	158	26333	7.0	1166.6
6. Knapsack(cone 2)	60	375+300	83	132	22000	5.6	933.3
7.weeding 20 DAP	-	-	100	182	30666	9.2	1533.3
8.check	-	-	98	115	19166	4.6	766.6

ตารางที่ 5 .ข้อมูลการใช้เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืช อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี , 2547.

กรรมวิธี	อัตราพ่น (L/rai)	Atrazine g(ai)/rai	แรงดัน bar	อัตราการไหล ml./sec.	ความเร็ว m./sec.	ความเร็ว sec./100 m	ค่าสารวัชพืช บาท/ไร่
1. CDA	11	300	-	480	0.75	133	50
2. Knapsack(flat fan 110)	40	300	2	770	0.50	200	50
3. Knapsack(impack)	40	300	2	1300	0.50	200	50
4. Knapsack(impack 2)	40	300	2	1300	0.50	200	50
5. Knapsack(cone เกษตรกร)	40	300	3	2150	0.50	200	50
6. Knapsack(fan เกษตรกร)	90	540	-	1800	0.67	149	81
7.check	-	-	-	-	-	-	-

พ่นสารที่ 15 วันหลังปลูก/หลังวัชพืชงอก

ตารางที่ 6. ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อความเป็นพิษ การควบคุมวัชพืชที่ 15 30 45 วันหลังปลูก อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี , 2547.

กรรมวิธี	อัตราพ่น	Atrazine	อัตราการไหล	ความเร็ว	ความเป็นพิษ 0 - 10			การควบคุม 0 - 10		
	(L/rai)	g(ai)/rai	ml./sec.	m./sec.	15	30	45	15	30	45
1. CDA	11	300	480	0.84	0	0	0	7.2	6.8	6.0
2. Knapsack(flat fan 110)	40	300	770	0.54	0	0	0	8.2	8.0	7.5
3. Knapsack(impack)	40	300	1300	0.88	0	0	0	8.5	8.1	7.6
4. Knapsack(impack 2)	40	300	1300	0.57	0	0	0	8.3	8.0	7.5
5. Knapsack(coneเกษตรกร)	40	300	2150	0.66	0	0	0	7.8	7.2	6.0
6. Knapsack(fan เกษตรกร)	90	540	1800	0.67	0	0	0	7.9	7.5	7.0
7.check	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0

ความเป็นพิษ 0 = ไ ม่เป็นพิษต่อพืช 10 = พืชตาย

การควบคุม 0 = ไม่ควบคุมวัชพืช 10 = ควบคุมวัชพืชได้ดีมาก

ตารางที่ 7. ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อ ชนิด จำนวนต้น น้ำหนักแห้งของวัชพืชที่ 30 วันหลังปลูก อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี , 2547.

กรรมวิธี	อัตราพ่น (L/rai)	Atrazine g(ai)/rai	จำนวนต้น (น้ำหนักแห้ง กรัม) / ตารางเมตร				
			นกสีชมพู	ตีนติด	ตีนกา	หญ้ายาง	แห้วหมู
1. CDA	11	300	1 (0.24)	24 (7.24)	0 (0)	20 (9.56)	0 (0)
2. Knapsack(flat fan 110)	40	300	0 (0)	8 (2.66)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
3. Knapsack(impack 1)	40	300	0 (0)	12 (0.40)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
4. Knapsack(impack 2)	40	300	0 (0)	8 (5.36)	4 (0.64)	0 (0)	0 (0)
5. Knapsack(coneเกษตรกร)	40	300	0 (0)	12 (2.12)	0 (0)	4 (0.60)	0 (0)
6. Knapsack(fan เกษตรกร)	90	540	0 (0)	48 (12.76)	0 (0)	4 (0.16)	4 (3.40)
7.check	-	-	0 (0)	28(1.76)	5 (1.05)	96(58.92)	0 (0)

ตารางที่ 8. ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อผลผลิตข้าวโพดฝักอ่อน อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี , 2547.

กรรมวิธี	อัตราพ่น	Atrazine	จำนวนต้น	จำนวนฝัก	น้ำหนักฝัก กก.(รวมเปลือก)	
	(L/rai)	g(ai)/ไร่	/ ไร่	/ ไร่	9.6 ม	1 ไร่
1. CDA	11	300	8818	31813	14.50	2418
2. Knapsack(flat fan 110)	40	300	9272	37087	16.90	2817
3. Knapsack(impack)	40	300	8546	35996	16.03	2572
4. Knapsack(impack 2)	40	300	9090	25997	15.05	2509
5. Knapsack(coneเกษตรกร)	40	300	8545	29452	14.07	2345
6. Knapsack(fan เกษตรกร)	90	540	9272	33451	13.31	2218
7.check	-	-	8545	32178	12.97	2163

การหาช่วงเวลาและอัตราสารกำจัดวัชพืชที่เหมาะสมในการควบคุมวัชพืชในกระเจี๊ยบเขียว

Evaluation of Time and Rate of Herbicide on Weed Control in Okra

คมสัน นครศรี ปัญญา พุกสุ่น พัชรินทร์ วณิชย์อนันตกุล
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การจัดการวัชพืชในกระเจี๊ยบเขียวเพื่อหาเวลาและอัตราการใช้สารกำจัดวัชพืชที่เหมาะสม วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ ประกอบด้วยสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก alachlor อัตรา 240, 280 และ 320 กรัมai/ไร่ oxyfluorfen อัตรา 36, 42 และ 48 กรัมai/ไร่ สาร pendimethalin อัตรา 280, 320 และ 360 กรัมai/ไร่ และ oxadiazon อัตรา 80, 120 และ 160 กรัมai/ไร่ สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก fluazifop-buty อัตรา 30, 50 และ 70 กรัมai/ไร่ quizalofop-p-turfuryl อัตรา 10, 12 และ 14 กรัมai/ไร่ haloxyfop-methyl อัตรา 20, 30 และ 40 กรัมai/ไร่ เปรียบเทียบกับวิธีการถอนวัชพืชด้วยมือ และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จ. กาญจนบุรี พบว่า สาร alachlor และ pendimethalin ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว แต่สาร oxyfluorfen และ oxadiazon เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวค่อนข้างมาก สารทั้ง 4 ชนิดมีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชได้ดี สำหรับผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว การใช้สาร alachlor และ pendimethalin ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันกับการถอนวัชพืชด้วยมือ โดยให้ผลผลิตกระเจี๊ยบเขียวอยู่ระหว่าง 1681.2-2001.4 และ 1802.1-2023.4 กิโลกรัม/ไร่ ขณะการถอนวัชพืชด้วยมือให้ผลผลิต 2025.9 กิโลกรัม/ไร่ สำหรับการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก fluazifop-butyl, quizalofop-p-turfuryl, haloxyfop-methyl และ fenoxaprop-p-ethyl ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว และสามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้ผลดี การใช้สารประเภทหลังวัชพืชงอกทุกอัตราให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันกับวิธีการถอนวัชพืชด้วยมือ กล่าวคือ สาร fluazifop-butyl, quizalofop-p-turfuryl, haloxyfop-methyl และ fenoxaprop-p-ethyl ให้ผลผลิตอยู่ระหว่าง 1969.9-2274.4, 2038.8-2371.0, 1795.5-1985.5 และ 1905.4-2055.5 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ ขณะวิธีถอนวัชพืชด้วยมือให้ผลผลิต 2316.4 กิโลกรัม/ไร่

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0104-02

1 ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชผักส่งออกที่ทำรายได้เข้าประเทศอีกชนิดหนึ่ง การส่งออกในรูปฝักสดร้อยละ 95 ของปริมาณการส่งออกทั้งหมดส่งไปยังประเทศญี่ปุ่น นอกนั้นส่งออกในรูปแช่แข็งและบรรจุกระป๋องในน้ำ เกลือ แหล่งปลูกกระเจี๊ยบเขียวที่สำคัญ ได้แก่ สมุทรสาคร ราชบุรี กาญจนบุรี นครปฐม อ่างทอง สุพรรณบุรี จันทบุรี เชียงใหม่ และ สระแก้ว (ภัสรา และคณะ,2548) กระเจี๊ยบเขียวสามารถปลูกได้ตลอดปี อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 20-30 องศาเซลเซียส ขึ้นได้ดีในดินเกือบทุกชนิด แต่ไม่ชอบดินที่มีน้ำขังแฉะหรือดินระบายน้ำยาก และดินควรมี pH อยู่ระหว่าง 6.0-6.8 เนื่องจากกระเจี๊ยบเขียวมีความต้องการความชื้นปานกลาง เกษตรกรผู้ปลูกจะต้องให้น้ำกระเจี๊ยบเขียวตลอดฤดูปลูก การให้น้ำมีทั้งให้แบบตามร่องและแบบสปริงเกลอร์ (นิรนาม,2548) สภาพการให้น้ำดังกล่าวจะช่วยส่งเสริมให้เมล็ดวัชพืชงอกและเจริญเติบโตได้เร็วขึ้น วัชพืชเหล้านี้จะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตตลอดจนเป็นที่อยู่อาศัยของโรคและแมลงศัตรูพืชที่จะเกิดผลเสียหายกับกระเจี๊ยบเขียว การจัดการวัชพืชด้วยแรงงานคนอาจทำได้ช้าและต้นทุนสูง (นรินาม,2538) ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืช จะทำได้รวดเร็วกว่าและใช้แรงงานน้อยกว่า ซึ่งการใช้สารกำจัดวัชพืชจะมีทั้งประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกและประเภทใช้หลังวัชพืชงอกแล้ว (เกลียวพันธ์ และคณะ,2527) เช่น การใช้ alachlor พ่นคลุมดินก่อนปลูกและก่อนวัชพืชงอก ใน คะน้า กวางตุ้ง ผักกาดหัว และ ถั่วลันเตา หรือ การใช้ fluazifop-butyl พ่นหลังพืชปลูกและวัชพืชงอกแล้ว เช่น ในระหว่างแถวของหน่อไม้ฝรั่ง (นรินาม,2538) ดังนั้นจึงได้ศึกษาการใช้สารประเภทก่อนวัชพืชงอก ได้แก่ alachlor, oxyfluorfen, pendimethalin และ oxadiazon สารประเภทใช้หลังวัชพืชงอก ได้แก่ fluazifop-butyl, quizalofop-p-turfuryl, haloxyfop-methyl และ fenoxaprop-p-ethyl เพื่อหาเวลาและอัตราการใช้สารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืช เพื่อใช้แนะนำให้กับเกษตรกรผู้ปลูกกระเจี๊ยบเขียวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ ประกอบด้วย

1. เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
2. สารกำจัดวัชพืช alachlor 48 %EC, oxyfluorfen 24%EC, pendimethalin 33%EC, oxadiazon 25%EC, fluazifop-butyl 15%EC, quizalofop-p-turfuryl 6%EC, haloxyfop-methyl 25.5%EC และ fenoxaprop-p-ethyl 7.5%EW
3. ปุ๋ยเคมี สูตร 15-15-15
4. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลง

วิธีการ วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ ประกอบการใช้สารกำจัดวัชพืช 2 ระยะ คือ ประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก และ ประเภทใช้หลังวัชพืช มีกรรมวิธีการทดลอง 14 กรรมวิธี ดังนี้

สารกำจัดวัชพืชใช้ก่อนวัชพืชงอก		สารกำจัดวัชพืชใช้หลังวัชพืชงอก	
alachlor	อัตราการใช้ 240 กรัมai/ไร่	fluazifop-butyl	อัตราการใช้ 30 กรัมai/ไร่
alachlor	อัตราการใช้ 280 กรัมai/ไร่	fluazifop-butyl	อัตราการใช้ 50 กรัมai/ไร่
alachlor	อัตราการใช้ 320 กรัมai/ไร่	fluazifop-butyl	อัตราการใช้ 70 กรัมai/ไร่
oxyfluorfen	อัตราการใช้ 36 กรัมai/ไร่	quizalofop-p-turfuryl	อัตราการใช้ 10 กรัมai/ไร่
oxyfluorfen	อัตราการใช้ 42 กรัมai/ไร่	quizalofop-p-turfuryl	อัตราการใช้ 12 กรัมai/ไร่
oxyfluorfen	อัตราการใช้ 48 กรัมai/ไร่	quizalofop-p-turfuryl	อัตราการใช้ 14 กรัมai/ไร่
pendimethalin	อัตราการใช้ 280 กรัมai/ไร่	haloxyfop-methyl	อัตราการใช้ 20 กรัมai/ไร่
pendimethalin	อัตราการใช้ 320 กรัมai/ไร่	haloxyfop-methyl	อัตราการใช้ 30 กรัมai/ไร่
pendimethalin	อัตราการใช้ 360 กรัมai/ไร่	haloxyfop-methyl	อัตราการใช้ 40 กรัมai/ไร่
oxadiazon	อัตราการใช้ 80 กรัมai/ไร่	fenoxaprop-p-ethyl	อัตราการใช้ 20 กรัมai/ไร่
oxadiazon	อัตราการใช้ 120 กรัมai/ไร่	fenoxaprop-p-ethyl	อัตราการใช้ 30 กรัมai/ไร่
oxadiazon	อัตราการใช้ 160 กรัมai/ไร่	fenoxaprop-p-ethyl	อัตราการใช้ 40 กรัมai/ไร่
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-
ไม่กำจัดวัชพืช	-	ไม่กำจัดวัชพืช	-

ภายหลังการเตรียมดินทำการยกร่องขนาด 50 เซนติเมตร ห่างกัน 1 เมตร ปลูกกระเจี๊ยบเขียวบริเวณไหล่ร่อง หลุมละ 3 เมล็ดต่อหลุม จะได้ระยะปลูก 50x50 เซนติเมตร หลังปลูกพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก ตามอัตราที่กำหนด จึงปล่อยน้ำตามร่อง หลังปลูกได้ 7 วัน ถอนแยกให้เหลือหลุมละ 2 ต้น ส่วนสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืช ใช้เมื่อกระเจี๊ยบเขียวงอกแล้ว 15 วัน และถอนวัชพืชด้วยมือหลังปลูก 21 วัน

บันทึกความเป็นพิษ ประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช น้ำหนักวัชพืชแห้ง ความสูงหลังปลูก 30 วัน ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จ. กาญจนบุรี ระหว่างเดือนเมษายน-สิงหาคม 2548

ผลการทดลองและวิจารณ์

สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก

การประเมินความเป็นพิษ และ ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชหลังการพ่นสาร 15 วัน พบว่า สาร alachlor และ pendimethalin ทุกอัตราไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว ส่วน oxadiazon มีพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวปานกลาง ขณะ oxyfluorfen เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวค่อนข้างมาก (ตารางที่ 1) เสริมศิริ และ คณะ(2528) รายงานการใช้สาร oxyfluorfen และ oxadiazon พ่นคลุมดินก่อนย้ายปลูกกะหล่ำปลี 1 วัน พบว่า การใช้ oxyfluorfen อัตรา 48 กรัมai/ไร่ กะหล่ำปลีไม่แสดงอาการเป็นพิษแต่ถ้าใช้อัตรา 60 กรัม ai/ไร่ กะหล่ำปลีแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยหลังย้ายปลูก 2 สัปดาห์ ส่วน oxadiazon อัตรา 160 และ 320 กรัมai/ไร่ ไม่เป็นพิษต่อกะหล่ำปลีเลย แสดงให้เห็นว่า การใช้ oxyfluorfen และ oxadiazon เพื่อไม่ให้เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวควรจะต้องพ่นคลุมดินก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียวตาม สำหรับประสิทธิภาพ พบว่า สาร pendimethalin ควบคุมวัชพืชได้ค่อนข้างสมบูรณ์ ส่วนสาร alachlor, oxyfluorfen และ oxadiazon ควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 1) สอดคล้องกับการรายงานของ เสริมศิริและคณะ(2528)

ส่วนน้ำหนักวัชพืชแห้ง พบว่า สาร pendimethalin อัตรา 320 และ 360 กรัม ai/ไร่ มีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อย ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีการถอนวัชพืชด้วยมือ รองลงไป คือ การใช้สาร pendimethalin อัตรา 280 กรัมai/ไร่ และ oxyfluorfen ทุกอัตรา (ตารางที่ 2) เนื่องจาก สาร pendimehtalin และ oxyfluorfen ควบคุมวัชพืชได้ค่อนข้างสมบูรณ์ และค่อนข้างดีตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนความสูงของกระเจี๊ยบเขียวต่ำกว่าเมื่อใช้สาร oxyfluorfen (ตารางที่ 2) เนื่องจากสาร oxyfluorfen มีพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวค่อนข้างมาก (ตารางที่ 1) จึงมีผลทำให้กระเจี๊ยบเขียวเจริญเติบโตช้า สำหรับผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียว พบว่า การใช้สาร alachlor และ pendimethalin ทุกอัตรา ให้ผลผลิตกระเจี๊ยบเขียวไม่แตกต่างกับวิธีการถอนวัชพืชด้วยมือ กล่าวคือ alachlor อัตรา 240, 280 และ 320 กรัมai/ไร่ ให้ผลผลิต 1969.0, 2001.4 และ 1681.2 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ สาร pendimethalin อัตรา 280, 320 และ 360 กรัมai/ไร่ ให้ผลผลิต 1802.1, 2023.4 และ 1940.5 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ และการถอนวัชพืชด้วยมือให้ผลผลิต 2025.9 กิโลกรัม/ไร่

สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก

เนื่องจากสารประเภทใช้หลังวัชพืชงอกเป็นสารควบคุมวัชพืชใบแคบในพืชปลูกใบกว้าง สารประเภทนี้จึงไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว (พรชัย,2540) สำหรับประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสาร fluazifop-butyl, quizalofop-p-turfuryl, haloxyfop-methyl และ fenoxaprop-p-ethyl ทุกอัตรา พบว่าสามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้ดีมาก (ตารางที่ 3) ขณะเดียวกันการปลูกกระเจี๊ยบเขียวระยะ 50x50 เซนติเมตร จำนวน 2 ต้นต่อหลุม และกระเจี๊ยบเขียวเป็นต้นเตี้ย ซึ่งพบว่าหลังปลูกได้ 30 วัน ทรงพุ่ม

ของกระเจี๊ยบเขียวสามารถคลุมพื้นที่ได้ดีทำให้เกิดร่มเงาภายใต้ทรงพุ่มจึงมีส่วนช่วยในการควบคุมวัชพืชทั้งใบแคบและใบกว้างได้มากขึ้น

สำหรับน้ำหนักวัชพืชแห้ง พบว่า โดยภาพรวม สาร fluazifop-butyl, quizalofop-p-turfuryl, haloxyfop-methyl และ fenoxaprop-p-ethyl แต่ละอัตรามีน้ำหนักวัชพืชแห้งไม่แตกต่างกัน และสารกำจัดวัชพืชทั้ง 4 ชนิด การใช้ในอัตราสูงจะให้น้ำหนักวัชพืชแห้งไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) ส่วนความสูงของกระเจี๊ยบเขียว พบว่า สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดทุกอัตรามีความสูงของกระเจี๊ยบเขียวไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) สำหรับผลผลิต พบว่า การใช้สารทุกชนิดทุกอัตรามีผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียวไม่แตกต่างกันกับการถอนวัชพืชด้วยมือ กล่าวคือ สาร fluazifop-butyl, quizalofop-p-turfuryl, haloxyfop-methyl และ fenoxaprop-p-ethyl มีผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียวอยู่ระหว่าง 1969.9-2274.4, 2038.8-2371.0, 1795.5-1985.5 และ 1905.4-2055.5 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ ขณะวิธีการถอนวัชพืชด้วยมือมีผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว 2316.4 กิโลกรัม/ไร่ (ตารางที่ 4)

สรุป

การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก ได้แก่ สาร alachlor และ pendimethalin ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว ส่วนสาร oxyfluorfen และ oxadiazon เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวค่อนข้างมาก สารทั้ง 4 ชนิดมีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชได้ดี สำหรับผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว การใช้สาร alachlor และ pendimethalin ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันกับการถอนวัชพืชด้วยมือ กล่าวคือ สาร alachlor และ pendimethalin ให้ผลผลิตกระเจี๊ยบเขียวอยู่ระหว่าง 1681.2-2001.4 และ 1802.1-2023.4 กิโลกรัม/ไร่ ขณะการถอนวัชพืชด้วยมือให้ผลผลิต 2025.9 กิโลกรัม/ไร่ สำหรับการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก ได้แก่ สาร fluazifop-butyl, quizalofop-p-turfuryl, haloxyfop-methyl และ fenoxaprop-p-ethyl ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว และสามารถควบคุมวัชพืชใบแคบได้ดี ส่วนผลผลิตกระเจี๊ยบเขียวในการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกทุกอัตราให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันกับวิธีการถอนวัชพืชด้วยมือ กล่าวคือ สาร fluazifop-butyl, quizalofop-p-turfuryl, haloxyfop-methyl และ fenoxaprop-p-ethyl ให้ผลผลิตอยู่ระหว่าง 1969.9-2274.4, 2038.8-2371.0, 1795.5-1985.5 และ 1905.4-2055.5 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ ขณะวิธีถอนวัชพืชด้วยมือให้ผลผลิต 2316.4 กิโลกรัม/ไร่

เอกสารอ้างอิง

เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ เสริมศิริ คงแสงดาว และ เสรี ทรงศักดิ์. 2527. การควบคุมวัชพืชในสวนผัก. หน้า 237-241. *ใน*: วิทยาการวัชพืช สมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย. เอกสารวิชาการเลขที่ 1.

นรินาม.2538. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช 2538. กลุ่มวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 144 หน้า.

นิรนาม. 2548. กระเจี๊ยบเขียว. http://doae.go.th/plant/kajeab.html. วันที่ 6 กรกฎาคม 2548.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540. วัชพืชศาสตร์. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 585 หน้า.

ภัสรา ชวประดิษฐ์ ปิยรัตน์ เขียนมีสุข และนิยมรัฐ ไตรศรี. 2548. กระเจี๊ยบเขียว. http://doae.go.th/library/html/detail/okra/. วันที่ 6 กรกฎาคม 2548.

เสริมศิริ คงแสงดาว เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ และ ชัยวัฒน์ วัฒนไชย. 2528. การศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกในกะหล่ำปลี. หน้า 473-479. *ใน*: รายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2528กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร.

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก (pre-emergence)

หลังพ่น 15 วัน

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	คะแนนความเป็นพิษ[1]	คะแนนประสิทธิภาพ[2]
Alachlor	240	0	7.2
Alachlor	280	0	8.5
Alachlor	320	0	9.3
Oxyfluorfen	36	6.7	9.5
Oxyfluorfen	42	5.0	9.2
Oxyfluorfen	48	7.0	9.5
Pendimethalin	280	0	9.8
Pendimethalin	320	0	9.8
Pendimethalin	360	0	9.8
Oxadiazon	80	3.7	6.3
Oxadiazon	120	5.0	7.2
Oxadiazon	160	5.3	7.2
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	-	10
ไม่กำจัดวัชพืช	-	-	-

1/ คะแนนความเป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว

0 = ไม่เป็นพิษ

1-3 = เป็นพิษเล็กน้อย

4-6 = เป็นพิษปานกลาง

7-9 = เป็นพิษมาก

10 = เป็นพิษตายหมด

2/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้

1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย

4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก (post-emergence) หลังพ่น 15 วัน

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	คะแนนประสิทธิภาพ[1]
Fluazifop-butyl	30	8.8
Fluazifop-butyl	50	7.8
Fluazifop-butyl	70	7.7
Quizalofop-p-turfuryl	10	7.7
Quizalofop-p-turfuryl	12	8.8
Quizalofop-p-turfuryl	14	8.5
Haloxyfop-methyl	20	7.3
Haloxyfop-methyl	30	8.7
Haloxyfop-methyl	40	8.0
Fenoxaprop-p-ethyl	20	9.2
Fenoxaprop-p-ethyl	30	7.5
Fenoxaprop-p-ethyl	40	7.3
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	9.7
ไม่กำจัดวัชพืช	-	

1/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้

1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เล็กน้อย

4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 3 น้ำหนักแห้งวัชพืช ความสูงที่ 30 วัน หลังปลูก และผลผลิต (กก./ไร่) ของกระเจี๊ยบเขียวที่ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก (pre-emergence)

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	น้ำหนักวัชพืชแห้ง[2] (กรัม/ตร.ม.)	ความสูง (ซม.)	ผลผลิต (กก./ไร่)
Alachlor	240	270.7j [1]	30.8b [1]	1969.0a [1]
Alachlor	280	179.1h	28.8bc	2001.4a
Alachlor	320	122.8f	26.8cd	1681.2abc
Oxyfluorfen	36	73.0e	17.2f	510.0e
Oxyfluorfen	42	43.6d	16.3fg	698.9e
Oxyfluorfen	48	29.4c	12.9g	459.6e
Pendimethalin	280	15.0b	26.7cd	1802.1ab
Pendimethalin	320	7.7ab	25.8cd	2023.4a
Pendimethalin	360	7.0a	25.4cd	1940.5a
Oxadiazon	80	321.7k	31.7b	1288.2cd
Oxadiazon	120	140.5g	23.2de	824.1de
Oxadiazon	160	199.3i	21.4e	624.0e
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	5.3a	28.0bc	2025.9a
ไม่กำจัดวัชพืช	-	405.8l	41.8a	1396.7bc
CV(%)		33.4	25.5	21.2

1/ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

2/ วัชพืชที่พบในการทดลอง

หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.) Link)

หญ้าตีนติด (*Brachiria reptans* (L.) Gard.&Hubb.)

หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata* Ort.)

ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* Linn.)

ผักโขมหิน (*Boerhavia diffusa* Linn.)

ตารางที่ 4 น้ำหนักแห้งวัชพืช ความสูงที่ 30 วัน หลังปลูก และผลผลิต (กก./ไร่) ของกระเจี๊ยบเขียวที่ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก (post-emergence)

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	น้ำหนักวัชพืชแห้ง[2] (กรัม/ตร.ม.)	ความสูง (ซม.)	ผลผลิต (กก./ไร่)
Fluazifop-butyl	30	49.6bc [1]	37.3b [1]	2274.4a [1]
Fluazifop-butyl	50	129.4cd	37.7b	1969.9ab
Fluazifop-butyl	70	130.3cd	37.9b	2053.7ab
Quizalop-p-turfuryl	10	235.0d	39.3b	2055.2ab
Quizalop-p-turfuryl	12	87.6c	37.9b	2371.0a
Quizalop-p-turfuryl	14	89.0c	38.0b	2038.8ab
Haloxyfop-methyl	20	15.2ab	37.2b	1862.8ab
Haloxyfop-methyl	30	108.2cd	37.9b	1985.5ab
Haloxyfop-methyl	40	113.4cd	36.1b	1795.5ab
Fenoxaprop-p-ethyl	20	46.4bc	35.6bc	2055.5ab
Fenoxaprop-p-ethyl	30	146.0cd	37.5b	1999.6ab
Fenoxaprop-p-ethyl	40	78.6bc	38.9b	1905.4ab
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	2.2a	31.1c	2316.4a
ไม่กำจัดวัชพืช	-	525.0e	47.0a	1660.2b
CV(%)		27.3	7.3	15.0

1/ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

2/ วัชพืชที่พบในการทดลอง

หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.) Link)

หญ้าตีนติด (*Brachiria reptans* (L.) Gard.&Hubb.)

หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata* Ort.)

ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* Linn.)

ผักโขมหิน (*Boerhavia diffusa* Linn.)

ผลกระทบของสารฆ่าแมลง buprofezin ต่อศัตรูธรรมชาติในนาข้าว

Impact of Buprofezin on Natural Enemies in Rice Field

สุวัฒน์ รวยอารีย์ อภิชาติ ลาวัณย์ประเสริฐ[1/] พวงผกา อ่างมณี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

1. คำนำ

เกษตรกรโดยทั่วไปนิยมใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพราะได้ผลดี สะดวก และกำจัดแมลงได้ทันการณ์ แต่สารเคมีได้ก่อให้เกิดผลเสียในระบบนิเวศการปลูกพืชหลายประการ โดยเฉพาะศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืชได้ถูกทำลายไปด้วยเช่นกัน สารฆ่าแมลงทำให้ความหลากหลายของชนิดของแมลง (species diversity) ลดลง ในนาข้าวมีสัตว์จำพวกแมลงมากมายหลายชนิด โดยสามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ คือ พวกกินอินทรียวัตถุ พวกกินพืชเป็นอาหารหรือเป็นแมลงศัตรูพืช พวกตัวห้ำ และแมลงเบียน โดยทั่วไปในสภาพที่ไม่เกิดการระบาดของแมลงศัตรูข้าว สัดส่วนของศัตรูธรรมชาติจะเทียบเท่าหรือมากกว่าปริมาณแมลงศัตรูข้าว การใช้สารฆ่าแมลงที่เป็นอันตรายสูงต่อศัตรูธรรมชาติในนาข้าว จะทำให้โครงสร้างของแมลงในระบบนิเวศนาข้าวเปลี่ยนไป และอาจเกิดการระบาดของแมลงศัตรูข้าวตามมา อนึ่งสารฆ่าแมลงที่ทางราชการแนะนำให้ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวมีมากกว่า 10 ชนิด จึงควรนำสารเหล่านี้มาทดสอบผลกระทบต่อศัตรูธรรมชาติ เพื่อเป็นข้อมูลในการพิจารณาเลือกใช้สารที่ปลอดภัย หรืออันตรายน้อยที่สุดต่อศัตรูธรรมชาติต่อไป สำหรับการทดลองในปี 2547 ได้นำสาร buprofezin (Applaud 10% WP) ซึ่งทางราชการแนะนำให้ใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (โดยเฉพาะตัวอ่อนวัย 1 และ 2) มาศึกษาผลกระทบต่อศัตรูธรรมชาติในนาข้าว ความหลากชนิดของอาร์โทรปอดในนาข้าว และโครงสร้างของแมลงในระบบนิเวศนาข้าว

2. วิธีดำเนินงาน

เป็นการทดลองในสภาพไร่นา ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานีในฤดูนาปรัง ปี 2547 โดยปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 แบบนาหว่านน้ำตม ขนาดแปลงทดลอง 40 x 60 เมตร (1.5 ไร่) ไม่มีการใช้สารฆ่าแมลงใดๆ ในแปลงทดลองในช่วงแรก ใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำของศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี กำจัดวัชพืชโดยใช้มือถอน

หลังปลูกข้าวประมาณ 1 เดือน แบ่งแปลงทดลองออกเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน ขนาดแปลงทดลองแปลงละ 20 x 30 เมตร แปลงแรกไม่ใช้สารฆ่าแมลง ส่วนแปลงที่ 2 ใช้สาร buprofezin (Applaud 10% WP) อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (เป็นอัตราที่ทางราชการแนะนำ) แปลงใช้สารทำการพ่นสาร 3 ครั้ง/ฤดูปลูก พ่นสารแต่ละครั้งห่างกัน 15 วัน

การตรวจผลการทดลอง แปลงใช้สารและแปลงไม่ใช้สารกระทำเหมือนกันทุกประการ ตรวจผลวันเดียวกัน โดยใช้เครื่อง D - vac สุ่มดูดแมลงแปลงละ 8 จุด แต่ละจุดดูดแมลงพื้นที่ 1 x 1 เมตร ตรวจผลก่อนใช้สาร

รหัสกิจกรรม 06-01-47- 0105

1/ ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรที่ 5 ชัยนาท

1 วัน และหลังใช้สาร 1, 3, 7 และ 15 วัน ทุกครั้งที่ใช้สารทำการตรวจผลแบบเดียวกัน ฆ่าแมลงที่ดูดจับได้ด้วย ethyl acetate และนำมาตรวจชนิดและนับจำนวนแมลงทุกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์สองตา โดยพยามยามจำแนกชนิดแมลงให้ถึงระดับ species ให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ บันทึกข้อมูลชนิดและจำนวนแมลงที่ตรวจพบจากการตรวจผลแต่ละครั้งตลอดการทดลอง

นำข้อมูลผลการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยเปรียบเทียบชนิดและปริมาณศัตรูธรรมชาติในแปลงใช้สารและแปลงไม่ใช้สาร วิเคราะห์ผลกระทบของสารต่อศัตรูธรรมชาติ ผลกระทบต่อความหลากชนิดของแมลง รวมทั้งผลต่อโครงสร้างระบบนิเวศของแมลงในนาข้าว

3. ผลงานที่ได้ปฏิบัติมาแล้ว

จากการตรวจผลในแปลงที่ใช้สาร buprofezin (Applaud 10% WP) อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และแปลงไม่ใช้สาร ตลอดการทดลองพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีปริมาณน้อย โดยรวมปริมาณของแมลงในแปลงใช้สารและแปลงไม่ใช้สารใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 1)

ชนิดและปริมาณของศัตรูธรรมชาติ พวกแมลงเบียนในแปลงใช้สารและแปลงไม่ใช้สาร (ตารางที่ 2) แมลงเบียนที่พบมากได้แก่ แตนเบียนไข่ *Mymar taprobanicum* Ward, แตนเบียนหนอน *Opius* sp., แตนเบียนไข่ *Gonatocerus* sp., แตนเบียนไข่ *Anagus optabilis* (Perkins) โดยทั่วไปเปอร์เซ็นต์ของแมลงเบียนดังกล่าวที่พบในแปลงใช้สารและแปลงไม่ใช้สารใกล้เคียงกัน ส่วนชนิดและปริมาณของตัวห้ำที่พบในแปลงใช้สารและแปลงไม่ใช้สาร (ตารางที่ 3) ตัวห้ำที่พบมากได้แก่ มวนเขียวดูดไข่ (*Cyrtorhinus lividipennis* Reuter) แปลงใช้สารพบ 47.86% แปลงไม่ใช้สาร 65.78% ของตัวห้ำทั้งหมด รองลงมาได้แก่ แมงมุมต่างๆ ในนาข้าว แปลงใช้สารพบรวม 34.24% แปลงไม่ใช้สารพบ 24.13% ของตัวห้ำทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ผลกระทบของสาร buprofezin (Applaud 10% WP) ต่อศัตรูธรรมชาติในนาข้าว (ตารางที่ 4) พบว่า สารชนิดนี้จัดอยู่ในระดับไม่เป็นอันตรายต่อแมลงเบียน ส่วนตัวห้ำ พบว่า สารชนิดนี้มีอันตรายเล็กน้อยถึงอันตรายปานกลางเป็นบางครั้งต่อตัวห้ำในนาข้าว

ในด้านผลกระทบต่อความหลากชนิดของอาร์โทรปอดในนาข้าว จากการวิเคราะห์ค่าดัชนีความหลากชนิด (Shannon - Wiener diversity index) ในแปลงใช้สารและแปลงไม่ใช้สาร (ตารางที่ 5) พบว่าดัชนีความหลากชนิดในแปลงใช้สารมีค่าเฉลี่ย 3.192 $\pm$ 0.347 ส่วนแปลงไม่ใช้สารมีค่าเฉลี่ย 3.412 $\pm$ 0.447 โดยดัชนีความหลากชนิดในแปลงใช้สารลดลงโดยรวม 6.45% กล่าวคือ สาร buprofezin (Applaud 10% WP) มีผลกระทบต่อความหลากชนิดของอาร์โทรปอดในนาข้าวเล็กน้อย

สำหรับผลกระทบของสาร buprofezin (Applaud 10% WP) ต่อโครงสร้างของอาร์โทรปอดในระบบนิเวศนาข้าว (รูปที่ 1) พบว่า สัดส่วนของอาร์โทรปอดในแปลงที่ใช้สารและแปลงไม่ใช้สารใกล้เคียงกันมาก อย่างไรก็ตามจะเห็นว่า หลังใช้สารสัดส่วนของแมลงศัตรูข้าวในแปลงใช้สารน้อยกว่าแปลงไม่ใช้สาร แต่สัดส่วนของศัตรูธรรมชาติพวกตัวห้ำและแมลงเบียนในแปลงใช้สารและแปลงไม่ใช้สารแทบไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งแสดงว่าสาร buprofezin (Applaud 10% WP) มีผลในการลดปริมาณแมลงศัตรูข้าว แต่ไม่มีผลหรือมีผลกระทบน้อยมากต่อปริมาณศัตรูธรรมชาติในนาข้าว

4. สรุปผลการทดลอง

ศัตรูธรรมชาติพวกแมลงเบียนที่พบมากในการทดลองนี้ คือ แตนเบียนไข่ *M. taprobanicum*, แตนเบียนหนอน *Opius* sp., แตนเบียนไข่ *Gonatocerus* sp., แตนเบียนไข่ *A. optabilis* ส่วนตัวห้ำที่พบมาก คือ มวนเขียวดูดไข่ และแมงมุมชนิดต่างๆในนาข้าว สาร buprofezin (Applaud 10% WP) จัดอยู่ในระดับไม่เป็นอันตรายต่อแมลงเบียน แต่เป็นอันตรายเล็กน้อย - ปานกลาง ต่อตัวห้ำในนาข้าวเป็นบางครั้ง และสารชนิดนี้มีผลกระทบต่อความหลากชนิดของอาร์โทรปอดในนาข้าวเล็กน้อย (6.45%) นอกจากนี้ยังพบว่าสารดังกล่าวทำให้สัดส่วนของแมลงศัตรูข้าวในระบบนิเวศนาข้าวลดลง แต่ไม่มีผลต่อสัดส่วนของศัตรูธรรมชาติในนาข้าว

อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้เป็นสภาพที่ไม่เกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว และในทางปฏิบัติเกษตรกรไม่มีความจำเป็นต้องใช้สารฆ่าแมลงในนาข้าวแต่อย่างใด

5. ปัญหาและอุปสรรค

-

6. แนวทางแก้ไข

-

7. งานที่ดำเนินการต่อไป

ทำการศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลง bensultap (Bancal 50% WP) ต่อศัตรูธรรมชาติในนาข้าว โดยดำเนินการทดลองแบบเดียวกัน

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugen* (Stål)) ในแปลงข้าวที่ไม่พ่นสารกับแปลงที่พ่นสาร buprofezin (Applaud 10% WP) อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เก็บตัวอย่างแมลงโดยใช้เครื่องดูดแมลง D - vac ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี นาปรัง ปี 2547

วันหลังพ่นสาร	จำนวนแมลง (ตัว/ 8 ตร.ม.)					
	แปลงพ่นสาร			แปลงไม่พ่นสาร		
	ตัวอ่อน	ตัวเต็มวัย	รวม	ตัวอ่อน	ตัวเต็มวัย	รวม
ก่อนพ่นสาร	6	55	61	1	24	25
ใช้สารครั้งที่ 1						
1	10	15	25	7	11	18
3	11	6	17	23	20	43
7	11	73	84	17	13	30
15	5	31	36	9	60	69
ใช้สารครั้งที่ 2						
1	8	15	23	14	69	83
3	13	7	20	3	14	17
7	1	3	4	1	4	5
15	6	9	15	5	4	9
ใช้สารครั้งที่ 3						
1	10	8	18	9	16	25
3	11	-	11	6	9	15
7	14	3	17	16	21	37
15	8	8	16	2	17	19
รวม	114	233	347	113	282	395

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณของแมลงเบียน ที่ตรวจพบทั้งหมดตลอดการกทดลอง (ตรวจผลรวม 13 ครั้ง) ในแปลงข้าวที่ไม่พ่นสาร กับแปลงข้าวที่พ่นสาร buprofezin (Applaud 10% WP) อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เก็บตัวอย่างแมลงโดยใช้เครื่องดูดแมลง D - vac ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี นาปรัง ปี 2547

ชนิดของแมลงเบียน	แปลงใช้สาร		แปลงไม่ใช้สาร	
	จำนวน	%	จำนวน	%
Angus sp.	148	9.72	236	18.96
Apanteles sp.	62	4.07	45	3.61
Gonatocerus sp.	204	13.40	179	14.38
Mymar sp.	271	17.81	220	17.67
Obtusiclava sp.	28	1.84	36	2.89
Oligosita sp.	81	5.32	27	2.17
Opius sp.	195	12.81	194	15.58
Telenomus sp.	101	6.65	62	4.98
Tetrastichus sp.	111	7.29	69	5.55
Pipunculus sp.	6	0.39	13	1.04
แตนเบียนอื่นๆ	315	20.70	164	13.17
รวม	1522	100	1245	100

ตารางที่ 3 ชนิดและปริมาณของตัวห้ำ ที่ตรวจพบตลอดการทดลอง (ตรวจผลรวม 13 ครั้ง) ในแปลงข้าวที่ไม่พ่นสาร กับแปลงข้าวที่พ่นสาร buprofezin (Applaud 10% WP) อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

เก็บตัวอย่างแมลงโดยใช้เครื่องดูดแมลง D – vac ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี นาปรัง ปี 2547

ชนิดของตัวห้ำ	แปลงพ่นสาร		แปลงไม่พ่นสาร	
	จำนวน	%	จำนวน	%
มวนเขียวดูดไข่	246	47.86	417	65.78
แมงมุมเขี้ยวยาว	49	9.53	48	7.57
แมงมุมอื่นๆ	127	24.71	105	16.56
ด้วงเต่า	21	4.08	13	2.05
ด้วงดิน	5	0.97	2	0.31
ด้วงก้นกระดก	6	1.17	3	0.47
แมลงปอบ้าน	2	0.39	1	0.16
แมลงปอเข็ม	41	7.98	32	5.05
จิ้งหรีดหนวดยาว	4	0.78	0	0
ตั๊กแตนหนวดยาว	11	2.14	8	1.26
แมลงวันชายน้ำ	2	0.39	5	0.79
รวม	514	100	634	100

ตารางที่ 4 ผลกระทบของสารฆ่าแมลงต่อแมลงเบียนและตัวห้ำในนาข้าว จากการพ่นสาร buprofezin (Applaud 10% WP) อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ในแปลงข้าวปทุมธานี 1 เก็บตัวอย่างแมลงโดยใช้เครื่องดูดแมลง D – vac ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี นาปรัง ปี 2547

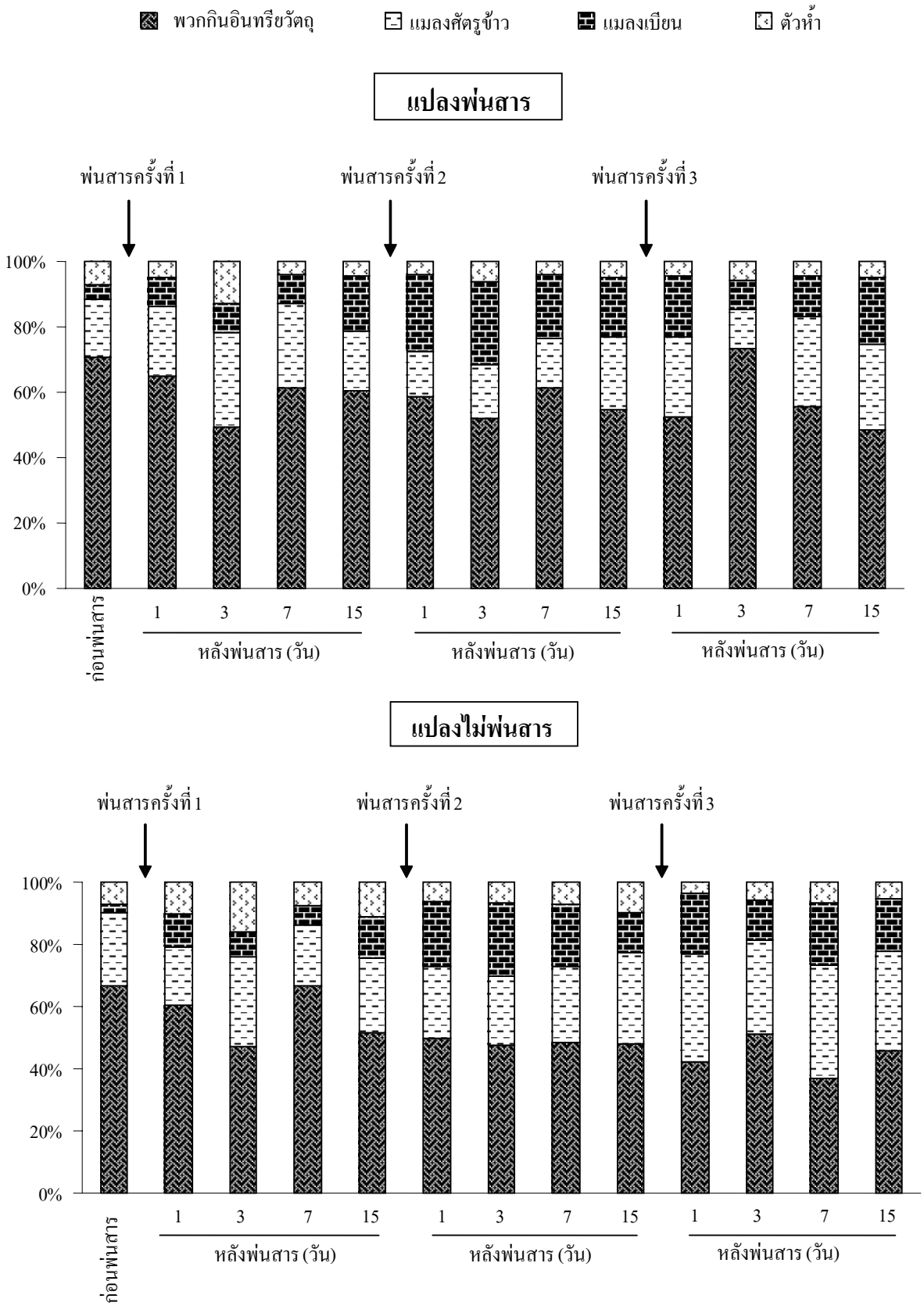
วันหลังพ่นสาร	ระดับความเป็นอันตราย	
	แมลงเบียน	ตัวห้ำ
พ่นสารครั้งที่ 1		
1	-	-
3	-	-
7	-	-
15	-	++
พ่นสารครั้งที่ 2		
1	-	++
3	-	-
7	-	+
15	-	-
พ่นสารครั้งที่ 3		
1	-	-
3	-	-
7	-	+
15	-	-

ระดับความเป็นอันตราย :

- = ไม่เป็นอันตราย (ประชากรลดลงน้อยกว่า 25% เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงไม่พ่นสาร)
- + = อันตรายเล็กน้อย (ประชากรลดลง 25 - 50% เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงไม่พ่นสาร)
- ++ = อันตรายปานกลาง (ประชากรลดลง 51 - 75% เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงไม่พ่นสาร)
- +++ = อันตรายมาก (ประชากรลดลงมากกว่า 75% เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงไม่พ่นสาร)

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบค่าดัชนีความหลากชนิด (Shannon – Wiener diversity index, H) ของอาร์โทรปอต ในแปลงที่ไม่พ่นสาร และแปลงพ่นสาร buprofezin (Applaud 10% WP) อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เก็บตัวอย่างแมลงโดยใช้เครื่องดูดแมลง D – vac ทำการทดลองที่ ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี นาปรัง ปี 2547

วันหลังพ่นสาร	ค่าดัชนีความหลากชนิด (H)	
	แปลงใช้สาร	แปลงไม่ใช่สาร
ก่อนใช้สาร	2.747	2.800
พ่นสารครั้งที่ 1		
1	2.792	2.709
3	3.123	3.146
7	2.749	2.658
15	3.395	3.524
พ่นสารครั้งที่ 2		
1	3.397	3.620
3	3.578	3.813
7	3.392	3.882
15	3.555	3.537
พ่นสารครั้งที่ 3		
1	3.635	3.660
3	2.833	3.353
7	3.620	3.937
15	3.811	3.720
พิสัย	2.747 – 3.811	2.709 – 3.937
เฉลี่ย ± SD	3.192 ± 0.347	3.412 ± 0.447



รูปที่ 1 เปรียบเทียบสัดส่วน (%) ของอาร์โทรปอต พวกแมลงศัตรูข้าว พวกกินอินทรียวัตถุ แมลงเบียน และตัวห้ำ ในนาข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ไม่ใช้สารฆ่าแมลง และแปลงที่พ่นสาร buprofezin (Applaud 10% WP) อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร เก็บตัวอย่างแมลงโดยใช้เครื่องดูดแมลง D – vac ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี นาปรัง ปี 2547

ประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช และน้ำมันปิโตรเลียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในกระเจี๊ยบเขียว

Efficacy of Plant Extract and Pretrolium Oils for Controlling Mealybug on Okra

สมรวย รวมชัยอภิกุล **สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น**

อุราพร หนูนารถ **ชนิดา อุณหวุฒิ** [1/]

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา และน้ำมันปิโตรเลียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในกระเจี๊ยบเขียว ที่แปลงเกษตรกร อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือน ตุลาคม 2546-กันยายน 2547 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี คือ สารสกัดสะเดา อัตรา 100 ppm., น้ำมันปิโตรเลียม (Ultra Sun Spray) อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร, น้ำมันปิโตรเลียม (DC Tron Plus) อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร, น้ำมันปิโตรเลียม (SK 99) อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร, น้ำมันปิโตรเลียม (SK 99) อัตรา 120 มล./ น้ำ 20 ลิตร, White Oil อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร, malathion 83 %EC อัตรา 30 มล./ น้ำ 20 ลิตร และการไม่ใช้สารฆ่าแมลง โดยปี 2547 ที่แปลงเกษตรกร อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า malathion 83 %EC และ น้ำมันปิโตรเลียม (SK 99) อัตรา 120 มล./ น้ำ 20 ลิตร ให้ผลดีในการควบคุมเพลี้ยแป้ง ในการพ่นสาร ครั้งที่ 2,4-5 พบเพลี้ยแป้ง 50.33, 17.67-78.67 และ 22.33, 52.67-98.67 ตัว/แปลงย่อย แตกต่างทางสถิติกับการไม่ใช้สาร พบเพลี้ยแป้งระหว่าง 114.00-1449.00 ตัว/แปลงย่อย

จากการศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา และน้ำมันปิโตรเลียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในกระเจี๊ยบเขียว สรุปได้ว่า malathion 83 %EC และ น้ำมันปิโตรเลียม (SK99) อัตรา 120 มล./ น้ำ 20 ลิตร มีแนวโน้มประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง โดยสารที่ใช้ทดสอบไม่เกิดอาการเป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว

รหัสทะเบียนวิจัย

[1/] กลุ่มงานอนุกรมวิธานมแลง

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชผัก ปลูกเพื่อบริโภคภายในประเทศ และส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศ ตลาดที่สำคัญในขณะนี้ คือ ประเทศญี่ปุ่น แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่บริเวณ ภาคกลางและภาคตะวันตก มีทั้งการปลูกแบบยกร่องและไม่ยกร่อง การปลูกเพื่อส่งออกนั้นมีตลาดรองรับแน่นอน ราคาประกันคงที่ และที่สำคัญได้ผลตอบแทนต่อไร่สูง แต่เกษตรกรผู้ปลูกกระเจี๊ยบเขียว มักประสบปัญหาการเข้าทำลายของแมลงศัตรูที่มีอยู่หลายชนิด เช่น หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยจักจั่นฝ้าย และแมลงหวี่ขาว (ปิยรัตน์ และคณะ 2542) นอกจากแมลงศัตรูดังกล่าวแล้ว ยังพบว่า เพลี้ยแป้ง เป็นแมลงศัตรูสำคัญอีกชนิดหนึ่ง ที่มีการระบาดในบริเวณพื้นที่ จังหวัดนครปฐม และสุพรรณบุรี ลักษณะการทำลายจะดูดกินน้ำเลี้ยงได้จากทุกส่วนของพืช ก่อให้เกิดผลเสียหาย ทั้งด้านปริมาณ และคุณภาพ (บุปผาและชลิดา, 2543) โดยเฉพาะเมื่อเพลี้ยแป้งติดไปกับฝักกระเจี๊ยบเขียวที่ส่งออก เมื่อถูกตรวจพบปลายทางจะถูกเผาทิ้งทำลายทันที หรือเป็นข้อกีดกันทางการค้า ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการทดสอบสารสกัดจากพืช และน้ำมันปิโตรเลียมที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัด ตลอดจนปลอดภัยต่อผู้ผลิต ไม่มีสารพิษตกค้าง และไม่ก่อมลภาวะต่อสภาพแวดล้อม ผลที่ได้จากการทดลองสามารถนำไปใช้แนะนำ และเผยแพร่ให้กับเกษตรกร และผู้เกี่ยวข้องต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงกระเจี๊ยบเขียว
2. สารสกัดสะเดา (neem extract) 0.16% azadirachtin
3. น้ำมันปิโตรเลียม ได้แก่ Ultra Sun Spray, DC Tron Plus และ SK 99
4. สารฆ่าแมลง malathion 83% EC
5. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง

วิธีการดำเนินการ

ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา และน้ำมันปิโตรเลียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในกระเจี๊ยบเขียว วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้

1. สารสกัดสะเดา	อัตรา 100 ppm
2. น้ำมันปิโตรเลียม (Ultra Sun Spray)	อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร
3. น้ำมันปิโตรเลียม (DC Tron Plus)	อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร
4. น้ำมันปิโตรเลียม (SK 99)	อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร
5. น้ำมันปิโตรเลียม (SK 99)	อัตรา 120 มล./ น้ำ 20 ลิตร
6. White Oil	อัตรา 100 มล./ น้ำ 20 ลิตร
7. สารฆ่าแมลง malathion 83% EC	อัตรา 30 มล./ น้ำ 20 ลิตร
8. ไม่พ่นสารฆ่าแมลง	

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงกระเจี๊ยบเขียว อายุประมาณ 2 เดือน ที่มีการระบาดของเพลี้ยแป้งในแปลงทดลอง ซึ่งมีขนาดแปลงย่อย 5x6 เมตร โดยพ่นสารทดลองทุก 5 วัน จำนวน 5 ครั้ง ตรวจนับปริมาณเพลี้ยแป้งทุกครั้งก่อนพ่นสารทดลอง โดยวิธีตรวจนับจากต้นกระเจี๊ยบเขียว 10 ต้น/แปลงย่อย และนำข้อมูลที่ทำการบันทึกไปวิเคราะห์ทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เดือน ตุลาคม 2546-กันยายน 2547 ที่แปลงเกษตรกร อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

จากการตรวจนับจำนวนเพลี้ยแป้ง รวม 6 ครั้ง (ก่อนพ่นสารทดลอง 1 ครั้ง และหลังพ่นสารทดลอง 5 ครั้ง) ตามตารางที่ 1 พบว่าก่อนพ่นสารทดลอง จำนวนเพลี้ยแป้งในทุกกรรมวิธีระหว่าง 55.33-236.00

ตัว/แปลงย่อย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หลังการพ่นสารทดลอง 5 ครั้ง พบเพลี้ยแป้งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับการไม่ใช้สารฆ่าแมลง คือ กรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลง malathion 83% EC อัตรา 30 มล./ น้ำ 20 ลิตร และ น้ำมันปิโตรเลียม (SK 99) อัตรา 120 มล./ น้ำ 20 ลิตร พบจำนวนเพลี้ยแป้งเฉลี่ยระหว่าง 17.67 – 103.00 ตัว/แปลงย่อย และ 22.33 - 98.67 ตัว/แปลงย่อย ตามลำดับ และกรรมวิธีที่พ่นสารสกัดสะเดา อัตรา 100 ppm พบจำนวนเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 99.67 ตัว/แปลงย่อย หลังการพ่นสารทดลองครั้งที่ 5 ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับการไม่ใช้สารห่าแมลง โดยพบจำนวนเพลี้ยแป้งเฉลี่ยระหว่าง 114.00 – 1449.00 ตัว/แปลงย่อย

แปลงที่พ่นสาร malathion 83% EC และ ปิโตรเลียม (SK 99) ให้ผลดีในการควบคุมประชากรเพลี้ยแป้ง ในการพ่นสารทดลองครั้งที่ 2,4-5 กล่าวคือพบจำนวนเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 50.33,17.67-78.67 และ 22.33,52.67-98.67 ตัว/แปลงย่อย ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา และน้ำมันปิโตรเลียมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในกระเจี๊ยบเขียว พบว่า malathion 83% EC และ น้ำมันปิโตรเลียม (SK 99) อัตรา 120 มล./ น้ำ 20 ลิตร มีแนวโน้มประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง โดยสารที่ใช้ทดสอบไม่เกิดอาการเป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2545. เกษตรดีที่เหมาะสม สำหรับกระเจี๊ยบเขียว.เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. 22 หน้า

บุปผา เหล่าสินชัย และชลิดา อุณหวุฒิ. 2543. เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยหอยศัตรูที่สำคัญ เอกสารวิชาการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. 70 หน้า

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์, นงพร กิจบำรุง, จักรพงศ์ พิริยพล, ศรีสุดา โท้ทอง, สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น, ลัดดาวัลย์ อินทร์สังข์, อุราพร ใจเพ็ชร, ศรีจำนรรจ์ พิชิตสุวรรณชัย, สมรวย รุ่งรัตนวารี, และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2542. แมลงศัตรูผัก. เอกสารวิชาการ กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. 97 หน้า

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนเพลี้ยแป้งที่ตรวจพบบนกระเจี๊ยบเขียวในกรรมวิธีต่าง ๆ ที่อำเภอดู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนเมษายน – พฤษภาคม 2547

กรรมวิธี	อัตรา (มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร)	จำนวนเพลี้ยแป้ง (ตัว/ 10 ต้น) [1/]					
		ก่อนพ่นสาร	หลังพ่นสาร (ครั้งที่)				
			1	2	3	4	5
สารสกัดสะเดา	100 ppm	193.33	151.33	103.67ab	178.33ab	254.00ab	99.67a
Ultra Sun Spray	100	236.00	230.67	248.00ab	599.67ab	879.67ab	668.67ab
DC Tron Plus	100	121.33	139.00	164.67ab	506.67ab	746.00ab	544.00ab
SK 99	100	111.67	101.00	177.33 ab	392.00ab	655.67ab	431.00ab
SK 99	120	55.33	37.67	22.33a	57.00a	98.67a	52.67a
White Oil	100	112.00	89.33	181.67ab	302.67ab	465.00ab	397.33ab
.malathion 83%EC	30	161.67	103.00	50.33a	65.67a	78.67a	17.67a
ไม่พ่นสารฆ่าแมลง	-	114.00	167.33	456.00b	1,044.33b	1,449.00b	1,139.00b
CV (%)	-	82.9	82.9	117.3	123.0	109.7	109.8
R.E. (%)	-	-	-	-	827.0	620.8	466.9

[1/] ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์โดยวิธี DMRT

ศึกษาการใช้สารไคโตซานในการควบคุมโรคราน้ำค้างข้าวโพด และโรคเน่าดำกล้วยไม้

Study ot Chitosan for Control Maize Downy Mildew and Orchid Black Rot

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ทำการทดสอบสารไคโตซานจำนวน 7 ชนิดในการควบคุมโรคราน้ำค้างข้าวโพดในเรือนปลูกพืชทดลองโดยพ่นสารไคโตซานชนิดและความเข้มข้นต่างๆ 4 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน โดยพ่นครั้งแรกเมื่อข้าวโพดอายุ 5 วัน เมื่อข้าวโพดอายุ 6 วันปลูกเชื้อโรคราน้ำค้างบนต้นข้าวโพด พบว่าข้าวโพดพันธุ์ Tuxpeno ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อโรคราน้ำค้างมีเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคราน้ำค้างต่ำ และสารไคโตซาน 2 ชนิดมีแนวโน้มในการป้องกันการเกิดโรคราน้ำค้างได้ในเรือนปลูกพืชทดลอง เก็บตัวอย่างโรคกล้วยไม้ที่แสดงอาการของโรคเน่าดำมาทำการแยกเชื้อและศึกษาเชื้อที่แยกได้พบว่าคือเชื้อ *Phytophthora palmivora* จำนวน 3 isolate นำเชื้อที่แยกได้จำนวน 1 isolate มาทดสอบกับสารไคโตซานจำนวน 7 ชนิดบนอาหารPDA พบสารไคโตซาน 2 ชนิดมีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำบนกล้วยไม้พันธุ์มอคคาราหลังการปลูกเชื้อบนอาหารPDA 7 วัน

ศึกษาการใช้สารไคโตซานในการควบคุมโรคราน้ำค้างข้าวโพด รหัสกิจกรรม 06-01-47-0106-04
ศึกษาการใช้สารไคโตซานในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้ รหัสกิจกรรม 06-01-47-0106-05
[1/]กองแผนงานและวิชาการ

คำนำ

สารไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่เกิดจากกระบวนการ deacetylation คือการดึงหมู่ deacetyl ออกจากไคติน เกิดเป็นพอรีเมอร์(polymer) ที่สามารถมีประจุบวกบนหมู่อะมิโน เป็นเหตุให้ไคโตซานละลายได้ในสารละลายหลายชนิดที่มีพีเอชอยู่ในช่วงที่เป็นกรด ไคโตซานเป็นพอริเมอร์ที่เป็น oligosaccharides ซึ่งจะมีผลในการรบกวนการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรียได้อย่างกว้างขวางซึ่งจัดเป็นสารต้านเชื้อรา(antifungal) โดยตรง (El Ghaouth *et al.,* 1992; Kendra *et al.,* 1989) และการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านชีวเคมีในเนื้อเยื่อของพืชอาศัย (Pearce and Ride,1982) ไคโตซานมีความสามารถในการชักนำให้เนื้อเยื่อพืชสร้างเอนไซน์ไคติเนส และเบต้า-1,3-กลูตาเนส ที่สามารถย่อยสลายไคตินและกลูแคนซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เชื้อรา ยิ่งเป็นการเสริมให้ไคโตซานมีคุณสมบัติในการต่อต้านและป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด(Loschke *et al.,* 1983) สารไคโตซานได้จากโครงสร้างของปีกแมลงต่างๆ เปลือกหุ้มอวัยวะของสัตว์ที่มีปล้องบนลำตัวเช่น กุ้ง ปู เพลียง(สุวลี, 2543) สารไคโตซาน ช่วยกระตุ้น อาร์ เอ็น เอ ในการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์พืช ทำให้พืชดูดซึมอาหารได้ดี พืชจึงมีการเจริญเติบโตและมีน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นและสารไคโตซานยังมีผลทำให้ ดีเอ็น เอ และอาร์ เอ็น เอ ของราบางชนิดลดลง โรคราน้ำค้างของข้าวโพดจัดเป็นโรคที่ร้ายแรงมากที่สุดโรคหนึ่งของข้าวโพด ทำให้ผลผลิตข้าวโพดลดลง 30-100 เปอร์เซ็นต์ (Bonde *et al*, 1985) โรคนี้พบครั้งแรก ในประเทศสหรัฐอเมริกาจากนั้นมีรายงานในหลายประเทศ เช่น อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ อินเดีย ไต้หวัน ญี่ปุ่น ระยะที่ข้าวโพดมีอายุไม่เกิน 1 เดือน เป็นระยะที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อมากที่สุด (อำพล, 2531) สำหรับในประเทศไทย สำรวจพบโรคนี้เป็นครั้งแรกที่จังหวัดนครสวรรค์ เมื่อปี พ.ศ. 2511 (สมเกียรติและคณะ, 2524) เชื้อสาเหตุของโรคสามารถเข้าทำลายข้าวโพดได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะออกดอก (สมเกียรติและคณะ, 2516) ข้าวโพดที่เป็นโรคจะแสดงอาการทั่วทั้งต้น (systemic symptom) ถ้าโรคเกิดในระยะต้นอ่อน ใบข้าวโพดจะขาว หรือเหลืองอ่อนเป็นทางๆ ตามความยาวของใบทั่วทั้งใบ ต้นแคระแกร็นและแห้งตายไป ข้าวโพดที่เป็นโรคในระยะนี้เสียหายได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ถ้าโรคเกิดในระยะต้นโต นอกจากใบขาวหรือเหลืองเป็นทางแล้ว ดอกตัวผู้จะหงิกงอไม่เจริญเต็มที่ ส่วนดอกตัวเมียอาจไม่เจริญเติบโตหรือเจริญมากเกินไป บางครั้งพบ 5-6 ฝัก ต่อต้น การผสมเกสรไม่สมบูรณ์ หรือไม่ผสมเลย ข้าวโพดหวานและข้าวโพดเทียนส่วนใหญ่อ่อนแอต่อโรคมาก(ดิลก, 2541, พีระวรรณ, 2541) มีรายงานว่า สปอร์ของเชื้อโรคราน้ำค้างจากประเทศไทยมีความทนทานต่อสภาพอุณหภูมิของอากาศได้สูงกว่าประเทศอินเดีย โดยเชื้อสามารถสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดระหว่างอุณหภูมิ 12-32 องศาเซลเซียส ขณะที่สปอร์เชื้อเดียวกันจากประเทศสหรัฐอเมริกา อินเดีย และบราซิล สร้างสปอร์

ได้ดีที่สุดระหว่างอุณหภูมิ 12-20 องศาเซลเซียส (Bonde *et al*., 1985) และพบว่า การสร้างสปอร์ของเชื้อโรคราน้ำค้างบนใบข้าวโพดในไร่ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่สูงในเวลากลางวัน และอุณหภูมิต่ำในเวลากลางคืนและมีละอองน้ำค้างปรากฏอยู่(Kimigafukuro, 1988) เชื้อรานี้แพร่กระจายและถ่ายทอดได้ทางเมล็ดพันธุ์โดยเส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่ในส่วนของscutellum แต่ไม่พบใน embryo เมื่อนำเมล็ดที่มีเชื้อราไปปลูกภายใน 6-8 วัน เชื้อจะสร้างสปอร์ที่ใบแรก (ธรรมศักดิ์, 2517) การป้องกันกำจัดโรค พบว่าตั้งแต่ก่อนปี 2540 ยังไม่มีวิธีการป้องกันโรคได้ผล 100 เปอร์เซ็นต์ โดยทั่วไปแนะนำให้ปลูกก่อนฝนตก กำจัดพืชอาศัย ทำลายต้นพืชที่ตกค้างจากการเก็บเกี่ยว ปลูกในแหล่งที่ไม่มีการระบาดของโรค รวมทั้งคลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อรา (วงศ์, 2524) สำหรับวิธีการคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีเมตาแลกซิลนั้นพบว่าข้าวโพดที่คลุกสารไม่สามารถป้องกันโรคราน้ำค้างในแหล่งปลูกจังหวัดอุทัยธานี นครสวรรค์ และสุโขทัยได้(ดิลกและคณะ, 2540) วิธีที่จะป้องกันโรคได้ดีและประหยัดที่สุดจึงต้องใช้พันธุ์ต้านทานโรค (ดิลกและคณะ, 2537 ; Craig *et al.,* 1977) โรคเน่าดำหรือโรคยอดเน่า หรือโรคเน่าเข้าไส้ (Black rot) ของกล้วยไม้มีสาเหตุจากเชื้อ *Phytophthora palmivora* เป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งเนื่องจากเกิดได้กับกล้วยไม้หลายสกุลและเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สามารถเข้าทำลายกล้วยไม้ได้ทุกระยะการเจริญเติบโต โดยเฉพาะในระยะที่กล้วยไม้มีขนาดเล็ก(Uchida,1994) ในประเทศไทยพบว่าสามรถเข้าทำลายกล้วยไม้สกุลแวนดา ที เอ็ม เอ แวนดารอทไซเดียนา อะแรนดาคริสติน อะแรนดานอรา คัทลียา มอคคาราและกล้วยไม้ลูกผสมสกุลหวาย โดยโรคจะระบาดรุนแรงในฤดูฝนที่มีฝนตกชุก ช่วงปลายฝนต้นหนาวหรือในสภาพที่โรงเรือนมีความชื้นสูง (นิยมรัฐ, 2544) การป้องกันกำจัด *Phytophthora palmivora* โดยสารเคมีจะทำให้เชื้อดื้อต่อสารเคมี มีรายงานว่าสารไคโตซานผสมคอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรตช่วยลดการเกิดโรคใบไหม้ของมันฝรั่งที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Phytophthora* ได้ดีกว่าการใช้สารไคโตซานเพียงอย่างเดียว (L. A Hadwiger and P. O. McBride, 2003) ดังนั้นการเพิ่มความแข็งแรงของพืชจึงเป็นการป้องกันโรคและทำให้มีสารเคมีอื่นใช้ทดแทน หรือสลับสารที่เคยใช้เพื่อป้องกันกำจัดโรคเน่าดำกล้วยไม้และลดการดื้อต่อสารของเชื้อได้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือเครื่องใช้ในห้องปฏิบัติการ
2. เครื่องมือเครื่องใช้ในแปลงทดลอง
3. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพด
4. กล้วยไม้พันธุ์มอคคารา
5. สารไคโตซาน

วิธีการ

การทดสอบสารไคโตซานในการควบคุมโรคราน้ำค้างข้าวโพด

1.1.1 การทดสอบสารไคโตซานในเรือนปลูกพืชทดลอง

1.1.1.1 ปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์การค้าในกระถางจำนวน 16 กระถางๆละ 5 ต้น เมื่อข้าวโพดอายุ 5 วันและพ่นสารไคโตซานชนิดและความเข้มข้นต่างๆ 4 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ทำการทดลองจำนวน 10 กรรมวิธีดังนี้

1. ข้าวโพดพันธุ์ Tuxpeno

2. ข้าวโพดพันธุ์การค้า

3.ข้าวโพดพันธุ์การค้าคลุกสาร ApronXL350ES

4.ข้าวโพดพันธุ์การค้าคลุกสาร ApronXL350ES พ่นสารไคโตซานชนิดที่ 1อัตรา 40 cc/น้ำ 20 ลิตร

5.ข้าวโพดพันธุ์การค้าคลุกสาร ApronXL350ES พ่นสารไคโตซานชนิดที่ 2 อัตรา 20 cc/น้ำ 20 ลิตร

6.ข้าวโพดพันธุ์การค้าคลุกสาร ApronXL350ES พ่นสารไคโตซานชนิดที่ 3 อัตรา 20 cc/น้ำ 20 ลิตร

7.ข้าวโพดพันธุ์การค้าคลุกสาร ApronXL350ES พ่นสารไคโตซานชนิดที่ 4อัตรา 20 cc/น้ำ 20 ลิตร

8.ข้าวโพดพันธุ์การค้าคลุกสาร ApronXL350ES พ่นสารไคโตซานชนิดที่ 5อัตรา 40 cc/น้ำ 20 ลิตร

9.ข้าวโพดพันธุ์การค้าคลุกสาร ApronXL350ES พ่นสารไคโตซานชนิดที่ 6อัตรา 40 cc/น้ำ 20 ลิตร

10.ข้าวโพดพันธุ์การค้าคลุกสาร ApronXL350ES พ่นสารไคโตซานชนิดที่ 7อัตรา 40 cc/น้ำ 20 ลิตร

และเมื่อข้าวโพดอายุ 6 วัน ปลูกเชื้อโรคราน้ำค้างที่เตรียมในข้อ 1.1.2.2

1.1.2.2 การเตรียมเชื้อ

เก็บใบข้าวโพดที่เป็นโรคราน้ำค้างจากไร่ข้าวโพดในเวลาเย็นมาล้างใบให้สะอาดปราศจากเศษดินและผงสปอร์เก่าของเชื้อ บรรจุน้ำในถังพลาสติคขนาดปากถังกว้าง 50 เซ็นติเมตร ให้ระดับน้ำสูงจากก้นถัง 2 เซ็นติเมตรเพื่อให้ความชื้นแก่ใบข้าวโพดคล้ายกับสภาพของธรรมชาติ บรรจุใบข้าวโพดที่ล้างแล้วลงในถังในแนวตั้งให้โคนใบแช่น้ำ จำนวน 40 ใบต่อถัง ตั้งไว้ในห้องปรับอากาศจนใบข้าวโพดแห้ง แล้วจึงปิดฝาถังเก็บไว้ในห้องอุณหภูมิ 20-22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระยะที่ conidia แก่พอดีพร้อมจะงอกเจริญเข้าทางปากใบ จากนั้นเปิดฝา

ถัง นำใบข้าวโพดที่มีเชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* เจริญปกคลุม เห็นเป็นผงสีขาวทั่วพื้นที่ใบเป็นโรคมาล้างในน้ำสะอาดเพื่อให้ได้ conidial suspension ความเข้มข้น 5 X 10^4 conidia ต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อที่เตรียมได้เมื่อต้นข้าวโพดที่ปลูกเตรียมไว้ในข้อ 1.1.2.1 โดยพ่น conidial suspension ที่เตรียมไว้ บริเวณยอดข้าวโพดด้วยเครื่องพ่นชนิดสะพายหลัง และปลูกเชื้อซ้ำอีกครั้งด้วยวิธีการเดียวกันในวันถัดไป

3. บันทึกข้อมูล

เมื่อข้าวโพดทดสอบอายุ 50 วัน นับจำนวนต้นที่แสดงอาการโรคราน้ำค้างและต้นทั้งหมดในแต่ละพันธุ์ที่ทดสอบ คำนวณเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรค

การทดสอบสารไคโตซานในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้

1.1.2 การแยกเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรค

เก็บตัวอย่างโรคกล้วยไม้ที่แสดงอาการของโรคเน่าดำในแปลงปลูกกล้วยไม้ในเขตจังหวัดปทุมธานี สมุทรสาคร และสมุทรสงคราม มาแยกเลี้ยงบนอาหาร RNV medium พบว่าสามารถแยกได้เชื้อ *Phytophthora palmivora* นำเชื้อราที่แยกได้ไปปลูกเชื้อบนกล้วยไม้พันธุ์มอคคาราเพื่อพิสูจน์การเกิดโรคตามวิธีของ Koch' s postulation

1.1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

นำเชื้อราที่แยกได้ในข้อ 1.2.1 มาทดทดสอบประสิทธิภาพของสารไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อ *Phytophthora palmivora* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA เมื่อเชื้อราอายุ 5 วัน ใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อนำมาวางตรงกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารไคโตซานชนิดและความเข้มข้นต่างๆ วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ

ผลการทดลองและวิจารณ์

1 การทดสอบสารไคโตซานในการควบคุมโรคราน้ำค้างข้าวโพด

1.1 การทดสอบสารไคโตซานในเรือนปลูกพืชทดลอง

การทดสอบสารในเรือนปลูกพืชทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคราน้ำค้างของข้าวโพดพันธุ์ Tuxpeno ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอเป็นโรคเพียง 59 เปอร์เซ็นต์ สำหรับข้าวโพดพันธุ์การค้าที่ไม่คลุกสาร ApronXl350ES เป็นโรค 60 เปอร์เซ็นต์ ข้าวโพดที่พ่นสารไคโตซาน ชนิดที่ 1 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคต่ำกว่าชนิดอื่นคือเป็นโรค 51 และ 50 เปอร์เซ็นต์ แต่เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคราน้ำค้างของข้าวโพดพันธุ์ Tuxpeno ต่ำ อาจเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมในเรือนปลูก

พืชทดลองขณะนั้นไม่เหมาะต่อการเกิดโรคจึงได้วางแผนการทดสอบในแปลงทดลองในฤดูปลูกปี 2548

2. การทดสอบสารไคโตซานในการควบคุมโรคเน่าดำกล้วยไม้

การแยกเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรค

จากการเก็บตัวอย่างโรคกล้วยไม้ที่แสดงอาการของโรคเน่าดำในแปลงปลูกกล้วยไม้เขตจังหวัดปทุมธานี สมุทรสาคร และสมุทรสงคราม โดยอาการที่พบส่วนมากจะพบที่บริเวณใบและยอดของกล้วยไม้ ลักษณะแผลบนใบเริ่มแรกเป็นจุดใส ฉ่ำน้ำ แผลจะขยายขนาดขึ้นเรื่อยๆ และเปลี่ยนจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีน้ำตาลเข้มและเน่าหลุดร่วงทั้งใบมาแยกเลี้ยงบนอาหาร RNV medium พบว่าสามารถแยกได้เชื้อ *Phytophthora palmivora* เมื่อนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงบนอาหาร PDA(potato dextrose agar) พบลักษณะของเส้นใยเชื้อรามีสีขาว ฟูละเอียดบนผิวหน้าอาหาร เส้นใยของเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. ภายในเวลา 8-9 วันที่อุณหภูมิห้อง ลักษณะเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีลักษณะใส ยาว เส้นใยไม่มีผนังกั้น เมื่อมีความชื้นสูงเชื้อจะสร้าง sporamgium จำนวนมากภายใน 2-3 วัน มีลักษณะคล้ายผลมะนาว(lemon shape) จนถึงรูปเรียวยาวมีฐานกลมมน sporamgium เมื่อแตกออกจะปล่อย zoospore ขนาดเล็กว่ายน้ำได้ เมื่อนำเชื้อราที่แยกได้ไปปลูกเชื้อบนกล้วยไม้พันธุ์มอคคาราเพื่อพิสูจน์การเกิดโรคตามวิธีของ Koch' s postulation พบใบกล้วยไม้บริเวณที่ปลูกเชื้อเริ่มเป็นจุดใส ฉ่ำน้ำ แผลจะขยายขนาดขึ้นเรื่อยๆ และเปลี่ยนจากสีน้ำตาลอ่อนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เมื่อนำใบกล้วยไม้บริเวณที่เป็นโรคมาแยกเชื้อซ้ำอีกครั้งได้เชื้อ *Phytophthora palmivora*

ดำเนินการทดสอบ สารไคโตซานจำนวน 7 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆโดยมีสารฟอสฟอรัสแอซิดเป็นตัวเปรียบเทียบต่อ เชื้อรา *Phytophthora palmivora* จำนวน 1 isolate บนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบว่าสารไคโตซานชนิดที่ 1 ที่ความเข้มข้น 10% และซิลิคอน 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora palmivora* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ สารไคโตซานชนิดที่ 6 และ 7 ที่ความเข้มข้น 10% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora palmivora* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังการปลูกเชื้อบนอาหารPDA 7 วัน สารไคโตซานจำนวน 2 ชนิด มีแนวโน้มยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora palmivora* ได้ดี โดยทุกกรรมวิธีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora palmivora* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์หลังการปลูกเชื้อบนอาหารPDA 7 วัน

สรุปผลการทดลอง

สารไคโตซาน 2 ชนิดมีแนวโน้มในการป้องกันการเกิดโรคราน้ำค้างได้ในเรือนปลูกพืชทดลอง เก็บตัวอย่างโรคกล้วยไม้ที่แสดงอาการของโรคเน่าดำมาทำการแยกเชื้อและศึกษาเชื้อที่แยกได้พบว่าคือเชื้อ *Phytophthora palmivora* จำนวน 3 isolate นำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบกับสารไคโตซานจำนวน 7 ชนิดบนอาหารPDA พบสารไคโตซาน 2 ชนิดมีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำบนกล้วยไม้พันธุ์มอคคาราหลังการปลูกเชื้อบนอาหารPDA 7 วัน

เอกสารอ้างอิง

ดิลก อัญชลิสังกาศ สมเกียรติ ฐิตะฐาน ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ สำอางค์ วงศ์แก้ว และ เตือนใจ บุญ-หลง. 2537. ปฏิกิริยาของข้าวโพดบางสายพันธุ์ต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคราน้ำค้าง. รายงานผลงานวิจัยปี 2537 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 116 หน้า.

ดิลก อัญชลิสังกาศ พีระวรรณ พัฒนวิภาส สมเกียรติ ฐิตะฐาน และ เตือนใจ บุญ-หลง. 2540. ปฏิกิริยาของ *Peronosclerospora sorghi* ต่อสารเมตาแลกซิลที่ ใช้คลุกเมล็ดในท้องที่ต่างๆที่มีการปลูกข้าวโพดในประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัยปี 2540 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 83 หน้า.

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2517. ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ *Sclerospora sorghi* ผ่านทางเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 74 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2542. โรคของกล้วยไม้และการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 50 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 50 หน้า.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ดิลก อัญชลิสังกาศ และเตือนใจ บุญ-หลง. 2541. โรคของข้าวโพดหวานในประเทศไทย.ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 8(1):18-19.

วงศ์ บุญสืบสกุล. 2524. การป้องกันกำจัดโรคราน้ำค้างของข้าวโพดโดยวิธีสมทบ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 91 หน้า.

สมเกียรติ ฐิตะฐาน ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ เสน่ห์ นิลมณี ประเสริฐ เคร่งเปี่ยม สหัส ตันสวัสดิ์ และ นิยม จิ้วจิ้น. 2516. การศึกษาโรคราน้ำค้างของข้าวโพด-ปฏิกิริยาของข้าวโพดบางพันธุ์ต่อโรคราน้ำค้าง. รายงานประจำปี 2516 กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร. 469 หน้า.

สมเกียรติ ฐิตะฐาน ดิลก อัญชลิสังกาศ วีระ แจ่มกระจ่าง และ นิยม จิ้วจิ้น. 2524. โรคข้าวโพด. เอกสารวิชาการ สาขาโรคพืชไร่ กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 22 หน้า.

สุวลี จันทร์กระจ่าง. 2543. ภาพรวมการใช้สารไคติน/ไคโตซานในประเทศไทย. ใน: รายงานการประชุมสัมมนาเกษตรยุคใหม่กับไคติน-ไคโตซาน. อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กทม.

อำพล เสนาณรงค์. 2531. โรคราน้ำค้างของข้าวโพด. หนังสือพิมพ์กสิกร. 43: 183-195.

Bonde, M.R. Peterson, G.L., and Duck, N.B. 1985. Effect of temperature on sporulation,conidial germination, and infection of maize by *Peronosclerospora sorghi* from different geographical areas. Phytopathology 5 : 122-126.

El Ghouth, A. J. Arul, J. Grenier and A. Asselin. 1992. Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. Phytopath. 82: 398-402.

Kimigafukuro, T. 1988. Effect of temperature and relative humidity on the infection of maize with downy mildew. Extension-ASPAC Food and Fertilizer Technology Center. No.283. pp.8.

Kendra, F. D., D. Christian and L. A. Hadwiger. 1989. Chitosan oligomers from *Fusarium solani*/ pea interaction/ β - glucanase digestion of sporelings and from fungal wall chitin actively inhibit fungal growth and enchance disease resistance. Physio. Mol. Plant Pathol. 35: 215-230.

L. A Hadwiger and P. O. McBride. 2003. Chitosan/copper applications at low concentrations protect potatoes against late blight. Phytopathology 6 : 331.

Loschke, D. C., L. A. Hawiger, and W. Wagoner. 1983. Comparison of mRNA populations coding for phenylalanine ammonia lyase and other peptides from pea tissue treated with biotic phytoalexin anducers. Physio. Plant Pathol. 23: 163-173.

Pearce, R. B. and J. P. Ride. 1982. Chitin and related compounds as elicitors of the linification response in wounded wheat leaves. Physio. Plant Pathol. 20: 119-123.

Uchida, J. Y. 1994. Disease of Orchids in Hawaii. Plant Dis. 78:220-224.

ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาของข้าวโพดต่อโรคราน้ำค้างเมื่อพ่นด้วยสารไคโตซานชนิดต่างๆ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรคราน้ำค้าง
ข้าวโพดพันธุ์ Tuxpeno	59
ข้าวโพดพันธุ์การค้า	60
ข้าวโพดพันธุ์การค้าคลุกสาร ApronXL350ES	55
ข้าวโพดพันธุ์การค้าพ่นสารไคโตซานชนิดที่ 1	51
ข้าวโพดพันธุ์การค้าพ่นสารไคโตซานชนิดที่ 2	53
ข้าวโพดพันธุ์การค้าพ่นสารไคโตซานชนิดที่ 3	50
ข้าวโพดพันธุ์การค้าพ่นสารไคโตซานชนิดที่ 4	56
ข้าวโพดพันธุ์การค้าพ่นสารไคโตซานชนิดที่ 5	58
ข้าวโพดพันธุ์การค้าพ่นสารไคโตซานชนิดที่ 6	54
ข้าวโพดพันธุ์การค้าพ่นสารไคโตซานชนิดที่ 7	53

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora pamivora* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารไคโตซานชนิดที่ 1ที่ความเข้มข้นต่างๆหลังปลูกเชื้อ 3, 5 และ 7 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา[1]		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
สารไคโตซานชนิดที่ 1 3 %และ ซิลิคอน 1 % ในอาหารPDA	100	58	40
สารไคโตซานชนิดที่ 1 5 %และ ซิลิคอน 2.5 % ในอาหารPDA	100	100	77
สารไคโตซานชนิดที่ 1 7.5 %และ ซิลิคอน 3.75 % ในอาหารPDA	100	100	67
สารไคโตซานชนิดที่ 1 10 %และ ซิลิคอน 5 % ในอาหารPDA	100	100	100
สารฟอสฟอรัสแอซิค 0.15 % ในอาหารPDA	100	100	88
Control	0	0	0

[1] คำนวณจากสูตร

% การยับยั้ง = เส้นผ่าศูนย์กลาง control - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีทดลองx100%/ เส้นผ่าศูนย์กลาง control

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora pamivora* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารไคโตซานชนิดที่ 2ที่ความเข้มข้นต่างๆหลังปลูกเชื้อ 3, 5 และ 7 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา[1]		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
สารไคโตซานชนิดที่ 2 3 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารไคโตซานชนิดที่ 2 5 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารไคโตซานชนิดที่ 2 7 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารไคโตซานชนิดที่ 2 10 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารฟอสฟอรัสแอซิค 0.15 % ในอาหารPDA	100	100	100
Control	0	0	0

[1] คำนวณจากสูตร

% การยับยั้ง = เส้นผ่าศูนย์กลาง control - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีทดลองx100%/ เส้นผ่าศูนย์กลาง control

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora pamivora* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารไคโตซานชนิดที่ 3ที่ความเข้มข้นต่างๆหลังปลูกเชื้อ 3, 5 และ 7 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา[1]		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
สารไคโตซานชนิดที่ 3 1 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารไคโตซานชนิดที่ 3 2 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารไคโตซานชนิดที่ 3 3 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารไคโตซานชนิดที่ 3 4 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารฟอสฟอรัสแอซิค 0.15 % ในอาหารPDA	100	100	77
Control	0	0	0

[1] คำนวณจากสูตร

% การยับยั้ง = เส้นผ่าศูนย์กลาง control - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีทดลองx100%/ เส้นผ่าศูนย์กลาง control

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora pamivora* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารไคโตซานชนิดที่ 4ที่ความเข้มข้นต่างๆหลังปลูกเชื้อ 3, 5 และ 7 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา[1]		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
สารไคโตซานชนิดที่ 4 1 %ในอาหารPDA	100	100	88
สารไคโตซานชนิดที่ 4 2 %ในอาหารPDA	100	90	83
สารไคโตซานชนิดที่ 4 3 %ในอาหารPDA	100	86	82
สารไคโตซานชนิดที่ 4 4 %ในอาหารPDA	100	84	80
สารฟอสฟอรัสแอซิค 0.15 % ในอาหารPDA	82	74	76
Control	0	0	0

[1] คำนวณจากสูตร

% การยับยั้ง = เส้นผ่าศูนย์กลาง control - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีทดลองx100%/ เส้นผ่าศูนย์กลาง control

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora pamivora* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารไคโตซานชนิดที่ 5ที่ความเข้มข้นต่างๆหลังปลูกเชื้อ 3, 5 และ 7 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา[1]		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
สารไคโตซานชนิดที่ 5 3 %ในอาหารPDA	100	60	53
สารไคโตซานชนิดที่ 5 5 %ในอาหารPDA	100	36	31
สารไคโตซานชนิดที่ 5 8 %ในอาหารPDA	80	75	67
สารไคโตซานชนิดที่ 5 10 %ในอาหารPDA	66	64	59
สารฟอสฟอรัสแอซิค 0.15 % ในอาหารPDA	65	63	58
Control	0	0	0

[1] คำนวณจากสูตร

% การยับยั้ง = เส้นผ่าศูนย์กลาง control - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีทดลองx100%/ เส้นผ่าศูนย์กลาง control

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora pamivora* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารไคโตซานชนิดที่ 6ที่ความเข้มข้นต่างๆหลังปลูกเชื้อ 3, 5 และ 7 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา[1]		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
สารไคโตซานชนิดที่ 6 3 %ในอาหารPDA	41	44	38
สารไคโตซานชนิดที่ 6 5 %ในอาหารPDA	43	46	40
สารไคโตซานชนิดที่ 6 8 %ในอาหารPDA	57	58	52
สารไคโตซานชนิดที่ 6 10 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารฟอสฟอรัสแอซิค 0.15 % ในอาหารPDA	81	78	73
Control	0	0	0

[1] คำนวณจากสูตร

% การยับยั้ง = เส้นผ่าศูนย์กลาง control - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีทดลองx100%/ เส้นผ่าศูนย์กลาง control

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora pamivora* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารไคโตซานชนิดที่ 7ที่ความเข้มข้นต่างๆหลังปลูกเชื้อ 3, 5 และ 7 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา[1]		
	3 วัน	5 วัน	7 วัน
สารไคโตซานชนิดที่ 7 3 %ในอาหารPDA	45	46	40
สารไคโตซานชนิดที่ 7 5 %ในอาหารPDA	43	44	38
สารไคโตซานชนิดที่ 7 8 %ในอาหารPDA	82	78	73
สารไคโตซานชนิดที่ 7 10 %ในอาหารPDA	100	100	100
สารฟอสฟอรัสแอซิค 0.15 % ในอาหารPDA	58	58	52
Control	0	0	0

[1] คำนวณจากสูตร

% การยับยั้ง = เส้นผ่าศูนย์กลาง control - เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีทดลองx100%/ เส้นผ่าศูนย์กลาง control

การใช้ไคโตซานและเฟอร์ฟูรัลควบคุมโรคใบไหม้และโรครากปมของมันฝรั่ง

Chitosan and Furfural for Control of Late Blight and Root-Knot Diseases of Potatoes

มนตรี เอี่ยมวิมังสา **อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ***

กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

ปลูกมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกลงในแปลงที่มีไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* เฉลี่ย 226 ตัว / ดิน 500 กรัม และเชื้อราในดินซึ่งตรวจด้วยวิธี Baiting Technique ด้วยใบมันฝรั่งพบส่วนใหญ่เป็นเชื้อ *Pytium* sp.ในพื้นที่ของเกษตรกรอำเภอพบพระจังหวัดตาก ใช้สารธรรมชาติ 2 ชนิด คือ ไคโตซานที่สกัดจากเปลือกกุ้งและเฟอร์ฟูรัลที่สกัดจากซังข้าวโพด อัตรา 6.6 และ 5.5 ลิตร/ไร่ ใช้ในรูปสารเดี่ยวและของผสมโดยการราดดินพร้อมปลูก มีการแบ่งใส่ 2 ครั้ง อย่างละครึ่งอัตรา คือ พร้อมปลูกและหลังปลูก 30 วัน อีก 2 กรรมวิธี เปรียบเทียบกับแปลงไม่ใส่สาร เก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อมันฝรั่งอายุ 90 วันในฤดูหนาว พบว่าปริมาณไส้เดือนฝอยหลังปลูกทั้ง7กรรมวิธีมีค่าอัตราส่วนการขยายพันธุ์เป็น 1.16, 1.04, 0.69, 0.47, 1.63, 1.93 และ 1.45 ตามลำดับ ผลผลิตต่อไร่เป็นกิโลกรัม คือ 1,452.97, 1,692.91, 1,719.57, 1,732.90, 1,772.89, 1,946.18 และ 1,799.55 ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ การเกิดโรคหัวหูดคือ 34, 32, 28, 22, 40, 44 และ 42%ตามลำดับ และเมื่อคำนวณเป็นผลผลิตที่มีคุณภาพดีคือ 929.90, 1,151.18, 1,238.09 1,351.66, 1,063.73, 1,089.86 และ 1,043.74 กิโลกรัม/ไร่ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าการใช้สารไคโตซานไม่ช่วยลดไส้เดือนฝอยรากปม ในขณะที่เฟอร์ฟูรัลแบ่งใส่ 2 ครั้ง ลดเหลือ 0.47 เท่า สารผสมทั้ง2ชนิด ไม่ช่วยลดปริมาณไส้เดือนฝอย การตรวจเชื้อราในดินหลังปลูกยังคงพบแต่เชื้อ *Pytium sp.* ไม่พบโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora infestans* ผลผลิตมันฝรั่งต่อไร่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีอื่น การทดลองในฤดูฝนมีค่าเฉลี่ยปริมาณตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยในดินเพียง 120 ตัว/ดิน 500 กรัม ปี 2518 ใช้สารธรรมชาติ 3 ชนิดคือ ไคโตซานและเฟอร์ฟูรัลอัตรา 13.2 และ 11.0 ลิตร/ไร่ในรูปสารเดี่ยวและของผสมราดดินปลูกมันฝรั่งพร้อมทั้งเชื้อไส้เดือนฝอยรากปมอีกจำนวนหนึ่งและใช้พื้นที่อีกส่วนหนึ่งศึกษาการใช้น้ำส้มไม้เพื่อควบคุมโรคทั้งสองชนิดต่อไป

---

* กลุ่มงานวิทยาไมโค

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0106-06

คำนำ

โรคที่สำคัญของมันฝรั่งคือโรคใบไหม้เกิดจากเชื้อรา *Phytopthora infestans* ในขณะที่บางแหล่งปลูกมีไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* หรือ *M. javanica* สาเหตุโรครากปมและหัวหูดระบาดร่วมอยู่ด้วย สารไคโตซาน (chitosan) เป็นสารที่สกัดได้จากปฏิกิริยากำจัดหมู่อาซิติล (deacetylation)ของไคติน(chitin) ด้วยด่างที่เข้มข้น (ธวัช 2544) ไคติน มีอยู่ในเปลือกกุ้ง เปลือกปูเพรียง เปลือกหุ้มตัวแมลง ปีกแมลง กระดองปลาหมึก หอยมุก เป็นต้น เป็นของแข็งอัญรูป บัญชาและคณะ(2537) ใช้ไคตินบริสุทธิ์ในรูป n – acetyl - glycosamine คลุกดินอัตรา0.5 – 1.0% สลายตัวให้กรดอาซิติก glucosamine และก๊าซแอมโมเนีย ช่วยลดปริมาณโรครากปมของมะเขือที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*ได้ดี Caropperและคณะ(1998) ศึกษาในรูป Chitin – Urea ชื่อการค้า Clandosan ปรับปรุงดิน ช่วยลดอาการโรครากปมของมะเขือได้ สารไคโตซานช่วยยับยั้งเชื้อราโรคพืชได้หลายชนิดคือ *Phytophthora* spp. *Pythium* spp.และ *Furarium* spp. ไคโตซานสามารถขึ้นรูปใหม่เป็นฟิล์มบางๆ เป็นสารคอลลอยด์ราดดินกำจัดไส้เดือนฝอยได้ (ธวัช,2544)

สารเฟอร์ฟูรัล (furfural) เป็นสารเคมีกลุ่ม furan ที่เป็น aldehyde สกัดได้จาก pentosan ที่มีอยู่ในซังข้าวโพดและวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรอื่นๆ ใช้ประโยชน์ในการอุตสาหกรรม การหลอมเหล็กและยานยนตร์ DaneelและJager (1997) พบว่าเป็นสารที่เป็นได้ทั้งสารฆ่าแมลง เชื้อราและไส้เดือนฝอย มนตรีและคณะ (2543) ศึกษาสาร furfural อัตรา 40 ลบ.ซม. ผสมน้ำ 10 ลิตร ราดหลุมปลูกมันฝรั่ง 100 ลบ.ซม. / หลุม และราดน้ำอีกหลังปลูก /เดือน รวมเป็น 5.5 ลิตร / ไร่ ช่วยลดปริมาณไส้เดือนฝอยได้ดี Oka (2001) ศึกษาเปรียบเทียบ furfural (2 - furfuraldehyde)กับสารสกัดจากพืชอื่นๆอีกหลายชนิด ที่เป็นน้ำมันหอมระเหย พบว่าการใช้ furfural 10 มิลลิกรัม / กิโลกรัม ช่วยลดโรครากปมมะเขือเทศที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne javanica* ได้ดี

สำหรับน้ำส้มไม้ (wood vinegar)เป็นสารใช้ประโยชน์ในการเกษตรมานานกว่า 200 ปี เป็นภูมิปัญญาดั้งเดิมของชาวญี่ปุ่น น้ำส้มไม้เป็นผลพลอยได้จากการเผาถ่านภายใต้สภาพอับอากาศ (airless condition) เมื่อผ่านแก๊สที่เกิดจากการเผาไหม้ไม้สดให้สัมผัสอากาศเย็น จะทำให้ไอกลั่นตัวลงจนเป็นของเหลว (liquor) ทิ้งให้แยกชั้นนาน 6 เดือนเศษ จะได้ชั้นน้ำส้มไม้ดิบ (raw wood vinegar) เป็นสารปรับปรุงดิน สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และสารเร่งการเจริญเติบโตของพืช (plant growth accelerating substances) มีพิษน้อยต่อปลา การใช้น้ำส้มไม้ราดในดินปลูกพืช ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืชและควบคุมโรคพืชสาเหตุจากไส้เดือนฝอย (nematode) รวมทั้งเชื้อรา นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติเป็นฮอร์โมนพืชและสารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช (growth inhibiting substances) มีความปลอดภัยต่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตในวงจรห่วงโซ่อาหาร(food chain)น้ำส้มไม้ดิบมีสารประกอบทาง

เคมีมากกว่า 200 ชนิด ที่สำคัญคือ acetic acid, formaldehyde, ethyl-n-valerate, methanol และ tar เป็นต้น น้ำส้มไม้มีค่าความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) ตั้งแต่ 0.999-1.058 และค่า pH อยู่ระหว่าง 2.0-3.2 (วิทยาและสมปอง ,2545) สารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิดและจากสัตว์ 1 ชนิดจึงควรนำมาศึกษาอัตราและวิธีการใช้ป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora infestans* และโรครากปมและหัวหูดที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในมันฝรั่งแบบผสมผสานเพื่อลดการใช้สารเคมีต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และเครื่องมือเครื่องใช้ในห้องปฏิบัติการ
2. อุปกรณ์และเครื่องมือเครื่องใช้ในแปลงทดลอง
3. สารไคโตซาน
4. สารเฟอร์ฟูรัล
5. น้ำส้มไม้
6. มันฝรั่งพันธุ์ Atlantic

วิธีการ

ในปี 2547 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำมี 7 กรรมวิธีคือ

1. ราดดินด้วยไคโตซานพร้อมปลูก อัตรา 6.6 ลิตร ต่อไร่
2. ราดดินด้วยไคโตซานพร้อมปลูก อัตรา 3.3 ลิตร ต่อไร่ และ ราดดินซ้ำและฉีดพ่นที่ใบ อีก 3.3 ลิตรต่อไร่ เมื่ออายุ 30 วัน
3. ราดดินด้วยเฟอร์ฟูรัลพร้อมปลูก อัตรา 5.5 ลิตร ต่อไร่
4. ราดดินด้วยเฟอร์ฟูรัลพร้อมปลูก อัตรา 2.75 ลิตร ต่อไร่ และ ราดดินซ้ำและฉีดพ่นที่ใบ อีก 2.75 ลิตรต่อไร่ เมื่ออายุ 30 วัน
5. ราดดินด้วยไคโตซาน อัตรา 3.3 ลิตรผสมเฟอร์ฟูรัล อัตรา 2.75 ลิตร พร้อมปลูก
6. ราดดินด้วยไคโตซาน อัตรา 1.65 ลิตรผสมเฟอร์ฟูรัล อัตรา 1.375 ลิตรพร้อมปลูก และ ราดด้วยไคโตซาน อัตรา 1.65 ลิตรผสมเฟอร์ฟูรัล อัตรา 1.375 ลิตรราดดินซ้ำและฉีดพ่นที่ใบเมื่ออายุ 30 วัน
7. ปลูกมันฝรั่งไม่ใช้สารทั้ง 2 ชนิด

คัดเลือกพื้นที่ที่มีประวัติการระบาดของโรคใบไหม้และรากปมของมันฝรั่งและไม่มีการใช้สารเคมี ปลูกมะเขือเทศ และมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic ในพื้นที่ขนาด 30X100 ตารางเมตร เก็บผลผลิต

มะเขือเทศรุ่นแรกนำเมล็ดไปเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย ขุดย้ายรากมะเขือเทศและหัวมันฝรั่งที่มีปมไส้เดือนฝอยเกลี่ยให้กระจายทั่วแปลง เก็บหัวมันฝรั่งที่ไม่เป็นโรคหูดไว้ทำพันธุ์ เริ่มทำการทดลองโดยการปลูกมันฝรั่งในแปลงทดลอง ระยะต้น 30 ซม. ระยะแถว 80 ซม. แบ่งแปลงย่อยในแต่ละกรรมวิธี ขนาด กว้าง 4 เมตร ยาว 10 เมตร ดูแลใส่ปุ๋ยตามปกติ เก็บผลผลิตเมื่ออายุ 90 วัน ตรวจหาเชื้อรา *Phytopthora infestans* ในแปลงก่อนปลูกและหลังปลูกโดยวิธีใช้ใบมันฝรั่งเป็นเหยื่อล่อ (baiting technique) บันทึกความรุนแรงของโรคใบไหม้ ตรวจนับปริมาณประชากรไส้เดือนฝอยในดินก่อนปลูก(initial population ; Pi) และหลังปลูก(final population ; Pf) คำนวนหาอัตราส่วนการขยายพันธุ์(reproduction factor ; Rf) ซึ่งเท่ากับ Pf/Pi ให้คะแนนโรคหัวหูดแล้วคิดเป็น %ของโรค โดยมีการแบ่งเกรดออกเป็น 6 เกรด คือ เกรด 0 = ไม่เกิดหูด, เกรด 1 = เกิดหูด 1 – 10 % ของพื้นผิว, เกรด 2 = 11 – 25 %, เกรด 3 = 26 – 50 %, เกรด 4 = 51 – 75 % และเกรด 5 = 75 – 100 % โดยการสุ่มหัวมันฝรั่งมากรรมวิธีละ 10 หัว คำนวณ การเป็นโรคโดยใช้สูตร

$$\% \text{ โรคหัวหูด} = \frac{100 \times \text{ผลรวมของผลคูณระหว่างจำนวนหัวกับเกรดนั้น}}{\text{จำนวนหัวที่ใช้} \times \text{เกรดสูงสุด}}$$

ในปี 2548 ได้เพิ่มความเข้มข้นของสารทั้ง 2 ชนิดและเพิ่มเติมสารชนิดใหม่ที่ได้จากพืชคือน้ำส้มไม้ (wood vinegar) เพื่อเป็นทางเลือกอีกชนิดหนึ่ง

เวลาและสถานที่

ในปี 2547 ทำการทดลอง 2 ครั้ง คือ ฤดูหนาวปลูกมันฝรั่งวันที่ 30 ธันวาคม 2546และเก็บเกี่ยววันที่ 2 เมษายน 2546 ส่วนฤดูฝนเริ่มปลูก 18 มิถุนายน 2547และเก็บเกี่ยววันที่ 24 กันยายน 2547 ในปี 2548 ใช้เวลาคล้ายกันแต่ได้ปรับเปลี่ยนเป็นฤดูหนาว ปลูกมะเขือเทศและปล่อยให้มีวัชพืชขึ้นเพื่อเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยอย่างเต็มที่ และฤดูฝนเริ่มปลูกมันฝรั่งวันที่ 5 กรกฎาคม 2548 และจะเก็บเกี่ยวประมาณปลายเดือนกันยายน ทำการศึกษาในพื้นที่ของศูนย์บริการวิชาการฯพบพระ และพื้นที่ของเกษตรกรในหมู่บ้านรวมไทย-8 ตำบลรวมไทยพัฒนา อำเภอพบพระ จังหวัดตาก

ผลการทดลอง

พบว่าปริมาณไส้เดือนฝอยหลังปลูกทั้ง7กรรมวิธีมีค่าอัตราส่วนการขยายพันธุ์(ตามตารางที่ 1) เป็น 1.16, 1.04, 0.69, 0.47, 1.63, 1.93 และ 1.45 ตามลำดับ ตามตารางที่ 2 แสดง ผลผลิตต่อไร่คือ 1,452.97, 1,692.91, 1,719.57, 1,732.90, 1,772.89, 1,946.18 และ 1,799.55 กิโลกรัม ตามลำดับไม่แตกต่างกันทางสถิติ การเกิดโรคหัวหูดคือ 34, 32, 28, 22, 40, 44 และ 42%ตามลำดับ และเมื่อคำนวณเป็นผลผลิตที่มีคุณภาพดีคือ 929.90, 1,151.18, 1,238.09 1,351.66, 1,063.73, 1,089.86 และ 1,043.74 กิโลกรัม/ไร่ตามลำดับ พบว่าการใช้สารไคโตซานไม่ช่วยลดไส้เดือนฝอยราก

ปม ในขณะที่เฟอร์ฟูรัลแบ่งใส่ 2 ครั้ง ลดเหลือ 0.47 เท่า มีผลผลิตคุณภาพดีมากที่สุดถึง 1,351.66 กิโลกรัม/ไร่ สารผสมทั้ง2ชนิดไม่ช่วยลดปริมาณไส้เดือนฝอย การตรวจเชื้อราในดินหลังปลูกยังคงพบแต่เชื้อ *Pytium sp.* ไม่พบโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora infestans* ผลผลิตมันฝรั่งต่อไร่ทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน การทดลองซ้ำในฤดูฝน ได้เลื่อนพื้นที่ไปไกลจากบริเวณไกล้เคียง ทำให้แปลงแฉะมีการชะล้างของไคโตซานและเฟอร์ฟูรัล ข้อมูลอาจผลิตพลาด ประกอบกับมีปริมาณไส้เดือนฝอยเริ่มต้นเพียง 120 ตัว/ดิน 500 กรัม การตรวจดินหาปริมาณเชื้อราก่อนปลูกไม่พบเชื้อ *P. infestans* ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้มีการทำลายของแมลงทำให้เกิดรูพรุน มีผลผลิตบิดเบี้ยว ไม่สามารถชั่งน้ำหนักได้

ในปี 2548 ฤดูหนาวที่ผ่านมาทำการเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม*M. incognita* โดยการใช้มะเขือเทศปลูกเพาะเลี้ยงในแปลงของศูนย์บริการวิชาการฯตาก1อำเภอพบพระ และเลือกพื้นที่ที่มีประวัติการระบาดของโรคใบไหม้ ใช้รากวัชพืชพวกสาบแร้งสาบกาที่มีโรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอยดังกล่าวสับใส่ลงดินในแปลงเมื่อเดือนมิถุนายน และได้ปลูกมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic ในวันที่ 5 กรกฎาคมที่ผ่านมาและกำลังตรวจหาเชื้อ*P. infestan* ขณะนี้ได้เตรียมสารธรรมชาติ 3 ชนิดคือ ไคโตซานและเฟอร์ฟูรัลอัตรา 13.2 และ 11.0 ลิตร/ไร่ในรูปสารเดี่ยวและของผสมราดดินปลูกมันฝรั่งพร้อมทั้งเชื้อไส้เดือนฝอยรากปมอีกจำนวนหนึ่งและใช้พื้นที่อีกส่วนหนึ่งศึกษาการใช้น้ำส้มไม้ เพื่อใส่ลงดินในวันที่ 28 กรกฎาคมนี้ และจะเก็บผลผลิตปลายเดือนกันยายน สรุปผลการทดลองต่อไป

ตารางที่ 1. ปริมาณประชากรเริ่มต้น ปริมาณประชากรหลังปลูกและอัตราส่วนการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในฤดูหนาว

กรรมวิธี	ตัวอ่อนระยะที่ 2 ในดิน 500 กรัม		Rf
	Pi	Pf	
1.ไคโตซานราดดิน 6.6 ลิตร/ไร่	226	262	1.16 bc
2.ไคโตซานราดดิน 6.6 ลิตร/ไร่ (แบ่งใส่ 2 ครั้ง)	226	235	1.04 b
3.เฟอร์ฟูรัลราดดิน 5.5 ลิตร/ไร่	226	156	0.69 a
4.เฟอร์ฟูรัลราดดิน 5.5 ลิตร/ไร่ (แบ่งใส่ 2 ครั้ง)	226	106	0.47 a
5.ไคโตซาน 3.3 ผสมเฟอร์ฟูรัล 2.75ลิตร/ไร่	226	368	1.63 de
6.ไคโตซาน 3.3 ผสมเฟอร์ฟูรัล 2.75ลิตร/ไร่ (แบ่งใส่ 2 ครั้ง)	226	436	1.93 e
7.ไม่ใช้สาร	226	328	1.45 cd
เฉลี่ย	226		1.20
%CV			16.9 (Sig. 99)

ปริมาณประชากรเริ่มต้น (initial populations ; Pi)

ปริมาณประชากรหลังปลูก(final populations ; Pf)

อัตราส่วนการขยายพันธุ์ (reproduction factors ; Rf)

Rf = Pf/Pi

ค่าเฉลี่ยจาก4ซ้ำในแต่ละสดมภ์ที่มีอักษรภาษาอังกฤษกำกับเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันที่1%DMRT

ตารางที่ 2. ผลผลิตรวม การเป็นโรค และผลผลิตคุณภาพดี ของมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic

กรรมวิธี	ผลผลิตรวม (กก./ไร่)	% โรคหัวหูด	%โรคใบไหม้	ผลผลิตดี (กก./ไร่)
1. ไคโตซานราดดิน 6.6 ลิตร/ไร่	1,452.97 a	34 bcd	-	929.90
2. ไคโตซานราดดิน 6.6 ลิตร/ไร่ (แบ่งใส่ 2 ครั้ง)	1,692.91 a	32 bc	-	1,151.18
3. เฟอร์ฟูรัลราดดิน 5.5 ลิตร/ไร่	1,719.57 a	28 ab	-	1,238.09
4. เฟอร์ฟูรัลราดดิน 5.5 ลิตร/ไร่ (แบ่งใส่ 2 ครั้ง)	1,732.90 a	22 a	-	1,351.66
5. ไคโตซาน 3.3 ผสมเฟอร์ฟูรัล 2.75ลิตร/ไร่	1,772.89 a	40 cde	-	1,062.73
6. ไคโตซาน 3.3 ผสมเฟอร์ฟูรัล 2.75ลิตร/ไร่ (แบ่งใส่ 2 ครั้ง)	1,946.18 a	44 e	-	1,089.86
7. ไม่ใช้สาร	1,799.55 a	42 de	-	1,043.74
เฉลี่ย	1,730.99	35	-	
%CV	17.2	17.8		

ค่าเฉลี่ยจาก4ซ้ำในแต่ละสดมภ์ที่มีอักษรภาษาอังกฤษกำกับเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันที่1%DMRT

เอกสารอ้างอิง

ธวัช ลวะเปารยะ. 2544. ไคติน-ไคโตซาน เพื่อการเกษตรปลอดสารพิษ (เกษตรธรรมชาติเกษตรอินทรีย์) ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 11(2) : 39-44.

บัญชา ชิณศรี นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด อานนท์ บุญดวง และเสน่ห์ นิลมณี. 2537 อิทธิพลของสารประกอบโปรตีนและไคตินบางชนิดต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita.* รายงานผลงานวิจัยกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร หน้า 81-87.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา ไตรเดช ข่ายทอง และสาโรจน์ ประชาศรัยสรเดช. 2544. การใช้ furfural ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในมันฝรั่ง เอกสารประชุมวิชาการโรคพืชและจุลชีววิทยากับการเกษตรในอนาคตเพื่อการอยู่ดีมีสุข กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 33.

วิทยา อภัย และสมปอง ทองดีแท้ 2545 น้ำส้มไม้ (Wood Vinegar) สารอินทรีย์ใหม่เพื่อการเกษตรไทย หน้า 160-169 ใน เอกสารการประชุมวิชาการกองวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 4 การวิเคราะห์วิจัยและควบคุมวัตถุอันตรายเป็นหัวใจของเกษตรดีที่เหมาะสม วันที่ 22-25 ตุลาคม 2545 จังหวัดกระบี่

Caroppo, S., M. Cavalli, D. Coniglio and L. Ambrogioni. 1998. The effect of an organic Chitin amendment for the control of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on eggplant. Nematological Abstracts. 67(4) : 231.

D' Addabbo, T. 1995. The nematicidal effect of soil amendments : a review of the Literature. Nematologia Mediterania 23 (Suppl) :121 – 127.

Daneel, M. and K. De Jager. 1997. A naturally occurring fumigant for nematode control. Nematological Abstracts. 66(2) : 79.

Oka, Y. 2001. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematodes *Meloidogyne javanica.* Nematology 3(2) :159-164.

Rodriguez – Kabana, R., D. Boube and R. W. Young. 1989. Chitinous materials from blue crab for control of root-knot nematodes. 1. Effect of urea and enzymatic studies. Nematropica 19(1) : 53-74.

Rodriguez-Kabana, R., J. W. Kloepper, C. F. Weaver, and D. G. Robertson. 1993. Control of plant parasitic nematodes with furfural – a naturally occurring fumigant. Nematropica 23:63-73

ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมทางอุตุนิยมวิทยา กับการแพร่ระบาดโรคใบไหม้ของมันฝรั่ง

Relationship between Meteorology and Epidemiology of late blight potato

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี **ศิริพงษ์ คุ้มภัย**
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ **ธารทิพย ภาสบุตร**
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

จากการทดลองพบว่าอุณหภูมิและความชื้นมีผลต่อการแพร่ระบาดโรคใบไหม้มันฝรั่ง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ และคงที่ประมาณ 4 วันขึ้นไปจะพบการแพร่ระบาดโรคใบไหม้มันฝรั่ง และจะลุกลามอย่างรวดเร็วภายใน 1 สัปดาห์ จะระบาดทั่วแปลง

รหัสกรรม 06-01-47-0203-01

คำนำ

โรคใบไหม้มันฝรั่ง เป็นโรคสำคัญของพื้นที่ปลูกมันฝรั่งหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ไทย เป็นต้น ทำให้ต้องใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชในปริมาณมากสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมาก จึงมีความจำเป็นจะต้องมีการจัดการระบบการปลูกมันฝรั่ง ในต่างประเทศ เช่น ในประเทศสหรัฐอเมริกา ได้เคยมีการศึกษาโดยใช้ความสัมพันธ์ของสภาพอากาศ (ความชื้น และอุณหภูมิ)เป็นเครื่องชี้วัด และรายงานไว้ว่า เมื่อความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป ที่อุณหภูมิ 7.2-26.6 องศาเซลเซียส จะพบการเกิดโรคใบไหม้มันฝรั่ง (Wallin, J. R. 1951; Wallin, J. R. 1962; Wallin, J. R., and P. E. Waggoner. 1950)

จากการแพร่ระบาดของโรค Late blight ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของประเทศไทยอย่างมากในแต่ละปี จึงควรที่จะมีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสภาพแวดล้อมทางอุตุนิยมวิทยาได้แก่ อุณหภูมิ และความชื้นกับการระบาดของโรค เพื่อทราบความสัมพันธ์ของการเกิดโรคอันจะนำไปสู่การป้องกันการแพร่ระบาดของโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สิ่งที่ใช้ในการทดลอง
    1.1 อุปกรณ์เก็บข้อมูลอุตุนิยมวิทยา อุณหภูมิ ความชื้น
    1.2 อุปกรณ์การปลูกมันฝรั่ง เช่น จอบ สปริงเกอร์ ฯลฯ
    1.3 หัวพันธุ์มันฝรั่ง
    1.4 ปุ๋ย
    1.5 สารป้องกันกำจัดแมลง
2. แบบและวิธีการทดลอง
    2.1. แบบการทดลอง
        -
    2.2. วิธีปฏิบัติการทดลอง
        2.2.1. ทำการติดตั้ง อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ ความชื้น ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง จ.ตาก และ จ.เชียงใหม่ เพื่อเก็บข้อมูลของสภาพอากาศ
        2.2.2. ปลูกมันฝรั่งในแปลงทดลอง

2.2.3. ทำการตรวจวัดการเกิดโรค Late Blight ในแปลงทดลอง และเก็บข้อมูลอุตุนิยมวิทยาตลอดการทดลอง

2.2.4. วิเคราะห์ผลการทดลอง

2.2.5. สรุปผลการทดลอง

2.3. การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลอุตุนิยมวิทยาตลอดการทดลอง และการปรากฏของโรคใบไหม้ในแปลงปลูก นำข้อมูลวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของสภาพอากาศ โรคที่พบในแปลง

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่ ตุลาคม 2546 สิ้นสุด กันยายน 2548 ณ. สถานีทดลองพืชสวนฝาง จ. เชียงใหม่ ในฤดูหนาว และสถานีทดลองพืชสวนพบพระ จ. ตาก ในฤดูฝน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในฤดูหนาว ปี 2546 ไม่พบการเกิดโรคใบไหม้มันฝรั่งตลอดทั้งฤดูปลูก อาจเป็นเพราะในปีดังกล่าวไม่มีฝนตกตลอดฤดูปลูกทำให้ความชื้นต่ำ เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณเพื่อเข้าทำลายพืช

ในฤดูฝน ปี 2547 พบการเกิดโรคใบไหม้มันฝรั่งรุนแรงทั่วแปลง จากการเก็บข้อมูลอุตุนิยมวิทยาพบว่าเมื่อความชื้นสัมพัทธ์สูงประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิสูง และคงที่ในระยะหนึ่งประมาณ 4 วันขึ้นไป จะเริ่มเกิดโรคใบไหม้และลุกลามระบาดอย่างรวดเร็ว (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้น และการเกิดโรคใบไหม้มันฝรั่ง ในแปลงทดลองที่ สถานีทดลองพืชสวนพบพระ จ. ตาก

วันที่/เดือน/ปี	อุณหภูมิ		ความชื้นสัมพัทธ์ %	การเกิดโรค
	ต่ำสุด (°C)	สูงสุด (°C)		
1 กค 47	20	29	71	
2 กค 47	20	29	92	
3 กค 47	21	29	84	
4 กค 47	21	29	84	
5 กค 47	21	29	84	

6 กค 47	21	29	91
7 กค 47	20	29	84
8 กค 47	19	28	92
9 กค 47	19	29	83
10 กค 47	19	29	91
11 กค 47	19	29	83
12 กค 47	19	29	91
13 กค 47	20	25	91
14 กค 47	19	25	83
15 กค 47	19	26	91
16 กค 47	19	28.5	91
17 กค 47	21	28	83
18 กค 47	21	29	83
19 กค 47	19	29	83
20 กค 47	21	29	83
21 กค 47	20	28	83
22 กค 47	20	27	91
23 กค 47	19	29	91
24 กค 47	20	28	91
25 กค 47	20	28	82
26 กค 47	20	29	92
27 กค 47	20	29	91
28 กค 47	20	26	91
29 กค 47	20	28	91
30 กค 47	20	29	91
31 กค 47	20	27	83
1 สค 47	21	28	83
2 สค 47	21	27	83
3 สค 47	21	29	91

4 สค 47	20.5	23	91	
5 สค 47	21	26	91	
6 สค 47	20	23	91	
7 สค 47	20	23	91	เริ่มพบโรค
8 สค 47	21	24	84	เกิดโรค
9 สค 47	21	26	84	เกิดโรค
10 สค 47	21	26	84	เกิดโรค
11 สค 47	20	24	84	เกิดโรค
12 สค 47	20	24	83	เกิดโรค
13 สค 47	21	23	83	เกิดโรค
14 สค 47	21	25	83	เกิดโรค
15 สค 47	20	23	83	เกิดโรค
16 สค 47	20	23	83	เกิดโรค
17 สค 47	21	26	83	เกิดโรค
18 สค 47	20	23	83	ระบาดทั่วแปลง
19 สค 47	20	27	83	
20 สค 47	21	25	91	
21 สค 47	21	26	84	
22 สค 47	20	24	84	
23 สค 47	21	27	84	
24 สค 47	21	27	84	
25 สค 47	21	28	84	
26 สค 47	21	29	91	
27 สค 47	21	29	91	
28 สค 47	21	26	91	
29 สค 47	21	26	91	
30 สค 47	21	25	91	
31 สค 47	21	29	91	

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ และคงที่ประมาณ 4 วันขึ้นไปจะพบการแพร่ระบาดโรคใบไหม้มันฝรั่ง และจะลุกลามอย่างรวดเร็ว ภายใน 1 สัปดาห์ จะระบาดทั่วแปลง

เอกสารอ้างอิง

Wallin, J. R. 1951. Forecasting tomato and potato late blight in the northcentral region (Abstr) Phytopathology 41: 37.

Wallin, J. R. 1962. Summary of recent progress in predicting the late blight epidemics in United States and Canada. American Potato Journal 39: 306-312.

Wallin, J. R., and P. E. Waggoner. 1950. The influence of climate on the development and spread of *Phytopthora infestans* in artificially inoculated potato plots. Plant Disease Reporter Suppl. 190: 19-33.

การจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชในนาหว่านข้าวแห้งโดยไม่เตรียมดิน

Straw Management and Weed Control in Dry-Seeded Flooded Rice by Zero-Tillage

คมสัน นครศรี สำราญ อินแถลง [1]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชในสภาพไม่เตรียมดิน ในฤดูนาปรังวางแผนการทดลองแบบ 3x3+1+1+1 factorial ประกอบด้วย การจัดการฟางข้าว 3 วิธี คือ ไม่ตัดตอซังข้าว ตัดตอซังข้าว และล้มตอซังข้าว ร่วมกับการควบคุมวัชพืช 3 วิธี คือ การใช้สาร butachlor/propanil อัตรา 320 กรัม ai/ไร่ การกำจัดวัชพืชด้วยมือ และวิธีไม่กำจัดวัชพืช เปรียบเทียบกับวิธีการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่พ่นด้วยสาร butachlor/propanil อัตรา 320 กรัมai/ไร่ การกำจัดวัชพืชด้วยมือ และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช ในฤดูนาปี วางแผนการทดลองแบบ 2x5+1+1 factorial ประกอบด้วยการจัดการฟางข้าว 2 วิธี คือ การตัดตอซังข้าว และ วิธีการล้มตอซังข้าว ร่วมกับการหว่านเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตรา 0, 3, 6, 9 และ 12 กิโลกรัมต่อไร่ เปรียบเทียบกับการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่กำจัดวัชพืชด้วยมือ และวิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี จ. ปทุมธานี ระหว่างเดือน กุมภาพันธ์-พฤศจิกายน 2547 พบว่า ในฤดูนาปรัง พบว่า การตัดตอซังข้าวและการล้มตอซังข้าวร่วมกับการใช้สาร butachlor/propanil มีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่าและแตกต่างกับสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่ใช้สาร butachlor/propanil ความสูงของต้นข้าวไม่แตกต่างกันทุกระยะของการเจริญเติบโต การตัดตอซังข้าวและการล้มตอซังข้าวมีแนวโน้มให้จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่มากกว่า วิธีไม่ตัดตอซังข้าว ตัดตอซังข้าว และล้มตอซังข้าวร่วมกับการใช้ butachlor/propanil มีผลผลิตข้าว 524.1, 654.9 และ 524.8 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ และการจัดการฟางข้าวทั้ง 3 วิธีร่วมกับการกำจัดวัชพืชด้วยมือ มีผลผลิตข้าว 549.8, 496.5 และ 549.7 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับวิธีการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่ใช้สาร butachlor/propanil และการกำจัดวัชพืชด้วยมือ ที่ให้ผลผลิตข้าว 536.3 และ 556.7 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

ส่วนฤดูนาปี พบว่า การตัดตอซังข้าวมีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่าวิธีการล้มตอซังข้าว และเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตรา 9 และ 12 กิโลกรัมต่อไร่ มีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่าเช่นกัน กรรมวิธีการทดลองไม่ทำให้ความสูงของต้นข้าวแตกต่างกัน ส่วนวิธีการตัดตอซังข้าวมีจำนวนต้นของข้าวมากกว่า และเมื่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตราสูงขึ้นจำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่มีแนวโน้มมากขึ้น ในกรรมวิธีการตัดตอซังข้าวร่วมกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตรา 0, 3, 6, 9 และ 12 กิโลกรัมต่อไร่ มีผลผลิตข้าว 555.2, 525.5, 551.2, 564.5 และ 618.3 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันกับสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่กำจัดวัชพืช

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0302

1 ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

ด้วยมือที่มีผลผลิตข้าว 580.0 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตราสูงขึ้นผลผลิตข้าวมีแนวโน้มมากขึ้น และวิธีการตัดตอซังข้าวให้ผลผลิตข้าว 562.9 กิโลกรัมต่อไร่ แตกต่างกับวิธีการล้มตอซังข้าวที่มีผลผลิตข้าว 403.8 กิโลกรัมต่อไร่

คำนำ

การเตรียมดินปลูกข้าวแบบนาหว่านน้ำตมมีหลายขั้นตอน ประกอบกับการขาดแคลนแรงงานในภาคการเกษตร ทำให้เกษตรกรมีรูปแบบการเตรียมดินเปลี่ยนไปเพื่อให้มีการใช้แรงงานและเวลาในการเตรียมดินลดลง มีผลให้ต้นทุนการผลิตลดลง (คมสัน, 2540) แต่วัชพืชก็ยังเป็นปัญหาในวงจรของการปลูกข้าวดังเดิม ซึ่งเกษตรกรจะต้องหาแนวทางการควบคุมต่อไป เช่น การใช้สารกำจัดวัชพืช นอกจากการใช้สารกำจัดวัชพืชแล้วยังมีวิธีการอื่นๆ ที่จะนำมาปฏิบัติให้เกิดผลได้เช่นกัน เช่น การนำฟางข้าวมาใช้เป็นวัสดุคลุมดินในสภาพไม่เตรียมดินสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี (คมสัน และคณะ, 2542) นิรนาม (2544) รายงานว่า การปลูกข้าวด้วยการล้มตอซังสามารถควบคุมวัชพืชได้โดยไม่ต้องใช้สารกำจัดวัชพืช ซึ่งการนำตอซังและฟางข้าวกลับมาใช้ประโยชน์ด้วยวิธีการทำเป็นวัสดุคลุมดินเป็นการลดปัญหาการเผาฟางข้าวของเกษตรกร ซึ่งตอซังและฟางข้าวเมื่ออยู่ในสภาพอินทรียวัตถุจะช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดินและปลดปล่อยธาตุอาหารกลับสู่ดินนาได้อีกด้วย (สุรพล, 2539) นอกจากนั้นการใช้พืชตระกูลถั่ว เช่น ถั่วเขียวปลูกร่วมกับพืชปลูกจะมีการใช้พื้นที่มากขึ้น ทำให้พืชที่ปลูกร่วมกับถั่วเขียวสามารถแข่งขันกับวัชพืชได้ดีขึ้น

(ชนวน, 2535) การควบคุมวัชพืชด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งจะมีประสิทธิภาพอยู่ในระดับหนึ่งเท่านั้น แต่ถ้านำวิธีการควบคุมวัชพืชมากกว่า 2 วิธี มาร่วมกันจะทำให้การควบคุมวัชพืชมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น (สมบัติ, 2532) จึงได้ศึกษาการจัดการวัชพืชด้วยการใช้สารกำจัดวัชพืชร่วมกับการจัดการฟางข้าวและการจัดการฟางข้าวร่วมกับการปลูกถั่วเขียว ในสภาพไม่เตรียมดิน เพื่อหาวิธีการบูรณาการที่เหมาะสมในการควบคุมวัชพืชในนาข้าว เพื่อแนะนำวิธีการควบคุมวัชพืชมราเหมาะสมและมีประสิทธิภาพแก่เกษตรกรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ ประกอบด้วย

1. ฟางข้าว
2. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว
3. สารกำจัดวัชพืช butachlor/propanil
4. สารป้องกันกำจัดโรคและแมลง

วิธีการ ฤดูนาปรัง วางแผนการทดลองแบบ 3x3+1+1+1 factorial ประกอบด้วยการจัดการฟางข้าวในสภาพไม่เตรียมดิน 3 วิธี คือ ไม่ตัดตอซังข้าว ตัดตอซังข้าวเกลี่ยคลุมดิน และ ล้มตอซังข้าวร่วมกับการควบคุมวัชพืช 3 วิธี คือ การใช้สารกำจัดวัชพืช การกำจัดวัชพืชด้วยมือ และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช เปรียบเทียบกับวิธีการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่พ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช การกำจัดวัชพืชด้วยมือ และ

วิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการจัดการฟางข้าวตามวิธีที่กำหนด พร้อมกับการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง หว่านข้าวแห้งอัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ ปล่อยน้ำท่วมผิวดิน 1 วัน ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืช butachlor/propanil อัตรา 320 กรัมai/ไร่ หลังหว่านข้าว 10 วัน และกำจัดวัชพืชด้วยมือหลังหว่านข้าว 30 วัน

ฤดูนาปี วางแผนการทดลองแบบ 2x5+1+1 factorial ประกอบด้วย การจัดการฟางข้าวในสภาพไม่เตรียมดิน 2 วิธี คือ การตัดตอซังข้าวเกลี่ยคลุมดิน และ การล้มตอซังข้าว ร่วมกับการหว่านเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตรา 0, 3, 6, 9 และ 12 กิโลกรัมต่อไร่ เปรียบเทียบกับการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่กำจัดวัชพืชด้วยมือ และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการจัดการฟางข้างตามวิธีที่กำหนด และเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง หว่านข้าวอัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ พร้อมกับหว่านเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว ตามอัตราที่กำหนด จึงปล่อยน้ำท่วมผิวดิน 1 วัน และกำจัดวัชพืชด้วยมือหลังหว่านข้าว 30 วัน

บันทึกชนิดและน้ำหนักวัชพืชแห้ง การเจริญเติบโต และ ผลผลิตของข้าว ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี จ. ปทุมธานี ระหว่างเดือน กุมภาพันธ์-พฤศจิกายน 2547

ผลการทดลองและวิจารณ์

ฤดูนาปรัง

วัชพืช

น้ำหนักวัชพืชแห้งหลังหว่านข้าว 30 วัน พบว่า วิธีไม่ตัดตอซังข้าวร่วมกับการใช้สาร butachlor/propanil มีน้ำหนักวัชพืชแห้งมากกว่าวิธีการตัดตอซังข้าวและการล้มตอซังข้าวร่วมกับการใช้สาร butachlor/propanil และการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่ใช้สาร butachlor/propanil (ตารางที่ 1) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในวิธีไม่ตัดตอซังข้าวมีช่องว่างระหว่างตอซังข้าวมากพอที่วัชพืชจะสามารถงอกผ่านขึ้นมาได้ ขณะการตัดตอซังข้าวเกลี่ยคลุมดินและการล้มตอซังข้าวสามารถครอบคลุมผิวดินได้มากกว่า จึงทำให้ควบคุมวัชพืชได้ดีกว่า ขณะเดียวกันวิธีการตัดตอซังข้าวและการล้มตอซังข้าวร่วมกับการใช้สาร butachlor/propanil มีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่าสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่ใช้สารกำจัดวัชพืช (ตารางที่ 1) เนื่องจากการใช้วิธีการควบคุมวัชพืชร่วมกัน 2 วิธี จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดีกว่า (สมบัติ, 2532) ประกอบสภาพไม่ได้เตรียมดินทำให้การงอกของเมล็ดวัชพืชมีน้อยกว่า ซึ่งการไถเตรียมดินเป็นการนำเมล็ดวัชพืชส่วนที่อยู่ใต้ผิวดินกลับขึ้นมาสู่ผิวดิน (De Datta, 1981) วัชพืชที่พบได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.) หญ้าไม้กวาด (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees) เทียนนา (*Ludwigia hyssopifolia* (G Don) Exell) ผักปอดนา (*Sphenoclea zeylanica* Geaertn.) หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl) และกกขนาก (*Cyperus difformis* Linn.)

ความสูงของต้นข้าว

ความสูงของต้นข้าว พบว่า กรรมวิธีการทดลองไม่ทำให้ความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันทั้งในระยะอายุข้าว 30 วัน (ตารางที่ 2) และ อายุข้าว 60 วัน (ตารางที่ 3) และระยะเก็บเกี่ยวข้าว (ตารางที่ 4)

แต่มีแนวโน้มว่า สภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งร่วมกับการใช้สารกำจัดวัชพืชให้ความสูงของต้นข้าวสูงกว่าทุกระยะของการเจริญเติบโต อาจเป็นเพราะ ในกรรมวิธีนี้มีวัชพืชมากทำให้มีการแข่งขันอย่างรุนแรงจึงทำให้ข้าวเจริญเติบโตด้านความสูงมากกว่าเพื่อรับแสงแดดให้ได้มากขึ้น

จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่

จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่ พบว่า กรรมวิธีการทดลองไม่ทำให้จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่แตกต่างกันทั้งในระยะอายุข้าว 30 วัน (ตารางที่ 5) และ อายุข้าว 60 วัน (ตารางที่ 6) และระยะเก็บเกี่ยวข้าว (ตารางที่ 7) และพบว่า กรรมวิธีการตัดตอซังข้าวและล้มตอซังข้าวมีจำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่มากกว่า เห็นได้ชัดเจนในระยะข้าวอายุ 60 วัน และระยะเก็บเกี่ยวข้าว อาจเป็นเพราะกรรมวิธีการตัดตอซังข้าวและการล้มตอซังข้าวมีวัชพืชน้อยกว่า (ตารางที่ 1) จึงทำให้ข้าวเจริญเติบโตได้ดีจึงแตกกอได้มากขึ้น

ผลผลิตข้าว

ผลผลิตข้าว พบว่า กรรมวิธีการทดลองให้ผลผลิตข้าวแตกต่างกัน (ตารางที่ 8) แต่อย่างไรก็ตามการจัดการฟางข้าวร่วมกับการใช้สารกำจัดวัชพืชและการกำจัดวัชพืชด้วยมือมีผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกันกับสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่ใช้สารกำจัดวัชพืชและการกำจัดวัชพืชด้วยมือ โดยให้ผลผลิตข้าว 536.3 และ 556.7 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการจัดการฟางข้าว พบว่า การตัดตอซังข้าวและการล้มตอซังข้าวมีแนวโน้มให้ผลผลิตข้าวมากกว่า กล่าวคือ 532.6 และ 530.7 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

ฤดูนาปี

วัชพืช

น้ำหนักวัชพืชแห้ง พบว่า การตัดตอซังข้าวเกลี่ยคลุมดินมีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่าและแตกต่างกับวิธีการล้มตอซังข้าว ส่วนเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตรา 9 และ 12 กิโลกรัมต่อไร่ มีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่า (ตารางที่ 9) แสดงให้เห็นว่า เมื่อพืชสามารถครอบคลุมพื้นที่ได้มากการแข่งขันจะได้เปรียบมากขึ้น (ชนวน,2535) วัชพืชที่พบ ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv.) เทียนนา (*Ludwigia hyssopifolia* (G Don) Exell และ หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl)

ความสูงของต้นข้าว

ความสูงของต้นข้าว พบว่า กรรมวิธีการทดลองไม่ทำให้ความสูงของต้นข้าวแตกต่างกันทั้งในระยะอายุข้าว 30 วัน (ตารางที่ 10) และ อายุข้าว 60 วัน (ตารางที่ 11) และระยะเก็บเกี่ยวข้าว (ตารางที่ 12)

จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่

จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่ พบว่า การตัดตอซังข้าวมีจำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่มากกว่า และมีแนวโน้มว่า เมื่ออัตราเมล็ดถั่วเขียวมากขึ้น จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่จะมากขึ้นตามไปด้วยทั้งในระยะอายุข้าว 30 วัน (ตารางที่ 13) และ อายุข้าว 60 วัน (ตารางที่ 14) และระยะเก็บเกี่ยวข้าว (ตารางที่ 15)

ผลผลิตข้าว

ผลผลิตข้าว พบว่า การตัดตอซังข้าวร่วมกับเมล็ดพันธุ์เขียวทุกอัตราให้ผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกันกับสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่กำจัดวัชพืชด้วยมือ กล่าวคือ เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตรา 0, 3, 6, 9 และ 12 กิโลกรัมต่อไร่ มีผลผลิตข้าว 555.2, 525.5, 551.2, 564.5 และ 618.3 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ขณะการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่กำจัดวัชพืชด้วยมือ มีผลผลิตข้าว 580.0 กิโลกรัมต่อไร่

สรุป

การจัดการฟางข้าวร่วมกับวิธีการควบคุมวัชพืชในฤดูนาปรัง พบว่า การตัดตอซังข้าวและการล้มตอซังข้าวร่วมกับการใช้สาร butachlor/propanil มีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่าและแตกต่างกับสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่ใช้สาร butachlor/propanil ความสูงของต้นข้าวไม่แตกต่างกันทุกระยะของการเจริญเติบโต ส่วนจำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่ พบว่า การตัดตอซังข้าวและการล้มตอซังข้าวมีแนวโน้มให้จำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่มากกว่า สำหรับผลผลิตข้าว การจัดการฟางข้าวร่วมกับการใช้สารกำจัดวัชพืชและการกำจัดวัชพืชด้วยมือมีผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกันกับสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่ใช้สารกำจัดวัชพืชและการกำจัดวัชพืชด้วยมือ

ส่วนฤดูนาปี พบว่า การตัดตอซังข้าวมีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่าวิธีการล้มตอซังข้าว และเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตรา 9 และ 12 กิโลกรัมต่อไร่ มีน้ำหนักวัชพืชแห้งน้อยกว่าเช่นกัน กรรมวิธีการทดลองไม่ทำให้ความสูงของต้นข้าวแตกต่างกัน ส่วนวิธีการตัดตอซังข้าวมีจำนวนต้นของข้าวมากกว่า และเมื่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตราสูงขึ้นจำนวนต้นข้าวต่อพื้นที่มีแนวโน้มมากขึ้น เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวทุกอัตราในกรรมวิธีการตัดตอซังข้าวมีผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกันกับสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้งที่กำจัดวัชพืชด้วยมือ เมื่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตราสูงขึ้นผลผลิตข้าวมีแนวโน้มมากขึ้น และวิธีการตัดตอซังข้าวให้ผลผลิตข้าวมากกว่าวิธีการล้มตอซังข้าว

เอกสารอ้างอิง

คมสัน นครศรี. 2540. การทำนาโดยไม่เตรียมดิน. *กสิกร.* 70(1): 57-61.

คมสัน นครศรี ประสาน วงศาโรจน์ และ สำราญ อินแถลง. 2542. ผลของอัตราและเวลาน้ำท่วมฟางข้าวต่อการควบคุมวัชพืช การเจริญเติบโต และผลผลิตข้าวในสภาพไม่เตรียมดิน. *เกษตรศาสตร์*(วิทยาศาสตร์). 33(3): 295-302.

ชนวน รัตนวราหะ. 2535. พหูกสิกรรมในระบบเกษตรยั่งยืน. หน้า 59-78. *ใน* : เกษตรยั่งยืน:เกษตรกับธรรมชาติ. สมัชชาเกษตรกรรมทางเลือก เพื่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม, 10-15 พฤศจิกายน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

นิรนาม. 2544. การปลูกข้าวแบบล้มตอซัง. ภูมิปัญญาท้องถิ่น สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 กรมวิชาการเกษตร . 12 หน้า.

สุรพล จตุพร. 2539. ชาวนายุคใหม่ไม่เผาฟาง. *วารสารข่าวศูนย์ข้าวปทุมธานี*. 8(4) : 10-11.

สมบัติ ชิณะวงศ์. 2532. แนวทางการพิจารณาการควบคุมวัชพืชในนาข้าวโดยวิธีผสมผสาน. หน้า 129-135. *ใน:* รายงานผลงานวิจัยก้าวหน้าประจำปี 2531 กลุ่มข้าวและธัญพืชเมืองหนาว, 14-16 มีนาคม กรมวิชาการเกษตร.

De Datta, S.K. 1981. Principles and Practice of Rice Production. John Wiley& sons. Inc. 619 p.

ตารางที่ 1 น้ำหนักวัชพืชแห้ง (กรัม/ ตร.ม.) หลังการหว่านข้าว 30 วัน

การจัดการฟางข้าว	การควบคุมวัชพืช			เฉลี่ย
	Butachlor/propanil	การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	วิธีไม่กำจัดวัชพืช	
ไม่ตัดตอซังข้าว	35.4	0.0	43.5	26.3b [1]
ตัดตอซังข้าว	9.8	0.0	19.3	9.7a
ล้มตอซังข้าว	10.4	0.0	44.7	18.3ab
เฉลี่ย	18.5b [1]	0.0a	35.8c	

การควบคุมวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การใช้สาร butachlor/propanil	มีน้ำหนักวัชพืชแห้ง	20.6	กรัม/ ตร.ม.
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	มีน้ำหนักวัชพืชแห้ง	0.0	กรัม/ ตร.ม.
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	มีน้ำหนักวัชพืชแห้ง	49.0	กรัม/ ตร.ม.

CV = 67.5 %

1/ ค่าเฉลี่ยของการจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

$LSD_{.05}$ ของกรรมวิธีการทดลอง 9.5 กรัม/ ตร.ม.

ตารางที่ 2 ความสูงของต้นข้าว (เซนติเมตร) หลังการหว่านข้าว 30 วัน

การจัดการฟางข้าว	การควบคุมวัชพืช			เฉลี่ย
	Butachlor/propanil	การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	วิธีไม่กำจัดวัชพืช	
ไม่ตัดตอซังข้าว	37.5	34.5	35.5	35.8 [1]
ตัดตอซังข้าว	37.2	34.2	35.8	35.7
ล้มตอซังข้าว	35.8	35.9	34.9	35.5
เฉลี่ย	36.8 [1]	34.8	35.4	

การควบคุมวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การใช้สาร butachlor/propanil	มีความสูงของต้นข้าว	37.4	เซนติเมตร
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	มีความสูงของต้นข้าว	35.7	เซนติเมตร

วิธีไม่กำจัดวัชพืช มีความสูงของต้นข้าว 36.4 เซนติเมตร

CV = 5.4 %

1/ ค่าเฉลี่ยของการจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

การจัดการฟางข้าว	การควบคุมวัชพืช			เฉลี่ย
	Butachlor/propanil	การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	วิธีไม่กำจัดวัชพืช	
ไม่ตัดตอซังข้าว	53.4	54.8	57.5	55.2 [1]
ตัดตอซังข้าว	60.8	59.1	60.8	60.2
ล้มตอซังข้าว	56.0	60.2	58.9	58.5
เฉลี่ย	56.7 [1]	58.2	59.1	

การควบคุมวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การใช้สาร butachlor/propanil มีความสูงของต้นข้าว 61.9 เซนติเมตร

การกำจัดวัชพืชด้วยมือ มีความสูงของต้นข้าว 55.2 เซนติเมตร

วิธีไม่กำจัดวัชพืช มีความสูงของต้นข้าว 61.9 เซนติเมตร

CV = 9.1 %

1/ ค่าเฉลี่ยของการจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 4 ความสูงของต้นข้าว (เซนติเมตร) ในระยะการเก็บเกี่ยวข้าว

การจัดการฟางข้าว	การควบคุมวัชพืช			เฉลี่ย
	Butachlor/propanil	การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	วิธีไม่กำจัดวัชพืช	
ไม่ตัดตอซังข้าว	111.4	107.9	113.2	110.8 [1]
ตัดตอซังข้าว	110.6	107.8	107.9	108.8
ล้มตอซังข้าว	110.7	108.3	109.9	109.6
เฉลี่ย	110.9 [1]	107.0	110.3	

การควบคุมวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การใช้สาร butachlor/propanil มีความสูงของต้นข้าว 115.5 เซนติเมตร

การกำจัดวัชพืชด้วยมือ มีความสูงของต้นข้าว 111.3 เซนติเมตร

วิธีไม่กำจัดวัชพืช มีความสูงของต้นข้าว 109.4 เซนติเมตร

CV = 3.0 %

1/ ค่าเฉลี่ยของการจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 5 จำนวนต้นข้าว (ต้น/ ตร.ม.) หลังการหว่านข้าว 30 วัน

การจัดการฟางข้าว	การควบคุมวัชพืช			เฉลี่ย
	Butachlor/propanil	การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	วิธีไม่กำจัดวัชพืช	
ไม่ตัดตอซังข้าว	368.0	398.0	413.0	393.0 [1]
ตัดตอซังข้าว	361.0	446.0	429.5	412.2
ล้มตอซังข้าว	287.0	356.0	488.0	377.0
เฉลี่ย	338.6 [1]	400.0	443.6	

การควบคุมวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การใช้สาร butachlor/propanil	มีจำนวนต้นต่อพื้นที่	310.5	ต้น/ตร.ม.
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	มีจำนวนต้นต่อพื้นที่	337.5	ต้น/ตร.ม.
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	มีจำนวนต้นต่อพื้นที่	281.0	ต้น/ตร.ม.

CV = 36.6 %

1/ ค่าเฉลี่ยของการจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 6 จำนวนต้นข้าว (ต้น/ ตร.ม.) หลังการหว่านข้าว 60 วัน

การจัดการฟางข้าว	การควบคุมวัชพืช			เฉลี่ย
	Butachlor/propanil	การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	วิธีไม่กำจัดวัชพืช	
ไม่ตัดตอซังข้าว	423.0	550.0	462.0	478.3 [1]
ตัดตอซังข้าว	507.0	543.5	572.0	540.8
ล้มตอซังข้าว	429.0	486.6	584.0	499.8
เฉลี่ย	453.0 [1]	526.6	539.3	

การควบคุมวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การใช้สาร butachlor/propanil	มีจำนวนต้นต่อพื้นที่	455.5	ต้น/ตร.ม.
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	มีจำนวนต้นต่อพื้นที่	525.0	ต้น/ตร.ม.
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	มีจำนวนต้นต่อพื้นที่	354.5	ต้น/ตร.ม.

CV = 17.0 %

1/ ค่าเฉลี่ยของการจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 7 จำนวนต้นข้าว (ต้น/ ตร.ม.) ในระยะเก็บเกี่ยวข้าว

การจัดการฟางข้าว	การควบคุมวัชพืช			เฉลี่ย
	Butachlor/propanil	การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	วิธีไม่กำจัดวัชพืช	
ไม่ตัดตอซังข้าว	343.0	333.5	305.0	327.2 [1]
ตัดตอซังข้าว	341.0	386.5	336.0	354.5
ล้มตอซังข้าว	334.5	352.5	359.0	348.7
เฉลี่ย	339.5 [1]	357.5	333.3	

การควบคุมวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การใช้สาร butachlor/propanil	มีจำนวนต้นต่อพื้นที่	317.5	ต้น/ตร.ม.
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	มีจำนวนต้นต่อพื้นที่	320.5	ต้น/ตร.ม.
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	มีจำนวนต้นต่อพื้นที่	284.5	ต้น/ตร.ม.

CV = 16.3 %

1/ ค่าเฉลี่ยของการจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 8 ผลผลิตข้าว (กิโลกรัม/ไร่)

การจัดการฟางข้าว	การควบคุมวัชพืช			เฉลี่ย
	Butachlor/propanil	การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	วิธีไม่กำจัดวัชพืช	
ไม่ตัดตอซังข้าว	524.1	549.8	487.6	520.5 [1]
ตัดตอซังข้าว	564.9	496.5	536.4	532.6
ล้มตอซังข้าว	524.8	549.7	517.7	530.7
เฉลี่ย	537.9 [1]	532.0	513.9	

การควบคุมวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การใช้สาร butachlor/propanil	มีผลผลิตข้าว	536.3	กิโลกรัม/ไร่
การกำจัดวัชพืชด้วยมือ	มีผลผลิตข้าว	556.7	กิโลกรัม/ไร่
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	มีผลผลิตข้าว	356.6	กิโลกรัม/ไร่

CV = 11.5 %

1/ ค่าเฉลี่ยของการจัดการฟางข้าวและวิธีการควบคุมวัชพืชไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

$LSD_{.05}$ ของกรรมวิธีการทดลอง 86.3 กิโลกรัม/ไร่

ตารางที่ 9 น้ำแห้งวัชพืชแห้ง (กรัม/ตร.ม.) ที่ระยะ 30 วัน หลังการหว่านข้าว

การจัดการฟางข้าว	อัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว					เฉลี่ย
	0	3	6	9	12	
ตัดตอซังข้าว	11.9	12.8	14.5	3.9	1.8	9.0a [1]
ล้มตอซังข้าว	36.4	36.3	29.6	19.8	15.9	27.6b
เฉลี่ย	24.1b [1]	24.5b	22.0b	11.8a	8.9a	

การจัดการวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักวัชพืชแห้ง 0.0 กรัม/ตร.ม.

กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมรน้ำหนักวัชพืชแห้ง 47.6 กรัม/ตร.ม.

CV = 51.1 %

1/ ค่าเฉลี่ยของวิธีการจัดการฟางข้าวและอัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 10 ความสูงของต้นข้าว (เซนติเมตร) ที่ระยะ 30 วัน หลังการหว่านข้าว

การจัดการฟางข้าว	อัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว					เฉลี่ย
	0	3	6	9	12	
ตัดตอซังข้าว	40.5	40.1	40.7	39.6	41.0	40.4 [1]
ล้มตอซังข้าว	39.2	39.4	40.4	41.1	40.4	40.1
เฉลี่ย	39.9 [1]	39.7	40.5	40.4	40.7	

การจัดการวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีความสูงของต้นข้าว 39.3 เซนติเมตร

กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีความสูงของต้นข้าว 39.3 เซนติเมตร

CV = 4.5 %

1/ ค่าเฉลี่ยของวิธีการจัดการฟางข้าวและอัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 11 ความสูงของต้นข้าว (เซนติเมตร) ที่ระยะ 60 วัน หลังการหว่านข้าว

การจัดการฟางข้าว	อัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว					เฉลี่ย
	0	3	6	9	12	
ตัดตอซังข้าว	78.2	79.0	81.4	78.0	80.3	79.4 [1]
ล้มตอซังข้าว	80.3	80.2	79.8	81.3	77.6	79.8
เฉลี่ย	79.2 [1]	79.6	80.6	79.7	79.0	

การจัดการวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีความสูงของต้นข้าว	76.0	เซนติเมตร
กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีความสูงของต้นข้าว	76.9	เซนติเมตร

CV = 4.6 %

1/ ค่าเฉลี่ยของวิธีการจัดการฟางข้าวและอัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 12 ความสูงของต้นข้าว (เซนติเมตร) ในระยะการเก็บเกี่ยวข้าว

การจัดการฟางข้าว	อัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว					เฉลี่ย
	0	3	6	9	12	
ตัดตอซังข้าว	123.4	117.2	115.5	119.9	121.0	119.4 [1]
ล้มตอซังข้าว	119.5	120.8	124.4	120.5	120.1	121.1
เฉลี่ย	121.5 [1]	119.0	119.9	120.2	120.5	

การจัดการวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีความสูงของต้นข้าว	121.4	เซนติเมตร
กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีความสูงของต้นข้าว	120.0	เซนติเมตร

CV = 3.8 %

1/ ค่าเฉลี่ยของวิธีการจัดการฟางข้าวและอัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 13 จำนวนต้นข้าว (ต้น/ตร.ม.) ที่ระยะ 30 วัน หลังการหว่านข้าว

การจัดการฟางข้าว	อัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว					เฉลี่ย
	0	3	6	9	12	
ตัดตอซังข้าว	378.0	403.5	388.5	401.0	429.5	400.1a [1]
ล้มตอซังข้าว	269.5	289.0	313.0	344.5	303.5	304.7b
เฉลี่ย	323.7a [1]	346.2a	350.7a	374.7a	366.5a	

การจัดการวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 212.0 ต้น/ตร.ม.

กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 221.0 ต้น/ตร.ม.

CV = 24.2 %

1/ ค่าเฉลี่ยของวิธีการจัดการฟางข้าวและอัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

LSD .05 ของกรรมวิธีการทดลอง 25.6 ต้น/ตร.ม.

ตารางที่ 14 จำนวนต้นข้าว (ต้น/ตร.ม.) ที่ระยะ 60 วัน หลังการหว่านข้าว

การจัดการฟางข้าว	อัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว					เฉลี่ย
	0	3	6	9	12	
ตัดตอซังข้าว	382.0	381.5	369.0	360.0	418.5	382.2 [1]
ล้มตอซังข้าว	314.5	321.0	369.0	429.5	392.0	363.2
เฉลี่ย	348.2 [1]	351.2	369.0	394.7	404.2	

การจัดการวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 363.5 ต้น/ตร.ม.

กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 294.0 ต้น/ตร.ม.

CV = 18.4 %

1/ ค่าเฉลี่ยของวิธีการจัดการฟางข้าวและอัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 15 จำนวนต้นข้าว (ต้น/ตร.ม.) ที่ระยะ การเก็บเกี่ยวข้าว

การจัดการฟางข้าว	อัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว					เฉลี่ย
	0	3	6	9	12	
ตัดตอซังข้าว	305.5	286.0	356.5	338.5	324.0	322.1a [1]
ล้มตอซังข้าว	287.0	309.0	285.0	305.0	251.0	287.2b
เฉลี่ย	296.3a [1]	297.5a	321.3a	321.3a	287.5a	

การจัดการวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 257.0 ต้น/ตร.ม.

กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีจำนวนต้นต่อพื้นที่ 240.5 ต้น/ตร.ม.

CV = 17.6 %

1/ ค่าเฉลี่ยของวิธีการจัดการฟางข้าวและอัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

LSD .05 ของกรรมวิธีการทดลอง 37.6 ต้น/ตร.ม.

ตารางที่ 16 ผลผลิตข้าว (กิโลกรัม/ไร่)

การจัดการฟางข้าว	อัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว					เฉลี่ย
	0	3	6	9	12	
ตัดตอซังข้าว	555.2	525.5	551.2	564.5	618.3	562.9a [1]
ล้มตอซังข้าว	248.4	394.8	381.7	428.4	465.8	403.8b
เฉลี่ย	451.8a [1]	460.2a	466.4a	496.4a	542.0a	

การจัดการวัชพืชในสภาพการเตรียมดินแบบหว่านข้าวแห้ง

การกำจัดวัชพืชด้วยมือมีผลผลิตข้าว 580.0 กิโลกรัม/ไร่

กรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีผลผลิตข้าว 315.7 กิโลกรัม/ไร่

CV = 16.5 %

1/ ค่าเฉลี่ยของวิธีการจัดการฟางข้าวและอัตราเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

LSD .05 ของกรรมวิธีการทดลอง 113.7 กิโลกรัม/ไร่

ศึกษาการสร้างความต้านทานโรคราสนิมบนใบกาแฟอาราบิก้า

Rust Resistant Reaction Studies on *Coffea arabica* L.

ศุภชัย ลีจีรจำเนียร **ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช**
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

ปลูกเชื้อราสนิมให้กับใบกาแฟที่เก็บมา 3 วิธีเพื่อศึกษาการสร้างความต้านทานต่อโรคราสนิม ทำการทดลองในใบกาแฟ 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ Catimor (C.I.F.C.7963) เป็นพันธุ์ต้านทานโรค และพันธุ์ Typica (T.980) ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอที่ใช้เปรียบเทียบ โดยปลูกเชื้อให้กับชิ้นใบกาแฟที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร และใบกาแฟทั้งใบ มีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทน spore suspension เชื้อราสนิม (*Hemileia vastatrix*) เป็นการทดลองเปรียบเทียบ (control) การทดลองที่ปลูกเชื้อด้วย spore suspension กับชิ้นใบกาแฟทั้ง 2 พันธุ์ ไม่มีอาการโรคราสนิมแม้ปลูกเชื้อไปนานเกินกว่า 4 สัปดาห์ แต่ชิ้นใบเริ่มมีการเน่าเสียและเน่าหมดใน 8 สัปดาห์ การทดลองที่ใช้ใบกาแฟทั้งใบหยดด้วย spore suspension ของเชื้อราสนิมสามารถทำให้ใบกาแฟเป็นโรคได้ 9.5% ในพันธุ์ T.980 แต่พันธุ์ Catimor ไม่แสดงอาการเป็นโรค แม้ว่าพันธุ์อ่อนแอ(T.980) จะเป็นโรคแต่ก็เป็นเปอร์เซนต์ที่น้อยมาก ซึ่งในสภาพจริงควรจะเป็นโรค100% อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการยังไม่เหมาะต่อการพัฒนาการของเชื้อราสนิมจนกระทั่งแสดงอาการ การเน่าเสียของชิ้นใบและใบกาแฟทั้งใบในปริมาณมากและก่อนที่จะแสดงอาการของโรคให้เห็นอาจเนื่องมาจากสาร carbendazim ที่ใช้ยังไม่เหมาะสม จำเป็นต้องเปลี่ยนมาใช้สาร kinetin ร่วมกับ ascorbic acid แทน

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0305

คำนำ

โรคราสนิมกาแฟมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Hemileia vastatrix* B. & Br. เป็นโรคที่มีความสำคัญที่สุดของกาแฟอาราบิก้า ในอดีตการปลูกกาแฟอาราบิก้าไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจากมีโรคนี้ระบาดจนต้นกาแฟโทรมและเกษตรกรไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ ความนิยมในการปลูกจึงลดลง ปัจจุบันนี้มีพันธุ์กาแฟลูกผสมที่โครงการหลวงนำเข้ามาจากต่างประเทศ ซึ่งเป็นลูกผสมที่เกิดจากการผสมพันธุ์ของกาแฟพันธุ์ Catimor กับกาแฟอาราบิก้าพันธุ์ดีที่ปลูกเป็นการค้า เช่น พันธุ์ Mundo Novo, Catuai, Caturra, Villa Sarchi, SL.28 และ Bourbon เป็นต้น กาแฟลูกผสมเหล่านี้ได้รับการปลูกเชื้อคัดเลือกไปได้ระยะหนึ่งจนถึงชั่วที่ 6 แล้วและปรากฏว่ามีบางต้นที่มีลักษณะของความต้านทานเปลี่ยนแปลงไป คือจากที่เคยเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคสูง แผลมีลักษณะเป็น fleck ขนาดเล็ก ไม่มีการสร้างสปอร์ มาระยะหลังอาการที่พบบนใบเป็นแผล necrosis ขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม คือมีอากาศชื้นและเย็นขอบแผลมีอาจมีการสร้างสปอร์บาง ๆเกิดขึ้น ลักษณะอารการที่ปรากฏนี้ส่งสัญญาณให้ทราบว่าสายพันธุ์กาแฟที่ทำการคัดเลือกมีระดับความต้านทานลดลง หรือ เชื้อราสนิมสาเหตุของโรคมีการพัฒนาการที่ดีขึ้นมีความสามารถทำให้กาแฟสายพันธุ์นั้น ๆเป็นโรคได้ ในการศึกษาการสร้างความต้านทานของพืชต่อเชื้อโรคและการสูญเสียความต้านทานของพืชในสภาพแปลงทดลองค่อนข้างทำได้ยาก เนื่องจากการควบคุมสภาพแวดล้อมให้อยู่ในระดับที่ต้องการได้ยาก ดังนั้นการศึกษาการสร้างความต้านทานของสายพันธุ์กาแฟต่อเชื้อราสนิมกาแฟในห้องปฏิบัติการสามารถกระทำได้ ด้วยการจำลองสภาวะแวดล้อมในห้องปฏิบัติการให้เสมือนหรือใกล้เคียงกับสภาพจริงในธรรมชาติ จึงจะทำให้กาแฟแสดงปฏิกิริยาตอบสนองในขณะที่เชื้อราสนิมเข้าทำลายหรือมีการติดเชื้อ (infection) และจะสามารถเห็นปฏิกิริยาต้านทานได้ การเก็บใบกาแฟมาทำการปลูกเชื้อในห้องปฏิบัติการซึ่งเป็นระบบปิดนั้น จะสามารถอ่านผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ชัดเจนเนื่องจากไม่มีปัจจัยอื่นที่เข้ามามีอิทธิพลหรือเกี่ยวข้องและสามารถควบคุมได้

วิธีดำเนินการ

<u>อุปกรณ์</u>

1. ห้องปฏิบัติการที่ควบคุมสภาพแวดล้อมได้ดังนี้ อุณหภูมิ 22 ± 2 °C. ความชื้นสัมภัทธ์ 95% ขึ้นไป สามารถปิดแสงให้มืดในขณะปลูกเชื้อและบ่มเชื้อได้

2. อุปกรณ์ปลูกเชื้อได้แก่ atomizer, กรวยกรอง , ผ้าขาวบาง , micropipette สามารถหยดสารเหลวขนาด 0.01-0.1 cc. ภู่กันเบอร์ 1 , เครื่องชั่งชนิดละเอียด อ่านค่าได้ละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง มีหน่วยเป็นกรัม น้ำกลั่นนึ่งค่าเชื้อ และ ethanol 70%

3. ใช้พันธุ์กาแฟ 3 พันธุ์ คือ Typica (T.980) ,Caturra ซึ่งเป็นพันธุ์ susceptible และ Catimor (C.I.F.C.7963) พันธุ์ลูกผสมที่ต้านทานโรค

4. Uredospore ของเชื้อราสนิม (*Hemileia vastatrix*)

5. ตู้บ่มเชื้อในระหว่างทำการปลูกเชื้อ

6. ชั้นให้แสงสว่างระหว่างทำการบ่มเชื้อและเลี้ยงต้นไม้สามารถตั้งเวลาการเปิด-ปิด ไฟแสงสว่างได้

วิธีการ

ปลูกกาแฟในกระถางจนต้นโตขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.7 ซม. ทำการเสียบยอดกาแฟ 3 พันธุ์ ๆละ 10 ต้น เลี้ยงไว้จนโตเพื่อสร้างใบกาแฟไว้ใช้ทดลอง เมื่อต้นกาแฟสร้างใบมากพอจึงทำการเก็บใบที่มีระยะการเจริญที่โตเต็มที่(พ้นระยะเพสลาด)แต่ไม่เป็นใบแก่ เก็บใบในเวลาประมาณ 10.00 น. มาใช้ในการทดโดยแบ่งการทดลองเป็น 2 วิธีการ

1. การทดลองใช้ชิ้นใบกาแฟขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซ็นติเมตร

1.1 ใช้ cork borer เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 2 ซม.ตัดใบกาแฟเป็นแผ่นกลม ๆจำนวนพันธุ์ละ 60 ชิ้นมาวางบนกล่องพลาสติกใสขนาด 17.5 x 25.0 x 5.5 ซม.ที่ปูพื้นกล่องด้วยฟองน้ำบาง ๆหนา 0.5 ซม. เทสารละลาย carbendazim ความเข้มข้น 50 ppm. แผ่นฟองน้ำเปียกชุ่ม แล้ววางแผ่นชิ้นกาแฟในลักษณะเอาหลังใบแนบกับแผ่นฟองน้ำ กล่องละ 10 ชิ้น รวม 5 กล่อง อีก 1 กล่อง ใส่น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทนสารละลาย carbendazim และหยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทน spore suspension เพื่อใช้เป็นการทดลองเปรียบเทียบ(control)

1.2 หยด suspension uredospore ของเชื้อรา *Hemileia vastatrix* ความเข้มข้น 1.5-2.0 x 10^5 สปอร์/น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 1 cc. ลงบนท้องใบของชิ้นใบกาแฟ ทั้ง 3 พันธุ์ ชิ้นละ 1 หยด ๆละ 0.05 cc. แล้วใช้ปลาย tip ของ micropipette คนหยด suspension ของสปอร์ให้หยดน้ำกระจายทั่วชิ้นใบ ปิดฝากล่องแล้ววางบนชั้นที่ให้แสงสว่างได้ โดยจะทำการปิดแสงไว้ในระยะที่สปอรเชื้อรามีการ germinate และเกิด infection นาน 20 ชั่วโมง จากนั้นเริ่มให้แสงแก่ชิ้นใบวันละ 12 ชั่วโมง จนกว่าชิ้นใบกาแฟจะแสดงอาการ ใช้เวลาในการให้แสงประมาณ 3 สัปดาห์ขึ้นไป โดยกล่องชิ้นใบกาแฟอยู่ในห้องปรับอุณหภูมิ 22 ± 2 °C. ตลอดการทดลอง

2. การทดลองใช้ใบกาแฟทั้งใบ

2.1 ใช้ใบกาแฟทั้งใบที่มีอายุเดียวกันกับการทดลองที่ 1 แทนการใช้ชิ้นใบทำการทดลองด้วยวิธีเดียวกัน แต่วางใบกาแฟให้หลังใบเข้าหาฟองน้ำและก้านใบสัมผัสกับฟองน้ำ โดยใส่ใบกาแฟลงกล่องละ 2 ใบ รวม 10 ใบ(5 กล่อง) และเทลาดด้วยสารละลาย carbendazim ที่เข้มข้น 50 ppm. เช่นเดียวกัน

2.2 หยด suspension uredospore ของเชื้อรา *Hemileia vastatrix* ที่มีความเข้มข้นเท่ากับการทดลองที่ 1 ลงท้องใบกาแฟ ใบละ 20 หยด(20 จุด) และใช้เวลาในการบ่มเชื้อและให้แสงเช่นเดียวกัน โดยหลังสัปดาห์ที่ 3 จะเริ่มแสดงอาการ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2546 สิ้นสุด กันยายน 2548

1. สถานที่เก็บเชื้อราสนิม สถานีวิจัยกาแฟอาราบิก้าแม่หลอด อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่ และศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลผลิตตาก 1 อ.เมือง จ.ตาก

2. สถานที่ปลูกเชื้อราสนิม กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

หลังจากปลูกเชื้อและบ่มนานประมาณ 1 สัปดาห์ การทดลองที่ 1 ที่ใช้ชิ้นใบกาแฟพบว่าชิ้นใบเริ่มเน่าจากขอบใบและเพิ่มปริมาณมากขึ้น จนถึงสัปดาห์ที่ 4 ชิ้นใบกาแฟตายหรือเน่ารวมประมาณ 31% และยังไม่มีอาการของโรคราสนิมปรากฏ ซึ่งโดยปรกติอาการของโรคจะปรากฏให้เห็นเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 และชิ้นใบส่วนที่เหลือเน่าหมดภายใน 8 สัปดาห์ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนแผลโรคคิดเป็นเปอร์เซนต์ของตำแหน่งที่หยดเชื้อระหว่างพันธุ์กาแฟ 2 พันธุ์ โดยวิธีตัดชิ้นใบกาแฟ

พันธุ์	Control	จำนวนแผล(%)และปฏิกิริยาของชิ้นใบเป็นโรคราสนิม				(%)ตาย
	(%)ตาย	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	
T.980	50	0	0	0	0	17
Catimor	40	0	0	0	0	14

แสดงให้เห็นว่าสาร carbendazim 50 ppm. ที่ใช้ยังไม่เหมาะสำหรับเป็นสารรักษาสภาพใบกาแฟให้สดจนแสดงอาการของโรคเนื่องจากชิ้นใบตายเกินกว่า 31 % จำเป็นต้องเลือกสารเคมีชนิดใหม่เช่น kinetin หรืออาจใช้ ascorbic acid มาร่วมด้วย เนื่องจากอาการเน่าของชิ้นใบจะเริ่มจากขอบชิ้นใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ซึ่งเป็นผลจากใบกาแฟปล่อยสารสีน้ำตาลออกมาเมื่อเกิดบาดแผล การใช้ ascorbic acid จะช่วยให้ชิ้นใบไม่เกิดสีน้ำตาลซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมักเลือกมาใช้

ในการทดลองที่ 2 เป็นการตัดใบกาแฟทั้งใบให้มีก้านใบติดมาด้วย ใบกาแฟจะมีบาดแผลน้อยกว่า พบว่าใบกาแฟเน่าน้อยกว่า แม้บางใบจะเริ่มมีอาการเน่าที่เส้นกลางใบ(mid rib) แต่สามารถอ่านผลได้ โดยพบว่าในสัปดาห์ที่ 4 นับแผลที่มีการ sporulate ของราสนิมจำนวน 19 แผล จากจำนวน 200 จุดที่ได้หยด spore suspension ลงไป เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์จะได้ 9.5% ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบจำนวนแผลโรคคิดเป็นเปอร์เซนต์ของตำแหน่งที่หยดเชื้อระหว่างพันธุ์กาแฟ 2 พันธุ์ โดยวิธีตัดใบกาแฟทั้งใบมาหยดเชื้อ

พันธุ์	Control	จำนวนแผล(%)และปฏิกิริยาของใบเป็นโรคราสนิม				(%)ตาย
	(%)ตาย	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	
T.980	50	0	0	0	9.5	3
Catimor	40	0	0	0	0	1

สาเหตุที่ได้เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคน้อยอาจเนื่องจากสภาพของห้องปลูกเชื้อยังไม่เหมาะสมเนื่องจากเครื่องปรับอากาศเสียไป 1 เครื่อง ทำให้อุณหภูมิในห้องปลูกเชื้อสูงขึ้นไม่สามารถรักษาให้อยู่ในระดับอุณหภูมิ 22 ± 2 °C. เปอร์เซนต์ การเกิด infection น้อย และขบวนการพัฒนาการของโรคยังต้องการสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมอย่างมาก จึงทำอาการของโรคไม่มีการพัฒนาการต่อ และยังอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ชิ้นใบกาแฟในการทดลองวิธีการที่ 1 เน่าเสียในปริมาณมากด้วย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การปลูกเชื้อด้วยวิธีการที่ 1 ยังไม่ได้ผลเพราะมีเปอร์เซนต์การตายของชิ้นใบกาแฟในปริมาณมากอยู่ จำเป็นต้องพัฒนาวิธีการต่อไปเพื่อให้ชิ้นใบกาแฟเน่าลดน้อยลง เพราะวิธีการนี้สามารถทำการทดลองได้ในปริมาณที่มาก ๆ ถ้าพัฒนาวิธีการนี้ไปใช้ในการ screen พันธุ์ต้านทานจะเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพมาก ส่วนวิธีการที่ 2 ได้ผลเป็นที่น่าพอใจ เพราะสามารถรักษาสภาพใบกาแฟให้มีชีวิตอยู่จนแสดงอาการได้แม้ว่าจะน้อยไปบ้าง การปรับสภาพอุณหภูมิห้องให้เหมาะสมอาจทำให้มีเปอร์เซนต์การเป็นโรคมากขึ้นในพันธุ์อ่อนแอ และคาดว่าจะสามาถรายงานผลสำเร็จได้เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองในปีงบประมาณ 2548 ที่จะถึงนี้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่มูลนิธิโครงการหลวงโดยเฉพาะเจ้าหน้าที่ประจำสถานีวิจัยกาแฟอาราบิก้าแม่หลอด ที่ให้พันธุ์กาแฟและเก็บเชื้อมาทดลอง รวมทั้งเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตตาก 1 ที่ให้สถานที่ทำการทดลอง ที่พักแรม และเป็นที่เก็บเชื้อราสนิมมาทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Eskes, A. B. 1982. The use leaf disk inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). Neth. J. Plant Path. 88: 127-141.

ศุภชัย ลีจีรจำเนียร. 2532. โรคราสนิมของกาแฟลูกผสมอาราบิก้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 123 หน้า

ผลของ Intermediate stock ต่อความรุนแรงของโรคกรีนนิ่งบนส้มเขียวหวานที่มีภูมิต้านทานไวรัสทริสเทซ่า

Effect of Intermediate Stok on Severity of Greening Disease in Som-Keowan Mandarin Pre-immunized with Mild Strain of Citrus Tristeza Virus

ไมตรี พรหมมินทร์ [1.] วันเพ็ญ ศรีทองชัย [1] สุรชาติ คูอริยะกุล [1]

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การใช้พันธุ์ส้มแป้นเป็น intermediate Stock ของส้มเขียวหวานและมีตอพันธุ์ รัพ เลมอน เป็นต้นตอหลัก ร่วมกับการใช้เชื้อ mild strain ไวรัสทริสเทซ่า 3 ชนิด เพื่อพิสูจน์ถึงขีดความสามารถในการทนทานทั้งโรคกรีนนิ่งและทริสเทซ่า โดยปลูกทดลองในแหล่งที่มีทั้งโรคกรีนนิ่งและทริสเทซ่าระบาดที่ ศวส. เชียงราย เมื่อเดือนกุมภาพันธ์ 2546 ปัจจุบันอายุ 2 ปี 3 เดือน ทำการตรวจสอบเชื้อไวรัสทริสเทซ่าโดยวิธี ELISA พบว่าทุกต้นที่ปลูกด้วยเชื้อ mild strain M-1, M-2, M-3 และเชื้อรุนแรง พบเชื้อไวรัสทริสเทซ่าทุกต้น และตรวจสอบโรคกรีนนิ่งโดยวิธีการใช้พืชทดสอบ ผลปรากฏว่าที่ปลูกด้วยเชื้อ M-1 เป็นโรค 100% (เป็นโรคน้อย 80% ปานกลาง 10% และรุนแรง 10%) M-2 เป็นโรค 90% (เป็นโรคน้อย 70% และปานกลาง 20%) M-3 เป็นโรค 80% (เป็นโรคน้อย 70% และปานกลาง 10%) เชื้อรุนแรงเป็นโรค 90% (เป็นโรคน้อย 40% ปานกลาง 40% และรุนแรง 10%) ส่วนต้นที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ เป็นโรค 100% (เป็นโรคน้อย 50% ปานกลาง 30% และรุนแรง 20%) ส่วนการเจริญเติบโตวัดผลค่าเฉลี่ยต่อต้นได้ โดยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ความสูงของลำต้น เชื้อ M-3, เชื้อรุนแรง, เชื้อ M-2, ไม่ได้ปลูกเชื้อ และ เชื้อ M-1 คือ259.50, 248.50, 247, 239.50 และ 238.30 เซนติเมตร ตามลำดับ ทรงพุ่ม เชื้อ M-2, M-1, เชื้อรุนแรง, เชื้อ M-3 และไม่ได้ปลูกเชื้อ คือ 216.70, 207, 195.90, 194.10 และ 178.40 เซนติเมตรตามลำดับ และเส้นผ่าศูนย์กลางของ intermediate stock เชื้อ M-2, M-1,M-3, เชื้อรุนแรงและไม่ได้ปลูกเชื้อ คือ 5.93, 5.32, 5.18, 5.03 และ 4.79 เซนติเมตร ตามลำดับ

สำหรับผลผลิตซึ่งเป็นปีแรก ที่เก็บเป็นน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยต่อต้นได้จาก ส้มเขียวหวานที่ปลูกเชื้อ M-1, M-2, ไม่ได้ปลูกเชื้อ (H), ปลูกเชื้อ M-3 และเชื้อรุนแรง คือ 8.15, 7.62, 6.52, 6.34 และ 2.72 กิโลกรัม ตามลำดับ

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0307

[1]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

คำนำ

ปัจจุบันการปลูกส้มในประเทศ เกษตรกรผู้ปลูกส้มเป็นอาชีพทั่วทุกแหล่งปลูกกำลังประสบปัญหาวิกฤติ คือต้นส้มแสดงอาการทรุดโทรมหลักจากปลูกเพียง 4-5 ปี หรือหลังจากที่ต้นส้มให้ผลผลิตแล้ว 1-2 ปี ต้นส้มจะแสดงอาหารทรุดโทรมและจะทรุดโทรมลงไปเรื่อย ๆ ผลผลิตและขนาดลดลง คุณภาพต่ำ และที่สำคัญผลส้มมักจะร่วงก่อนอายุการเก็บเกี่ยว และสุดท้ายต้นส้มจะตายในที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งส้มเขียวหวานมีอายุเฉลี่ยเพียง 6-8 ปีเท่านั้น หรือบางสวนมีอายุสั้นกว่า ยังไม่ถึงจุดคุ้มทุน ทำให้เกษตรกรประสบภาวะขาดทุน ก่อให้เกิดความเดือดร้อนกับเกษตรกรผู้ปลูกส้มเป็นอย่างมาก ดังเช่นที่เกิดขึ้นในเขตทุ่งหลวงรังสิต จังหวัดปทุมธานี, สระบุรี และ นครนายก (กรมวิชาการเกษตร, 2544) จากการพิสูจน์และสรุปของนักวิชาการทั้งในและต่างประเทศ ได้ทำการศึกษาวิจัยร่วมกันเชื่อว่าสาเหตุหลักที่ทำให้ต้นส้มทรุดโทรม คือ โรคกรีนนิ่งหรือ โรคใบเหลืองต้นโทรมที่เกิดจากเชื้อคล้ายแบคทีเรียมีเพลี้ยไก่แจ้ส้ม (Citrus psyllid, *Diaphorina citri*) เป็นแมลงพาหะนำเชื้อโรค (Prommintara and Deema, 1985, Schwarz et al., 1973) และโรคทริสเทซ่าที่เกิดจากเชื้อไวรัส มีเพลี้ยอ่อนหลายชนิดนำโรคโดยเฉพาะอย่างยิ่งเพลี้ยอ่อนส้ม (Brown citrus aphid, *Toxoptera citricidus*) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการนำเชื้อโรค (ไมตรี และ นวลจันทร์, 2525; Attathom et al., Deema et al., 1986 ; Knorr et al., 1973) และในธรรมชาติยังพบว่าทั้งสองโรคนี้สามารถเกิดขึ้นได้พร้อมกันในต้นส้มต้นเดียวกัน จึงเป็นสาเหตุทำให้ต้นส้มแสดงอาการทรุดโทรมอย่างรวดเร็วและรุนแรงมากยิ่งขึ้น (Prommintara, 1990) สำหรับต้นที่เป็นทั้งสองโรคนี้ ไม่มีสารเคมีชนิดใดที่สามารถรักษาให้หายได้ (Su and Chen, 1991) และจากการสังเกตุงานที่กำลังดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายพบว่า วิธีการสร้างภูมิต้านทานให้กับต้นส้มเขียวหวานปลอดโรคเพื่อป้องกันความเสียหายที่เกิดจากโรคทริสเทซ่าได้ผลดีในระดับหนึ่ง (ไมตรี และ คณะ, ผลงานยังไม่ได้ตีพิมพ์) แต่ปรากฏว่ามีต้นส้มทดลองส่วนใหญ่แสดงอาการเป็นโรคกรีนนิ่งเกิดขึ้น ดังนั้นในแหล่งที่มีทั้งโรคกรีนนิ่งและทริสเทซ่าระบาด การสร้างภูมิต้านทานโดยการปลูกเชื้อทริสเทซ่าเพียงอย่างเดียวไม่สามารถป้องกันและลดความเสียหายอันเนื่องมาจากการทรุดโทรมของต้นส้มเขียวหวานได้ จากรายงานของ Dr. Koizumi และคณะ (Koizumi et al, 1994) พบว่าส้มแป้น และ rough lemon ที่ปลูกที่สถานีทดลองพืชสวนน่าน (ชื่อเดิม) มีความทนทาน (tolerance) ต่อโรคกรีนนิ่ง จากเหตุผลดังกล่าว การทดลองครั้งนี้จึงได้นำส้มแป้นเป็น intermediate Stock ของส้มเขียวหวาน ร่วมกับการสร้างภูมิคุ้มกันโรคทริสเทซ่า โดยใช้เชื้อไวรัสทริสเทซ่าไม่รุนแรง (mild strain) 3 ชนิด เปรียบเทียบกับเชื้อไวรัสทริสเทซ่าชนิดรุนแรง (severe strain) เป็น positive control และไม่ใส่เชื้อเป็น negative control บนต้นตอหลัก (main stock) คือพันธุ์ส้ม rough lemon เพราะเป็นต้นตอที่เข้าได้กับส้มทุกพันธุ์ (compatibility) แล้วนำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายซึ่งเป็นแหล่งที่มีทั้งโรคกรีนนิ่งและทริสเทซ่าแพร่ระบาด เพื่อทดลองผลของ intermediate stock ต่อความรุนแรงของโรคกรีนนิ่งบนส้มเขียวหวานที่มีภูมิคุ้มกันไวรัสทริสเทซ่า ในการป้องกันและลดความเสียหายจากทั้งสองโรคดังกล่าวหรือเรียกรวมกันว่าโรคทรุดโทรมของส้มเขียวหวาน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นกล้าส้มพันธุ์ rough lemon อายุ 1 ปี ซึ่งใช้เป็นต้นตอหลัก
2. ตาส้มแป้นปลอดโรค ซึ่งใช้เป็น intermediate stock
3. ตาส้มเขียวหวาน
    3.1 ตาส้มเขียวหวานปลอดโรค (Healthy) สำหรับเป็น negative control
    3.2 ตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า M-1 (mild strain – 1)
    3.3 ตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า M-2 (mild strain – 2)
    3.4 ตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า M-3 (mild strain – 3)
    3.5 ตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า ชนิดรุนแรง (severe strain) สำหรับเป็น positive control
4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการติดตาทาบกิ่ง
5. โรงเรือนปลูกพืชที่สามารถกันแมลงได้
6. แอนติซีรัมของเชื้อ CTV (citrus tristeza virus)
7. อุปกรณ์ในการตรวจสอบโรคโดยวิธี อีไลซ่า (ELISA)
8. พันธุ์ส้ม Madam Vinous สำหรับใช้ตรวจสอบโรคกรีนนิ่ง
8. กล้องจุลทรรศน์อีเลคตรอน
9. ปุ๋ยและสารเคมีกำจัดโรคและแมลง

วิธีการ

1. การเตรียมพืชทดลอง
    1.1 ติดตาส้มแป้น intermediate stock บนต้นตอ rough lemon ((main stock) สูงจากพื้นดิน 30 ซม. ทิ้งไว้นาน 6 เดือน จนกิ่งของส้มแป้นมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 ซม. แล้วติดตาซ้ำบนส้มแป้นสูงจากจุดการติดตาครั้งแรก 10 ซม. โดยใช้ตาส้มเขียวหวาน 5 ชนิด คือ ตาส้มเขียวหวานปลอดโรค, ตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า M-1, M-2, M-3 และตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่าชนิดรุนแรง ทำชนิดละ 10 ต้น
    1.2 การตรวจสอบเชื้อ หลังจากที่ทำการติดตาส้มเขียวหวาน 5 ชนิด แล้ว 3 เดือน ทำการตรวจสอบเชื้อ CTV ต้นส้มเขียวหวานทดลองทุกต้นโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา คือ วิธี ELISA (Enzyme-linked innumosorbent assay) และวิธี IEM-Derrick (Immuno electron microscopy) (Roistacher, 1986) เพื่อให้แน่ใจว่าต้นส้มเขียวหวานทดลอง ที่ติดตาด้วยตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อ CTV มีเชื้อทุกต้น
2. การปลูกพืชทดลอง

    สถานที่ทดลอง ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย จ เชียงราย เนื้อที่ประมาณ 2 ไร่ ซึ่งเป็นแหล่งที่มีโรคกรีนนิ่ง และทริสเทซ่า แพร่ระบาด

2.1 การเตรียมและปรับพื้นที่แปลงปลูก จากการวิเคราะห์ดินมีค่า pH 5.4 ทำการปรับ pH ด้วยปูนโคโลไมท์ อัตรา 500 กก/ไร่ ตามคำแนะนำของกองเกษตรเคมี (ชื่อเดิม) แล้วไถพรวนยกร่องเตี้ยทำเป็นแถว รวม 10 แถว แต่ละแถวสามารถปลูกได้ 5 ต้น ระยะปลูก 5 X 5 ม.

2.2 การปลูกส้มทดลอง ปลูกเป็นแถว ๆ ละ 5 ต้น โดยปลูกสลับเชื้อ เริ่มจากต้นส้มเขียวหวานปกติปลอดโรค, ตามด้วยต้นที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า M-1, M-2, M-3 และเชื้อรุนแรง รวม 10 แถว ล้อมรอบด้วยต้นส้มเขียวหวานและโชกุน แสดงอาการเป็นโรคกรีนนิ่ง + ทริสเทซ่า ปลูกเสร็จแล้วคลุมด้วยฟางข้าว

3. การดูแลรักษา

3.1 การให้น้ำแบบมินิสปริงเกอร์

3.2 การให้ปุ๋ย หลังจากปลูกประมาณ 11/2 เดือน ให้ปุ๋ยฟลอรานิท สูตร 20-5-8 ซึ่งเป็นปุ๋ยละลายช้า ผสมปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 1:1 (ประมาณ 60 กรัม) ทุกเดือน และฉีดพ่นปุ๋ยน้ำไบโฟลาน สูตร 11-8-6 ทุก 15 วัน

3.3 การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลง เน้นเฉพาะช่วงที่ส้มแตกใบอ่อน เฉลี่ย 2 ครั้ง/เดือน สารเคมีที่ใช้ตามคำแนะนำกองกีฏและสัตววิทยา และ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา (ชื่อเดิม) คือ

สารประกอบทองแดง	- โรคแคงเกอร์ และโรคที่เกิดจากเชื้อราต่าง ๆ
อิมิดาโคลพริด	- เพลี้ยไก่แจ้ส้ม, เพลี้ยไฟ, หนอนชอนใบ
โพรพาร์ไกด์	- ไรแดง, ไรสนิม
คาร์บาริล	- ผีเสื้อมวนหวาน, เพลี้ยอ่อน
คาร์โบซัลแฟน	- เพลี้ยไฟ, เพลี้ยอ่อน
ปิโตรเลี่ยม สเปรย์ออย์	- เพลี้ยไก่แจ้ส้ม

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 การเจริญเติบโต วัดผลการเจริญเติบโต ทางด้านความสูง ทรงพุ่ม และเส้นผ่าศูนย์กลาง ของต้นตอหลัก (main stock), ตอกลาง (intermediate stock) และพันธุ์ดี (scion) ทุก 6 เดือน

4.2 โรค โรคกรีนนิ่งและทริสเทซ่า ตรวจสอบลักษณะอาการของโรคด้วยสายตา และโดยวิธีการใช้พืชทดสอบ (indexing plant) และวิธีทางเซรุ่มวิทยา เช่น ELISA, IEM เป็นต้น

4.3 ผลผลิต นับจำนวนผล และน้ำหนักเปรียบเทียบกันในแต่ละกรรมวิธี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการเตรียมพืชทดลอง หลังจากติดตาส้มเขียวหวาน 5 ชนิด คือ ตาส้มเขียวหวานปลอดโรค, ตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า M-1, M-2, M-3 และเชื้อรุนแรง แล้วนาน 3 เดือน ทำการตรวจสอบโรคไวรัสทริสเทซ่า โดยวิธี ELISA ผลปรากฏว่าต้นส้มเขียวหวานทดลองทุกต้น พบว่ามีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า ยกเว้นต้นที่ติดตาด้วยตาส้มเขียวหวานปลอดโรคไม่พบเชื้อ

การปลูกพืชทดลอง ได้ทำการปลูกส้มเขียวหวาน หลังจากตรวจสอบโรคทริสเทซ่าแล้ว ปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย วันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2546 โดยปลูกเป็นแถว ๆ ละ 5 ต้น สลับเชื้อ แถวที่ 1 เริ่มจากส้มเขียวหวานปลอดโรค ตามด้วยต้นที่มีเชื้อทริสเทซ่า M-1, M-2, M-3 และเชื้อรุนแรง ส่วน แถวที่ 2. จะเริ่มจาก M-1, M-2, M-3, เชื้อรุนแรงและต้นปลอดโรค ไล่ไปตามลำดับ จนถึงแถวที่ 10 และ ทุกแถวจะประกอบด้วยต้นส้มเขียวหวาน 5 ชนิด (ตามภาพ 1) คือ

1. ต้นส้มเขียวหวานปลอดโรค No. 1/1 – 1/10
2. ตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า M-1 No. 2/1 – 2/10
3. ตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า M-2 No. 3/1 – 3/10
4. ตาส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า M-3 No. 4/1 – 4/10
5. ตอส้มเขียวหวานที่มีเชื้อไวรัสทริสเทซ่า ชนิดรุนแรง No. 5/1 – 5/10)

ผลการวัดผลการเจริญเติบโต คือ ความสูง, ทรงพุ่ม และ เส้นผ่าศูนย์กลางของต้นตอหลัก (main stock)), ตอกลาง (intermediate stock) และพันธุ์ดี (scion), โรคกรีนนิ่งและทริสเทซ่าและผลผลิต คือ จำนวนผลและน้ำหนัก ทุก 6 เดือน ผลปรากฏตามตารางดังนี้:-

ตารางที่ 1. แสดงผลการเจริญเติบโต ผลผลิตและการตรวจสอบโรคทริสเทซ่าและกรีนนิ่ง ของส้มเขียวหวาน ที่

มี พันธุ์ส้มแป้นเป็น Intermediate stock อายุ 6 เดือน

ลำดับที่	พันธุ์	การเจริญเติบโต (เฉลี่ย/ต้น					ผลผลิต(เฉลี่ย/ต้น)		% การตรวจสอบโรค	
		ความสูง (ซม.)	ทรงพุ่ม (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางต้นตอ			จำนวนผล	น้ำหนัก	CTV by ELISA	Go by Indexing plant
				Stock	Inter	Scion				
1.	ส้มเขียวหวานปลอดโรค	138.30	79.00	1.11	0.81	0.63	-	-	80	-
2.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-1	147.20	75.60	1.17	0.96	0.68	-	-	100	-
3.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-2	135.80	96.10	1.19	0.98	0.70	-	-	100	-
4.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-3	153.40	83.20	1.22	0.98	0.72	-	-	100	-
5.	ส้มเขียวหวานเชื้อรุนแรง	120.60	68.50	1.15	0.88	0.65	-	-	100	-

Stock = main stock (rough lemon)

Inter = intermediate stock (ส้มแป้น)

Scion = ส้มเขียวหวาน

ตารางที่ 2. แสดงผลการเจริญเติบโต ผลผลิตและการตรวจสอบโรคทริสเทซ่าและกรีนนิ่ง ของส้มเขียวหวาน

มีพันธุ์ส้มแป้นเป็น Intermediate stock อายุ 12 เดือน

ลำดับที่	พันธุ์	การเจริญเติบโต (เฉลี่ย/ต้น					ผลผลิต(เฉลี่ย/ต้น)		% การตรวจสอบโรค	
		ความสูง (ซม.)	ทรงพุ่ม (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางต้นตอ			จำนวนผล	น้ำหนัก	CTV by ELISA	Go by Indexing plant
				Stock	Inter	Scion				
1.	ส้มเขียวหวานปลอดโรค	226.00	127.80	3.78	3.18	2.68	-	-	80	20
2.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-1	240.50	138.00	4.05	3.39	2.91	-	-	100	20
3.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-2	240.50	152.00	4.52	3.77	3.26	-	-	100	-
4.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-3	242.00	139.90	4.14	3.47	3.01	-	-	100	-
5.	ส้มเขียวหวานเชื้อรุนแรง	218.50	135.00	3.85	3.20	2.79	-	-	100	-

ตารางที่ 3.. แสดงผลการเจริญเติบโต ผลผลิตและการตรวจสอบโรคทริสเทซ่าและกรีนนิ่ง ของส้มเขียวหวาน

ที่มีพันธุ์ส้มแป้นเป็น Intermediate stock อายุ 18 เดือน

ลำดับที่	พันธุ์	การเจริญเติบโต (เฉลี่ย/ต้น					ผลผลิต(เฉลี่ย/ต้น)		% การตรวจสอบโรค	
		ความสูง (ซม.)	ทรงพุ่ม (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางต้นตอ			จำนวนผล	น้ำหนัก	CTV by ELISA	Go by Indexing plant
				Stock	Inter	Scion				
1	ส้มเขียวหวานปลอดโรค	232.60	138.50	4.89	4.19	3.66	-	-	90	40
2.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-1	236.50	160.50	5.33	4.66	4.08	-	-	100	30
3.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-2	264.00	170.00	5.71	4.99	4.44	-	-	100	20
4.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-3	250.00	160.00	5.51	4.87	4.27	-	-	100	20
5.	ส้มเขียวหวานเชื้อรุนแรง	250.50	169.00	5.34	4.65	4.05	-	-	100	30

Stock = main stock (rough lemon)

Inter = intermediate stock (ส้มแป้น)

Scion = ส้มเขียวหวาน

ตารางที่ 4. แสดงผลการเจริญเติบโต ผลผลิตและการตรวจสอบโรคทริสเทซ่าและกรีนนิ่ง ของส้มเขียวหวาน ที่มีพันธุ์ส้มแป้นเป็น Intermediate stock อายุ 2 ปี

ลำดับที่	พันธุ์	การเจริญเติบโต (เฉลี่ย/ต้น)					ผลผลิต(เฉลี่ย/ต้น)		% การตรวจสอบโรค	
		ความสูง (ซม.)	ทรงพุ่ม (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางต้นตอ			จำนวนผล	น้ำหนัก	CTV by ELISA	Go by Indexing plant
				Stock	Inter	Scion				
1.	ส้มเขียวหวานปลอดโรค	235.80	150.25	5.18	4.30	3.86	-	-	100	100
2.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-1	237.00	170.80	5.54	4.89	4.28	-	-	100	100
3.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-2	250.50	190.50	5.92	5.24	4.65	-	-	100	90
4.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-3	252.80	170.50	5.73	5.10	4.48	-	-	100	70
5.	ส้มเขียวหวานเชื้อรุนแรง	250.00	188.90	5.55	4.85	4.25	-	-	100	90

ตารางที่ 5. แสดงผลการเจริญเติบโต ผลผลิตและการตรวจสอบโรคทริสเทซ่าและกรีนนิ่ง ของส้มเขียวหวาน ที่

มีพันธุ์ส้มแป้นเป็น Intermediate stock อายุ 2 ปี 3 เดือน

ลำดับที่	พันธุ์	การเจริญเติบโต (เฉลี่ย/ต้น)					ผลผลิต(เฉลี่ย/ต้น)		% การตรวจสอบโรค	
		ความสูง (ซม.)	ทรงพุ่ม (ซม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางต้นตอ			จำนวนผล	น้ำหนัก	CTV by ELISA	Go by Indexing plant
				Stock	Inter	Scion				
1.	ส้มเขียวหวานปลอดโรค	239.50	178.40	5.32	4.79	4.18	61.10	6.52	100	100
2.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-1	238.30	207.00	5.89	5.32	4.64	71.00	8.15	100	100
3.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-2	247.00	216.70	6.41	5.93	5.11	72.50	7.62	100	90
4.	ส้มเขียวหวานเชื้อ M-3	259.50	194.10	5.75	5.18	4.43	52.10	6.34	100	80
5.	ส้มเขียวหวานเชื้อรุนแรง	248.50	195.90	5.68	5.03	4.35	28.70	2.72	100	90

Stock = main stock (rough lemon)

Inter = intermediate stock (ส้มแป้น)

Scion = ส้มเขียวหวาน

ภาพที่ 1. **<u>แปลงทดลอง</u>** <u>Intermediate Stock</u> **<u>ณ. ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย</u>**

ปลูกวันที่ 26 กุมภาพันธ์ 2546

แถว					
1.	O	O	O	O	O
	1/1*	2/1	3/1	4/1	5/1
2.	O	O	O	O	O
	2/2	3/2	4/2	5/2	1/2
3.	O	O	O	O	O
	3/3	4/3	5/3	1/3	2/3
4.	O	O	O	O	O
	4/4	5/4	1/4	2/4	3/4
5.	O	O	O	O	O
ถนน					
6.	5/5	1/5	2/5	3/5	4/5
	O	O	O	O	O
7.	1/6	2/6	3/6	4/6	5/6
	O	O	O	O	O
8.	2/7	3/7	4/7	5/7	1/7
	O	O	O	O	O
9.	3/8	4/8	5/8	1/8	2/8
	O	O	O	O	O
10	4/9	5/9	1/9	2/9	3/9
	O	O	O	O	O
	5/10	1/10	2/10	3/10	4/10

ถนน

แปลง Mild Strain

* เชื้อ/ No ต้น

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2544. รายงานสรุปปัญหาสาเหตุผลส้มร่วงของแหล่งปลูกส้มจังหวัดปทุมธานี สระบุรีและ นครนายก และแนวทางแก้ไข โดยคณะทำงานศึกษาผลกระทบของสิ่งแวดล้อมและการจัดการต่อการติดผลของส้มเขียวหวาน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ . พฤษภาคม 2544. 9 หน้า

ไมตรี พรหมมินทร์ และ นวลจันทร์ คีมา. 2535. ความแตกต่างของลักษณะอาการของส้มเขียวหวานต่อเชื้อไวรัสทริสเทซ่า 5 ชนิดในเรือนทดลอง. รายงานผลงานวิจัยกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กลุ่มงานไวรัสวิทยา หน้า 1-12.

Attathom, S., S, Bureekam., Y. Monkolasuk., S. Bhongsatien and K. Rienwarakorn. 1983. Citrus tristeza Virus in Thailand and the production of virus-free plants. A paper presented at the First Workshop on Plant Virus and Mycoplasmas at National University Singapore. 24-27 May, 1983. 15 pp.

Deema, N., M. Prommintara., K. Kiratiya-angul and Kittipakorn. 1986. Citrus tristeza virus isolated from acid lime in Thailand. Food and Fertilizer Technology Center for the ASPAC Region . Book Series. No. 33;136-141.

Knorr, L.C., R.E. Schwarz and M. Prommintara. 1973. Tristeza-a citrus virus disease widely disseminated in Thailand. FAO Plant Protection Service Bulletin No. 21. 12 pp.

Koizumi, M., M. Prommintara., N. Deema and D. Choopanya. 1994. Phytopathological studies on citrus greening disease in Thailand. Cooperative research programme between Japan international Research 58 pp.

Prommintara, M, and N, Deema 1985. Abnormalities of citrus cells infected with greening disease. Proceeding of the 23rd Annual Conference on plant Science, Poster Session, Kasetsart University. Bangkok. Thailand. Vol. 1: 429-433.

Prommintara, M, 1990. Simultaneous infection of mandarin (*Citrus reticulata Bl.*) with tristeza virus an greening organism in Thailand. Proceecings of the Asia Pacific International Conference on Citriculture, Chiang Mai, Thailand, 4-10 February 1990. P. 96-99.

Roistacher C.N. 1986. Indexing an control of citrus virus and virus-like diseases. Plant virus diseases on horticultural crops in the tropics and subtropics, FFTC Book Series No. 33:127-135.

Schwarz. R.C., L.C. Knorr and M. Prommintara. 1973. Greening:Cause of a recent decline of citrus in Thailand. FAO Plant Protection Service Bulletin No. 20. 18 pp

Su, H.J. and C.H. Chen. 1991. Implementation of IPM of citrus virus and greening (Likubin) disease. Integrated Control of Plant Virus Diseases. Food and Fertilizer Technology Center for the ASPAC Region. Supplement No. 1:3-11.

การใช้ประโยชน์จากเชื้อแบคทีเรีย Bacillus ในการควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง

Study on Bacillus for biocontrol agent of *R. solanacearum* causal bacterial wilt disease of potato

วงศ์ บุญสืบสกุล **ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล**
รุ่งนภา คงสุวรรณ์ **ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์**
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดินและรากบริเวณ rhizoplane ของพืชที่ไม่แสดงอาการโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคนี้ในพืชต่าง ๆ ได้แก่ มันฝรั่ง พริก มะเขือเทศ มะเขือยาว ได้ตัวอย่าง 104 ตัวอย่าง จาก 18 จังหวัด นำมาแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีศักยภาพเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อโรคดังกล่าว (potential antagonistic bacteria against *Ralstonia solanacearum*) ด้วยอาหาร King's B ได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จำนวน 319 ไอโซเลท นำเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการโดยการทดสอบตรง (direct bioassay) ด้วยวิธี disk diffusion และ double layer culture ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (antagonistic bacteria) 15 ไอโซเลท คัดเลือกเชื้อดังกล่าวที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าจำนวน 5 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองเพื่อหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เหมาะสมไปใช้ควบคุมโรคดังกล่าวในมันฝรั่ง พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลท ดังกล่าว สามารถป้องกันการเกิดโรคดังกล่าวได้ (pre disease control) แต่ไม่สามารถรักษาโรคดังกล่าวถ้าพืชนั้นถูกเชื้อเข้าทำลายแล้ว (post disease control) โดยการแช่รากถึงโคนต้นของต้นกล้ามะเขือเทศก่อนปลูกด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่อัตราความเข้มข้น 10^9 cfu/ml เป็นเวลา 2-3 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคของกรรมวิธีแช่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกกรรมวิธี (เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีเปรียบเทียบโดยสามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 23.33 ถึง 90 % ได้ดำเนินการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลองโดยการคลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยสารละลายเชื้ออัตราเดียวกับที่ใช้ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและราดด้วยสารละลายเชื้อเดียวกันอัตราความเข้มข้น 10^6 cfu/ml ปริมาตร 10 ml ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ขณะนี้อยู่ในระหว่างการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดลองและเตรียมดำเนินการทดสอบในสภาพไร่เกษตรกรต่อไป

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0401-01

คำค้น(Keywords) antagonistic bacteria, *Bacillus* sp., bio-control agent, soil-borne disease

Abstract

Collection of the potential antagonistic bacteria for *Ralstonia solanacearum* sausal bacterial wilt disease from soil, and root were conducted from eighteen provinces in Thailand by sampling the former material from non disease plant in disease severity infection of several crops area such as potato, tomato, pepper. Three hundred nineteen bacteria were isolated by general King-B medium and were been screening for inhibition *R. solanacearum* growth by direct bioassay was applied. Using disc diffusion method tested to search the antagonistic bacteria from the potential antagonistic bacteria culture suspension and its culture filtrate with double layer culture of *R. solanacearum* on PSA (Wakimoto's potato semisynthetic agar) 1.5 and 0.5% agar. The results showed that fifteen isolates antagonized on *R. solanacearum*, which inhibited with strongly clear zone and were tested for biocontrol microorganism agent for this disease on young tomato plant under green house condition. The results were found that five isolates could pre-disease control the bacterial wilt disease of tomato in green house condition at range 23.33 – 90 % but could not control on post disease condition. The former 5 antagonists were conducted in field condition on potato crop in disease infected area 2 locations at Northern of Thailand during 2003-2004. The each *R. solanacearum* antagonist suspension 10^9 cfu/ml was dressed the potato seed before planting and drenching with the Rs. Ant. suspension 10^6 cfu/ml after planting was varied several times.

คำนำ

Ralstonia solanacearum (Yabuuchi *et al.* 1995) สาเหตุโรคเหี่ยว (bacterial wilt) ที่ทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิดตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โรคนี้ถูกจัดให้เป็นโรคที่สำคัญที่สุดโรคหนึ่งของโลก(Hayward and Hartman, 1994) ที่สำคัญปัจจุบันยังไม่พบวิธีการใดวิธีการหนึ่งที่สามารถควบคุมโรคนี้ให้ได้ผลดพอควรแก่การแนะนำโดยเฉพาะการใช้สารเคมีพบว่าไม่สามารถควบคุมโรคนี้ได้และไม่แนะนำให้ใช้เมื่อเกิดโรคนี้ระบาด กลยุทธ์ในการควบคุมโรคนี้ต้องใช้วิธีประสมประสาน (integrated control) โดยเน้นที่การป้องกันโรค (protection), ลดการแพร่ระบาดของเชื้อโรค (eradication) และหลีกเลี่ยงการเกิดโรค (avoidance)(French *et al*., 1997). Tans-Kersten *et al.* (2001) พบว่าความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อนี้มีผลโดยตรงกับการเข้าทำลาย
และการเกิดระบาดของเชื้อ Richarson *et al.* (1998) ประสบความสำเร็จจำแนกเชื้อในสกุล*Pseudomonas*

cepacia ชนิดที่เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ของเชื้อโรคนี้ โดยอาศัยการจัดกลุ่มตามคุณสมบัติของ fattyacid profiling, REP PCR, BOX PCR and ERIC PCR Nesmith and Jenkins (1985) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มักพบในดินที่มีอินทรีย์หมักตามธรรมชาติ (suppressive and conducive composed soil) Guo *et al.* (2000)รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บริเวณรากพืช (rhizosphere bacteria) ได้แก่ *Pseudomonas* sp. J3, *Bacillus* spp. BB11 and FH 17 มี คุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถควบคุมการเกิดโรค

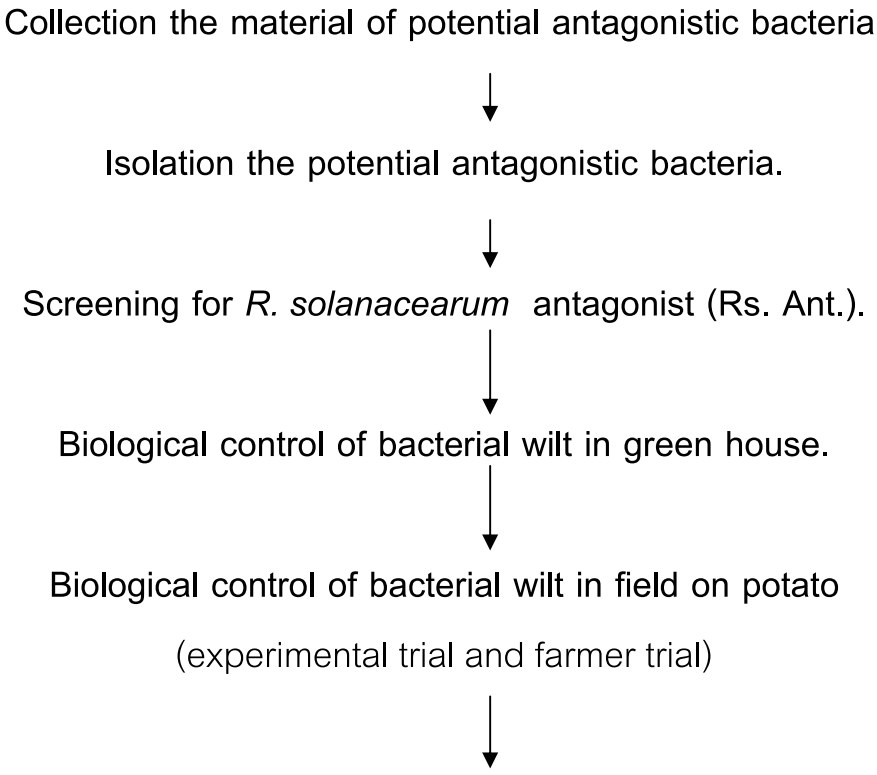
เหี่ยวของพริกได้ Frey *et al.* (1994) ใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมสร้างเชื้อกลายพันธุ์ของเชื้อโรคนี้ (Hrp$^-$ mutant of *R. solanacearum* by □-Km interposon used genetically engineered) ช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ Aino *et al.* (1998) รายงานว่า endophytic pseudomonads, FPT and FPH มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ Shiomi *et al.* (1999) พบว่าใช้ suppressive soil จากเมือง Mutsumi ช่วยลดความรุนแรงของโรคดังกล่าวในมะเขือเทศ Ciampi *et al.* (1999) ใช้สารสกัดจากเชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท A47 และ *Pseudomonas fluorescens* BC8 ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคเหี่ยว สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพไร่ Sunaina *et al.* (1998) ใช้เชื้อแบคทีเรียบริเวณรากควบคุมโรคเหี่ยวในมันฝรั่งได้ 24-83 % และใช้ควบคุมได้ดีกว่าเชื้อโรคนี้ที่กลายพันธุ์เป็นชื้อที่ไม่เกิดโรครุนแรง (avairulent mutant of *R. solanacearum*) และจำแนกได้เป็น *Bacillus subtilis, B. cereus and Enterobacter cloacae* Karuna *et al*. (1998) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* สามารถควบคุมโรคนี้ได้ดีกว่า *Pseudomonas aeroginosa* Kelaniyangoda (1998) พบว่าการปรับปรุงดิน (soil amendment) ด้วยการผสม sun hemp seed (*Crotalaria juncea* L.) 10 t/ha + Calcium Oxide 2 t/ha + Urea 200 kg N/ha สามารถควบคุมโรคนี้ทั้งในมะเขือเทศและมันฝรั่ง Suthaya (1984) รายงานว่า *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas fluorescens* ที่แยกเชื้อได้จากปุ๋ยหมักและปุ๋ยพืชสดสามารถยับยั้งการเจริญและการทำให้เกิดโรคของเชื้อโรคดังกล่าวได้แต่ไม่สามารถควบคุมโรคในสภาพไร่ได้Urutchata (1991) พบว่า *P. fluorescens* NA1 และ *Serratia marcescens* NA25 สามารถควบคุมโรคดังกล่าวในมะเขือเทศได้โดยการแช่รากของกล้ามะเขือเทศก่อนปลูก

ในการทดลองนี้จะสำรวจเก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรียจากทั่วประเทศไทยทดสอบหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อหาเชื้อที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้พร้อมจำแนกเพื่อให้ทราบจากทั่วประเทศไทย ชนิดของเชื้อ

นี้ด้วยเทคนิคทีแอลซี

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองนี้มีขั้นตอนในการดำเนินการทดลองตามลำดับดังนี้



เริ่มจากเก็บตัวอย่างดินและรากบริเวณ rhizoplane ของพืชที่ไม่แสดงอาการโรคเหี่ยวในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคนี้ นำมาแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีศักยภาพเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อโรคดังกล่าวด้วยอาหาร King's B เก็บเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่10 องศาเซ็นเซียส นำเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวแต่ละไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการโดยการทดสอบตรง (direct bioassay) ด้วยวิธี disk diffusion และ double layer culture คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (antagonistic bacteria) ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคดังกล่าว มาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง แบ่งการทดลองเป็น 2 สภาพการทดลอง ได้แก่ การควบคุมโรคในสภาพก่อนเกิดโรคและหลังเกิดโรค ทำการทดลองกับกล้ามะเขือเทศโดยการแช่รากถึงโคนต้นของต้นกล้ามะเขือเทศก่อนปลูกด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่อัตราความเข้มข้น 10^9 cfu/ml แล้วปลูกโรคด้วยเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธี artificialinoculation คัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคดังกล่าวสภาพเรือนปลูกพืชทดลองได้ ดำเนินการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลองโดยการคลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อน

ปลูกด้วยสารละลายเชื้ออัตราเดียวกับที่ใช้ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและราดด้วยสารละลายเชื้อเดียวกันอัตราความเข้มข้น 10^6 cfu/ml ปริมาตร 10 ml ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน คัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคดังกล่าวสภาพแปลงทดลองได้ ดำเนินการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงเกษตรกรที่มีการระบาดของโรคจำนวน 2 สถานที่ และ 2 ฤดูปลูก ศึกษาจำแนกเชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวที่พบว่าสามารถใช้ในการควบคุมโรคดังกล่าวได้ผลดีตามคุณสมบัติทางชีวเคมีของ fatty acid compound ด้วย TLC chromatogram โดยเทคนิค Thin layer chromatography

ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างดินและรากบริเวณ rhizoplane ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคนี้ในพืชต่าง ๆ ได้แก่ มันฝรั่ง พริก มะเขือเทศ มะเขือยาว ได้ตัวอย่าง 104 ตัวอย่าง จาก 18 จังหวัด (ตาราง1) นำมาแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีศักยภาพเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อโรคดังกล่าว ได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จำนวน 319 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (antagonistic bacteria) 15 ไอโซเลท คัดเลือกเชื้อดังกล่าวที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าจำนวน 5 ไอโซเลท (ตาราง2) มาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองเพื่อหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เหมาะสมไปใช้ควบคุมโรคดังกล่าวในมันฝรั่ง พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 5 ไอโซเลท ดังกล่าว สามารถป้องกันการเกิดโรคดังกล่าวได้ (pre disease control) แต่ไม่สามารถรักษาโรคดังกล่าวถ้าพืชนั้นถูกเชื้อเข้าทำลายแล้ว (post disease control) โดยการแช่รากถึงโคนต้นของต้นกล้ามะเขือเทศก่อนปลูกด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่อัตราความเข้มข้น 10^9 cfu/ml เป็นเวลา 2-3 นาที พบว่าเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคของกรรมวิธีแช่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกกรรมวิธี (เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีเปรียบเทียบโดยสามารถควบคุมและลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 23.33 ถึง 90 % (ตาราง3) ได้ดำเนินการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพแปลงทดลองที่สถานีทดลองพืชสวนฝางและสถานีทดลองพืชสวนดอยมูเซอร์โดยการคลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูกด้วยสารละลายเชื้ออัตราเดียวกับที่ใช้ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและราดด้วยสารละลายเชื้อเดียวกันอัตราความเข้มข้น 10^6 cfu/ml ปริมาตร 10 ml ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน ขณะนี้อยู่ในระหว่างการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดลองและเตรียมดำเนินการทดสอบในสภาพไร่เกษตรกรต่อไป

Table1 Material collection and bacteria isolation of the potential antagonistic bacteria for *Ralstonia solanacearum*

Location (province)	Crop	Bacterial wilt sevirity	no. material collection			no. bacteria isolations
			Soil	sample manual	Root	
1.Sakonnakron(NE)	Tom.,Pep.	H	4	2	8	17
2.Pichit(N)	Tom.,Pep.	H,M	2	/	5	18
3.Chiangrai(N)	Eggp., Gin.	M,L	2	/	7	14
4.Lumpang(N)	Tom.,Pep.	L	3	3	7	15
5.Nhongkai(NE)	Tom.,Pep.,Pot	H	2	3	6	16
6.Songkra(S)	Eggp.,Tom.	H,M	4	/	8	10
7.Prathumthani©	Eggp.,Tom.	M,L	2	/	5	22
8.Nakronpranom(NE)	Tom.,Pep.	L	3	2	3	19
9.Lumpoon(N)	Tom.,Pep.	M,L	4	2	6	19
10.Prachuebkirikhung(S)	Pep.	L	2	1	6	18
11.Nakrongsrithammarat(S)	Pep.	L	4	/	10	21
12.Kanchanaburi(W)	Tom.,Pep.	H	2	2	5	21
13.Nonthaburi©	Tom.,Pep.	H,M	3	2	6	20
14.Chiangmai(N)	Pot.,Pep.,Tom	M,L	2	2	5	19
15.Chumporn(S)	Eggp.,Tom.	L	1	1	6	20
16.Tak(N)	Pot.,Gin.,Pep	L	2	1	4	20
17.Petchaboon(NE)	Gin.,Tom.,Pep	H,M	1	1	4	20
18.Ratchaburi(W)	Tom.,Pep.	L	2	1	3	10
			45	23	104	319

Table2 Inhibition clearzone of 15 antagonistic bacterias for Ralstonia solanacearum.

Location (province)	Crop	Code no.	Isolating material	Inhibition zone (mm)		Recode
				Bacteria cell	culture filtrate	
Chiangrai(N)	eggplant	CR.16	root	18.25	22.50	WB1
	ginger	CR.9	soil	9.00	11.25	
Pichit(N)	tomato	PC.2	soil	16.50	19.25	WB2
	tomato	PC.10	root	4.00	8.00	
	pepper	PC.7	soil	11.00	12.25	
	pepper	PC.12	soil	20.75	23.00	WB3
Tak(N)	potato	TK.15	root	4.00	6.25	
	ginger	TK.13	root	5.00	7.00	
Nhongkai(NE)	tomato	NK.2	soil	9.00	11.00	
	pepper	NK.14	soil	6.00	7.25	
	potato	NK.3	root	21.00	25.00	WB4
Sakonnakron(NE)	tomato	SK.17	manual	10.00	12.00	
	pepper	SK.4	root	13.00	14.00	
	pepper	SK.8	soil	7.00	9.00	
Chiangmai(N)	potato	CM2	soil	20.00	21.00	WB5

Inhibition zone (mm) = measurement from the eadge of disc to eadge of clear zone which everage from 8 value

Recode = Re write the simple name for selected antagonistic bacteria for bacterial control experiment

Table3 Bacterial wilt control on tomato in green house condition with *Ralstonia solanacearum* antagonistic bacteria.

Treatment (Antagonistic bacteria)	% bacterial wilt plant				% bacterial wilt disease control
	Replication1	Replication2	Replication3	Average	
Control(Sterile DW)	80	90	90	86.66	0.00
WB1	40	30	50	40.00	46.66
WB2	70	60	50	60.00	26.66
WB3	60	60	70	63'33	23.32
WB4	10	0	10	6.66	90.00
WB5	40	30	30	33.33	46.66

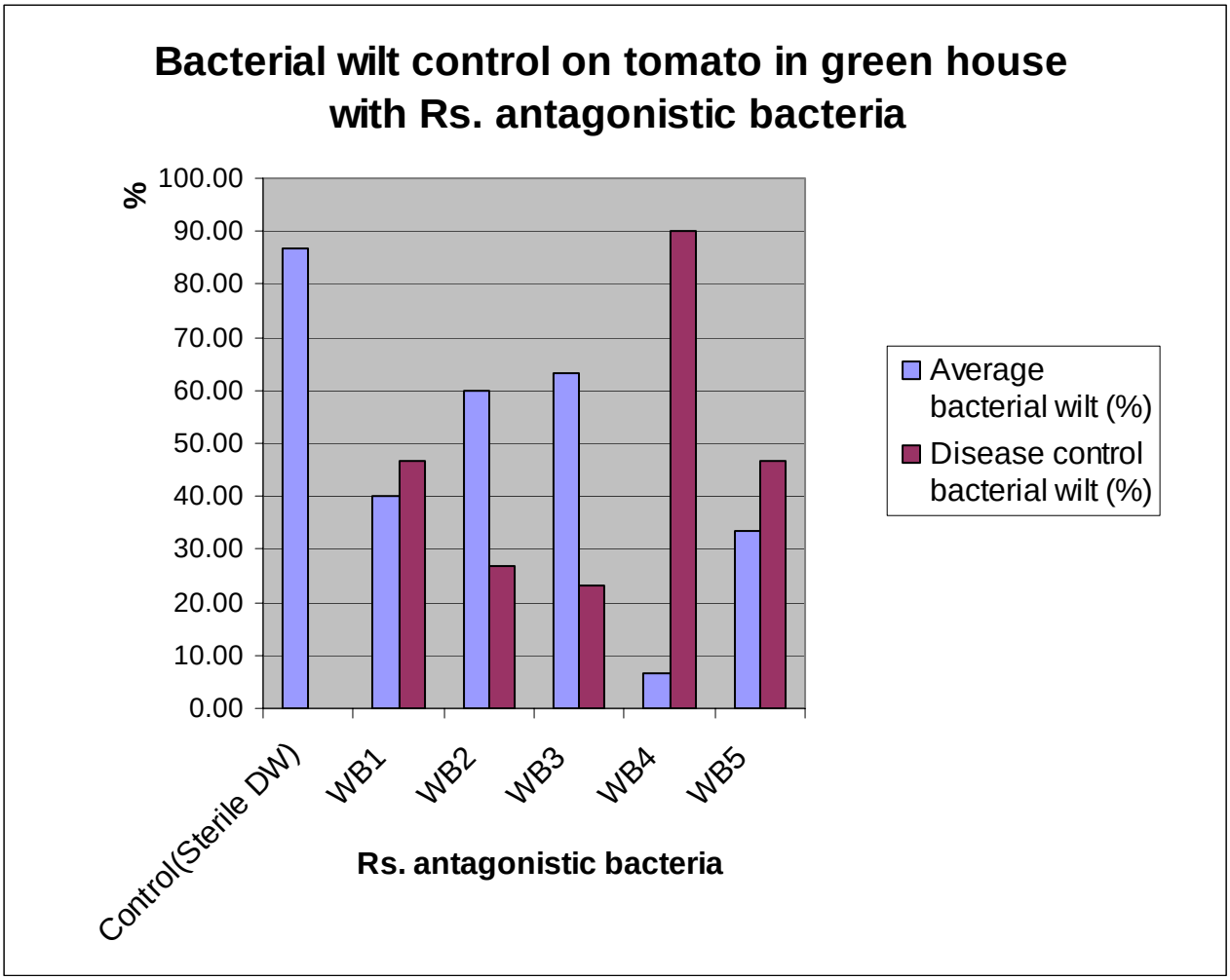


Fig.1 Bacterial wilt control on tomato in green house with *Ralstonia solanacearum* antagonistic bacteria

วิจารณ์ผลการทดลอง

สมมุติฐานของการทดลองนี้เชื่อว่าในสภาพที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียในดิน (ture soil borne disease) จากข้อมูลของเชื้อนี้พบว่ามันไม่สามารถอยู่ด้วยประชากรเชื้อที่คงที่ถาวรตลอดไปแต่อาศัยพืชอาศัยในการอยู่ข้ามฤดูอย่างระยะยาวทั้งในพืชล้มลุกและพืชยืนต้น การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคนี้โดยเฉพาะถ้าเป็นเชื้อที่สามารถอยู่ได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ (common flora) ซึ่งการทดลองนี้คัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์บริเวณรากพืชที่ไม่เป็นโรคในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคโดยเชื่อว่าน่าจะมีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดทั่วไปที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุของโรคนี้อยู่จึงทำให้พืชต้นนั้นไม่ถูกเชื้อสาเหตุของโรคนี้เข้าทำลาย จึงได้นำเชื้อจุลินทรีย์นั้นมาใช้ทดลองในการควบคุมโรคนี้ จากการทดลองที่ผ่านมาเราสามารถคัดได้เชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคนี้ในสภาพเรือนปลูกพืชได้ แต่ในสภาพความเป็นจริงการทดลองที่เกี่ยวข้องกับเชื้อจุลินทรีย์ผลการทดสอบที่ได้จากห้องปฏิบัติการกับที่พบในสภาพธรรมชาติอาจไม่เป็นในแนวทางเดียวกันหรือมักไม่สอดคล้องกัน ทั้งนี้เป็นเพราะเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ไม่สามารถอยู่รอดในธรรมชาติได้ดีพอ เนื่องจากการทดลองนี้ได้ทดสอบในขั้นห้องปฏิบัติการเท่านั้น จึงไม่สามารถกล่าวหรือวิจารณ์ได้ว่า
เชื้อปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้เป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่มีประสิทธภาพในการควบคุมโรคดังกล่าว

เอกสารอ้างอิง

Aino, M., Maekawa, Y., Mayama, S and Kato, H. 1998. The use of endophytic bacteria in biocontrol. *In* :

The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe,

French West Indies. paper number 2.10.5s.

Ciampi, L., Fuentes, R., Schobitz, R., Bernal, G. and Oyarzun, J. 1998. Biological control of *Ralstonia*

solanacearum : Alginate beads as carriers for antagonistic cells. *In* : The proceeding of second

bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper

number B2

Frey, P., Prior, P., Marie, C., Kotoujansky, A., Trigalet, D.D. and Trigalet, A. 1994. Hrp-(sup) mutants of

Pseudomonas solanacearum as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt. *Appl. Environ.*

Microbiol. 60 (9) 3175-3181.

Hayward, A.C. 1994. Symtematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria.

In: Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative agent, *Pseudomonas solanacearum.* Hayward,

A.C. and Hartman, G.L. (eds.) CABI, Wallingford. pp.123 – 135.

Karuna, K., Khan, A.N.A. and Ravikumar, M.R. 1998. Potential of biocontrol agents in the management of

bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. *In* : The proceeding of second

bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B3.

Shiomi, Y., Nishiyama, M., Onizuka, T. and Marumoto, T. 1999. Comparison of bacterial community

structures in the rhizoplane of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards

bacterial wilt. *Appl. Environ. Microbiol*. 65 (9) 3996-4001.

Tans-Kersten, J., Huang, H. and Allen, C. 2001. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive

virulence on tomato. *Journal of Bacteriology*. 183 (12) 3597-3605.

Sanaina, V., Kishore, V. and Shekhawat, G.S. 1998. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent

mutants of *Ralstonia solanacearum* and other bacteria. *In* : The proceeding of second bacterial

wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number

B5.

Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., and Nishiuchi, Y. 1995.Transfer of 2 *Burkholderia* and an

Alcaligenes species to *Ralstonia* gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia picketti* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. Nov. *Ralstonia eutropha* (Davis

1969) comb. Nov. Microbiol. Immunol. 39:897-904.

การใช้เชื้อ*Bacillus* sp.ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ

Using *Bacillus* sp for Control of Ginger and Tomato Bacterial Wilt Disease

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล **อรพรรณ วิเศษสังข์**
ทัศนาพร ทัศคร **วงศ์ บุญสืบสกุล**
กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

แยกเชื้อแบคทีเรีย*Bacillus* sp. จากดิน รากพืชต่าง ๆและปุ๋ยคอก ได้เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ จากทั้งดินและราก จำนวน 525 ไอโซเลท นำทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่างๆในห้องปฏิบัติการสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ*R. solanacearum* ได้ 13 ไอโซเลท นำเชื้อทั้ง 13 ไอโซเลทไปทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของพืช 2 ชนิดได้แก่ ขิงและ มะเขือเทศ ในสภาพเรือนทดลอง โดย ใส่สารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์รดพืชทดสอบก่อนปลูกเชื้อ *R.solanacearum* คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 100% ในสภาพเรือนทดลอง 1 ไอโซเลท และคัดเลือกได้แบคทีเรีย 3 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ที่ระดับ 80 40 และ 60% ตามลำดับในสภาพเรือนทดลอง

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง ในสภาพแปลงทดลองที่มีการควบคุมการปนเปื้อนและการหลุดลอดของเชื้อโรคเหี่ยว*Ralstonia solanacearum* เป็นการดำเนินงานในปี 2548-2549

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0401-02

คำนำ

เชื้อแบคทีเรียในดินมีความสำคัญต่อการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี เนื่องจากเป็นกลุ่มที่มีจำนวนมาก เจริญได้รวดเร็ว และมีความสามารถในการย่อยสารอาหาร (substrate) ได้หลายชนิดภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน เชื้อแบคทีเรียสกุล*Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ มีอยู่มากมายทั้งในดิน ตามผิวพืชและแหล่งอาหารที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตสูงและสามารถแยกได้ง่าย และเจริญได้รวดเร็วที่บริเวณรากพืช Baker และ Cook (1974) ได้รายงานว่า พบเชื้อแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่ม bacilli และ pseudomonads จำนวนมากในบริเวณราก และสามารถเจริญแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคที่ทำลายรากพืชได้ นอกจากนี้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ยังมีความสามารถในการสร้างสปอร์ที่ทนต่อความร้อน และสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) (Baker และ Cook, 1974) ในปัจจุบันได้มีการนำเชื้อแบคทีเรียสกุล *Bacillus* มาใช้เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมศัตรูพืชด้านการเกษตร ได้แก่การใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bt) กำจัดหนอนผีเสื้อที่เป็นศัตรูสำคัญของพืชหลายชนิด การใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว งานวิจัยส่วนใหญ่ได้ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตสู่ภาคเอกชนผลิตเป็นการค้าประสบผลสำเร็จ ทำให้แบคทีเรียสกุล*Bacillus* เป็นที่สนใจและศึกษาวิจัยเพื่อนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชทดแทนสารเคมีบางส่วน และเลือกใช้กับศัตรูพืชไม่สามารถใช้สารเคมีป้องกันกำจัดได้

เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*) จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (wilt) ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิด ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า 200 ชนิดในวงศ์ *Solanaceae* (Kelman, 1953) ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลายสภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ (strain) ของเชื้อ ในประเทศไทยมีการปลูกพืชหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อโรคชนิดนี้ โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศ ได้แก่ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา เป็นต้น

ขิงและมะเขือเทศ เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพในการส่งออก โดยมีตลาดรับซื้อในต่างประเทศมีมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปี โดยพบว่า ในปี พ.ศ. 2544 มีการส่งออกขิงในรูปขิงแห้งและขิงสด ปริมาณ 24,058 เมตริกตัน มีมูลค่า 496.014 ล้านบาทและขิงดองปริมาณ 37,032 เมตริกตันมีมูลค่า 1,162.3 ล้านบาท

การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยาก เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถที่จะคงอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง ไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคนี้ ประกอบกับการใช้พืชพันธุ์ต้านทานซึ่งมีรายงานบางครั้งไม่ให้ผลในการควบคุมโรค เนื่องจากพืชพันธุ์ต้านทานที่คัดเลือกมาจากแหล่งใดแหล่งหนึ่งเพียงแหล่งเดียวอาจจะไม่แสดงความต้านทานเมื่อนำไปปลูกในแหล่งอื่น รวมทั้งพืชบางชนิดมี

ปฏิกิริยาความต้านทานเป็นการทนโรค (tolerance) เช่น พริก โดยที่เชื้อสามารถเจริญและเพิ่มปริมาณในพืชได้ แต่ไม่ทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยว การแพร่ระบาดของโรคนี้จึงสามารถแพร่ได้อย่างรวดเร็วและทั่วประเทศเมื่อมีการขนย้ายส่วนขยายพันธุ์ของพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *R. solanacearum* ไปปลูกในที่ต่าง ๆ วิธีการป้องกันกำจัดยังคงจำกัด ได้มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรมและการใช้ชีววิธี โดยเฉพาะการใช้วิธีควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีเป็นที่ยอมรับในปัจจุบันเป็นอย่างมาก

Celino และ Gotllieb(1952) ศึกษาการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* B_3 A โดยการใส่ลงในดินที่มีเชื้อสาเหตุโรคสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้และลดการเกิดโรคจาก 70 เปอร์เซ็นต์ ลงเหลือเพียง 33 เปอร์เซ็นต์

Aspiras และ de la Cruz (1985) ได้ศึกษาพบว่า มีแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* FU 6 และ *Pseudomonas fluorescens* ที่มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและมันฝรั่ง เนื่องจากเชื้อนี้สามารถเจริญที่บริเวณรากของต้นกล้าได้ดีและสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อ *R. solanacearum* ได้

สุธัญญา (2527) ศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีรายงานว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งหรือกำจัดเชื้อ *R. solanacearum* จากมูลสัตว์และปุ๋ยเทศบาล คือ *B. cereus* และ *P. fluorescens* สามารถทำให้มะเขือเทศแสดงอาการของโรคช้า แต่ไม่สามารถยับยั้งหรือกำจัดเชื้อ *R. solanacearum* ได้

อุรัจฉทา (2534) รายงานว่าสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากดินได้ 6 สายพันธุ์ ได้แก่เชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ CH4 เชื้อ *B. licheniformis* สายพันธุ์ NA37 และ PH9 เชื้อ *P. fluorescens* สายพันธุ์ NA1 และ SU1 เชื้อ *Serratia marcescens* สายพันธุ์ NA25 และพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ NA1 และ NA25 ให้ผลดีที่สุดในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ และการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ราดลงดินตามด้วยเชื้อสาเหตุโรค ให้ผลในการควบคุมโรคในระดับที่ต่ำกว่าวิธีรากมะเขือเทศลงในสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ร่วมกับพันธุ์ต้านทานจะส่งเสริมให้มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคเพิ่มขึ้น

Ciampi และคณะ (1997a) ได้รายงานถึงการใช้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* (BC8) และเชื้อ *Bacillus subtillis* (A47) เป็น เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ผลดี เมื่อได้ศึกษาทางด้าน metabolites พบว่าเชื้อ A 47 จะพบ extracellular, themostable และ hydrolysis resistant metabolite ของ ilurin group ในขณะที่ BC8 พบว่าลักษณะ Compound คล้ายกับ Siderophore (siderophore like) ผลการทดลองพบว่าเชื้อ BC8 ซึ่งแยกมาจากภายในหัวปกติของมันฝรั่ง สามารถเข้าไปอยู่ในพืชและป้องกันพืชจากเชื้อ *R. solanacearum* ได้ในการทดลองขนาดเล็ก เช่นเดียวกับ สายพันธุ์ A47 ซึ่งเมื่อนำไปกลายพันธุ์โดยใช้สาร acridine orange แล้วพบว่า สายพันธุ์ A47 มีประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพิ่มมากขึ้น สามารถยับยั้งเชื้อ Gram negative bacteria เพิ่มขึ้นหลายชนิด

Ciampi และคณะ (1997b) ได้มีการนำเชื้อ *P. fluorescens* (BC8) และ *B. subtillis* (A47) มา

พัฒนา formulation โดยใช้วิธี trapping antagonistic bacterial cell ใน alginate beads เพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* พบว่า bead ที่เก็บไว้ 30 วัน ยังมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ได้

Karuna และคณะ (1997) ได้มีการศึกษาเชื้อ biological control agent ได้แก่ *P. fluorescens* , *P. aeroginosa* และ *B. subtilis* ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* พบว่าเชื้อ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* เมื่อนำไปในเรือนทดลองพบว่า สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในต้นมะเขือเทศที่ขึ้นบนดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* ได้ วิธีการทดลองที่ใช้ใน เรือนทดลอง เพื่อป้องกันโรคเหี่ยววิธีที่ดีที่สุดคือ จุ่มรากต้นกล้าในเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อนปลูก จะมีประสิทธิภาพในการป้องกันได้ดี

Sanaina และคณะ (1997) ได้มีการศึกษาการแยกเชื้อแบคทีเรียจากบริเวณ Rhizophere ของต้นมันฝรั่งและราก ต้นที่เป็นโรคนำมาคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์พบเชื้อ *Baccillus cereus, B. subtrilis, Entero bacter cloaceae* และ avirulent mutant ของเชื้อ *R. solanacearum* พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* โดยในการทดลองกับดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* ใน 3 แห่งในประเทศอินเดีย พบว่า สามารถลดการเกิดโรคได้ โดยที่ Bhowali ลดได้ 66-83% , ที่ Palampur ลดได้ 27-70% ที่ Bhubaneswar ลดได้ 24-71% และพบว่าผลผลิตเพิ่มขึ้น 160% ที่ Bhowali และ Bhubaneswar โดยพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากบริเวณ Rhizophere ของมันฝรั่ง มีประสิทธิภาพมากกว่า avirulent mulation ของเชื้อ *R. solanacearum*

Guoและคณะ (2002) ได้รายงานการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของพริกโดยชีววิธี ด้วยใช้เชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas* spp. (J3) และ เชื้อ *Baccilus* spp (BB11 และ FH17) ที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตให้ต้นพริก (Plant Growth Promoting Rhizophere bacteria) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ในดินที่สามารถทำให้เกิดโรคกับพริกได้ 30% ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยเชื้อปฏิปักษ์ J3 และ BH11 สามารถทำให้โรคลดลง 54 และ 65 % และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 80-100% เชื้อปฏิปักษ์ FH17 สามารถทำให้โรคลดลง 34 % ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเพียง 50% เมื่อนำเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสามชนิดมาผสมกันในอัตรา 1:1:1 พบว่าสามารถทำให้โรคลดลง 75 % และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 200%

จากรายงานที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่ามีการนำจุลินทรีย์หลายชนิดมาใช้ควบคุมศัตรูพืชทางด้านการเกษตร ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั้งภาครัฐและเอกชน โดยตระหนักถึงอันตรายจากการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมและช่วยแก้ปัญหาการดื้อสารเคมีของศัตรูพืชสำคัญหลายชนิด ตลอดจนเพิ่มทางเลือกในการพิจารณาใช้วิธีใดวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการควบคุมศัตรูพืชแก่เกษตรกร ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นงานวิจัยเพื่อคัดเลือกหาเชื้อแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อ *R.*

solanacearum สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศในระดับเรือนปลูกพืชทดลองและพัฒนาเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดในสภาพแปลงปลูกทดลอง

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ ตู้เย็น (Freezer) –20 ^{O} C
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter, Shaker, Spectrophotometer
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และเตรียมอาหารทดสอบ Biovar
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ หัวพันธุ์ขิง
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง
7. แปลงทดลองในสถานีหรือศูนย์วิจัยของกรมวิชาการเกษตร

วิธีการ

1. การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดิน ปุ๋ยคอกและรากพืชต่าง ๆ

สำรวจและเก็บตัวอย่างของพืชปกติ ดินและปุ๋ยคอก ที่คาดว่าจะมีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในแหล่งปลูกพืช ใน จังหวัดต่างๆ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง เพชรบูรณ์ กาญจนบุรี ปทุมธานี นนทบุรี สมุทรสงคราม เพชรบุรี ชุมพร ประจวบคีรีขันธ์ สระบุรี นครพนม นครราชสีมา ขอนแก่น สกลนคร หนองคาย เป็นต้น

1.1 การแยกเชื้อจากดินและปุ๋ยคอก เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มจากแปลงปลูกพืชได้แก่ พริก ยาสูบ กล้วย ปทุมมา มันฝรั่ง และมะเขือเทศ (bulk soils) โดยเก็บดินบริเวณรอบราก (rhizosphere soils) ทั้งจากต้นที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างปุ๋ยคอก นำมาผึ่งลมให้แห้งพอหมาด ๆ ทำสารละลายดินหรือปุ๋ยคอกโดยใช้ดินหรือปุ๋ยคอก 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 250 มล. เขย่าบนเครื่องเขย่า (rotary shaker) เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาแยกเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี dilution plating หรือ soil plate method คือนำมาเจือจาง 10 เท่าเป็นลำดับ (serial dilution) จากนั้นนำสารละลายดิน 0.1 มล. ของแต่ละความเข้มข้น (ประมาณที่ 10^{-4} 10^{-6} และ 10^{-8} เท่า) มากระจาย (spread) บนอาหาร King's medium B agar (KB) และ Nutrient glucose agar (NGA) โดยแต่ละความเข้มข้นทำ 4 ซ้ำ ทำการบันทึกลักษณะโคโลนีของเชื้อ

1.2 **การแยกเชื้อจากรากพืช** หลังจากล้างดินบริเวณรากพืชออกหมดทั้งในต้นที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ทำการบดราก 1 กรัม ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 10 มล. แช่ไว้นาน 20 นาที นำมาเจือจาง 10 เท่าเป็นลำดับ และนำไปกระจาย (spread) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ วิธีการเช่นเดียวกับการแยกเชื้อจากดินข้างต้น

2. การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน รากพืช และ มูลสัตว์ จำนวน 525 ไอโซเลท (ตารางที่1) มาทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญ เติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ No. 19, 24, 36 และ 37 (ตารางที่ 2)

2.1 **การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย** นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด 525 ไอโซเลท นำมาทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว Nutrient Glucose Broth (NGB) ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า (rotary shaker) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าดูดซับคลื่นแสง (absorbance) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 600 นาโนเมตร เจือจางให้เชื้อมีค่า O.D. เท่ากับ 0.2 โดยใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

2.2 **การเตรียมเชื้อ *R. solanacearum*** โดยเตรียมอาหาร Wakimoto's semisynthetic potato medium (PSA) ในจานเลี้ยงเชื้อทำแบบ double layer ชั้นล่างใช้อาหาร PSA ในปริมาณ 15 มล.ต่อหนึ่งจาน อาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนชั้นบนใช้เชื้อ *R. solanacearum* อายุ 48 ชั่วโมง ในปริมาณ 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ผสมกับอาหาร PSA ซึ่งหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45° C เขย่าให้เข้ากันเททับลงในจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 5 มิลลิลิตรต่อหนึ่งจานเลี้ยงเชื้อแล้วเอียงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ส่วนบนกระจายคลุมทั่วผิวหน้าชั้นล่างที่เทไว้แล้ว เมื่ออาหารแข็งตัวเก็บในตู้เย็น 14° C นาน 1 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลง

2.3 **การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อใช้วิธี** disc diffusion method **ในการทดสอบการยับยั้งในห้องปฏิบัติการ** โดยใช้ micropipette หยดสารละลายของเชื้อที่จะทดสอบลงบนกระดาษแผ่นกลมที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร โดยหยดแผ่นละ 10 ไมโครลิตร แล้วใช้ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อคีบกระดาษวางบนผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ28° C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยการวัดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) จากขอบโคโลนีของเชื้อถึงขอบบริเวณใส

3. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของพืช 2 ชนิด ได้แก่ ขิง, และมะเขือเทศ ในสภาพเรือนทดลอง โดย

3.1 **การเตรียมพืชทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ ขิง และ มะเขือเทศ**

เตรียมต้นกล้าขิง นำหัวพันธุ์ขิง พันธุ์ขิงหยวก คัดที่มีตาเริ่มงอก นำมาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง ใช้มีดสะอาดที่ฆ่าเชื้อแล้วด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ตัดเฉพาะส่วนที่มีตา นำมาปลูกในวัสดุปลูกที่อบฆ่าเชื้อแล้วใส่ถุงเพาะไว้ จำนวน 1 หัวต่อถุง จำนวน 5 ถุงต่อกรรมวิธี อนุบาลไว้ในโรงเรือนจนต้นขิงงอกแข็งแรง

อายุประมาณ 45 วัน จึงนำมาใช้ในการทดลอง

เตรียมต้นกล้ามะเขือเทศ ทำการเพาะเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศในกระบะเพาะให้มีอายุ 20 วัน ทำการย้ายปลูกในถุงดำที่ใส่ดินที่อบฆ่าเชื้อเตรียมไว้ จำนวน 1 ต้นต่อถุง จำนวน 35 ถุง อนุบาลกล้ามะเขือเทศ จนมีอายุ 30 วัน นำมาใช้ในการทดลอง

3.2 **เตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์** ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* จากข้อ 2 มาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดย พืชทดสอบขิง จำนวน 13 ไอโซเลท (ตารางที่ 4)และพืชทดสอบมะเขือเทศ จำนวน 6 ไอโซเลท (ตารางที่ 5) นำเชื้อปฏิปักษ์มาเลี้ยงบนอาหาร PSA ให้มีอายุ 48 ชม. โดยเตรียมเชื้อละ 4 plate ละลายเชื้อปฏิปักษ์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^9 cfu/ml ทำการราดเชื้อปฏิปักษ์ 50 มิลลิลิตรต่อถุง และราดซ้ำหลังจากครั้งแรก 7 และ14 วัน โดยมีตัวเปรียบเทียบใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

3.3 **การปลูกเชื้อโรคเหี่ยวกับพืชทดสอบ** โดยเลี้ยงเชื้อ *R. solanacearum* ให้มีอายุ 48 ชม. บนอาหาร PSA ละลายน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^8 cfu/ml ทำการปลูกเชื้อ *R.solanacearum* โดยวิธีตัดรากของพืชทดสอบก่อน และราดสารละลายเชื้อ *R.solanacearum* ที่โคนต้นปริมาตร 25 มิลลิลิตร/ต้น หลังใส่เชื้อปฏิปักษ์ ครั้งที่ 1 ไปแล้ว 7 วัน และราดเชื้อ *R.solanacearum* ที่โคนต้นปริมาตร 25 มิลลิลิตร/ต้น ซ้ำหลังปลูกเชื้อครั้งแรก 7 วัน เช็คผลการทดลองทุก ๆ 7 วัน หลังจากการปลูกเชื้อครั้งที่สอง โดยนับจำนวนต้นที่แสดงอาการของโรคเหี่ยว ในแต่ละกรรมวิธีและนำต้นพืชทดสอบที่แสดงอาการเหี่ยวทั้งต้นมาแยกเชื้อสาเหตุอีกครั้งตามวิธีการที่ได้อธิบายก่อนหน้านี้ เพื่อให้แน่ใจว่าต้นทดสอบที่เป็นโรคเกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ที่ใช้ในการทดลองจริง

4. ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ ในสภาพแปลงทดลองที่มีการควบคุมการปนเปื้อนและการหลุดลอดของเชื้อโรคเหี่ยว*Ralstonia solanacearum*

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งโรคเหี่ยวในเรือนปลูกพืชทดลอง มาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงทดลองขิง และมะเขือเทศ ในสถานีทดลองของกรมวิชาการเกษตร โดยใช้พื้นที่ของศูนย์บริการวิชาการและปัจจัยการผลิตห้างฉัตร จังหวัดลำปาง

4.1 เตรียมแปลงทดลอง เตรียมแปลงทดลองที่มีการควบคุมการปนเปื้อนและการหลุดลอดของเชื้อโรคเหี่ยว *R. solanacearum* โดยใช้ วงซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 1 เมตร เป็นแปลงทดลอง จำนวน 32 แปลง สำหรับทดสอบเชื้อ *bacillus* sp กับพืชทดสอบในสภาพแปลงทดลอง ทำการอบดินโดยใช้สารเคมีบาซามิค จี เพื่อฆ่าเชื้อโรคทั้งหมดที่อาจจะติดมากับดิน จากนั้นทำการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* ลงในดินเพื่อทดสอบ โดย ทำการปลูกต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งอ่อนแอต่อโรคเหี่ยวลงในแปลงทดสอบ เมื่อต้นมะเขือเทศอายุ 21 วัน ปลูกด้วยสารแขวนลอยเชื้อ *R. solanacearum* ที่มีปริมาณเชื้อ 10^8 หน่วยโคโลนี

ต่อ มิลลิลิตร ลงบนต้นมะเขือเทศ โดยวิธีclipping method ทิ้งให้ประมาณ 1 เดือน จากนั้นทำการสับต้นมะเขือเทศให้ละเอียดและบ่อยให้ย่อยสลายในแปลงทดสอบ เก็บตัวอย่างดิน นำไปตรวจหาปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ในแปลงทดลอง

4.2 ตรวจหาปริมาณของเชื้อ *R. solanacearum* ในแปลงปลูกก่อนการทดลอง โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจำนวน 10 จุด นำมารวมกัน ชั่ง 10 กรัมผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มล.เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 30 นาที นำมาทำให้เจือจางโดยวิธี serials dilution ใช้ 100 ไมโครลิตร ของแต่ละ dilution เกลี่ยลงบนอาหาร SM 1 ให้ทั่ว บ่มไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจนับปริมาณบนอาหาร

4.3 การเตรียมพืชทดสอบ ทำการเตรียมพืชทดสอบโดยแช่หัวพันธุ์ขิงและรากของต้นอ่อนมะเขือเทศ ด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีระดับความเข้มข้น 10^8-10^9 หน่วยโคโลนี/มล.เป็นเวลา 30 นาที ผึ่งให้แห้งก่อนปลูก

4.4 การปลูกพืชทดสอบ ทำการปลูกพืชทดสอบในแปลงทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 3 ซ้ำ

4.5 ตรวจผลการทดลอง โดย ตรวจเช็คปริมาณของเชื้อปฏิปักษ์ในสภาพแปลงทดลอง โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทุก 7 วัน ตรวจเช็คปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคในสภาพแปลงทดลอง โดยทำการเก็บตัวอย่างดินทุก 7 วัน ตรวจนับต้นที่แสดงอาการของโรคทุก 7 วัน และเก็บน้ำหนักและปริมาณของผลผลิตที่ได้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดินและรากพืชต่าง ๆ

ได้เชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆจำนวน 525 ไอโซเลท(ตาราง 1) โดยการแยกจากดิน 305 ไอโซเลท จากปุ๋ยคอก 20 ไอโซเลท และ แยกได้จากรากพืช 200 ไอโซเลท เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ใน glycerol 20% ที่ –20 $^{\circ}$C เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

2. การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 13 ไอโซเลท โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยมีระดับการยับยั้งที่แตกต่างกัน เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินชุมพร no.1, ปุ๋ยคอก no.1, ดินรากยาสูบ no.4, ดินเลน no.1, 3A และ 4415 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ทั้ง 4 สายพันธุ์ ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียดินคลองหลวง no.9, ดินรากกล้วย no.10, ดินปุ๋ยคอก no.1 และ รากอ้อย no.4 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ที่แยกจากมันฝรั่งทั้งสอง biovar และเชื้อที่แยกจากมะเขือเทศ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 412A และ ดินรากยาสูบ no.2 ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ที่แยกจากมันฝรั่งเฉพาะ biovar 3 ,

มะเขือเทศ และ ขิง เชื้อแบคทีเรีย รากอ้อย no.6 ยับยั้งเฉพาะเชื้อ *R. solanacearum* ที่แยกจากมันฝรั่ง biovar 3 และ มะเขือเทศ (ตารางที่ 3) จากผลการทดลองนี้ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

3. ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของพืช 2 ชนิด ได้แก่ ขิง และมะเขือเทศ ในสภาพเรือนทดลอง โดย

ในพืชทดสอบขิง ต้นขิงที่เป็นตัวเปรียบเทียบที่รดด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แสดงอาการของโรค 100% พบว่าต้นขิงที่ใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินรากยาสูบ no.4 ดินเลน no.1 และ รากอ้อย no.4 แสดงอาการของโรค 20 40 และ 60 % และมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยว 80 40 และ 60% ตามลำดับ(ตารางที่ 4) ในพืชทดสอบมะเขือเทศ ต้นมะเขือเทศที่ราดด้วยน้ำกลั่นซึ่งเป็นตัวเปรียบเทียบ แสดงอาการของโรค 100% ในขณะที่ต้นมะเขือเทศที่ใส่เชื้อปฏิปักษ์ดินเลน1 ไม่แสดงอาการของโรคเลย แสดงว่าเชื้อแบคทีเรีย ดินเลน 1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยว 100 % (ตารางที่ 5)

จากผลการตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อ *R. solanacearum* พบว่า ในพืชทดสอบขิง ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินเลน no.1 และ ดินรากยาสูบ no.4 มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น(ตารางที่ 6) ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ในกรรมวิธีที่ใช้ ดินเลน no.1 และดินรากยาสูบ no.4 ลดลง (ตารางที่ 7) ในพืชทดสอบมะเขือเทศ เช่นเดียวกัน ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินเลน no.1 มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 8) ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ในกรรมวิธีดินเลน no.1 ที่ใช้ ลดลง (ตารางที่ 9)

4. ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง ในสภาพแปลงทดลองที่มีการควบคุมการปนเปื้อนและการหลุดลอดของเชื้อโรคเหี่ยว*Ralstonia solanacearum*

เป็นการดำเนินงานในปี 2548-2549

สรุปผลการทดลอง

1. ได้เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆจากทั้งดินและราก จำนวน 525 ไอโซเลท
2. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้ 13 ไอโซเลท
3. คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศในสภาพโรคเรือนปลูกพืชทดลองได้ โดยในขิง สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินเลน no.1 และ ดินรากยาสูบ no.4 สามารคควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ 40-80% ในมะเขือเทศ คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 1 ชนิด ได้แก่ ดินเลน no.1 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 100%

เอกสารอ้างอิง

สุธัญญา ฉายาชวลิต. 2527. การศึกษาโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากบักเตรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุรัจฉทา กสิกรรมไพบูลย์. 2534. ความเสียหายของเชื้อแบคทีเรียบริเวณรากและดิน ปลูกมะเขือเทศในการควบคุมทางชีวภาพต่อเชื้อแบคทีเรียโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ*Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Aspiras, R.B. and A.R. de la Cruz. 1985. Potential biological control of bacterial wilt in tomato andpotato with *Bacillus polymyxa* FU6. And *Pseudomonas fluorescens*, pp. 89-92. In G.J. Persley. Bacterial wilt Disease in Asia and the South Pacific. Proceedings of an International Workshop held at PCARRD, Los Bannos, Philippines

Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. Biological Control of Soil-Borne Pathogens. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 433 p.

Ciampi ,L., R. Fuentes, R. SchÖbitz and G. Bernal. 1997a. Ten year of biocontrol of bacterial wilt of potato in Chile. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Ciampi ,L., R. Fuentes, R. SchÖbitz and G. Bernal. 1997b. Biological control of *Ralstonia solanacearum* : Alginate beads as carriers for antagonistic cells. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Celino, M.S. and D. Gotllieb. 1952. Control of bacterial wilt of tomato by *Bacillus polymyxa*. Phytopathology. 42:4(Abstract).

Guo,J., H. Qi and S. Li . 2002. Biocontrol efficiency of three PGPR strains admixture to Pepper bacterail wilt. Bacterial wilt newsletter. 17 :3 .

Karuna , K., A.N.A. Khan and M. R. Ravikumar. 1997. Potential of biocontrol agent in the management of bacterial wilt of Tomato caused by *Ralstonia solanacearum.* Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. N. Carolina Agr. Expt. Sta. Tech. Bul. 99:5-194.

Nesmith, W.C. and S.F. Jenkins, Jr. 1985. Influence of antagonists and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. Phytopathology 75:1182-1187.

Sanaina, V., V. Kishore and G.S. Shekhawat. 1997. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and other Bactria. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

ตารางที่ 1 เชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่แยกได้จาก ดินปุ๋ยและรากพืช

จำนวนไอโซเลท	สถานที่	แหล่งที่มา
15	กาญจนบุรี	ดินรากต้นพริก
65	นครพนม หนองคาย กาญจนบุรีเชียงใหม่และเชียงราย	ดินรากยาสูบ
20	สระบุรี	ดินรากมะเขือเทศ
50	เชียงใหม่และเชียงราย	ดินรากปทุมมา
40	เชียงใหม่	ดินรากมันฝรั่ง
35	กาญจนบุรี	รากต้นพริก
60	นครพนม หนองคาย กาญจนบุรีเชียงใหม่และเชียงราย	รากยาสูบ
30	สระบุรี	รากมะเขือเทศ
30	เชียงใหม่และเชียงราย	รากปทุมมา
45	เชียงใหม่	รากมันฝรั่ง
35	ชุมพรและเชียงราย	ดินรากขิง
40	นครปฐม กาญจนบุรี ลำปางและเพชรบุรี	ดินรากอ้อย
25	ปทุมธานี	ดินในคลองแปลงผัก
15	ปทุมธานี	ดินรากกล้วย
20	นนทบุรีและปทุมธานี	ปุ๋ยคอก (มูลโคและมูลไก่)

ตารางที่ 2 เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากแหล่งต่าง ๆ

สายพันธุ์ที่แยกได้	สถานที่	แหล่งที่มา
1. ดินชุมพร no.1	จ. ชุมพร	ดินบริเวณรากขิง
2. ปุ๋ยคอก no. 1	จ.ปทุมธานี	ปุ๋ยคอก (มูลโค)
3. รากอ้อย no.4	จ. ลำปาง	ดินรากอ้อย
4. รากอ้อย no.6	จ. เพชรบุรี	ดินรากอ้อย
5. ดินรากยาสูบ no. 4	จ. กาญจนบุรี	ดินรากยาสูบ
6. ดินปุ๋ยคอก no.1	จ. นนทบุรี	ปุ๋ยคอก (มูลไก่)
8. ดินรากกล้วย no. 10	จ. ปทุมธานี	ดินบริเวณรากกล้วยลึก 2 ซม.
9. คลองหลวง no. 9	จ. ปทุมธานี	ดินในคลองแปลงปลูกผัก
10. ดินเลน no. 1	จ. ปทุมธานี	ดินในคลองแปลงปลูกผัก
11. ดินรากยาสูบ no. 2	จ. เชียงราย	ดินรากยาสูบ
12. 4415	จ. เชียงราย	ดินรากขิง
13. 3A	จ. เชียงราย	ดินรากปทุมมา
14. 412A	จ. เชียงใหม่	ดินรากมันฝรั่ง

ตารางที่ 3 ขนาดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่างๆ บนอาหาร PSA

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ความกว้างของบริเวณใส (มม.)			
	RS no.37 Biovar 3 (race 1) มันฝรั่ง	RS no.36 Biovar 2 (race 3) มันฝรั่ง	RS no.24 Biovar 4 (race 1) มะเขือเทศ	RS no.19 Biovar 3 (race 1) ขิง
1. ดินชุมพร no 1	5.05	3.1	4.2	3.1
2. ปุ๋ยคอก no.1	5.2	4.65	2.3	2.75
3. รากอ้อย no.4	2.6	1.9	4.75	-
4. รากอ้อย no.6	3.1	-	4.35	-
5. ดินรากยาสูบ no. 4	6.1	1.9	4.8	3.6
6. ดินปุ๋ยคอก no.1	5.85	6.2	2.4	-
7. ดินรากกล้วย no.10	6.75	6.1	5.1	-
8. ดินคลองหลวง no.9	0.7	5.2	3.75	-
9. ดินเลน no.1	2.35	4.85	3.1	3.35
10. ดินรากยาสูบ no.2	1.5	-	1.8	4.8
11. 4415	4.3	5.6	2.5	2.6
12. 3A	5.45	2.15	3.45	3.5
13. 412A	1.6	-	2.4	4.1

หมายเหตุ - = ไม่เกิด Clear zone

ตารางที่ 4 ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงโดยใช้สารละลายเชื้อปฏิปักษ์รดพืชทดสอบก่อนปลูกเชื้อ *R. solanacearum*

กรรมวิธี [-1/]	การเกิดโรค % [-1/]		การควบคุมโรค % [-2/]	
	7 วัน	14 วัน	7 วัน	14 วัน
1. ดินรากกล้วย no. 10	40	80	60	20
2. ดินคลองหลวง no. 9	60	80	40	20
3. ดินชุมพร no.1	60	80	40	20
4. ดินเลน no.1	0	40	100	60
5. รากอ้อย no. 4	40	60	60	40
6. รากอ้อย no.6	40	100	60	0
7. ดินรากยาสูบ no.4	0	20	100	80
8. ปุ๋ยคอก no.1	20	100	80	0
9. ดินปุ๋ยคอก no.1	0	80	100	20
10. ดินรากยาสูบ no.2	40	100	60	0
11. 3A	40	100	60	0
12. 412A	20	100	80	0
13. 4415	60	100	40	0
14. control	40	100	60	0

-1/ การเกิดโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

-2/ การควบคุมโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นรอดตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดา หลังจากปลูกเชื้อ *R. solanacearum* เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน

กรรมวิธี -1/	**การเกิดโรค %** -2/			**การควบคุมโรค %** -3/		
	7 วัน	**14 วัน**	**21 วัน**	**7 วัน**	**14 วัน**	**21 วัน**
1. ดินรากกล้วย 10	0	60	100	100	40	0
2. ดินคลองหลวง 9	0	60	100	100	40	0
3. ดินชุมพร 1	0	60	100	100	40	0
4. ดินเลน 1	0	0	0	100	100	100
5. 3A	0	20	100	100	80	0
6. 412A	0	40	100	100	60	0
7. control	20	60	100	80	40	0

-1/ กรรมวิธีทดลอง ปลูกเชื้อ *R.solanacearum* โดยวิธีการตัดราก

-2/ การเกิดโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

-3/ การควบคุมโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นรอดตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของขิง ในเรือนทดลองเป็นเวลา 45 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (cfu / ดิน 1 กรัม)		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
1. ดินรากกล้วย no. 10	1.8×10^4	2.0×10^4	1.7×10^4
2. ดินคลองหลวง no.9	4.5×10^3	7.2×10^3	2.4×10^3
3. ดินชุมพร no. 1	6.4×10^3	4.4×10^3	6.6×10^3
4. ดินเลน no.1	9.9×10^4	2.1×10^5	1.5×10^5
5. รากอ้อย no. 4	4.23×10^5	2.5×10^4	7.6×10^3
6. รากอ้อย no. 6	3.6×10^4	7.5×10^4	9.4×10^3
7. ดินรากยาสูบ no.4	2.97×10^4	2.6×10^4	1.75×10^5
8. ปุ๋ยคอก no.1	4.5×10^4	3.4×10^3	9.2×10^3
9. ดินปุ๋ยคอก no. 1	4.5×10^5	1.75×10^4	1.25×10^4
10. ดินรากยาสูบ no.2	3.6×10^4	6.8×10^4	6.5×10^3
11. 3A	7.2×10^5	7.45×10^4	6.75×10^3
12. 412A	1.53×10^5	1.25×10^4	9.3×10^3
13. 4415	6.84×10^5	7.4×10^4	2.7×10^3

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของขิง ในเรือนทดลองเป็นเวลา 45 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* (cfu / ดิน 1 กรัม)		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
1. ดินรากกล้วย no. 10	1.935×10^5	1.9×10^5	4.5×10^5
2. ดินคลองหลวง no.9	1.89×10^5	9.9×10^5	7.6×10^5
3. ดินชุมพร no. 1	1.35×10^5	9.0×10^5	1.16×10^6
4. ดินเลน no. 1	1.485×10^5	2.7×10^4	2.75×10^4
5. รากอ้อย no.4	7.2×10^4	2.07×10^5	3.6×10^5
6. รากอ้อย no. 6	4.05×10^4	6.75×10^4	7.5×10^5
7. ดินรากยาสูบ no. 4	1.225×10^5	1.485×10^5	5.6×10^4
8. ปุ๋ยคอก 1 no.	2.79×10^5	2.835×10^5	7.8×10^5
9. ดินปุ๋ยคอก no.1	1.53×10^5	1.935×10^5	9.6×10^5
10. ดินรากยาสูบ no.2	9.0×10^4	2.25×10^4	1.1×10^5
11. 3A	7.65×10^4	9.0×10^5	6.7×10^5
12. 412A	1.26×10^5	6.75×10^4	9.9×10^5
13. 4415	1.035×10^5	2.5×10^6	1.05×10^6
14. control	5.85×10^4	4.025×10^5	8.4×10^5

ตารางที่ 8 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในเรือนทดลองเป็นเวลา 21 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (หน่วยโคโลนี)*		
	7 วัน	14 วัน	21 วัน
1. ดินรากกล้วย 10	$4.32x10^3$	$7.02x10^3$	$1.36x10^3$
2. ดินคลองหลวง 9	$4.05x10^3$	$1.17x10^3$	$2.99x10^3$
3. ดินชุมพร 1	$1.62x10^3$	$3.87x10^3$	$5.4x10^3$
4. ดินเลน 1	$5.51x10^4$	$1.229x10^5$	$1.262x10^5$
5. 3A	$3.42x10^3$	$1.35x10^3$	$4.5x10^3$
6. 412A	$6.12x10^3$	$2.07x10^3$	$4.19x10^3$
7. control	0	0	0

* หน่วยโคโลนี (cfu) ต่อดิน 1 กรัม

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อ *R.solanacearum* ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในเรือนทดลองเป็นเวลา 21 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (หน่วยโคโลนี)*		
	7 วัน	14 วัน	21 วัน
1. ดินรากกล้วย 10	$2.9675x10^4$	$7.495x10^4$	$6.975x10^5$
2. ดินคลองหลวง 9	$1.215x10^4$	$3.7425x10^4$	$2.432x10^5$
3. ดินชุมพร 1	$2.5x10^3$	$3.2475x10^4$	$2.721x10^5$
4. ดินเลน 1	$2.7x10^2$	$4.725x10^2$	$3.543x10^2$
5. 3A	$2.25x10^3$	$1.215x10^4$	$1.074x10^5$
6. 412A	$3.6x10^4$	$3.9375x10^4$	$2.147x10^5$
7. control	$1.8x10^4$	$0.85x10^5$	$0.643x10^6$

* หน่วยโคโลนี (cfu) ต่อดิน 1 กรัม

โครงการสังเคราะห์เทคโนโลยีการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ควบคุมหนอนกระทู้หอมศัตรูหอมแดง

Synthesizing Technology of Using Nuclear Polyhedrosis Virus to Control Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) on Shallot

จารุวัตถ์ แต้กุล อุทัย เกตุนุติ สัมฤทธิ์ เกียววงษ์ [1] สมศักดิ์ พลอยพานิชเจริญ [1]

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสังเคราะห์เทคโนโลยีการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ควบคุมหนอนกระทู้หอมศัตรูหอมแดงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตเชื้อในสภาพไร่และการใช้ไวรัส เอ็น พี วี สู่เกษตรกร ตามนโยบายการผลิตขยายสิ่งทดแทนสารเคมีทางการเกษตรเพื่อรองรับปีแห่งความปลอดภัยด้านอาหาร และสร้างความแข็งแกร่งในตลาดโลก ดำเนินการทดลอง ณ อำเภอเมืองและอำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2545-พฤษภาคม 2547 การทดลองแบ่งออก เป็น 3 ส่วน คือ 1) แปลงทดลองเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของเชื้อไวรัส เอ็น พี วี เปรียบเทียบกับสารเคมีที่เกษตรกรใช้ในพื้นที่ ผลการทดลอง ในแปลงทดลองที่ 1 ดำเนินการเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม 2545 พบว่าการใช้ไวรัส เอ็น พี วี อัตรา 20 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลควบคุมการระบาดของหนอนกระทู้หอมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้ lufenuron 5% EC (Math 50 EC) กรรมวิธีใช้สาร chlorpyrifos ให้ผลในการควบคุมต่ำที่สุด ในแปลงทดลองที่ 2 ดำเนินการในพื้นที่เดียวกันในเดือน มีนาคม 2546 พบว่าการพ่นสาร lufenuron อัตรา 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV อัตรา 15 และ 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และพ่น บีที ผสมไวรัส เอ็น พี วี ที่อัตรา 40+15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผลผลิตหอมแดงสดให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี อย่างไรก็ตามกรรมวิธีพ่นสาร chlorpyrifos และไม่พ่นสารให้หอมแดงคุณภาพต่ำสุด แปลงทดลองที่ 3 ดำเนินการในเดือน มกราคม – มีนาคม 2547 ในพื้นที่เดียวกัน พบว่า กรรมวิธีการใช้ lufenuron 5% EC (Match 50 EC), กรรมวิธีการใช้ emamectin benzoate 1.92 % EC (Proclaim), กรรมวิธีการใช้ diflubenzuron 25 %wp (Dimilin) ให้ผลในการควบคุมไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้ไวรัส เอ็น พี วี และแบคทีเรีย บีที อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีข้างต้นให้ผลแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารและกรรมวิธีไม่พ่นสารให้คุณภาพผลผลิตหอมแดงต่ำสุด 2) เปรียบเทียบการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ในแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีฯ ขนาด 1 ไร่ กับแปลงเกษตรกร พบว่าระดับความเสียหายของหอมแดงเนื่องจากหนอนกระทู้หอม, คุณภาพและน้ำหนักผลผลิตหอมแดง ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าทั้งแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีฯ และแปลงเกษตรกรไม่พบพิษตกค้างที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค 3) การฝึกอบรมเกษตรกรเรื่องการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ควบคุมแมลงศัตรูพืชและการต่อเชื้อใช้เองในสภาพไร่ มีเกษตรกรผู้ปลูกหอมและเจ้าหน้าที่เกษตร ผ่าน

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0402-01

[1] ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

การฝึกอบรมจำนวน 147 คน มีเกษตรกรอย่างน้อย 3 คนจากเกษตรกรในโครงการ 5 คน รับเทคโนโลยีโดยทำการต่อเชื้อไว้ใช้เองได้ ได้หน่วยงานที่ให้ความร่วมมือในพื้นที่คือ ศูนย์วิจัยวัตถุมีพิษเขต 2 สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 กรมวิชาการเกษตร และ ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีเกษตรประจำตำบล สำนักงานเกษตรอำเภอลับแล สำนักงานเกษตรจังหวัดอุตรดิตถ์ กรมส่งเสริมการเกษตร

คำนำ

สืบเนื่องจากการก่อตั้งองค์การการค้าโลก (World Trade Organization) ระบบการค้าระหว่างประเทศได้เปลี่ยนแปลงไปในลักษณะระบบการค้าแบบเสรีภายใต้กรอบกติกาของ WTO และได้จัดทำความตกลงว่าด้วย การใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phyto-sanitary Measures: SPS) ซึ่งหมายความว่าประเทศสมาชิกมีสิทธิที่จะใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชที่จำเป็นเพื่อคุ้มครองชีวิตและสุขภาพมนุษย์ สัตว์ หรือพืชที่ไม่ขัดกับบทบัญญัติทั่วไปของความตกลงและแนวปฏิบัติ ที่พัฒนาขึ้นมาโดยองค์การระหว่างประเทศที่เกี่ยวข้อง ทำให้ระบบการค้าระหว่างประเทศอยู่บนพื้นฐานของการแข่งขันที่เสรีและเป็นธรรมยิ่งขึ้นกว่าเดิม โดยมีการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชในรูปแบบของการกำหนดมาตรฐานคุณภาพสินค้า และกฎระเบียบต่างๆในด้านสุขอนามัยในการนำเข้าสินค้า โดยเฉพาะเรื่องสุขอนามัยที่มีผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพและชีวิตของผู้บริโภค มีการกำหนดปริมาณสารพิษตกค้าง สารปนเปื้อน ความสะอาดปลอดเชื้อโรคที่เป็นพิษภัยต่อผู้บริโภค (กรมวิชาการเกษตร, 2546) อย่างไรก็ตามในขณะที่ประชาคมโลกกำลังตระหนักถึง อันตรายที่เกิดจากปริมาณสารพิษตกค้างในพืชผักและผลไม้ ตลอดถึงความปลอดภัยของผู้ใช้สารเคมีในการควบคุมศัตรูพืช ประเทศไทยซึ่งนับได้ว่าเป็นประเทศที่ผลิตอาหารเลี้ยงประชากรทั่วโลก มีปริมาณการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรในระดับสูงขึ้นในแต่ละปี จากข้อมูลล่าสุดของสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตรพบว่า ในปี 2544 ประเทศไทยมีการนำเข้าวัตถุอันตรายคิดเป็น 60,541.45 เมตริกตัน เป็นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง 16,673,615 กิโลกรัม สารชีวินทรีย์กำจัดแมลง 79,962 กิโลกรัม ในขณะที่ปี 2545 ประเทศไทยนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรจำนวน 65,310.26 เมตริกตัน จัดเป็นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง 16,356,671 กิโลกรัม สารชีวินทรีย์กำจัดแมลง 68,440 กิโลกรัม เห็นได้ชัดเจนว่ามีการนำเข้าวัตถุอันตรายและสารเคมีเพิ่มขึ้นในขณะที่การนำเข้าสารชีวินทรีย์เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชลดลง ซึ่งสวนทางกันกับกระแสโลกในปัจจุบัน

หอมแดงจัดเป็นพืชที่มีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงมากพืชหนึ่ง กอบเกียรติ์และคณะ (2539) ได้สำรวจการใช้สารเคมีกำจัดแมลงในแหล่งปลูกหอมแดงของเกษตรกรภาคเหนือ พบว่ามีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงมากกว่า 20 ชนิด และพบว่ามีสารพิษตกค้างในหอมเกินกว่าระดับมาตรฐานที่กำหนด หอมแดงจัดเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่ง พื้นที่ปลูกหอมแดงที่สำคัญคือ จังหวัดเชียงใหม่

เชียงราย ลำพูน แม่ฮ่องสอน ลำปาง พะเยา อุตรดิตถ์ และศรีสะเกษ ในช่วง 5 ปีที่ผ่านมา มีพื้นที่เพาะปลูก 93,052-99,057 ไร่ ได้ผลผลิต 179,909-202,234 ตัน การส่งออกในช่วง 5 ปี (2540-2544) ส่งออกในรูปหอมแดงสดแช่เย็น อยู่ระหว่าง 7,069-13,572 ตัน เป็นมูลค่ารวม 38 - 81 ล้านบาท โดยส่งออกในประเทศกลุ่มอาเซียนเป็นส่วนใหญ่ (กรมวิชาการเกษตร, 2545)

หนอนกระทู้หอม Beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศ พบทำลายพืชมากกว่า 30 ชนิด (อุทัย, 2544) โดยเฉพาะอย่างยิ่งทำลายพืชผักมากกว่า 10 ชนิด พบระบาดในแปลงปลูกหอมแดงและหอมหัวใหญ่แถบจังหวัด สุพรรณบุรี อุตรดิตถ์ ลำพูนและเชียงใหม่ แหล่งปลูกดังกล่าวมีการระบาดของหนอนกระทู้หอมเป็นประจำและมักระบาดรุนแรงในช่วงฤดูร้อน (กรมวิชาการเกษตร, 2539) หนอนกระทู้หอมสามารถสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้รวดเร็ว จึงเป็นปัญหาในการป้องกันกำจัดของเกษตรกรตลอดมา ลักษณะการทำลายของหนอนผีเสื้อชนิดนี้ หนอนระยะที่ 3 ขึ้นไป สร้างความเสียหายรุนแรงต่อผลผลิต โดยหนอนจะแยกย้ายกัดกินทุกส่วนของพืช ในช่วงนี้หากหนอนมีปริมาณสูงความเสียหายจะรุนแรงมากขึ้น หากป้องกันกำจัดไม่ถูกต้องแล้วผลผลิตจะได้รับความเสียหาย และคุณภาพของผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาด (กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ, 2542) การใช้สารเคมีกำจัดแมลงในปัจจุบัน นอกจากก่อให้เกิดปัญหาทางด้านเพิ่มต้นทุนการผลิตแล้วยังก่อให้เกิดปัญหาอื่นๆ ตามมา เช่น ปัญหาทางด้านพิษวิทยา, ความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม, ความปลอดภัยต่อผู้ใช้และผู้บริโภค การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช เป็นการเพิ่มศักยภาพของศัตรูธรรมชาติที่มีอยู่แล้วในสิ่งแวดล้อมให้ดียิ่งขึ้น และช่วยลดปัญหาความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงอีกทางหนึ่ง (Frances *et al*.,1998) การนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ควบคุมหนอนกระทู้หอม เพื่อลดปัญหาจากการใช้สารเคมีควบคุมแมลงศัตรูพืช ไวรัสเอ็น พี วี ของหนอนกระทู้หอมซึ่งเป็นไวรัสที่มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม (อุทัย, 2544) เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถนำมาทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดหนอนกระทู้หอมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งยังลดความสามารถในการสร้างความต้านทานของหนอนผีเสื้อศัตรูพืชดังกล่าว และทำให้เกิดการระบาดของโรคไวรัสในประชากรของแมลงศัตรูพืชต่อไป

กรมวิชาการเกษตรและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ตระหนักถึงพันธะกรณีที่ประเทศไทยต้องปฏิบัติตามกฎระเบียบขององค์การการค้าโลก และจะต้องปรับตัวเพื่อการแข่งขันภายใต้กฎระเบียบการค้าในเรื่องความตกลงว่าด้วย การบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช นอกจากนี้ได้เล็งเห็นความสำคัญของการใช้เชื้อจุลินทรีย์โรคของแมลงเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อลดอันตรายจากสารเคมีกำจัดแมลงต่อเกษตรกร พิษตกค้างต่อผู้บริโภค ลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกร และต้องการให้เทคโนโลยีการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเกิดประโยชน์แก่เกษตรกรมากที่สุด จึงได้

ดำเนินการจัดตั้งโครงการสังเคราะห์เทคโนโลยีการใช้เชื้อไวรัส เอ็น พี วี เพื่อควบคุมหนอนกระทู้หอมในหอมแดง **โดยการสังเคราะห์เทคโนโลยีนั้นเป็นสื่อกลางระหว่างเทคโนโลยีและการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่เกษตรกรเพื่อให้เกิดแนวทางในการนำเทคโนโลยีไปใช้ ให้เหมาะสมกับเกษตรกรมากที่สุด การทำแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีในพื้นที่ร่วมกับเกษตรกรผู้ปลูกเป็นการสร้างกลไกให้เกิดกระบวนการเรียนรู้ร่วมกัน ทั้งในแง่เทคโนโลยีการผลิตเชื้อใช้เองในแปลงของเกษตรกร การประเมินความเสียหายเนื่องจากศัตรูพืช และการใช้สารชีวินทรีย์กำจัดแมลงอย่างถูกต้องและเหมาะสม** ตลอดจนร่วมกันแก้ปัญหาอุปสรรคที่เกิดขึ้นถือเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการสร้างความเชื่อมั่น ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีอันจะก่อให้เกิดการนำไปใช้อย่างแพร่หลายต่อไป ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการจัดตั้งโครงการดังกล่าวกับพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นต่อไป ซึ่งโครงการสังเคราะห์เทคโนโลยีมีวัตถุประสงค์หลักคือ

1.เพื่อเปรียบเทียบถึงประสิทธิภาพของไวรัส เอ็น พี วี กับสารเคมีกำจัดหนอนกระทู้หอมที่เกษตรกรนิยมใช้ในขณะที่ดำเนินโครงการฯ

2.เพื่อให้เกษตรกรมีข้อมูลและประสบการณ์ ในการประเมินความเสียหายเนื่องจากการทำลายของหนอนกระทู้หอม เรียนรู้เทคนิคการใช้สารชีวินทรีย์เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช ตลอดจนร่วมประเมินเสนอแนะแนวทางการพัฒนาเทคโนโลยีให้เหมาะสมกับเกษตรกร

3.เพื่อให้เกษตรกรได้เรียนรู้เทคนิคการต่อเชื้อใช้เองในสภาพไร่

วิธีดำเนินการ

1.การสำรวจเก็บข้อมูลเบื้องต้น และการเตรียมพื้นที่

ดำเนินการใน อำเภอลับแลและอำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ ซึ่งเป็นแหล่งปลูกหอมสำคัญแห่งหนึ่งของประเทศ เป็นแหล่งผลิตหอมพันธุ์ส่งไปจำหน่ายยังแหล่งปลูกอื่นๆทั่วประเทศ และยังพบว่าเป็นแหล่งที่มีการระบาดรุนแรงของหนอนกระทู้หอมในทุกปี โดยเริ่มสำรวจและรวบรวมข้อมูลทั่วไปอาทิเช่น วิธีการปลูก, ปัญหาและวิธีการแก้ไข ช่วงเวลาการปลูก เป็นต้น ประชุมหารือกับหน่วยงานในพื้นที่คือ ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีประจำตำบล สำนักงานเกษตรอำเภอ กรมส่งเสริมการเกษตร, ศูนย์วิจัยวัตถุมีพิษเขต 2 และสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 รวมทั้งผู้นำชุมชนและเกษตรกรผู้ปลูกหอม

2.การเตรียมเกษตรกร

ฝึกอบรมเกษตรกรพื้นที่ในโครงการก่อน เรื่องการใช้สารชีวินทรีย์เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชรวมถึงการใช้ไวรัสเอ็น พี วี ควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหอมแดง และเสนอแนะแนวทางในการต่อเชื้อไวรัสไว้ใช้เองในแปลงเกษตรกร โดยใช้พื้นที่ของศูนย์วิจัยวัตถุมีพิษเขตสองเป็นสถานที่ฝึกอบรม ชี้แจงทำความเข้าใจกับกลุ่มเกษตรกรถึงรายละเอียดของโครงการ และทำการคัดเลือกเกษตรกรที่จะเข้าร่วมโครงการจำนวน 5 ราย ซึ่งในแต่ละรายเป็นตัวแทนแต่ละหมู่บ้าน

3. การปฏิบัติงาน แบ่งออกเป็น 3 ส่วนดังนี้

ส่วนที่ 1 แปลงทดลอง

แปลงทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไวรัส เอ็น พี วี เปรียบเทียบกับสารเคมีที่เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้ควบคุมหนอนกระทู้หอมในพื้นที่ เพื่อยืนยันถึงความสามารถในการนำไวรัส เอ็น พี วี ทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืช ดำเนินการทดลองในแปลงเกษตรกรจำนวน 2 แปลง ดังวิธีการต่อไปนี้

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกหอมแดงของเกษตรกรในโครงการ
2. ปูนขาวเพื่อปรับปรุงดิน
3. ปุ๋ยคอกและปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15
4. ฟางข้าว
5. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง (lever-operated knapsack sprayers)
   หัวฉีดแบบกรวยกลวง (Hollow cone type) ขนาดหัวฉีดเบอร์ 0.6 มิลลิเมตร
6. สารเคมีและสารชีวินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง
   6.1 chlorpyrifos (Shock boom 40% EC)
   6.2 lufenuron (math 50 EC 5% EC)
   6.3 SeNPV (DOA Bio-V1, $1x10^9$ PIBs/ml)
   6.4 Bt (Bt1-DOA, $1x10^9$ CFU/ml)
   6.5 carbosulfan (Posse 20% EC)
   6.6 azoxystrobin (Amesta 25% SC)
   6.7 emamectin benzoate (Prochem 1.92% EC)
   6.8 diflubenzuron (Dimilin 25% WP)
   6.9 อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

แปลงทดลองที่ 1

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

1. พ่นสาร chlorpyrifos (Shock boom 40% EC) อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
2. พ่นสาร lufenuron (Math 50 EC 5% EC) อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
3. พ่นไวรัส SeNPV (DOA Bio-V1, $1x10^9$ PIBs/ml) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
4. พ่นไวรัส SeNPV (DOA Bio-V1, $1x10^9$ PIBs/ml) อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
5. ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

วิธีการดำเนินงานทดลอง

เริ่มเตรียมพื้นที่ปลูกหอม โดยการไถตากดินไว้ประมาณ 15 วัน หลังจากนั้นปรับปรุงดินด้วยปูนขาว อัตรา 200 กิโลกรัมต่อไร่ ยกร่องปลูกให้มีขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 60 เมตร เว้นทางเดินระหว่างร่อง 50 เซนติเมตร ก่อนปลูกหอมเกลี่ยดินให้หน้าดินเรียบ แล้วใส่ปุ๋ยวิทยาศาสตร์สูตร 15-15-15 และปุ๋ยคอกตามวิธีการของเกษตรกร หลังจากปลูกหอมแล้วใช้ฟางข้าวเป็นวัสดุคลุมดินเพื่อรักษาความชื้นในแปลงปลูก

ขนาดแปลงย่อย 2.5x12.0 เมตร เริ่มพ่นสารตามกรรมวิธีเมื่อพบกลุ่มไข่ของหนอนกระทู้หอมเฉลี่ยเกิน 1 กลุ่มต่อตารางเมตร หรือพบการทำลายภายในหลอดหอมโดยเฉลี่ย 3 กอต่อตารางเมตร พ่นสารตามกรรมวิธีทุก 5 วัน ใช้อัตราพ่น 120 ลิตรต่อไร่

แปลงทดลองที่ 2

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

1. พ่นสาร chlorpyrifos (Shock boom 40% EC)	อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
2. พ่นสาร lufenuron (Math 50 EC 5% EC)	อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
3. พ่นไวรัส SeNPV (DOA Bio-V1, 1x10^9 PIBs/ml)	อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
4. พ่นไวรัส SeNPV (DOA Bio-V1, 1x10^9 PIBs/ml)	อัตรา 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
5. พ่นเชื้อแบคทีเรีย Bt (Bt1-DOA, 1x10^9 CFU/ml) ผสมกับไวรัส SeNPV (DOA Bio-V1, 1x10^9 PIBs/ml)	อัตรา20+20มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
6. พ่นเชื้อแบคทีเรีย Bt (Bt1-DOA, 1x10^9 CFU/ml) ผสมกับไวรัส SeNPV (DOA Bio-V1, 1x10^9 PIBs/ml)	อัตรา40+15มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
7. ไม่พ่นสารฆ่าแมลง	

วิธีการดำเนินงานทดลอง

เตรียมพื้นที่ปลูกหอม โดยการไถตากดินไว้ประมาณ 15 วัน และเตรียมแปลงเช่นเดียวกับแปลงทดลองที่1 ขนาดแปลงย่อย 2.5x9.0เมตร เว้นทางเดินระหว่างร่อง 50 เซนติเมตร เริ่มพ่นสารตามกรรมวิธีและเมื่อพบการทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอมในระดับความเสียหายเฉลี่ย3กอต่อตารางเมตร พ่นสารตามกรรมวิธีในทุก 5 วัน โดยใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง อัตราพ่น 120 ลิตรต่อไร่

แปลงทดลองที่ 3

ในแปลงทดสอบประสิทธิภาพของไวรัส เอ็น พีวี เปรียบเทียบกับสารเคมีกำจัดหนอนกระทู้หอมศัตรูหอมแดงในแปลงทดลองที่ 3 ได้นำสารเคมีที่กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการ

อารักขาพืช แนะนำตามเอกสารวิชาการคำแนะนำ การป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2547 ได้แก่สาร diflubenzuron (Dimilin 25% WP) (กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา, 2547) และได้นำผลการใช้ไวรัส เอ็น พีวี ผสมกับแบคทีเรีย บีที ในอัตราส่วนที่เหมาะสมจากการทดลองในห้องปฏิบัติการ คือ NPV + Bt สัดส่วน 3:1 มาใช้ในการทดลองด้วย

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 11 กรรมวิธี ดังนี้

1. พ่นสาร lufenuron (Math 50 EC 5% EC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
2. พ่นสาร lufunuron (Math 50 EC 5% EC) อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
3. พ่นสาร lufenuron (Math 50 EC 5% EC) อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
4. พ่นสาร emamectin benzoate (Prochem 1.92% EC) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
5. พ่นสาร emamectin benzoate (Prochem 1.92% EC) อัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
6. พ่นสาร emamectin benzoate (Prochem 1.92% EC) อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
7. พ่นสาร diflubenzuron (Dimilin 25% WP) อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
8. พ่นแบคทีเรีย Bt (Bt1-DOA, $1x10^9$ CFU/ml) ผสมไวรัส SeNPV(DOA Bio-V1, $1x10^9$ PIBs/ml) 3:1 อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
9. พ่นแบคทีเรีย Bt (Bt1-DOA, $1x10^9$ CFU/ml) ผสมไวรัส SeNPV (DOA Bio-V1,$1x10^9$ PIBs/ml) 3:1 อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
10. พ่นไวรัส SeNPV (DOA Bio-V1, $1x10^9$ PIBs/ml) อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
11. ไม่พ่นสารฆ่าแมลง

วิธีการดำเนินงานทดลอง

ดำเนินการทดลองเตรียมพื้นที่ปลูกหอม การไถตากดิน, การเตรียมแปลงปลูก ขนาดแปลงย่อย และการเริ่มพ่นสารตามกรรมวิธีเมื่อมีระดับการทำลายของหนอนกระทู้หอม เช่นเดียวกับแปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 โดยใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่

การป้องกันกำจัดศัตรูพืช

การใช้สารป้องกันกำจัดหนอนชอนใบหอม

เมื่อพบการทำลายของแมลงวันหนอนชอนใบหอม *Liriomyza chinensis* ทำลายใบเกิน10 เปอร์เซ็นต์ จากการสุ่มนับแบบทแยงมุม 25 กอ/ไร่ พ่น carbosulfan (Posse 20% EC) อัตรา 80 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร ทุก 5 วัน พ่นจนการทำลายลดลงต่ำกว่า 10 % (กองกีฏและสัตววิทยา, 2545) ทำการป้องกันกำจัดเหมือนกันทั้งแปลงเกษตรกรและแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี

การป้องกันกำจัดโรคพืชและวัชพืช

การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช azoxystrobin (Amesta 25% SC) อัตรา 5 มิลลิลิตร/น้ำ20 ลิตร เมื่อพบว่าหอมในแปลงทดลองเป็นโรค anthracnose เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ การกำจัดวัชพืชหมั่นตรวจแปลงวัชพืช ซึ่งส่วนใหญ่วัชพืชที่สำรวจพบในแปลงได้แก่ หญ้าตีนกา *Eleusine indica* และน้ำนมราชสีห์ *Euphorbia hirta L.* ป้องกันกำจัดโดยวิธีกลคือถอนไปทำลาย

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลการทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอม เริ่มเก็บข้อมูลเมื่อหอมมีอายุ 25 วัน หรือเริ่มมีการระบาดของหนอนกระทู้หอม โดยนับจำนวนกลุ่มไข่และกอหอมที่ถูกทำลายกล่าวคือ ใบหอมที่มีหนอนอาศัยกัดกินภายในเพียง 1 ใบให้นับว่ากอนั้นถูกหนอนทำลาย และนับจุดละ 1 ตารางเมตร(กอหอม 50 กอโดยประมาณ) ในแปลงทดลองที่ 1 สุ่มนับ 8 จุด ต่อ1 แปลงย่อย,สุ่มนับ 5 จุดต่อ 1 แปลงย่อยในแปลงทดลองที่ 2 และสุ่มนับ 4 จุดต่อ 1 แปลงย่อยในแปลงทดลองที่ 3 ทำการเก็บข้อมูลทุกครั้งก่อนพ่นสาร และหลังจากพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆทุก 5 วัน บันทึกข้อมูลผลผลิต ชั่งน้ำหนักหอมโดยสุ่มจุดละ 1 ตารางเมตร จำนวน 3 จุด ต่อแปลงย่อย เก็บข้อมูลน้ำหนักผลผลิต

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ผลการทดลองนำข้อมูลจากค่าเฉลี่ยของกอหอมที่ถูกทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอม (กอ/ตารางเมตร) และข้อมูลค่าเฉลี่ยของผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่) ในแต่ละกรรมวิธี ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์สถิติสำเร็จรูป IRRISTAT

เวลาและสถานที่

แปลงทดลองที่ 1 ดำเนินการทำแปลงทดลองในแปลงปลูกหอมแดงขนาด 1400 ตารางเมตร บนพื้นที่ของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ ชื่อ นายกระทรวง วงศ์ญาติ หมู่บ้านไผ่ใหญ่ ตำบลหาดกรวด อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ โดยทำการทดลองในเดือน พฤศจิกายน – ธันวาคม 2545

แปลงทดลองที่ 2 ดำเนินการทำแปลงทดลองในแปลงปลูกหอมแดงขนาด 900 ตารางเมตร ของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ ชื่อนางทองหล่อ ม่วงรัก หมู่บ้านไผ่ใหญ่ ตำบล หาดกรวด อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ ระยะเวลาทำการทดลอง เดือน มีนาคม-เมษายน 2546

แปลงทดลองที่ 3 ดำเนินการทำแปลงทดลองในแปลงปลูกหอมแดงขนาด 1,600 ตารางเมตร ของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ ชื่อนางทองหล่อ ม่วงริก หมู่บ้านไผ่ใหญ่ ตำบลหาดกรวด อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ ระยะเวลาทำการทดลอง เดือน กุมภาพันธ์ – พฤษภาคม 2547

ส่วนที่ 2 แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี

การสังเคราะห์เทคโนโลยีการใช้ไวรัส เอ็น พี วี เพื่อควบคุมหนอนกระทู้หอมศัตรูหอมแดง โดยทำการคัดเลือกเกษตรกรจำนวน 5 ราย โดยเลือกตัวแทนหมู่บ้านละ 1 รายในท้องที่ ตำบลทุ่งยั้งและตำบลชัยจุมพล อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ โดยมีรายชื่อของตัวแทนเกษตรกร พื้นที่ปลูกหอมแดงดังนี้

1. นายสำราญ ทับแว่ว แปลงปลูกหอมแดงจำนวน 5 ไร่ แบ่งพื้นที่ทำแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี 1 ไร่
2. นายนิยม นิ่มสุนทรเวช แปลงปลูกหอมแดงจำนวน 3 ไร่ แบ่งพื้นที่ทำแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี 1 ไร่
3. นายสำราญ ขวัญมุข แปลงปลูกหอมแดงจำนวน 3 ไร่ แบ่งพื้นที่ทำแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี 1 ไร่
4. นายสำรวย ชัยมงคล แปลงปลูกหอมแดงจำนวน 2 ไร่ แบ่งพื้นที่ทำแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี 1 ไร่
5. นายกระทรวง วงศ์ญาติ แปลงปลูกหอมแดงจำนวน 4 ไร่ แบ่งพื้นที่ทำแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี 1 ไร่

ให้เกษตรกรจัดการระบบการปลูกในทั้งสองแปลง ทั้งการเตรียมดิน คัดเลือกพันธุ์ ปุ๋ย ธาตุอาหารเสริมตลอดจนการเก็บเกี่ยวผลผลิต ยกเว้นการใช้สารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม อย่างไรก็ตาม แนะนำและให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการจัดการศัตรูพืชที่ถูกต้องและเหมาะสมทั้งสองแปลง

การใช้สารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม

โดยทั่วไปหนอนกระทู้หอมจะเริ่มระบาดทำลายต้นหอม ตั้งแต่ 10 วันหลังการปลูก ทำการสุ่มนับจำนวนกอหอมที่ถูกทำลายจากหนอนกระทู้หอม หากพบกลุ่มไข่เฉลี่ย 0.5 กลุ่ม/ตารางเมตร หรือพบจำนวนกอหอมถูกหนอนทำลาย เฉลี่ย 3 กอ/ตารางเมตร ทำการฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมทุก 5 วัน หากพบการระบาดรุนแรงคือ พบกลุ่มไข่เกิน 1 กลุ่ม/ตารางเมตร หรือพบจำนวนกอหอมถูกหนอนทำลาย เฉลี่ยเกิน 5 กอ/ตารางเมตร ทำการฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมทุกๆ 3 วัน จนความรุนแรงของการระบาดลดลง (อุทัย, 2544) โดยในแปลงของเกษตรกร เกษตรกรสามารถเลือกสารเคมีตามความต้องการ แต่ในส่วนแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีให้ใช้ไวรัส เอ็น พี วี โดยใช้ไวรัส เอ็น พี วี อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และผสมสารจับใบด้วยทุกครั้งที่พ่น จำนวนครั้งและความถี่ของการฉีดพ่นขึ้นอยู่กับการประเมินระดับการทำลายข้างต้น

การป้องกันกำจัดศัตรูหอมแดงอื่นๆ

ทำการป้องกันกำจัดศัตรูหอมที่พบเช่น หนอนชอนใบ โรคหอมเลื้อย วัชพืชในแปลงหอมเป็นต้น แนะนำเกษตรกรในโครงการให้ป้องกันกำจัด เหมือนวิธีที่ใช้ป้องกันกำจัดในแปลงทดลอง (ส่วนที่ 1)

การบันทึกข้อมูลและการวิเคราะห์ผล

เก็บข้อมูลเปรียบเทียบระหว่างแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีและแปลงเกษตรกร ความเสียหายของกอหอมเนื่องจากการทำลายของหนอนกระทู้หอม โดยสุ่มนับกอหอมแดงที่ได้รับความเสียหาย ก่อนพ่นสารและหลังพ่นสารทุก 5 วัน แปลงละ 40 จุด จุดละ 1 ตารางเมตร เปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตหอมสดจากการสุ่มในพื้นที่ 20 จุด จุดละ 1 ตารางเมตรแต่ละวิธีการทดลอง, คุณภาพของหอมแดงขณะเก็บเกี่ยวเก็บข้อมูลจากความสามารถในการมัดจุกของหอมแดง, ผลผลิต/ไร่, ค่าใช้จ่ายในการใช้สารฆ่าแมลงและไวรัส เอ็น พี วี ในการควบคุมหนอนกระทู้หอม, ปริมาณสารพิษตกค้างในผลผลิต วิเคราะห์

เปรียบเทียบทีละปัจจัยระหว่างแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีและแปลงของเกษตรกร ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์สถิติสำเร็จรูป SPSS โดยใช้การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ T-test

ระยะเวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองสองระยะ ช่วงที่หนึ่งระหว่างเดือน ตุลาคม – ธันวาคม 2545 และช่วงที่สองระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – พฤษภาคม 2546 ในแปลงปลูกหอมแดงของเกษตรกร 5 ราย ตำบลทุ่งยั้งและตำบลชัยจุมพล อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์

ส่วนที่ 3 การต่อเชื้อใช้เองในแปลงเกษตรกร

ฝึกอบรมเกษตรกรก่อนเข้าโครงการ เรื่อง “การควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหอมโดยใช้ไวรัส เอ็น พี วี และการต่อเชื้อใช้เองในสภาพไร่” ทำแปลงสาธิตและถ่ายทอดเทคโนโลยีการต่อเชื้อไวรัส เอ็น พี วี ในแปลงเกษตรกรโดยดำเนินการดังนี้

1. ฉีดพ่นไวรัส เอ็น พี วี อัตรา 20-30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ในแปลงปลูกหอมของเกษตรกรที่มีการระบาดของหนอนกระทู้หอมขนาด 10-15 ตารางเมตร โดยทำการพ่นติดต่อกัน 3 ครั้งทุก 2 วัน
2. หากหนอนกระทู้หอมในแปลงมีปริมาณน้อย เลือกเก็บหนอนที่ระบาดในแปลงอื่นที่มีขนาดความยาวลำตัวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร และทำการพ่นเชื้อไวรัสซ้ำลงในพื้นที่ดังกล่าวอีกครั้ง
3. หลังจากนั้น 5–8 วัน หนอนจะแสดงอาการเป็นโรค ชี้ให้เกษตรกรเห็นถึงลักษณะอาการหนอนได้รับเชื้อ สังเกตได้จากลำตัวมีสีน้ำตาลหรือสีครีม เคลื่อนไหวช้าลงหนอนจะไต่ขึ้นมาเกาะบริเวณส่วนยอดของต้นหอม และตายในลักษณะตัว “วี” หัวกลับ
4. แนะนำให้เกษตรกรเก็บหนอนตาย หรือใกล้ตายใส่ขวดแก้วสีชาที่ล้างสะอาด โดยเก็บหนอนใส่ขวด ขวดละ100–200 ตัว แล้วเติมน้ำสะอาดลงไปครึ่งขวด หรือพอท่วมตัวหนอน เก็บขวดไว้ในที่ร่ม (ไม่ให้ถูกแสงแดด) หรือในตู้เย็น

เกษตรกรสามารถจะนำเชื้อไวรัสที่ทำขึ้นเองนี้ ไปใช้พ่นเพื่อควบคุมหนอนกระทู้หอมได้อีก ในอัตราหนอนตาย 40 ตัว/น้ำ 20 ลิตร (อุทัย, 2544) หรือจะเก็บไว้ใช้ในฤดูกาลถัดไป

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินงาน

จัดแผนการฝึกอบรมเกษตรกร 3 ครั้ง โดยแบ่งเป็น 2 ช่วง ก่อนเริ่มโครงการ 1 ครั้ง และหลังเสร็จสิ้นโครงการ 2 ครั้ง โดยติดต่อและประสานกับหน่วยงานในพื้นที่ คือ ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีประจำตำบล กรมส่งเสริมการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

ส่วนที่ 1 แปลงทดลองฯ

1. แปลงทดลองที่ 1

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อไวรัส เอ็น พี วี เปรียบเทียบกับสารเคมีในท้องตลาดที่เกษตรกรใช้ในพื้นที่และได้ผลดีเพื่อป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหอมแดง จากการตรวจนับจำนวนกอหอมที่ถูกทำลาย โดยตรวจนับจุดละ 1 ตารางเมตร (ประมาณ 50 กอ) สุ่มนับ 8 จุดต่อ 1 แปลงย่อย ทำการตรวจนับแมลงจำนวน 6 ครั้ง พบว่าก่อนการพ่นสารทดลองในแปลงพ่นสาร chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และวิธีการไม่พ่นสารพบจำนวนกอหอมถูกทำลายจากหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 5.38, 4.79, 3.91, 4.85 และ 4.63 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของกอหอมที่ถูกทำลายในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 จำนวนกอหอมแดงที่ถูกทำลายจากหนอนกระทู้หอมซึ่งพบในทุกกรรมวิธีที่ทดลองค่าเฉลี่ยกอที่ถูกทำลายอยู่ระหว่าง 2.72–3.70 กอ/ตารางเมตร กรรมวิธีการพ่น chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และวิธีการไม่พ่นสาร พบจำนวนกอหอมถูกทำลายจากหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 3.69, 3.13, 3.60, 3.72 และ 3.56 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี และพบว่าความเสียหายของจำนวนกอหอมแดงหลังจากพ่นสาร มีแนวโน้มลดลงในทุกกรรมวิธีการพ่น

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 กรรมวิธีการพ่น chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบจำนวนกอหอมถูกทำลายเฉลี่ย 5.39, 4.39, 3.11, 3.98 และ 6.04 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ กรรมวิธีการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ทั้งสองอัตรา ได้รับความเสียหายจากหนอนกระทู้หอมต่ำสุด แต่ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีใช้สาร lufenuron ในขณะที่ chlorpyrifos และกรรมวิธีไม่พ่นสาร , มีจำนวนกอหอมเสียหายไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

หลังพ่นสารครั้งที่ 3 พบว่าจำนวนกอของหอมแดงถูกทำลายเพิ่มขึ้น กรรมวิธีการพ่น chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบจำนวนกอหอมถูกทำลายเฉลี่ย 11.38, 7.16, 4.97, 3.91 และ 16.44 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ความเสียหายของกอหอมแดงในกรรมวิธีพ่น SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ20 ลิตร, SeNPV 30 มิลลิลิตร/น้ำ20ลิตร และ lufenuron ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ให้ผลแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร chlorpyrifos และกรรมวิธีไม่พ่นสาร

หลังพ่นสารครั้งที่ 4 กรรมวิธีการพ่น chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตรและกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบจำนวนกอหอมถูกทำลายเฉลี่ย 12.10, 5.88, 6.44, 4.65 และ 19.93 กอ/ตารางเมตร ตามลำดับ ทุกวิธีการพ่นสารมีจำนวนกอหอมถูกทำลายแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีไม่พ่นสาร โดยวิธีการพ่น SeNPV ทั้งสองอัตรา และสาร lufenuron มีความเสียหายของกอหอมต่ำสุด และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ให้ผลแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการพ่น chlorpyrifos

หลังพ่นครั้งที่ 5 กรรมวิธีการพ่น chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบจำนวนกอหอมถูกทำลายเฉลี่ย 22.91, 10.63, 9.19, 6.53 และ 39.13 กอ/ตารางเมตร ตามลำดับ กรรมวิธีพ่น SeNPV ทั้งสองอัตรา และ lufenuron พบความเสียหายของจำนวนกอหอมแดงต่ำที่สุดและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่กรรมวิธีใช้สาร chlorpyrifos ให้ผลรองลงมา และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบการทำลายแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีไม่พ่นสาร

ผลผลิตของหอมแดง จากการสุ่มเก็บผลผลิตหอมแดงเพื่อทำพันธุ์ ค่าเฉลี่ยของผลผลิตกรรมวิธีการพ่นสาร chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตรและกรรมวิธีไม่พ่นสาร ให้ผลผลิตเฉลี่ย 3,084.90, 3,701.34, 3,449.08, 3,875.63 และ1,770.40 กิโลกรัม/ไร่ตามลำดับ โดยกรรมวิธีการพ่น SeNPV 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร ให้ผลผลิตสูงสุดแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีการพ่นสารวิธีการอื่นๆ ผลผลิตในทุกวิธีการพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการไม่พ่นสาร และพบว่าผลผลิตในกรรมวิธีพ่นสาร chlorpyrifos และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ใบหอมเสียหายมากและมัดจุกได้น้อย จัดเป็นผลผลิตที่ไม่ได้มาตรฐาน จะถูกจำหน่ายในลักษณะหอมร่วง ราคาต่ำกว่าหอมแดงที่มัดจุกได้

แปลงทดลองที่ 2

พบว่าก่อนพ่นสารตามกรรมวิธีที่ทำการทดลอง พบการทำลายจากหนอนกระทู้หอมในทุกกรรมวิธี กล่าวคือ กรรมวิธีพ่นสาร chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 20 มิลลิลิตร + SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 40 มิลลิลิตร + SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบการทำลายจากหนอนกระทู้หอม 3.70, 3.75, 3.00, 2.95, 3.30, 3.15 และ 2.80 กอ/ตารางเมตร ตามลำดับ จำนวนกอหอมแดงที่ถูกทำลาย ในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 กรรมวิธีพ่นสาร chlorpyrifos, lufenuron, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 20 มิลลิลิตร + SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 40 มิลลิลิตร + SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบการทำลายจากหนอนกระทู้หอม 7.28, 6.43, 9.32, 6.52, 7.47, 6.92 และ 8.12 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ซึ่งค่าเฉลี่ยระดับการทำลายของ

หนอนกระทู้หอมในหอมแดงในแต่ละกรรมวิธี ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่หลังจากวิเคราะห์ทางสถิติโดยทำ Partitioning Sum of Square พบว่าการพ่นสาร lufenuron และ เอ็น พี วี ที่อัตรา 15 มิลลิลิตร/ 20 ลิตร แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ที่อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 จำนวนกอหอมที่ถูกทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอมมีแนวโน้มสูงขึ้นในทุกกรรมวิธีและพบว่าจำนวนกอหอมที่ถูกทำลายในแต่ละกรรมวิธีอยู่ระหว่าง 18.57-25.29 กอ/ตารางเมตร กรรมวิธีพ่นสาร chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 20 มิลลิลิตร + SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 40 มิลลิลิตร + SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบการทำลายจากหนอนกระทู้หอม 22.87, 18.57, 18.93, 20.30, 19.44, 20.63 และ 25.29 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ซึ่งปริมาณการทำลายจากหนอนกระทู้หอมในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อทำ Partitioning Sum of Square กรรมวิธีที่พ่นสาร lufenuron , เอ็น พี วี อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ บีที 20 มิลลิลิตร+ เอ็น พี วี 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิ ธีที่ไม่พ่นสาร

หลังพ่นสารครั้งที่ 3 กรรมวิธีพ่นสาร chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 20 มิลลิลิตร + SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 40 มิลลิลิตร + SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบการทำลายจากหนอนกระทู้หอม 15.84, 9.92, 11.34, 11.48, 15.53, 14.15 และ 43.31 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ความเสียหายของกอหอม ในทุกกรรมวิธีการพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการไม่พ่นสาร กรรมวิธีการพ่น lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร มีความเสียหายของกอหอมต่ำที่สุด และให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการพ่น SeNPV อัตรา 15 และ 20 มิลลิลิตร และ Bt 40 มิลลิลิตร + SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลควบคุมหนอนกระทู้หอมรองลงมา จากการทดลองเห็นได้ว่าการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ทั้งสองอัตรา และการใช้ไวรัส 40 มิลลิลิตร ผสมกับแบคทีเรียบีที 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ให้ผลในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมไม่แตกต่างกับการใช้สาร lufenuron 5% EC ซึ่งเป็นสารเคมีที่เกษตรกรนิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน (ตารางที่ 2)

ผลผลิตหอมแดงในแปลงทดลองเฉลี่ยต่อไร่อยู่ระหว่าง 2264.72-2875.02 กิโลกรัม/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร chlorpyrifos 50 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, lufenuron 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 20 มิลลิลิตร + SeNPV 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, Bt 40 มิลลิลิตร + SeNPV 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ให้ผลผลิตหอมแดงเป็น 2404.28, 2875.02, 2813.23, 2543.74, 2608.27, 2777.66 และ 2264.72 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) หลังจากวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าผลผลิตหอมสดเฉลี่ย/ไร่ในแต่ละกรรมวิธีให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามคุณภาพผลผลิตที่ได้แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดในแต่ละกรรมวิธี กล่าวคือ กรรมวิธีไม่พ่นสารและกรรมวิธีพ่นสาร chlorpyrifos ให้ผลผลิตต่ำสุดและเนื่องจากหนอนกระทู้หอมเข้าทำลายส่วนลำ

ต้นและใบทำให้ไม่สามารถมัดจุกได้ จะได้หอมร่วงมากทำให้ขายได้ราคาต่ำกว่าหอมที่ใบไม่เสียหาย หอมแดงสดที่หัวมีขนาดใหญ่และสามารถมัดจุกได้จะขายได้ในราคาหน้าแปลงกิโลกรัมละ 12 บาท แต่หอมร่วงจะขายได้ในราคากิโลกรัมละ 5-6 บาท ส่วนกรรมวิธีพ่นสาร lufenuron และกรรมวิธีใช้สารชีวินทรีย์อัตราต่าง ๆ หอมที่ได้เป็นหอมคุณภาพดีและสามารถมัดจุกได้ เนื่องจากการทดลองในครั้งที่สองนี้หนอนกระทู้หอมเริ่มระบาดในระยะที่หอมแดงอายุประมาณ 55 วัน คือ หอมแดงเริ่มลงหัวและใกล้เวลาเก็บเกี่ยว ทำให้การวิเคราะห์ผลผลิตเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธีให้ผลไม่ชัดเจนเท่าที่ควร อย่างไรก็ตามการพ่นในสองครั้งแรก ยังเห็นผลการประเมินลักษณะการทำลายที่ไม่ชัดเจนนักจนกว่าหลังพ่นครั้งที่ 3 เนื่องจากการใช้ จุลินทรีย์โรคของแมลงในการป้องกันกำจัดในสภาพไร่จริง เห็นผลค่อนข้างช้า ประกอบกับการระบาดของหนอนกระทู้หอมในแหล่งปลูกดังกล่าวมีการระบาดค่อนข้างรุนแรง

แปลงทดลองที่ 3

ได้เพิ่มสารเคมีกำจัดหนอนกระทู้หอมอีก 2 ชนิด คือ emamectin benzoate 1.92% EC และสารเคมีตามเอกสารคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช (กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา, 2547) คือ diflubenzuron 25% WP จากการตรวจนับและบันทึกข้อมูลจำนวนกอหอมที่ถูกทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอม โดยวัดระดับการทำลายเป็นกอ/ตารางเมตร รวม 7 ครั้ง (ก่อนพ่นสาร 1 ครั้ง และหลังพ่นสาร 6 ครั้ง) ก่อนพ่นสารตามกรรมวิธีที่ทำการทดลอง พบการทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอมในทุกกรรมวิธี ระหว่าง 0.69 – 1.56 กอ/ตารางเมตร จำนวนกอถูกทำลายที่พบในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3)

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 กรรมวิธีพ่นสาร lufenuron ที่อัตรา 20, 25 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร, emamectin benzoate ที่อัตรา 20, 25, 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีพ่นสาร diflubenzuron อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีใช้สารชีวินทรีย์ Bt ผสม NPV สัดส่วน 3:1 ที่อัตรา 20 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีใช้สาร NPV อย่างเดียวที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร หลังพ่นสารครั้งที่ 1 พบการทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 0.63, 0.94, 0.12, 0.38, 0.25, 0.31,0.25, 0.31, 0.31, 0.69 และ 0.56 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ หลังพ่นสารครั้งที่ 2 พบการทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย 0.50, 0.38, 0.25, 0.06, 0.31, 0.06, 0.25, 0.19, 0.56, 0.50 และ 0.96 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ซึ่งผลการทำลายหอมแดงเนื่องจากหนอนกระทู้หอมในแต่ละกรรมวิธีทั้งหลังพ่นครั้งที่ 1 และหลังพ่นครั้งที่ 2 เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ให้ผลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังพ่นสารครั้งที่ 3 กรรมวิธีพ่นสาร lufenuron ที่อัตรา 20, 25 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, emamectin benzoate ที่อัตรา 20, 25, 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีพ่นสาร diflubenzuron อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีใช้ Bt ผสม NPV สัดส่วน 3:1 ที่อัตรา 20 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีใช้สาร NPV อย่างเดียวที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบการ

ทำลายจากหนอนกระทู้หอม 1.50, 0.94, 0.63, 0.19, 0.13, 0.25, 0.56, 0.50, 1.06, 0.69 และ 1.75 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ กรรมวิธีพ่นสาร lufenuron ที่อัตราการใช้ต่ำสุดคือ 20 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งมีการทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอมสูงที่สุด และให้ผลแตกต่างกับกรรมวิธีพ่นสารที่เหลือในทุกกรรมวิธี กรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate ทั้ง 3 อัตรา กรรมวิธีการใช้ lufenuron อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีการใช้ diflubenzuron อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีการใช้ Bt ผสม NPV สัดส่วน 3:1 ที่อัตรา 20 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีการใช้ NPV เพียงอย่างเดียวที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร ให้ผลในการควบคุมหนอนกระทู้หอมไม่แตกต่างกันทางสถิติ และพบว่ากอหอมที่ถูกทำลายจากหนอนกระทู้หอมได้รับความเสียหายในระดับต่ำสุด

หลังพ่นสารครั้งที่ 4 กรรมวิธีพ่นสาร lufenuron ที่อัตรา 20, 25 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, emamectin benzoate ที่อัตรา 20, 25, 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีพ่นสาร diflubenzuron 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีใช้สารชีวินทรีย์ Bt ผสม NPV สัดส่วน 3:1 ที่อัตรา 20 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีใช้สาร NPV อย่างเดียวที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบการทำลายจากหนอนกระทู้หอม 2.37, 2.32, 1.91, 0.35, 0.29, 0.48, 1.61, 1.90, 1.54, 2.27 และ 6.41 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ความเสียหายของกอหอม ในทุกกรรมวิธีการพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีไม่พ่นสาร กรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate ให้ผลในการควบคุมหนอนกระทู้หอมไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้งสามอัตรา และ พบความเสียหายของกอหอมต่ำที่สุด กรรมวิธีพ่น lufenuron ทั้ง 3 อัตรา, กรรมวิธีพ่น diflubenzuron และกรรมวิธี Bt ผสม NPV ทั้ง 2 อัตรา และกรรมวิธีพ่น NPV ให้ผลในการควบคุมหนอนกระทู้หอมไม่แตกต่างกันทางสถิติ และให้ผลควบคุมรองจาก emamectin benzoate

หลังพ่นสารครั้งที่ 5 กรรมวิธีพ่นสาร lufenuron ที่อัตรา 20, 25 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, emamectin benzoate ที่อัตรา 20, 25, 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีพ่นสาร diflubenzuron อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีใช้ Bt ผสม NPV สัดส่วน 3:1 ที่อัตรา 20 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีใช้สาร NPV อย่างเดียวที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบการทำลายจากหนอนกระทู้หอม 5.95, 5.34, 5.52, 0.47, 0.02, 0.40, 3.66, 3.86, 5.38, 4.26 และ 10.02 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ความเสียหายของกอหอมจากการทำลายของหนอนกระทู้หอม ในทุกกรรมวิธีการพ่นสารแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร กรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate พบความเสียหายของกอหอมต่ำที่สุดเห็นได้อย่างชัดเจนและในทุกกรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate ให้ผลควบคุมหนอนกระทู้หอมไม่แตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีใช้สาร lufenuron อัตรา 25 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีใช้ diflubenzuron อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีการใช้ Bt ผสม NPV และกรรมวิธีการใช้ NPV อย่างเดียว ให้ผลควบคุมหนอนกระทู้หอมไม่แตกต่างกันทางสถิติและปริมาณกอหอมที่ถูกทำลายอยู่ในระดับต่ำรองจากกรรมวิธีพ่นสาร emamectin benzoate

หลังพ่นครั้งที่ 6 กรรมวิธีพ่นสาร lufenuron ที่อัตรา 20, 25 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, emamectin benzoate ที่อัตรา 20, 25, 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีพ่นสาร diflubenzuron อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีใช้ Bt ผสม NPV สัดส่วน 3:1 ที่อัตรา 20 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีใช้สาร NPV อย่างเดียวที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบการทำลายจากหนอนกระทู้หอม 2.89, 3.28, 3.54, 2.67, 2.86, 2.59, 3.22, 3.07, 3.43, 3.33 และ 6.14 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ความเสียหายของกอหอม ในทุกกรรมวิธีการพ่นสาร ให้ผลแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการไม่พ่นสาร ส่วนกรรมวิธีพ่นสารทุกกรรมวิธีให้ผลในการควบคุมหนอนกระทู้หอมศัตรูหอมแดงไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3)

ผลผลิตหอมแดงในแปลงทดลองเฉลี่ย/ไร่อยู่ระหว่าง 3141.84 – 4266.67 กิโลกรัม/ไร่ กรรมวิธีพ่นสาร lufenuron ที่อัตรา 20, 25 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, emamectin benzoate ที่อัตรา 20, 25, 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีพ่นสาร diflubenzuron ที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีใช้ Bt ผสม NPV สัดส่วน 3:1 ที่อัตรา 20 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีใช้สาร NPV อย่างเดียวที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ให้ผลผลิตหอมแดง 3,450, 3,758.83, 3,616.67, 4,266.67, 4,208.33, 3,808.34, 3,833.33, 3,841.67, 3,500, 3,400 และ 3,141.84 กิโลกรัม/ไร่ตามลำดับ (ตารางที่ 3) หลังจากวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยผลผลิตทางสถิติพบว่า กรรมวิธีไม่พ่นสารให้ผลผลิตเฉลี่ยต่ำที่สุดและให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร lufenuron ที่อัตรา 20 และ 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร, กรรมวิธีพ่นสาร Bt ผสม NPV อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และการใช้ NPV เพียงอย่างเดียวที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีการพ่นสาร emamectin benzoate ที่อัตรา 20 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร ให้ผลผลิตหอมแดงสดสูงที่สุด และให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้สาร emamectin benzoate อีก 2 อัตรา, กรรมวิธีพ่น diflubenzuron อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร กรรมวิธีการพ่น lufenuron อัตรา 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีการพ่น Bt ผสม NPV อัตรา 20 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบคุณภาพหัวหอมแดงสดพบว่า ให้ผลใกล้เคียงกัน กล่าวคือ หอมแดงในแต่ละกรรมวิธีสามารถมัดจุดได้และขายได้ในราคาเดียวกันในทุกกรรมวิธี

ส่วนที่ 2 แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี

ดำเนินการทำแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ควบคุมหนอนกระทู้หอมเปรียบเทียบกับแปลงเกษตรกร ภายใต้สภาพการปลูกเดียวกัน ยกเว้นการใช้สารควบคุมหนอนกระทู้หอม โดยดำเนินการทดลองในแปลงเกษตรกรตัวแทน แต่ละหมู่บ้าน จำนวน 5 ราย ซึ่งผลการวิเคราะห์ความเสียหายของกอหอมแดงเปรียบเทียบระหว่างแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีและแปลงเกษตรกรพบว่า การทำลายหอมแดงเนื่องจากหนอนกระทู้หอมเกือบทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นผลการ

สำรวจใน วันที่ 25 มี.ค. 46 แปลงของนายสำราญ ทับแว่ว ตัวแทนเกษตรกรหมู่ที่ 1 ตำบล ทุ่งยั้ง อำเภอ ลับแล พบการทำลาย 6.95 กอ/ตารางเมตร ในแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี และ 2.95 กอ/ตารางเมตรใน แปลงเกษตรกร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ และในแปลงของนายกระทรวง วงศ์ญาติ เกษตรกร ตำบล ชัยจุมพล อำเภอ ลับแล สำรวจ ณ วันที่ 25 มี.ค. 46 และ 2 เม.ย. 46 พบการทำลายในแปลง สังเคราะห์เทคโนโลยีฯ เป็น 0.98 และ 1.40 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ และในแปลงเกษตรกรพบการ ทำลาย 1.63 และ 3.85 กอ/ตารางเมตรตามลำดับ ซึ่งให้ผลแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4)

การใช้สารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ ทั้ง 5 ราย นายสำราญ ทับ แว่ว,นายนิยม นิ่มสุนทรเวช, นายสำราญ ขวัญมุข, นายสำรวย ชัยมงคล, และนายกระทรวง วงศ์ญาติ มีการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ในแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีฯ จำนวน 9, 6, 7, 4, และ 7 ครั้งตามลำดับ การฉีด พ่นสารแต่ละครั้ง แนะนำให้เกษตรกรสุ่มนับระดับการทำลายของหนอนก่อนการพ่นทุกครั้ง ในแปลง เกษตรกรมีการใช้สารเคมีกำจัดหนอนกระทู้หอม จำนวน 14, 9, 10, 8 และ 4 ครั้งตามลำดับ เห็นได้ ชัดเจนว่าในแปลงเกษตรกรมีการใช้สารเคมีจำนวนครั้งมากกว่าในแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี เกษตรกร ส่วนใหญ่ ฉีดพ่นสารเคมี โดยไม่มีการประเมินความเสียหายก่อนการฉีดพ่น ยกเว้น นายกระทรวง วงศ์ ญาติ ซึ่งยอมรับคำแนะนำให้สุ่มนับการทำลายก่อนการฉีดพ่น ผลผลิตเฉลี่ยกิโลกรัมต่อไร่หลังจากการ วิเคราะห์สถิติเปรียบเทียบผลผลิตเฉลี่ยระหว่างแปลงเกษตรกรและแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีฯ พบว่าใน แปลงเกษตรกรในโครงการทั้ง 5 ราย ให้ผลผลิตเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับแปลงสังเคราะห์ เทคโนโลยี

การปลูกหอมแดงโดยทั่วไปต้นทุนเฉลี่ย 10,640 บาท/ไร่ อย่างไรก็ตาม ต้นทุนการผลิตจริงของ เกษตรกรแต่ละรายย่อมแตกต่างกัน ต้นทุนการผลิตของเกษตรกรที่ร่วมโครงการ พบว่าแตกต่างกันโดยมี ต้นทุนต่ำสุด 4,088.50 บาท/ไร่ และต้นทุนสูงสุด 11,083.80 บาท/ไร่ (ตารางที่ 5) เห็นได้ว่าในแปลง สังเคราะห์ เทคโนโลยีฯ มีระดับต้นทุนสูงกว่าแปลงเกษตรมากเพราะว่าการใช้ เอ็น พีวี ควบคุมศัตรูพืช เนื่องจากโครงการต้องการสร้างความเชื่อมั่นในด้านประสิทธิภาพไวรัส เอ็น พี วี แก่เกษตรกรก่อน โดยใช้ อัตราการพ่นที่สูงกว่าอัตราแนะนำและเนื่องจากประเมินราคาไวรัส เอ็น พี วี ตามราคาขายของหน่วย ผลิตขยายชีวินทรีย์เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชที่จำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด คือ ลิตรละ 2,500 บาท อย่างไรก็ตามหากเกษตรกรสามารถต่อเชื้อได้เอง เมื่อไม่คิดต้นทุนของไวรัส เอ็น พี วี แล้ว พบว่า ต้นทุน สารควบคุมหนอนกระทู้หอมในแปลงสังเคราะห์ฯ น้อยกว่าแปลงเกษตรกรทุกราย สำหรับผลกำไรสุทธิ ที่ ได้ในแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีและแปลงเกษตรกรใกล้เคียงกัน

เมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตหอมแดงสดพบว่าแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีฯ กับแปลงของเกษตรกร โดยรวมแล้วผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบคุณภาพหอมแดงสดหน้าแปลง โดยใช้ เกณฑ์ความสามารถในการมัดจุกได้ พบว่าไม่แตกต่างกันทั้งแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีฯและแปลง เกษตรกร นำผลผลิตหอมแดงสดตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง ณ กลุ่มพัฒนาตรวจสอบพืชและปัจจัยการ

ผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 จังหวัดพิษณุโลก โดยใช้เทคนิค TLC พบว่า ไม่พบพิษตกค้างในผลผลิตหอมแดงทั้งในแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีฯ และในแปลงเกษตรกรทั้ง 5 ราย

ในแง่ความเชื่อมั่น ช่วงเริ่มต้นโครงการเกษตรกรค่อนข้างลังเล แต่ภายหลังการทำแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีเสร็จสิ้น เกษตรกรที่ร่วมโครงการทั้ง 5 ราย ต่างมีความเชื่อมั่นต่อการใช้ไวรัส เอ็น พี วี โดยยอมรับว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากสารเคมีที่ใช้ควบคุมหนอนกระทู้หอม ที่สำคัญมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของเกษตรกร และหากสามารถต่อเชื้อเก็บไว้ได้จำนวนมากพอ จะช่วยประหยัดค่าสารเคมีลงได้

ส่วนที่ 3 การต่อเชื้อใช้เองในแปลงเกษตรกร

จัดฝึกอบรมเกษตรกรโดยความร่วมมือของศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีประจำตำบล กรมส่งเสริมการเกษตร โดยแบ่งเป็น 2 ช่วง รวมมีผู้ผ่านการฝึกอบรมทั้งสิ้น 147 คน ฝึกอบรมเกษตรกรก่อนเริ่มโครงการ 1 ครั้ง วันที่ 8 มกราคม 2546 ณ ศูนย์วิจัยวัตถุมีพิษเขต 2 จังหวัดอุตรดิตถ์ มีเกษตรกรและเจ้าหน้าที่เกษตรผ่านการฝึกอบรม 52 คน และหลังเสร็จสิ้นโครงการ ฝึกอบรม 2 ครั้ง คือวันที่ 27 พฤษภาคม 2546 ณ ศาลาวัดตลิ่งต่ำ ตำบลทุ่งยั้ง อำเภอลับแล มีเกษตรกรผ่านการอบรม 44 คน และวันที่ 28 พฤษภาคม 2546 ณ ศาลาวัด ตำบลชัยจุมพล อำเภอลับแล มีเกษตรกรผ่านการอบรม 51 คน

จากผลการทดสอบสอบประสิทธิภาพเชื้อไวรัส เอ็น พี วี เปรียบเทียบกับสารเคมี และผลการสังเคราะห์เทคโนโลยีการใช้ไวรัส เอ็น พี วี โดยร่วมเรียนรู้และดำเนินการไปพร้อมกับเกษตรกร ทำให้เกษตรกรเกิดความเชื่อมั่นในการใช้ไวรัส เอ็น พี วี พ่นควบคุมหนอนกระทู้หอมมากยิ่งขึ้น โดยมีเกษตรกรตัวแทนในโครงการ 3 รายที่ต่อเชื้อไว้ใช้เองในฤดูกาลปลูกหน้า คือ นายสำราญ ทับแว่ว เก็บหนอนเป็นโรคตายได้ 4 ขวด ขวดละ 200 ตัว, นายกระทรวง วงศ์ญาติ เก็บได้ 3 ขวด ขวดละ 250 ตัว และนายนิยม นิ่มสุนทรเวช เก็บได้ 2 ขวด ขวดละ 200 ตัว ในแปลงของนายนิยม นอกเหนือจากเกษตรกรต่อเชื้อใช้เองได้แล้ว เกษตรยังเกิดกระบวนการเรียนรู้ด้วยตนเอง คือสามารถปรับเปลี่ยนเทคนิคการต่อเชื้อในแปลงที่นักวิชาการแนะนำ ไปเป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับเกษตรกรเอง นั้นคือดำเนินการต่อเชื้อในถังอะลูมิเนียมขนาดเล็กดัดแปลงมาจากภาชนะเหลือใช้ในท้องถิ่น นำต้นหอมใส่ในถัง พ่นไวรัส เอ็น พี วี ด้วยขวดพ่นเชื้อขนาดเล็กหลังจากนั้นเก็บหนอนกระทู้หอมจากแปลงใส่ในภาชนะที่เตรียมไว้ เมื่อหนอนตายเก็บซากหนอนมาบดและพ่นสลับกับสารเคมีในแปลงหอม แข่งขันกันกับแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีฯซึ่งใช้ไวรัส เอ็น พี วี เป็นหลัก อย่างไรก็ตามเกษตรกรส่วนใหญ่ยังเห็นว่าวิธีการต่อเชื้อไม่ค่อยสะดวกนัก เนื่องจากต้องเก็บรวบรวมหนอนทีละตัว รวมถึงขาดทักษะการสังเกตหนอนที่เป็นโรค

แม้ว่าเกษตรกรที่เข้าร่วมในโครงการ จะมีความเชื่อมั่นในประสิทธิภาพของเชื้อไวรัส เอ็น พี วี ว่าสามารถใช้ควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ดี แต่การรับเทคโนโลยีและการนำไปใช้ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย

เนื่องจากโครงการดำเนินการกับเกษตรกรเพียงไม่กี่ราย รวมถึงข้อจำกัดของเชื้อไวรัส เอ็น พี วี ที่ออกฤทธิ์ช้ากว่าสารเคมีและมีราคาค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบกับสารเคมีที่เกษตรกรใช้ทั่วไป การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส เอ็น พี วี สู่ตลาดหรือเกษตรกรผู้ใช้ จะต้องดำเนินการแบบค่อยเป็นค่อยไป เริ่มจากการสร้างความเชื่อมั่นแก่เกษตรกรก่อน การนำเสนอให้เป็นทางเลือกหนึ่งแก่เกษตรกร หรือใช้พ่นสลับกับสารเคมีเป็นช่วงๆ โดยเฉพาะในช่วงที่หนอนระบาดรุนแรงแล้วสารเคมีในท้องตลาดใช้ไม่ได้ผล ซึ่งจะเกิดขึ้นเสมอในการปลูกหอม พร้อมๆ กับการถ่ายทอดเทคโนโลยีการต่อเชื้อแก่กลุ่มเกษตรกร (เช่น สหกรณ์) เพื่อผลิตใช้เองในกลุ่ม หรือจำหน่ายในราคาถูก

สรุป

การทดสอบประสิทธิภาพของไวรัส เอ็น พี วี ของหนอนกระทู้หอม เปรียบเทียบกับสารเคมี อยู่ภายใต้โครงการสังเคราะห์เทคโนโลยีการใช้ไวรัส เอ็น พี วี เพื่อควบคุมหนอนกระทู้หอมศัตรูหอมแดง พบว่าไวรัส เอ็น พี วี มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ไม่แตกต่างกับสารเคมีที่เกษตรกรนิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน กล่าวคือ จากแปลงทดลองที่ 1 เห็นได้ว่า การใช้ไวรัส เอ็น พี วี ที่อัตรา 30 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร ให้ผลในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมและให้ผลผลิตเฉลี่ยดีที่สุด รองลงมาได้แก่การใช้สาร lufenuron อัตรา และ ไวรัส เอ็น พี วี ที่อัตรา 25 และ 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และในแปลงทดลองที่ 2 พบว่าการใช้ไวรัสเอ็น พี วี ที่อัตรา 20 และ 15 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร และการใช้ Bt 40 มิลลิลิตร ผสมไวรัสเอ็น พี วี 20 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร ให้ผลในการควบคุมหนอนกระทู้หอมไม่แตกต่างกับการใช้ lufenuron อัตรา 25 มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร ในแปลงทดลองที่ 3 พบว่ากรรมวิธีใช้สารเคมี lufenuron 5% EC, emamectin benzoate 1.92% EC, diflubenzuron 25% WP และการใช้สารชีวินทรีย์ ทั้ง Bt ผสม NPV และการใช้ NPV อย่างเดียว ให้ผลในการควบคุมหนอนกระทู้หอมไม่แตกต่างกันทางสถิติ และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารให้ผลแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งให้รับความเสียหาย เนื่องจากการทำลายของหนอนกระทู้หอมสูงที่สุด สารฆ่าแมลงทุกชนิดที่นำมาทดลอง พบว่าไม่เกิดอาการเป็นพิษกับใบหอม, ผลผลิต สิ่งแวดล้อมและผู้ฉีดพ่นสาร การทดลองครั้งนี้ ได้ทดลองในแหล่งที่หนอนกระทู้หอมระบาดรุนแรง และสามารถเปรียบเทียบศักยภาพการควบคุมหนอนกระทู้หอมระหว่างการใช้เชื้อไวรัส เอ็น พี วี และสารเคมีกำจัดแมลงได้ ทำให้มีความมั่นใจในการนำผลการทดลองดังกล่าวไปสนับสนุนการใช้เชื้อไวรัส เอ็น พี วี ในแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี และเพิ่มความเชื่อมั่นให้กับเกษตรกรในการรับเทคโนโลยีการต่อเชื้อไวรัสไว้ใช้เอง เพื่อให้ทันกับสถานการณ์การระบาดอย่างรุนแรงของหนอนกระทู้หอมในแหล่งปลูกหอมเพื่อผลิตหัวพันธุ์จำหน่ายทั่วประเทศ สามารถช่วยลดปัญหาหนอนสร้างความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน และเพิ่มความปลอดภัยต่อเกษตรกรผู้ปลูกหอมและผู้บริโภค

ในแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีเห็นได้ว่ามีเกษตรกรระดับผู้นำ เข้าร่วมโครงการ 5 คน ในพื้นที่อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ ซึ่งเกษตรกรเหล่านี้ได้มีประสบการณ์ตรงในการใช้เชื้อไวรัส เอ็น พี วี กระทั่งเกิดความเชื่อมั่นในประสิทธิภาพความปลอดภัยต่อสุขภาพ และช่วยลดต้นทุนสารเคมีได้ เปรียบเทียบการใช้ไวรัส เอ็น พี วี ควบคุมหนอนกระทู้หอมในแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีและแปลงเกษตรกรซึ่งเกษตรกรตัดสินใจเลือกใช้สารเคมีเอง โดยมีดัชนีชี้วัดคือ ความเสียหายของกอหอมแดง, ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่, คุณภาพผลผลิต, พิษตกค้างในผลผลิต ต้นทุนการผลิตและกำไรสุทธิ พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน นั้นคือไวรัสเอ็น พี วี สามารถทดแทนสารเคมีควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ ทั้งนี้เกษตรกรสามารถต่อเชื้อไว้ใช้เองได้เพื่อลดต้นทุนการผลิต

การต่อเชื้อใช้เองในแปลงเกษตรกร มีเกษตรกรผู้ปลูกหอมและเจ้าหน้าที่เกษตรผ่านการฝึกอบรมการใช้ไวรัส เอ็น พี วี จำนวน 147 คน และจากตัวแทนเกษตรกร 5 ราย มีเกษตรกรจำนวน 3 ราย รับเทคโนโลยีและปรับใช้เทคโนโลยีให้เหมาะสมกับตนเอง เกษตรกรสามารถต่อเชื้อใช้เองในสภาพไร่ และสามารถ เก็บเชื้อไว้ใช้ในฤดูปลูกถัดไป เกษตรกรได้เรียนรู้เทคนิคการใช้สารชีวินทรีย์เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช และสามารถประเมินความเสียหายเนื่องจากการทำลายของหนอนกระทู้หอมก่อนการฉีดพ่นสารได้

ได้รูปแบบที่เหมาะสมในการร่วมทำงานแบบบูรณาการกับหน่วยงานต่างๆ ซึ่งประกอบด้วย ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีประจำตำบล กรมส่งเสริมการเกษตร, สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และเตรียมการดำเนินงานในสภาพแปลงใหญ่ต่อไปตลอดจน สามารถนำรูปแบบของโครงการไปปรับใช้กับพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ ที่มีปัญหาเกี่ยวกับการระบาดของหนอนผีเสื้อศัตรูพืชต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.มรกต ตันติเจริญ ผู้อำนวยการศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ดร.ศักรินทร์ ภูมิรัตน์ ผู้อำนวยการหน่วยบริการเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนาชนบท ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 ซึ่งให้เกียรติเป็นที่ปรึกษาโครงการ ขอบคุณ คุณมานิตา คงชื่นสิน, คุณชมพูนุท จรรยาเพศ นักวิชาการสำนักวิจัยพัฒนาอารักขาพืชที่แนะนำเกี่ยวกับการเก็บข้อมูลและการบันทึกภาพ ขอขอบคุณ คุณพุฒนา รุ่งระวี ฝ่ายวิชาการสถิติกองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร ที่แนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะข้อมูลต่างๆ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ, ผู้อำนวยการศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีประจำตำบลทุ่งยั้ง สำนักงานเกษตรอำเภอลับแล กรมส่งเสริมการเกษตร ที่อำนวยความสะดวกเกี่ยวกับการจัดฝึกอบรม

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2539. ศัตรูผักและการควบคุมแมลงศัตรูผัก. หลักและวิธีการผลิตผักอนามัย, โครงการนำร่องการผลิตพืชผักและผลไม้อนามัยฉบับแก้ไข พ.ศ.2539. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 223 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2545. พืชผัก เห็ดและพืชหัวอื่นๆ. หน้า 128-129. *ใน* ผลงานวิชาการประจำปี 2544. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการประจำปี 2545 วันที่ 20-22 พฤษภาคม 2545. โรงแรมแอมบาสซาเดอร์ ซิตี้ จอมเทียน พัทยา จังหวัดชลบุรี.

กรมวิชาการเกษตร. 2546. การกำหนดมาตรฐานคุณภาพพืช. หน้า 103-121. *ใน* สรุปผลงานวิจัยปี 2545 ตามยุทธศาสตร์แผนงานวิจัยปี 2546 ของกรมวิชาการเกษตร. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการประจำปี 2546. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ. 2542. แมลงศัตรูผักที่สำคัญบางชนิดและการป้องกันกำจัด. เอกสารวิชาการแมลงศัตรูผัก. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 97 หน้า.

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2547. เอกสารวิชาการเกษตร. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 284 หน้า.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2545. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2545. เอกสารวิชาการเกษตร. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 240 หน้า.

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์, สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม, ไพโรจน์ อ่อนบุญและสุรศักดิ์ กาสา. 2539. การสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูหอมแดง. หน้า 5–11. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2539. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผักไม้ดอกและไม้ประดับ, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการกษตร, กรุงเทพฯ.

อุทัย เกตุนุติ. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส เอ็น พี วี. เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 318 หน้า.

Frances, R.H., P.F. Entwistle, H.F. Evans and N.E. Crook. 1998. Insect viruses and pest management. School of animal and microbial sciences, University of Reading, UK. 25 pp.

ตารางที่ 1. แสดงระดับความเสียหายของกอหอมเนื่องจากการทำลายของหนอนกระทู้หอมโดยเฉลี่ย (กอ/ ตร.ม.) เปรียบเทียบการพ่นสารป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมชนิดต่าง ๆ ในแปลงทดลองที่ 1 อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ พฤศจิกายน – ธันวาคม 2545

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร)	จำนวนกอหอมที่ถูกทำลายเนื่องจากหอนกระทู้หอม (กอ/ ตร.ม.) ก่อนพ่นและ5 วัน หลังพ่น						ผลผลิตหอมสด (กก./ ไร่)
		ก่อนพ่นสาร	หลังพ่นครั้งที่ 1	หลังพ่นครั้งที่ 2	หลังพ่นครั้งที่ 3	หลังพ่นครั้งที่ 4	หลังพ่นครั้งที่ 5	
1. chlorpyrifos 40% EC	25	5.38	3.69	5.39 bc[1/ 3/]	11.38 b	12.10 b[2/]	22.91 b	3084.90 a
2. lufenuron 5% EC	25	4.79	3.13	4.39 abc	7.16 a	5.87 a	10.63 a	3701.34 a
3. SeNPV 1x10^9 PIBs/ml	20	3.91	3.60	3.11 a	4.97 a	6.44 a	9.19 a	3449.08 a
4. SeNPV 1x10^9 PIBs/ml	30	4.85	2.72	3.98 ab	3.91 a	4.65 a	6.53 a	3875.63 a
5. ไม่พ่นสารฆ่าแมลง	-	4.63	3.56	6.04 c	16.44 b	19.93 c	39.13 c	1770.40 b
CV (%)		35.1	26.2	27.8	24.9	7.6	18.7	20.3
R E (%)				119	96.9	56.6	34.1	
F - test		ns	ns	**	**	**	**	**

[1/] ข้อมูลหลังพ่นครั้งที่ 2 วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม.

[2/] ข้อมูลหลังพ่นครั้งที่ 4 แปลงค่าข้อมูลโดยใช้ log(x + 1) ก่อนวิเคราะห์ความแปรปรวนมาตรฐาน.

[3/] ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์โดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2. แสดงระดับความเสียหายของกอหอมเนื่องจากการทำลายของหนอนกระทู้หอมโดยเฉลี่ย เปรียบเทียบการใช้สารควบคุมหนอนกระทู้หอมชนิดต่าง ๆ ในแปลงทดลองที่ 2 อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ มีนาคม – เมษายน 2546

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (มล./ น้ำ 20 ลิตร)	จำนวนกอหอมที่ถูกทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย (กอ/ ตร.ม.) ก่อนพ่นสารและ 5 วัน หลังพ่นสาร				ผลผลิตหอมสด (กก./ ไร่)
		ก่อนพ่นสาร	หลังพ่นครั้งที่ 1	หลังพ่นครั้งที่ 2	หลังพ่นครั้งที่ 3	
1. chlorpyrifos 40% EC	50	3.70	7.28[1/]	22.87[1/2/]	15.84 b[3/]	2404.28
2. lufenuron 5% EC	25	3.75	6.43	18.57	9.92 a	2875.02
3. SeNPV 1x10^9 PIBs/ml	20	3.00	9.32	18.93	11.34 ab	2813.23
4. SeNPV 1x10^9 PIBs/ml	15	2.95	6.52	20.30	11.48 ab	2543.74
5. Bt 1x10^9 CFU/ml ผสม SeNPV	20 + 20	3.30	7.47	19.44	15.53 b	2608.27
6. Bt 1x10^9 CFU/ml ผสม SeNPV	40 + 15	3.15	6.92	20.63	14.15 ab	2777.66
7. ไม่พ่นสารฆ่าแมลง	-	2.80	8.12	25.29	43.31 c	2264.72
CV (%)		20.0	21.4	4.55	11.05	10.40
R E (%)			163.9	185.3	86.8	
F - test		ns	ns	ns	**	ns

[1/] ข้อมูลหลังพ่นครั้งที่ 1 และหลังพ่นครั้งที่ 2 วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม

[2/] ข้อมูลหลังพ่นครั้งที่ 2 แปลงค่าข้อมูลโดยใช้ log (x + 1) ก่อนการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม

[3/] ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3.แสดงระดับความเสียของหายกอหอมเนื่องจากการทำลายของหนอนกระทู้หอมโดยเฉลี่ย (กอ/ ตร.ม.) เปรียบเทียบการพ่นสารควบคุมหนอนกระทู้หอมชนิดต่าง ๆ ในแปลงทดลองที่ 3 อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ (มกราคม – มีนาคม 2547)

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (มิลลิลิตร/ น้ำ 20 ลิตร)	จำนวนกอหอมที่ถูกทำลายเนื่องจากหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย (กอ/ ตร.ม.) ก่อนพ่น และ 5 วัน หลังพ่น							
		ก่อนพ่นสาร	หลังพ่น ครั้งที่ 1	หลังพ่น ครั้งที่ 2	หลังพ่น ครั้งที่ 3	หลังพ่น ครั้งที่ 4	หลังพ่น ครั้งที่ 5	หลังพ่น ครั้งที่ 6	ผลผลิตหอมสด (กก./ ไร่)
1. lufenuron 5% EC	20	1.25	0.63	0.50	1.50 cd[1/]	2.37 b[2/]	5.95 c[2/]	2.89 a[3/]	3450.00 bc
2. lufenuron 5% EC	25	1.31	0.94	0.38	0.94 b	2.32 b	5.34 bc	3.28 a	3758.83 ac
3. lufenuron 5% EC	30	1.38	0.12	0.25	0.63 ab	1.91 b	5.52 bc	3.54 a	3616.67 bc
4. emamectin benzoate 1.92% EC	20	0.81	0.38	0.06	0.19 a	0.35 a	0.47 a	2.67 a	4266.67 a
5. emamectin benzoate 1.92% EC	25	1.13	0.25	0.31	0.13 a	0.29 a	0.02 a	2.86 a	4208.33 a
6. emamectin benzoate 1.92% EC	30	0.88	0.31	0.06	0.25 a	0.48 a	0.40 a	2.59 a	3808.34 ab
7 diflubenzuron 25% WP	30	0.69	0.25	0.25	0.56 ab	1.61 b	3.66 b	3.22 a	3833.33 ab
8.Bt 1x10^9 CFU/ml ผสม SeNPV (3:1)	20	0.88	0.31	0.19	0.50 ab	1.90 b	3.86 b	3.07 a	3841.67 ab
9.Bt 1x10^9 CFU/ml ผสม SeNPV (3:1)	30	1.56	0.31	0.56	1.06 bc	1.54 b	5.38 bc	3.43 a	3500.00 bc
10. SeNPV 1x10^9 PIBs/ml	30	1.38	0.69	0.50	0.69 ab	2.27 b	4.26 bc	3.33 a	3400.00 bc
11. ไม่พ่นสารฆ่าแมลง	-	0.75	0.56	0.96	1.75 d	6.41 c	10.02 d	6.14 b	3141.84 c
CV (%)		52.6	62.48	17.28	49.10	14.92	26.28	17.7	9.8
R E (%)					96.70	78.30	63.90	153.7	
F - test		ns	ns	ns	**	**	**	**	**

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์โดย DMRT

[2/] ข้อมูลหลังพ่นครั้งที่ 4 และ 5 แปลงค่าของข้อมูลโดยใช้ Sqr (x+0.5) ก่อนวิเคราะห์ความแปรปรวนมาตรฐาน

[3/] ข้อมูลหลังพ่นสารครั้งที่ 6 วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม

ตารางที่ 4 : **แสดงระดับความเสียหายของกอหอมเนื่องจากการทำลายของหนอนกระทู้หอมเฉลี่ย เปรียบเทียบระหว่างแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีและแปลงเกษตรกร จังหวัดอุตรดิตถ์**
(มีนาคม – พฤษภาคม 2546)

เกษตรกร	จำนวนกอหอมที่เสียหายเนื่องจากการทำลายของหนอนกระทู้หอม (กอ/ตร.ม.)				
	20 ก.พ. 46	4 มี.ค.46	13มี.ค.46	25 มี.ค.46	2 เม.ย.46
1. เกษตรกรรายที่ 1					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	1.15	1.38	0.95	6.95	1.18
แปลงเกษตรกร	1.25	1.38	1.35	2.95	0.98
T-test (n=40)	t=0.324^{ns}	t=0	t=-1.473^{ns}	t=4.588**	t=0.890^{ns}
2. เกษตรกรรายที่ 2					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	0.95	0.45	1.58	0.40	-
แปลงเกษตรกร	1.25	0.28	1.93	0.63	-
T-test (n=40)	t=-1.177^{ns}	t=1.188^{ns}	t=-0.822^{ns}	t=-1.461^{ns}	
3. เกษตรกรรายที่ 3					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	-	-	1.05	1.13	1.38
แปลงเกษตรกร	-	-	0.68	1.18	2.25
T-test (n=40)			t=1.506^{ns}	t=0.144^{ns}	t=-2.628^{ns}
4. เกษตรกรรายที่ 4					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	0.50	0.45	0.30	2.08	2.23
แปลงเกษตรกร	0.50	0.53	0.40	2.95	1.85
T-test (n=40)	t=0^{ns}	t=-0.354^{ns}	t=-0.746^{ns}	t=-1.878^{ns}	t=1.098^{ns}
5. เกษตรกรราบที่ 5					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	1.95	1.05	1.90[1/]	0.98[2/]	1.40[3/]
แปลงเกษตรกร	1.50	1.05	1.43	1.63	3.85
T-test (n=40)	t=1.461^{ns}	t=0^{ns}	t=1.996^{ns}	t=-2.167*	t=-8.101**

[1/] t=x^{ns} ระดับความเสียหายของกอหอมแดงไม่แตกต่างกันทางสถิติ วิเคราะห์โดยวิธี T-test

[2/] t=x* ระดับความเสียหายของกอหอมแดงแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์โดยวิธี T-test

[3/] t=x** ระดับความเสียหายของกอหอมแดงแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% วิเคราะห์โดยวิธี T-test

ตารางที่ 5. แสดงต้นทุนการผลิตรวม, ต้นทุนการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช, ผลผลิตหอมแดงสดหน้าแปลง, รายรับ/ไร่ และต้นทุนการใช้สารกำจัดศัตรูพืชโดยหักไวรัส เอ็น พีวี เปรียบเทียบระหว่างแปลงสังเคราะห์เทคโนโลยีและแปลงเกษตรกร จังหวัดอุตรดิตถ์
มีนาคม – พฤษภาคม 2546

เกษตรกร	ต้นทุนการผลิตรวม (บาท/ ไร่)	ต้นทุนการใช้สารกำจัดศัตรูพืช (บาท/ไร่)	ผลผลิต (กก./ ไร่)	รายรับ (บาท/ ไร่)	ต้นทุนสารกำจัดศัตรูพืชโดยหักต้นทุนไวรัส เอ็นพีวี (บาท/ ไร่)
1. เกษตรกรรายที่ 1					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	9,197.45	3,516.00	3,528	33,138.55	141.00
แปลงเกษตรกร	6,393.00	982.00	4,095	42,747.00	982.00
T-test (n=40)			t=-1.70 ^{ns}		
2. เกษตรกรรายที่ 2					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	5,992.00	2,462.00	4,689	50,276.00	212.00
แปลงเกษตรกร	4,088.50	559.50	4,401	48,724.00	559.50
T-test (n=40)			t=0.912 ^{ns}		
3. เกษตรกรรายที่ 3					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	6,711.30	2,793.00	3,564	36,056.00	168.00
แปลงเกษตรกร	5,626.30	1,708.00	4,059	43,081.70	1708.00
T-test (n=40)			t=0.809 ^{ns}		
4. เกษตรกรรายที่ 4					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	9,907.80	1,824.00	3,024	26,380.20	324.00
แปลงเกษตรกร	8,939.30	856.50	3,006	27,132.70	856.50
T-test (n=40)			t=0.186 ^{ns}		
5. เกษตรกรราบที่ 5					
แปลงสังเคราะห์เทคโนโลยี	13,315.00	2,671.00	5,112	48,092.00	46.00
แปลงเกษตรกร	11,083.80	521.00	4,932	48,100.20	521.00
T-test (n=40)			t=1.004 ^{ns}		

หมายเหตุ – ราคาต้นทุนการใช้ไวรัส เอ็น พีวี ผลิตจากหน่วยผลิตขยายชีวินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดยความร่วมมือระหว่างกรมวิชาการเกษตรและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
ราคา 2,500 บาท /ลิตร

- ราคาหอมแดงสดหน้าแปลงขณะเก็บเกี่ยวผลผลิต 12 บาท / กิโลกรัม

การใช้ไวรัส เอ็น พี วี ของหนอนกระทู้หอม และบีที ควบคุมหนอนกระทู้หอม ในกล้วยไม้สกุลหวาย

Application of *Spodoptera exigua* Nuclear Polyhedrosis Virus (SeNPV) and *Bacillus thuringiensis* to Control Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) on *Dendrobium*

รจนา ไวยเจริญ อุทัย เกตุนุติ จารุวัตถ์ แต้กุล
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ทำการคัดเลือกสวนกล้วยไม้ที่เคยมีปัญหาการระบาดของหนอนกระทู้หอม ขนาดแปลงทดลอง 0.5 ไร่ จำนวน 2 แปลง ที่อำเภอศาลายา จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือน มกราคมถึง มีนาคม 2547 ทำการสำรวจจำนวนหนอนกระทู้หอม กลุ่มไข่ และความเสียหายของช่อดอก ยอดอ่อนและหน่อของกล้วยไม้สกุลหวาย ไม่พบการระบาดของหนอนกระทู้หอม จึงไม่ได้ทำการพ่นสารทดลอง

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชส่งออกที่กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ จัดเป็นพืช Product champion แมลงศัตรูกล้วยไม้จัดเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออกไปต่างประเทศ แมลงศัตรูที่สำคัญ ได้แก่ เพลี้ยไฟ บั่ว หนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผัก เป็นต้น เข้าทำลายกล้วยไม้ทำให้คุณภาพของดอกกล้วยไม้เสียไป ส่งออกไปจำหน่ายไม่ได้ (ปิยรัตน์ และคณะ, 2543) และในการป้องกันกำจัดพบว่าหนอนกระทู้หอมมีความสามารถในการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีอย่างรวดเร็ว อีกทั้งในระบบการค้าเสรีมุ่งเน้นที่จะมีการควบคุมด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช จำเป็นต้องมีข้อมูลที่ดีในการจัดการตามแนวทาง GAP และควรได้ศึกษาหาสิ่งทดแทนหรือลดปริมาณการใช้สารเคมี เพื่อเพิ่มทางเลือกให้เกษตรกร ซึ่งเชื้อแบคทีเรีย Bt และเชื้อไวรัส SeNPV เป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพและประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผัก จากการทดลองในห้องปฏิบัติการของ อัจฉรา และคณะ (2543) พบว่าการใช้ Bt จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนดังกล่าวได้อีกด้วย

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0402-02

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกกล้วยไม้สกุลหวาย ขนาด 0.5 ไร่
2. เชื้อ *Bacillus thuringiensis* สูตรสารแขวนลอยเข้มข้น (flowable liquid) บีที 1-ดีโอเอ ความเข้มข้น $1x10^9$ CFU/ml
3. เชื้อ NPV ของหนอนกระทู้หอม สูตรสารแขวนลอยเข้มข้น $1x10^9$ PIBs/ml
4. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลังปรับอัตราการไหลของหัวฉีดที่ 120 ลิตร/ไร่
5. สารจับใบ
6. ป้ายปักแปลง
7. อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็นต่อการทดลอง

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 10 กรรมวิธี ดังนี้

1.	บีที 1 ดีโอเอ	อัตรา	60	มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
2.	บีที 1 ดีโอเอ	อัตรา	80	มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
3.	ไวรัส SeNPV	อัตรา	20	มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
4.	ไวรัส SeNPV	อัตรา	30	มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
5.	บีที 1 ดีโอเอ+ SeNPV	อัตรา	60+10	มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
6.	บีที 1 ดีโอเอ+ SeNPV	อัตรา	60+20	มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
7.	บีที 1 ดีโอเอ+ SeNPV	อัตรา	40+10	มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
8.	บีที 1 ดีโอเอ+ SeNPV	อัตรา	40+20	มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
9.	diflubenzuron	อัตรา	40	กรัม/น้ำ 20 ลิตร
10.	ไม่พ่นสารฆ่าแมลง			

คัดเลือกสวนกล้วยไม้ที่มีปัญหาการระบาดของหนอนกระทู้หอม ขนาดแปลงทดลอง 0.5 ไร่ สำรวจปริมาณของหนอน กลุ่มไข่ และความเสียหายของช่อดอก ยอดอ่อนและหน่อของกล้วยไม้เมื่อพบปริมาณกลุ่มไข่เกิน 10 กลุ่ม/100 กอ หนอนเกิน 20 ตัว/100 กอ หรือมีจำนวนช่อที่ถูกหนอนทำลายเกิน 30 ช่อ/100 กอ จึงเริ่มทำการพ่นสารทดลอง ทำการพ่นสารทดลองทุก 4 วัน ติดต่อกัน 4-5 ครั้ง โดยผสมสารจับใบในการพ่นสารทุกครั้ง ตรวจนับปริมาณหนอนและความเสียหายจากการทำลายของหนอนบนต้นกล้วยไม้และช่อดอกกล้วยไม้ทุก 4 วัน นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลต่อไป

การบันทึกข้อมูล

- ปริมาณของไข่และหนอน ของหนอนกระทู้หอม
- ความเสียหายของต้นกล้วยไม้ ส่วนยอด หน่อ และช่อดอก

- จำนวนครั้งที่พ่นสาร
- คุณภาพของช่อดอกกล้วยไม้ที่สามารถส่งไปจำหน่ายได้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการคัดเลือกสวนกล้วยไม้ที่เคยมีปัญหาการระบาดของหนอนกระทู้หอม ขนาดแปลงทดลอง 0.5 ไร่ จำนวน 2 แปลง ที่อำเภอศาลายา จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนมกราคม ถึง มีนาคม 2547 สำรวจหนอนกระทู้หอม กลุ่มไข่ และความเสียหายของช่อดอก ยอดอ่อนและหน่อของกล้วยไม้สกุลหวาย ไม่พบการระบาดของหนอนกระทู้หอม จึงไม่ได้ทำการพ่นสารทดลอง

สรุปผลการทดลอง

ไม่พบการระบาดของหนอนกระทู้หอม จึงไม่ได้ทำการทดลองพ่นสารป้องกันกำจัด

เอกสารอ้างอิง

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข ไพศาล รัตนเสถียร วัฒนา จารณศรี ศิริณี พูนไชยศรี ชมพูนุท จรรยาเพศ และศรีสุดา โท้ทอง. 2543. แมลง-สัตว์ศัตรูกล้วยไม้. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 32 หน้า

อัจฉรา ตันติโชดก อุทัย เกตุนุติ และพิมลพร นันทะ. 2543. ผลของเชื้อแบคทีเรีย Bt ร่วมกับไวรัส NPV ในการควบคุมแมลงศัตรูผักบางชนิด. หน้า 383-408. ใน: เอกสารวิชาการ การประชุมสัมมนาทางวิชาการ “แมลงและสัตว์ศัตรูพืช” ครั้งที่ 12 ประจำปี 2543. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, 28-31 มีนาคม 2543.โรงแรมอมารี ออคิด รีสอร์ท เมืองพัทยา ชลบุรี.

รายงานความก้าวหน้างานวิจัยปี 2547

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รหัสกิจกรรม	06-01-47-0405-01

1. **ชื่อ แผนงานหลัก** 4.1 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคพืช แมลงและสัตว์ศัตรูพืชตลอดจนการใช้ปุ๋ยและสารเคมีทางการเกษตร

2. **ชื่อ กรอบโครงการวิจัย** 4.1.1 เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดศัตรูแบบผสมผสาน(IPM)

3. **ชื่อ กิจกรรม** 04 การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธี

4. **ชื่อ การทดลองที่** 05 วิจัยการใช้เหยื่อโปรโตซัวในการลดประชากรหนูศัตรูพืช

4.1 ชื่อ การทดลองย่อย 01 ศึกษาระยะเวลาและจำนวนครั้งการวางเหยื่อโปรโตซัวในการลดประชากรหนูในสวนปาล์มน้ำมัน

5. **พืช/สาขาวิชา/สาขาวิชาย่อย/** ปาล์มน้ำมัน/สัตววิทยา/การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี

6. **ประเภทงานวิจัย** พื้นฐานและประยุกต์

7. **ผู้ดำเนินการ**

หัวหน้า ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ

ผู้ร่วมงาน ปราสาททอง พรหมเกิด

ทรงทัพ แก้วตา

8. **ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2546 สิ้นสุด กันยายน 2548

9. **สรุปผลการทดลอง / รายงานก้าวหน้า** การศึกษาระยะเวลาและจำนวนครั้งในการเหยื่อโปรโตซัวเพื่อลดประชากรหนูในสวนปาล์มน้ำมันตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 ถึงเดือนกันยายน 2547 ดำเนินการทดลองในแปลงน้ำมัน ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2546 เป็นต้นไป ทำการตรวจสอบประชากรหนูโดยใช้ข้าวแปลือกและเหยื่อไบเออร์เปล่าตรวจสอบประชากรหนูก่อนการวางเหยื่อโปรโตซัวทุกเดือน ทั้งในแปลงเปรียบเทียบและแปลงทดลองจำนวน 5 แปลง คือ แปลงทดลองที่ 1-4 วางเหยื่อโปรโตซัว($2x10^5$ สปอร์โรซีสต์/ก้อน) จำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 30 วัน และแปลงทดลองที่ 5 วางเหยื่อโปรโตซัวร่วมกับเหยื่อราคูมินในอัตราความเข้มข้น sublethal dose(ประมาณ 5 กรัม/ก้อน/ต้น) ผลการศึกษาเบื้องต้นพบว่าค่าดัชนีประชากรหนูจากกรงดักในแปลงทดลองที่ 1-4 ลดลง 47.6%, 25%, 27.0%, และ 38.6 % ตามลำดับ และค่าดัชนีประชากรหนูจากการกินเหยื่อลดลง 14.7%,18.3%, 2.0% และ 2.0% ตามลำดับ สำหรับแปลงทดลองที่ 5 ค่าดัชนีประชากรหนูจากกรงดักลดลง 77.3% และค่าดัชนีประชากรหนูจากการกินเหยื่อลดลง 83.1% การทดลองดังกล่าวนี้ยังคงดำเนินการต่อไปอีก 1ปี

10. **คำค้น** เทคนิคการวางเหยื่อโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis*

1 1 .**ปัญหา / อุปสรรค** -

รายงานความก้าวหน้างานวิจัยปี 2547

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช | รหัสกิจกรรม | 06-01-47-0405-03

1. **ชื่อ แผนงานหลัก** 4.1 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดโรคพืช แมลงและสัตว์ศัตรูพืชตลอดจนการใช้ปุ๋ยและสารเคมีทางการเกษตร
2. **ชื่อ กรอบโครงการวิจัย** 4.1.1 เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดศัตรูแบบผสมผสาน(IPM)
3. **ชื่อ กิจกรรม** 04 การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธี
4. **ชื่อ การทดลองที่** 05 วิจัยการใช้เหยื่อโปรโตซัวในการลดประชากรหนูศัตรูพืช
   4.1 **ชื่อ การทดลองย่อย** 03 ศึกษาผลของเหยื่อโปรโตซัวที่ใช้กำจัดหนูต่อนกแสกในสวนปาล์มน้ำมัน
5. **พืช/สาขาวิชา/สาขาวิชาย่อย/** ปาล์มน้ำมัน/สัตววิทยา/การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี
6. **ประเภทงานวิจัย** พื้นฐานและประยุกต์
7. **ผู้ดำเนินการ**

หัวหน้า	ยุวลักษณ์	ขอประเสริฐ
ผู้ร่วมงาน	ปราสาททอง	พรหมเกิด
	เกรียงศักดิ์	หามะฤทธิ์
	ทรงทัพ	แก้วตา

8. **ระยะเวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2546 สิ้นสุด กันยายน 2548

9. **รายงานก้าวหน้า**

ได้ทำการศึกษาผลของเหยื่อโปรโตซัวต่อการขยายพันธุ์ของนกแสกในกรงตาข่ายขนาดใหญ่ในแปลงปลูกปาล์มน้ำมัน ที่ตำบลหงส์เจริญ อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร โดยสร้างกรงนกขนาดใหญ่ (กว้าง 4.8 x ยาว 7.2 x สูง 4 เมตร) ที่มีตาข่ายคลุมทั้งหลัง ส่วนกำแพงใช้แผ่นเซลโลกรีตอย่างหนาสูง 2.4 เมตรกั้นรอบกรง ซึ่งริมขอบของกำแพง ทำการอัดดินให้แน่น ส่วนคานกลางของกรงเป็นไม้ไผ่คู่สูงจากพื้นดิน 3 เมตร และภายในกรงเลี้ยงตั้งบ้านนกเทียมบนเสาสูง 1 หลัง และอยู่ระหว่างการสืบเสาะหานกแสกตามวัด และภายในสวนปาล์มน้ำมัน เพื่อดักจับนกแสกด้วยตาข่ายแบบ 4 คร่าว มาใช้ในการทดลอง ซึ่งยังคงดำเนินการต่อไปอีก 1 ปี

10. **คำค้น** เทคนิคการวางเหยื่อโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* นกแสก *Tyto alba*

11.**ปัญหา / อุปสรรค** ไม่สามารถทำการทดลองในสวนปาล์มน้ำมันได้ จึงต้องทำการทดลองในกรงนกขนาดใหญ่แทน เพื่อพิสูจน์ว่าเหยื่อโปรโตซัวที่ใช้กำจัดหนู ไม่เป็นอันตรายต่อนกแสก

รายงานความก้าวหน้างานวิจัยปี 2547

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช | รหัสกิจกรรม | 06-01-47-0405-04

48 / สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช / กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

1. ชื่อ แผนงานหลัก 4.1 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการป้องกันและกำจัดโรคพืช แมลง สัตว์ศัตรูพืช และวัชพืช ตลอดจนการใช้ปุ๋ยและสารเคมีทางการเกษตร

2. ชื่อ กรอบโครงการวิจัย 4.1.1 เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดศัตรูแบบผสมผสาน(IPM)

3. ชื่อ กิจกรรม 04 การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธี

4. ชื่อ การทดลองที่ การศึกษาชีววิทยา และการเพิ่มประชากรนกแสกเพื่อควบคุมหนูในสวนปาล์มน้ำมัน

4.1 ชื่อ การทดลองย่อย -

5. พืช/สาขาวิชา/สาขาวิชาย่อย/ ชีววิทยา/สัตววิทยา

6. ประเภทงานวิจัย พื้นฐาน

7. ผู้ดำเนินการ

หัวหน้า	เกรียงศักดิ์	หามะฤทธิ์
ผู้ร่วมงาน	ปิยาณี	หนูกาฬ

8. ระยะเวลา 2 ปี

9. รายงานก้าวหน้า

ได้ดำเนินการติดตั้งรังเทียมรูปแบบต่างๆ เพื่อทดสอบการเข้าเลือกใช้รังเทียมของนกแสก ในสวนปาล์มน้ำมันที่มีการเลี้ยงและขยายพันธุ์นกแสกเพื่อควบคุมจำนวนประชากรหนูศัตรูปาล์มน้ำมัน จำนวน 2 แปลงทดลองๆละ 15 รัง จากการติดตามเก็บข้อมูลการเข้าทำรังวางไข่ของนกแสกในช่วงฤดูการสร้างรังวางไขา 2547/2548 (ตุลาคม 2547- มีนาคม 2548) ยังไม่พบการเข้าใช้รังเทียมเพื่อการวางไข่ทั้ง 30 รัง พบเพียงร่องรอยการเข้ามาพักนอนชั่วคราวเท่านั้น เนื่องจากพบก้อนสำรอกที่นกคายทิ้งและมูลที่นกขับถ่ายอยู่ในรัง ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากการที่นกยังไม่คุ้นเคยกับรังที่เพิ่งติดตั้งใหม่ๆ และยังมีรังเทียมที่ติดตั้งไว้ก่อนซึ่งยังไม่มีนกเข้าใช้อีกจำนวนหนึ่งในพื้นที่ใกล้เคียงที่นกแสกสามารถเลือกใช้ได้ จึงจำเป็นต้องรอการเข้าใช้รังในฤดูการผสมพันธุ์ของนกแสกในช่วยปลายปี 2548 และต้นปี 2549 อีกครั้งหนึ่ง ส่วนการศึกษานิเวศวิทยาและชีววิทยาของนกแสกในรังเทียมที่สร้างไว้ในสวนปาล์มน้ำมัน จากการวิเคราะห์ก้อนสำรอกที่นกแสกสำรอกทิ้งและเศษซากสัตว์ที่นกแสกกินประมาณ 1,000 ตัวอย่างพบว่านกแสกในสวนปาล์มน้ำมัน ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี กินหนูในสกุลหนูท้องขาว ซึ่ง

ส่วนใหญ่เป็นหนูป่ามาเลย์ (*Rattus tiomanicus*) มีเพียงหนึ่งตัวอย่างเท่านั้นที่นกแสกกินนกอัญชัญขาแดง เป็นอาหาร

10. คำค้น นกแสก, barn owl, Tyto alba,

รายงานความก้าวหน้างานวิจัยปี 2547

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช | รหัสกิจกรรม | 06-01-47-0405-04

48 / สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช / กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

1. ชื่อ แผนงานหลัก 4.1 การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการป้องกันและกำจัดโรคพืช แมลง สัตว์ศัตรูพืช และวัชพืช ตลอดจนการใช้ปุ๋ยและสารเคมีทางการเกษตร

2. ชื่อ กรอบโครงการวิจัย 4.1.1 เทคโนโลยีการป้องกันกำจัดศัตรูแบบผสมผสาน(IPM)

3. ชื่อ กิจกรรม 04 การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธี

4. ชื่อ การทดลองที่ การศึกษาชีววิทยา และการเพิ่มประชากรนกแสกเพื่อควบคุมหนูในสวนปาล์มน้ำมัน

4.1 ชื่อ การทดลองย่อย -

5. พืช/สาขาวิชา/สาขาวิชาย่อย/ ชีววิทยา/สัตววิทยา

6. ประเภทงานวิจัย พื้นฐาน

7. ผู้ดำเนินการ

หัวหน้า	เกรียงศักดิ์	หามะฤทธิ์
ผู้ร่วมงาน	ปิยาณี	หนูกาฬ

8. ระยะเวลา 2 ปี

9. รายงานก้าวหน้า

ได้ดำเนินการติดตั้งรังเทียมรูปแบบต่างๆ เพื่อทดสอบการเข้าเลือกใช้รังเทียมของนกแสก ในสวนปาล์มน้ำมันที่มีการเลี้ยงและขยายพันธุ์นกแสกเพื่อควบคุมจำนวนประชากรหนูศัตรูปาล์มน้ำมัน จำนวน 2 แปลงทดลองๆละ 15 รัง จากการติดตามเก็บข้อมูลการเข้าทำรังวางไข่ของนกแสกในช่วงฤดูการสร้างรังวางไขา 2547/2548 (ตุลาคม 2547- มีนาคม 2548) ยังไม่พบการเข้าใช้รังเทียมเพื่อการวางไข่ทั้ง 30 รัง พบเพียงร่องรอยการเข้ามาพักนอนชั่วคราวเท่านั้น เนื่องจากพบก้อนสำรอกที่นกคายทิ้งและมูลที่นกขับถ่ายอยู่ในรัง ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากการที่นกยังไม่คุ้นเคยกับรังที่เพิ่งติดตั้งใหม่ๆ และยังมีรังเทียมที่ติดตั้งไว้ก่อนซึ่งยังไม่มีนกเข้าใช้อีกจำนวนหนึ่งในพื้นที่ใกล้เคียงที่นกแสกสามารถเลือกใช้ได้ จึงจำเป็นต้องรอการเข้าใช้รังในฤดูการผสมพันธุ์ของนกแสกในช่วยปลายปี 2548 และต้นปี 2549 อีกครั้งหนึ่ง ส่วนการศึกษานิเวศวิทยาและชีววิทยาของนกแสกในรังเทียมที่สร้างไว้ในสวนปาล์มน้ำมัน จากการวิเคราะห์ก้อนสำรอกที่นกแสกสำรอกทิ้งและเศษซากสัตว์ที่นกแสกกินประมาณ 1,000 ตัวอย่างพบว่านกแสกในสวนปาล์มน้ำมัน ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี กินหนูในสกุลหนูท้องขาว ซึ่ง

ส่วนใหญ่เป็นหนูป่ามาเลย์ (*Rattus tiomanicus*) มีเพียงหนึ่งตัวอย่างเท่านั้นที่นกแสกกินนกอัญชัญขาแดง เป็นอาหาร

10. คำค้น นกแสก, barn owl, Tyto alba,

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสาน

Integrated Pest Management of Baby Corn

วัชรา ชุณหวงศ์ ศรีสมร พิทักษ์ อัจฉรา หวังอาษา ทวี แสงทอง [1/]
สถิต ปฐมรัตน์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส [2/] **พวงทอง บุญทรง ปิยาณี หนูกาฬ**
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสาน ดำเนินการที่ อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท ระหว่างเดือนมกราคม-มีนาคม 2547 โดยเปรียบเทียบวิธีการทดสอบแบบผสมผสาน กับวิธีของเกษตรกร ประเมินผลการทดสอบโดยเปรียบเทียบชนิดศัตรูพืช ชนิด และอัตราการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช น้ำหนัก และราคาผลผลิต ต้นทุนการผลิต ผลตอบแทน ต่อการลงทุน การจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสาน ประกอบด้วยการสุ่มนับแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในแปลงทดลองทุก 7 วัน ใช้ระดับเศรษฐกิจในการตัดสินใจพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และปล่อยแตนเบียน ไข่ ,*Trichogramma* sp. ในอัตรา 240,000 ฟอง/ไร่ เมื่อข้าวโพดอายุ 31 วัน เปรียบเทียบกับวิธีการของเกษตรกร ผลการทดลองปรากฏว่ามีแมลงศัตรูเข้าทำลายพืชเพียง 3 ชนิด ในทั้ง 2 วิธีการ ได้แก่ แมลงค่อมทอง พบในช่วงข้าวโพดอายุ 25 วัน หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด และเพลี้ยไฟ ซึ่งพบในช่วงเก็บเกี่ยวผลผลิต หรือข้าวโพดอายุ 45 วัน และพบโรคใบไหม้แผลเล็ก จึงทำการป้องกันกำจัดโดยพ่นสาร triporine 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร นอกจากนั้นยังพบศัตรูธรรมชาติ 4 ชนิด คือ แมลงหางหนีบ ด้วงเต่า แมลงช้างปีกใส แมงมุม วิธีของเกษตรกรมีการพ่นสารฆ่าแมลง carbosulfan และ fipronil จำนวน3 ครั้ง ในขณะที่วิธีผสมผสานไม่มีการพ่นสารฆ่าแมลงเพราะปริมาณแมลงศัตรูไม่ถึงระดับที่จำเป็นต้องพ่นสาร วิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกร ได้ผลผลิตตามคุณภาพตลาด 1,856 กิโลกรัม/ไร่ และ 1,669 กิโลกรัม/ไร่ มีรายได้ 9,280 บาท และ 8,344 บาท/ไร่ และให้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 4.68 และ 3.95 ตามลำดับ

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0503

1/ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2/ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

คำนำ

ข้าวโพดฝักอ่อน เป็นพืชในกลุ่มพืชส่งออกที่มีศักยภาพในการแข่งขันเชิงพาณิชย์ ซึ่งที่ต้องเร่งพัฒนาการจัดการคุณภาพให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด อรนุชและวัชรา (2540) รายงานว่าแมลงศัตรูสำคัญที่ทำความเสียหายให้แก่ผลผลิตและคุณภาพฝัก ได้แก่ หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*Ostrinia furnacalis* Guenee) และหนอนเจาะฝักข้าวโพด (*Helicoverpa armigera* Hubner) ส่วนเพลี้ยไฟ (*Frankliniela williamsi* Hood) ที่พบเพลี้ยไฟกับข้าวโพดฝักอ่อนในระยะเก็บเกี่ยวนั้น ไม่ทำให้ผลผลิตเสียหาย แต่ถูกยกมาเป็นข้อกีดกันทางการค้าตามมาตรการสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช จึงจำเป็นต้องเร่งแก้ปัญหาด้านการอารักขาศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน โดยนำวิธีการป้องกันกำจัดแบบวิธีผสมผสานเข้ามาดำเนินการวิจัยทดลอง เพื่อให้ได้ข้อมูลและแนวทางในการลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน และใช้ให้ถูกต้องเหมาะสมตามสุขลักษณะและสุขอนามัยพืช เพื่อให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ศัตรูธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อมด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดฝักอ่อน พันธุ์เชียงใหม่ 90
2. ปุ๋ยเคมีสูตร 46 – 0 – 0 และ 15 – 15 – 15
3. แตนเบียนไข่ Trichogramma
4. เครื่องพ่นสารฆ่าแมลงแบบสูบโยกสะพายหลัง
5. สารฆ่าแมลง carbaryl (Servin 85% WP) และสารชีวินทรีย์ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย Bt และเชื้อไวรัส NPV
6. สารกำจัดโรคพืช metalaxyl (Apron XL350 ES), triphorine (Saprol) และ diphenoconazole (Score 25%)
7. สารกำจัดวัชพืช metribuzin (เซิงคอร์ 70% WP) และ atra zine (Atrazine 80% WP)
8. กรงดักหนู และ เหยื่อพิษ

วิธีการ

ดำเนินการทดลองในแปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อนพันธุ์ เชียงใหม่ 90 ของเกษตรกร ที่ ตำบลหนองขาว อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท โดยเปรียบเทียบกรรมวิธีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสาน กับวิธีการของเกษตรกร ซึ่งแต่ละกรรมวิธีดำเนินการในเนื้อที่ 1 ไร่เท่าๆกัน กรรมวิธีดำเนินการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสาน (IPM) มีรายละเอียดดังต่อไปนี้ คือ

1. **การป้องกันกำจัดหนู** ในระยะเตรียมดินก่อนปลูก ทำการประเมินประชากรหนูในแปลง IPM แปลงของเกษตรกร และพื้นที่รอบๆแปลง IPM โดยใช้ข้าวเปลือกเป็นเหยื่อวางบนคันดินรอบแปลง แต่ละจุดห่างกันประมาณ 10 เมตร วางข้าวเปลือกในอัตรา 5 กรัม/จุด เก็บข้อมูลชนิดและปริมาณของหนูในระยะเวลา 2 วัน ติดต่อกัน สำหรับข้อแนะนำในวิธีการป้องกันกำจัดหนู ให้ดำเนินการดังต่อไปนี้

1.1 ถ้าเหยื่อถูกกินน้อยกว่า 10% ไม่ต้องทำการป้องกันกำจัด

1.2 ถ้าเหยื่อถูกกินสูงกว่า10%แต่ไม่เกิน30%ใช้กรงดักวางที่จุดเหยื่อถูกกินจำนวน 2 กรง/จุด

1.3 ถ้าเหยื่อถูกกินมากกว่า 30% ใช้เหยื่อพิษ zinc phosphide 1% วางบนสันร่องในแปลง IPM จุดละ 5 กรัม ทุกระยะ 10 เมตร การวางเหยื่อพิษทุกจุดต้องใช้แกลบหรือฟางข้าว 1 กำมือ และคลุมเหยื่อพิษด้วยแกลบหรือฟางข้าวอีก 1 กำมือ เพื่อป้องกันความชื้นจากดินและน้ำค้าง หลังจากนั้น 1 วัน ให้ใช้เหยื่อพิษออกฤทธิ์วางไว้ที่ใส่เหยื่อกระบอกละ 20 ก้อน ห่างกันจุดละ 10-15 เมตร ตรวจเหยื่อที่ถูกกินทุก 7 วัน แล้วเติมให้เต็มเท่าเดิม

2. การป้องกันกำจัดวัชพืช

ในแปลง IPM หลังจากเกษตรกรไถเตรียมดินแล้ว ให้ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืช metribuzinc 70% WP + atrazinc 80% WP อัตรา 150+150 กรัม ต่อไร่ หลังปลูกข้าวโพดด้วยเมล็ดที่ผ่านขั้นตอนการป้องกันกำจัดโรคแล้ว

3. การป้องกันกำจัดโรคพืช มีขั้นตอนและวิธีดำเนินการดังต่อไปนี้

3.1 คลุกเมล็ดข้าวโพดด้วย metalaxyl (Apron XL 350 ES) อัตรา 3.5 มิลลิลิตร/ เมล็ด 1 กิโลกรัม เพื่อป้องกันกำจัดโรคราน้ำค้าง ภายหลังจากข้าวโพดงอก ถ้าพบข้าวโพดเริ่มเป็นโรคให้ถอนเผาทำลายทันที

3.2 เมื่อข้าวโพดอายุไม่เกิน 15 วัน หากตรวจพบโรคใบไหม้แผลเล็ก ประมาณ 10% ของพื้นที่ปลูกให้พ่นด้วยสารเคมี triphorine อัตรา 40-60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

3.3 ถ้าพบแผลจุดสีน้ำตาลของโรคราสนิม 4-6 จุด บนใบข้าวโพด ให้พ่น diphenoconazole อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร โดยพ่น 2-3 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน

3.4 กำจัดวัชพืชที่ขึ้นในแปลงปลูกและเผาทำลายพืชที่เป็นโรค

4. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน

4.1 เมื่อข้าวโพดอายุ 25-30 วัน ปล่อยแตนเบียนไข่ Trichogramma จำนวน 80,000 ตัวต่อไร่ จำนวน 2 ครั้งห่างกัน 5 วัน

4.2 ตรวจนับปริมาณแมลงในแปลงป้องกันกำจัดโดยวิธีผสมผสานเมื่อพบแมลงศัตรูข้าวโพดสูงถึงระดับเศรษฐกิจ จึงทำการป้องกันกำจัดตามคำแนะนำ ดังต่อไปนี้

- พบหนอนกระทู้หอม เฉลี่ย 3 ตัวต่อต้น พ่นด้วยเชื้อไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร โดยพ่นในช่วงเวลาเย็น

- พบรูเจาะหนอนลำต้นข้าวโพด เฉลี่ย 1 ตัวต่อต้น พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย *bacillus thuringiensis* อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

- พบหนอนเจาะสมอฝ้าย เฉลี่ย 0.50 – 1 ตัวต่อต้น พ่นด้วยเชื้อไวรัส NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้าย อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

- พบเพลี้ยไฟมากกว่า 10 ตัวต่อต้น พ่นด้วย carbaryl อัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกจำนวนแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน โรค และวัชพืชทุกชนิด
2. บันทึกจำนวนแมลงศัตรูธรรมชาติ ที่พบในธรรมชาติ
3. จำนวนแมลงศัตรูพืชธรรมชาติที่ปล่อยในแปลง IPM
4. ชนิด อัตรา และจำนวนครั้งในการพ่นสารฆ่าแมลง และเชื้อจุลินทรีย์
5. บันทึกจำนวนฝักที่ถูกทำลาย จากแมลงศัตรู และจากการเข้าทำลายของหนู

เวลาและสถานที่

เวลา มกราคม - มีนาคม 2547

สถานที่ แปลงเกษตรกร ตำบลหนองขาว อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการตรวจนับชนิดของศัตรูพืชในข้าวโพดฝักอ่อน ทุกๆ 7 วัน จำนวน 6 ครั้ง พบแมลงศัตรูพืช 3 ชนิด ได้แก่ แมลงค่อมทอง(*Hypomeces squamosus* Frabricius; F. Curculionidae, O. Coleoptera) พบในระยะข้าวโพดอายุ 25 วัน หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*Ostrinia furnacalis* (Guenee);F. Pyralidae, O. Lepidoptera) และเพลี้ยไฟ (*Frankliniella williamsi* Hood; F Thripidae O. Thysanoptera) ซึ่งพบในช่วงเก็บเกี่ยวผลผลิต หรือข้าวโพดอายุ 45 วัน พบโรคพืช 1 ชนิด คือ โรคใบไหม้แผลเล็ก(Southern leaf blight) เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris maydis* Nisik & Miyake พบวัชพืช 1 ชนิด คือ แห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.) นอกจากนั้นพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 4 ชนิด ได้แก่ แมลงหางหนีบ ด้วงเต่า แมลงช้างปีกใส และแมงมุม (ตารางที่ 1)

การป้องกันกำจัดศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน ในแปลงทดลองกรรมวิธีผสมผสาน (IPM) ปรากฏว่าปริมาณแมลงศัตรูพืชสำคัญไม่ถึงระดับที่ก่อให้เกิดความเสียหาย (ตารางที่ 2) จึงไม่มีการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช แต่มีการใช้สารกำจัดโรคพืช 2 ชนิด คือ metalaxyl ในอัตรา 3.5 มิลลิลิตร/ เมล็ด 1 กิโลกรัม คลุกเมล็ดก่อนปลูกเพื่อป้องกันกำจัดโรคราน้ำค้าง และสาร triprorine พ่นในอัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อพบข้าวโพดเป็นโรคใบไหม้แผลเล็ก จำนวน 1 ครั้ง รวมการใช้สารกำจัดโรคพืชตลอดฤดูปลูกจำนวน 2 ครั้ง (ตารางที่ 3) นอกจากนั้น ในระยะข้าวโพดอายุประมาณ 31 วัน ทำการปล่อยแตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp. เพื่อช่วยควบคุมประชากรหนอนเจาะฝักข้าวโพด ในอัตรา

240,000 ฟอง/ไร่ จำนวน 1 ครั้ง ซึ่งเป็นการป้องกันกำจัดโดยใช้ชีววิธี (Biological control) เพื่อหลีกเลี่ยงการพ่นสารฆ่าแมลงโดยไม่มีความจำเป็น และช่วยทำให้ลดการใช้สารเคมี

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตต่อ 1 ไร่ (ตารางที่ 4) พบว่ากรรมวิธีผสมผสานได้น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด 1,856 กิโลกรัม/ไร่ เป็นน้ำหนักฝักหลังปอกเปลือก 394.56 กิโลกรัม/ไร่ น้ำหนักฝักได้มาตรฐาน 282.08 กิโลกรัม/ไร่ น้ำหนักฝักไม่ได้มาตรฐาน 103.58 กิโลกรัม/ไร่ และน้ำหนักฝักเสีย 8.90 กิโลกรัม/ไร่ ส่วนกรรมวิธีของเกษตร ได้น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด 1,668.8 กิโลกรัม/ไร่ น้ำหนักฝักหลังปอกเปลือก 360.58 กิโลกรัม/ไร่ น้ำหนักฝักได้มาตรฐาน 237.22 กิโลกรัม/ไร่ น้ำหนักฝักไม่ได้มาตรฐาน 110.18 กิโลกรัม/ไร่ และน้ำหนักฝักเสีย 13.18 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อพิจารณาจำนวนฝักต่อไร่ วิธีผสมผสานได้จำนวนฝักทั้งหมด 50,224 ฝัก จำนวนฝักได้มาตรฐาน 37,328 ฝัก จำนวนฝักไม่ได้มาตรฐาน 11,696 ฝัก และจำนวนฝักเสียเนื่องจากหนอนเจาะฝักข้าวโพด จำนวน 1,200 ฝัก ส่วนวิธีของเกษตรกร ได้จำนวนฝักทั้งหมด 42,608 ฝัก จำนวนฝักได้มาตรฐาน 30,912 ฝัก จำนวนฝักไม่ได้มาตรฐาน 10,336 ฝัก จำนวนฝักเสียเนื่องจากหนอนเจาะฝักข้าวโพด 1,360 ฝัก

ปัญหาที่พบในแปลงวิธีผสมผสาน คือ เมื่อปลูกข้าวโพดได้ 1 วัน เกิดฝนตกหนัก น้ำท่วม แปลงข้าวโพดเป็นหย่อม ทำให้ข้าวโพดไม่งอกหรืองอกไม่สม่ำเสมอ และหลังจากข้าวโพดงอกแล้วอายุ 5 วัน เกิดมีฝนตกและน้ำท่วมซ้ำที่เดิมอีก นอกจากนั้นแล้วในช่วงที่ข้าวโพดอายุประมาณ 25 วัน มีแมลงค่อมทอง ลงทำลายใบข้าวโพดทำให้เกิดความเสียหายประมาณ 11.24 % อย่างไรก็ดี การสูญเสียใบในระดับนี้ไม่จำเป็นต้องทำการพ่นสารป้องกันกำจัด เพราะไม่กระทบกระเทือนต่อผลผลิต

เมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตต่อไร่ ปรากฏว่ากรรมวิธีผสมผสาน (IPM) เสียค่าใช้จ่ายทั้งสิ้น 1,983 บาท ภายหลังจากหักต้นทุนในการผลิตแล้วได้กำไรสุทธิ 7,297 บาท และได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 4.68 ส่วนกรรมวิธีของเกษตรกร เสียค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตมากกว่าคิดเป็นเงิน 2,112 บาท แต่เมื่อหักต้นทุนในการผลิตออกแล้วได้กำไร 6,232 บาท ซึ่งได้รับน้อยกว่ากรรมวิธี IPM ได้รับผลตอบแทนการลงทุน 3.95 (ตารางที่ 5)

สรุปผลการทดลอง

เทคโนโลยีการจัดการศัตรูข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสานเปรียบเทียบกับวิธีการของเกษตรกร ทำการสุ่มตรวจนับแมลงศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติทุก 7 วัน พบแมลงศัตรูพืช 3 ชนิด คือ แมลงค่อมทอง หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด และเพลี้ยไฟ โรคพืช 1 ชนิด คือ โรคใบไหม้แผลเล็ก ในวิธีผสมผสาน ไม่ได้ใช้สารกำจัดศัตรูพืช และมีการใช้ชีววิธีโดยปล่อยแตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp. 1 ครั้ง ใช้สารกำจัดโรคพืช 2 ชนิด 2 ครั้ง ในวิธีผสมผสาน ได้น้ำหนักฝักทั้งหมด 1,856 กิโลกรัม/ไร่ เป็นเงิน 9,280 บาท/ไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 4.68 ส่วนวิธีเกษตรกร ได้น้ำหนักฝักทั้งหมด 1,668.8 กิโลกรัม/ไร่ เป็นเงิน 8,344 บาท/ไร่ ผลตอบแทนต่อการลงทุน 3.95

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ เกษตรกรแปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อน ที่ให้ความร่วมมือในเรื่องแปลงทดสอบ คุณบำรุง อินทรโชติ และคุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ คุณณิชาพร ฉ่ำประวิง เจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูข้าวโพดฯ ที่ช่วยปฏิบัติงานและรวบรวมข้อมูลจนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2545. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงสัตว์ศัตรูพืช. ปี 2545. กองกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. 156 หน้า.

อรนุช กองกาญจนะ และวัชรา ชุณหวงศ์. 2540. แมลงศัตรูข้าวโพดและการป้องกันกำจัด. กองกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. 37 หน้า.

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของศัตรูและศัตรูธรรมชาติในแปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสานและวิธีของเกษตรกร ตำบลหนองขาว อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท ปี 2547

ชนิดศัตรูพืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	แมลงศัตรูธรรมชาติ
<u>แมลงศัตรูพืช</u> 1. แมลงค่อมทอง (Green weevil)	*Hypomeces squamosus* Fabricius	
2.หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (Corn stemborer)	*Ostrinia* furnacaris (Guenee)	ด้วงเต่า แมลงหางหนีบ แมลงช้างปีกใส แมงมุม
2. เพลี้ยไฟ (Corn thrips)	*Frankliniella williamsi* Hood	
<u>โรคพืช</u> 1. โรคใบไหม้แผลเล็ก (Southern leaf blight)	เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris maydis* Nisik & Miyake	
<u>วัชพืช</u> 1. แห้วหมู	(*Cyperus rotundus* Linn.)	

ตารางที่ 2 แสดงชนิดและปริมาณแมลงศัตรูข้าวโพดฝักอ่อน ในแปลงป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน (IPM) และวิธีของเกษตรกร ตำบลหนองขาว อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท ปี 2547

ครั้งที่ตรวจนับ	อายุหลังงอก (วัน)	จำนวนแมลง/ 200 ต้น/ ไร่ **(แปลง IPM)**							
		เพลี้ยไฟ	หนอนเจาะลำต้น	กลุ่มไข่หนอนเจาะลำต้น	ยอดถูกทำลาย	แมลงค่อมทอง	แมงมุม	แมลงหางหนีบ	แมลงช้างปีกใส
2	15	81	-	-	-	2	4	3	4
3	25	10	2	4	3	1	1	-	2
4	31	1	2	40	80	38	6	2	3
5	36	4	32	6	88	0	1	8	4
6	44	0	35	5	23	0	11	-	-

ครั้งที่ตรวจนับ	อายุหลังงอก (วัน)	จำนวนแมลง/ 200 ต้น/ ไร่ **(แปลงเกษตรกร)**							
		เพลี้ยไฟ	หนอนเจาะลำต้น	กลุ่มไข่หนอนเจาะลำต้น	ยอดถูกทำลาย	แมลงค่อมทอง	แมงมุม	แมลงหางหนีบ	แมลงช้างปีกใส
1	9	140	-	-	3	-	2	1	0
2	15	82	3	-	2	-	1	4	1
3	25	12	4	3	6	2	0	1	0
4	31	3	33	18	71	0	1	0	3
5	36	10	49	6	111	1	-	0	0
6	44	0	34	2	50	2	2	6	2

ตารางที่ 3 แสดงชนิดและจำนวนครั้งของการใช้สารกำจัดศัตรูพืช ในแปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อนโดยวิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกร ที่ตำบลหนองขาว อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท ปี 2547

ชนิดและจำนวนครั้งของการใช้สารกำจัดศัตรูพืช (ชนิด /ครั้ง)		
รายการ	**วิธีผสมผสาน**	**วิธีเกษตรกร**
สารฆ่าแมลง	-	carbosulfan / 2 triponil / 1
สารกำจัดโรคพืช	metaxyl /1 triphorine /1	-
สารกำจัดวัชพืช	-	-
รวม	2 ชนิด 2 ครั้ง	2 ชนิด 3 ครั้ง

ตารางที่ 4 แสดงน้ำหนักผลผลิต จำนวนผลผลิต และราคาผลผลิตต่อไร่ ของข้าวโพดฝักอ่อนในแปลงปลูกข้าวโพดฝักอ่อนป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ตำบลหนองขาว อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท ปี 2547

รายการ	**วิธีผสมผสาน**	**วิธีเกษตรกร**
น้ำหนักผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)		
น้ำหนักฝักทั้งหมด	1,856	1,668.8
น้ำหนักฝักหลังปอกเปลือก	394.56	360.58
น้ำหนักฝักได้มาตรฐาน	282.08	237.22
น้ำหนักฝักไม่ได้มาตรฐาน	103.58	110.18
น้ำหนักฝักเสีย	8.90	13.18
จำนวนฝัก (ฝัก/ไร่)		
จำนวนฝักทั้งหมด	50,224	42,608
จำนวนฝักได้มาตรฐาน	37,328	30,912
จำนวนฝักไม่ได้มาตรฐาน	11,696	10,336
จำนวนฝักเสีย (หนอนเจาะฝัก)	1,200	1,360
ราคาผลผลิตทั้งหมด (บาท/ไร่)	9,280	8,344
ราคาผลผลิต	คำนวณจากน้ำหนักทั้งเปลือก 5 บาท/กิโลกรัม	
ฝักได้มาตรฐาน	มีขนาดความยาว 4 – 11 เซนติเมตร	
	เส้นผ่าศูนย์กลาง 1- 2 เซนติเมตร	

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบต้นทุนการผลิต รายได้สุทธิ ผลตอบแทนต่อการลงทุน ระหว่าง วิธีผสมผสาน กับวิธีของเกษตรกร ตำบลหนองขาว อำเภอวัดสิงห์ จังหวัดชัยนาท ปี 2547

รายการ	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร
ต้นทุนการผลิต (C) บาท/ไร่		
- ค่าเมล็ดพันธุ์	375	375
- ค่าเตรียมแปลงพร้อมปลูก	650	650
- ค่าปุ๋ย	450	675
- ค่าสารฆ่าแมลง	-	112
- ค่าสารกำจัดโรคพืช	130	-
- ค่าสารกำจัดวัชพืช	-	-
- ค่าแตนเบียน	378	-
- ค่าจ้างพ่นสารฆ่าแมลง	-	300
รวม	1,983	2,112
ราคาผลผลิต (R) บาท/ไร่	9,280	8,344
รายได้สุทธิ (บาท/ไร่)	7,297	6,232
ผลตอบแทนต่อการลงทุน (R / C)	4.68	3.95

ศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้และศัตรูธรรมชาติในแหล่งปลูกฝรั่ง

Study on Fruit Fly species and Natural Enemies on Guava

วิภาดา ปลอดครบุรี มนตรี จิรสุรัตน์ วรัญญา มาลี
กลุ่มงานวิจัยเทคโนโลยีการจัดการแมลงศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้และศัตรูธรรมชาติในสวนฝรั่งของเกษตรกร จังหวัดนครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร กาญจนบุรี ชลบุรี ปทุมธานี และสุพรรณบุรี โดยเก็บผลฝรั่งที่ถูกแมลงวันผลไม้ทำลาย มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย แล้วนำไปจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้และศัตรูธรรมชาติ จากการเก็บตัวอย่างฝรั่ง ระหว่างเดือนมกราคม-กันยายน 2547 จำนวน 1445 ผล น้ำหนักประมาณ 220 กิโลกรัม พบ แมลงวันผลไม้ 4 ชนิด คือ *Bactrocera correcta* (Bezzi), *Bactrocera dorsalis* (Hendel), *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) และ *Bactrocera papayae* (Drew & Hancock) โดยพบชนิด *B. correcta* มากที่สุด รองลงมา คือ *B. dorsalis* ส่วน *B. carambolae* และ *B. papayae* พบเพียงเล็กน้อย และพบศัตรูธรรมชาติ คือ แตนเบียนหนอน *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) จะดำเนินการเก็บผลฝรั่งที่ถูกแมลงวันผลไม้ทำลายอีก ในปี 2548

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0601-01

คำนำ

ฝรั่งเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงและเป็นที่นิยมในการบริโภค จึงเป็นพืชเศรษฐกิจที่ทำรายได้ได้ดี มีศักยภาพในการส่งออก แต่เนื่องจากฝรั่งมีแมลงศัตรูพืชหลายชนิดเข้าทำลาย โดยเพาะอย่างยิ่ง คือ แมลงวันผลไม้ ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของไม้ผลหลายชนิด ทำให้ผลผลิตเน่าเสีย เก็บเกี่ยวผลผลิตไม่ได้ หรือทำให้คุณภาพผลผลิตตกต่ำ ขายไม่ได้ราคา นอกจากนี้ยังเป็นอุปสรรคต่อการส่งออกอีกด้วย ดังนั้นเกษตรกรจึงจำเป็นต้องป้องกันกำจัดซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิต และการป้องกันกำจัดมีการใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้เกิดปัญหาของสารพิษตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อมตามมา

แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยมีหลายชนิด แสน (2529) รายงานว่ามีแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในประเทศไทยอยู่ 7 ชนิด มนตรี (2536, 2541) รายงานชนิดแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในประเทศไทย มีจำนวน 10 ชนิด ชนิดที่สำคัญ ได้แก่ *Bactrocera dorsalis* (Hendel), *B. correcta* (Bezzi), *B. cucurbitae* (Coquillett), *B. tau* (Walker), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. latifrons* (Hendel), *B. zonata* (Saunders), *B. carambolae* (Drew & Hancock), *B. papayae* (Drew & Hancock) และ *B. tuberculata* (Bezzi) ซึ่งแต่ละชนิดมีเขตแพร่กระจายและพืชอาศัยแตกต่างกันขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และพืชอาหาร ตลอดจนแมลงศัตรูธรรมชาติ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้และศัตรูธรรมชาติ ในแหล่งปลูกฝรั่ง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการหาวิธีป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สวนฝรั่งที่กำลังให้ผลผลิต
2. กรงเลี้ยงแมลงและกล่องเลี้ยงแมลง
3. กล้องจุลทรรศน์
4. ขี้เลื่อย ทราย
5. ตะแกรงร่อนเบอร์ 20
6. เครื่องชั่งน้ำหนัก
7. ตู้เย็น
8. Brewer's yeast
9. น้ำตาลไอซ์ซิ่ง
10. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น เช่น คีมคีบ พู่กัน เข็มเขี่ย ที่นับแมลง ถุงพลาสติก

วิธีการ

- เก็บตัวอย่างผลฝรั่งระยะต่างๆที่ถูกแมลงวันผลไม้ทำลายจากแหล่งปลูกฝรั่ง นำมาชั่งน้ำหนัก และนับจำนวน บันทึกวัน เดือน ปี ระยะพืช และสถานที่ ที่เก็บตัวอย่าง
- นำตัวอย่างที่เก็บได้ใส่ในกล่องเลี้ยงแมลง ด้านล่างรองด้วยทรายผสมขี้เลื่อยละเอียด สูงประมาณ 1 นิ้ว เพื่อให้หนอนออกมาเข้าดักแด้ ทิ้งไว้ประมาณ 10 วัน จึงนำมาร่อนหาดักแด้ และผ่าผลฝรั่งหาดักแด้ที่หลงเหลืออยู่
- นำดักแด้ใส่กล่องพลาสติก กลบด้วยทรายผสมขี้เลื่อยละเอียด สูงประมาณ ½ นิ้ว เพื่อให้ความชื้น
- นำกล่องดักแด้ใส่ในกรงเลี้ยงแมลง รอให้ออกจากดักแด้ เมื่อได้ตัวเต็มวัยแล้วเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วย Brewer's yeast และน้ำตาลไอซ์ซิ่ง จนแมลงมีอายุประมาณ 7-10 วัน จึงฆ่าแมลงในช่อง freze ของตู้เย็น นาน 20 นาที เพื่อนำไปจำแนกชนิดและตรวจนับจำนวนแมลงวันผลไม้ เพศ และศัตรูธรรมชาติที่พบ

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือนมกราคม-กันยายน 2547 จากสวนฝรั่งของเกษตรกร จังหวัดราชบุรี นครปฐม กาญจนบุรี ชลบุรี ปทุมธานี และสุพรรณบุรี

ห้องปฏิบัติการเลี้ยงแมลงวันผลไม้ ของกลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้และศัตรูธรรมชาติในสวนฝรั่งของเกษตรกร จังหวัดนครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร กาญจนบุรี ชลบุรี ปทุมธานี และสุพรรณบุรี พบ แมลงวันผลไม้ที่ทำลายฝรั่ง 4 ชนิด คือ *Bactrocera correcta* (Bezzi), *Bactrocera dorsalis* (Hendel), *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) และ *Bactrocera papayae* (Drew & Hancock) โดยพบชนิด *B. correcta* มากที่สุด รองลงมา คือ *B. dorsalis* ส่วน *B. carambolae* และ *B. papayae* พบเพียงเล็กน้อย และพบศัตรูธรรมชาติ คือ แตนเบียนหนอน *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae)

จะดำเนินการเก็บตัวอย่างผลฝรั่งในแหล่งปลูกฝรั่ง ในปี 2548 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พบ แมลงวันผลไม้ที่ทำลายฝรั่ง 4 ชนิด คือ *Bactrocera correcta* (Bezzi), *Bactrocera dorsalis* (Hendel), *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) และ *Bactrocera papayae* (Drew & Hancock) โดยพบชนิด *B. correcta* มากที่สุด รองลงมา คือ *B. dorsalis* ส่วน *B. carambolae* และ *B. papayae* พบเพียงเล็กน้อย และพบศัตรูธรรมชาติ คือ แตนเบียนหนอน *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae)

จะดำเนินการเก็บตัวอย่างผลฝรั่งในแหล่งปลูกฝรั่งอีก ในปี 2548 เพื่อสรุปผลการทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

มนตรี จิรสุรัตน์ 2536. โครงการวิจัยชีววิทยาและการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้. รายงานผลการทดลองปี 2535 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

มนตรี จิรสุรัตน์ และ โอชาประจวบเหมาะ. 2541. แนวทางการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในแปลงมะม่วงเพื่อการส่งออก. ว. กีฏและสัตววิทยา. 20(3): 201-204.

แสน ติกวัฒนานนท์. 2529. พืชอาหารของแมลงวันทองชนิดต่างๆในประเทศไทย. ว. เกษตรพระจอมเกล้า. 4(1) : 1-5.

การศึกษาประสิทธิภาพการกินแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* Hendel ของแมงมุมตาหกเหลี่ยม *Oxyopes lineatipes* (C.L.Koch) (Araneae : Oxyopidae)

Studies on Efficiency of Lynx Spider, *Oxyopes lineatipes* (C.L.Koch) (Araneae : Oxyopidae) on Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* Hendel

วิภาดา วังศิลาบัตร อัมพร วิโนทัย มนตรี จิรสุรัตน์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

Bactrocera dorsalis Hendel (Oriental fruit fly) เป็นแมลงวันผลไม้ที่สำคัญของโลก มีเขตแพร่กระจายในทวีปเอเชีย พบแพร่กระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย ภาคใต้พบน้อยหรืออาจจะไม่พบ มีพืชอาหารมากกว่า 122 ชนิด พืชอาศัยมากกว่า 150 ชนิด จัดเป็นแมลงวันผลไม้ที่ทำความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจบริเวณภาคกลางและภาคเหนือของประเทศ แมงมุมตาหกเหลี่ยม (*Oxyopes lineatipes*) กินแมลงวันผลไม้เป็นอาหารหลัก มีเขตแพร่กระจายในพืชเศรษฐกิจต่าง ๆ และวัชพืชทั่วประเทศไทย และมักพบปริมาณประชากรสูงกว่าแมงมุมชนิดอื่นในภาคกลางของประเทศ จึงสมควรศึกษารายละเอียดต่าง ๆ ของแมงมุมชนิดนี้ เพื่อเป็นความรู้พื้นฐานของการบริหารแมลงวันผลไม้ต่อไป

การศึกษาประสิทธิภาพการกินของแมงมุมตาหกเหลี่ยม (*Oxyopes lineatipes*) ต่อแมลงวันผลไม้ (*Bactrocera dorsalis*) พบว่าแมงมุมตัวอ่อนเพศผู้และตัวอ่อนเพศเมียกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 7.4 และ 8.1 ตัวต่อวัน ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แมงมุมเพศผู้กล่องละ 1, 2 และ 3 ตัว กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 6.3, 13.9 และ 15.7 ตัวต่อวัน ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แมงมุมเพศเมียกล่องละ 1, 2 และ 3 ตัว กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 7.3, 14.8 และ 16.0 ตัวต่อวัน ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แมงมุมตัวอ่อนเพศผู้กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ยต่อวัน 7.4 ตัว มากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแมงมุมเพศผู้กล่องละ 1 ตัว ซึ่งมีอัตราการกินต่อวัน 6.3 ตัว แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแมงมุมเพศเมียกล่องละ 1 ตัว ซึ่งมีอัตราการกินต่อวัน 7.3 ตัว แมงมุมตัวอ่อนเพศเมียกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ยต่อวัน 8.1 ตัว มากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแมงมุมเพศผู้กล่องละ 1 ตัว ซึ่งมีอัตราการกินต่อวัน 6.3 ตัว

รหัสกิจกรรม 06-01-47-0601-06

และแมงมุมเพศเมียกล่องละ 1 ตัว ซึ่งมีอัตราการกินต่อวัน 7.3 ตัว แมงมุมเพศผู้กล่องละ 1 และ 2 ตัว กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 6.3 และ 13.9 ตัวต่อวันตามลำดับ น้อยกว่าแมงมุมเพศเมียกล่องละ 1 และ 2 ตัว ซึ่งกินแมลงวันผลไม้ 7.3 และ 14.8 ตัวต่อวันตามลำดับ และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แมงมุมเพศผู้กล่องละ 3 ตัว กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 15.7 ตัวต่อวัน ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแมงมุมเพศเมียกล่องละ 3 ตัว ซึ่งกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 16.01 ตัวต่อวัน ส่วนกล่องที่ใส่แมงมุมเพศผู้ 1 ตัว ร่วมกับเพศเมีย 1 ตัว กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 15.1 ตัวต่อวัน มากกว่ากล่องที่ใส่แมงมุมเพศผู้ 2 ตัว ซึ่งกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 13.9 ตัวต่อวัน และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างจากกล่องที่ใส่แมงมุมเพศเมีย 2 ตัว ซึ่งกินแมลงวันผลไม้ 14.8 ตัวต่อวัน

คำนำ

แมลงวันผลไม้เป็นศัตรูที่สำคัญของไม้ผลและพืชผักหลายชนิดในประเทศไทย ทำให้เป็นอุปสรรคอย่างยิ่งต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตรประเภทผักผลไม้ไทยสู่ตลาดโลก ในภาวะวิกฤตเศรษฐกิจเช่นในปัจจุบัน ประเทศไทยต้องเผชิญปัญหาหลายด้าน รวมทั้งด้านการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ ซึ่งมีการกีดกันทางการค้าโดยใช้มาตรการที่ไม่ใช่ภาษี เช่น มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary-SPS) (พิมลพร, 2544)

แมลงวันผลไม้จัดเป็นแมลงในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae แบ่งเป็น 3 วงศ์ย่อยคือ Dacinae, Tephritinae และ Trypetinae ราว 35% เป็นแมลงชนิดที่ตัวหนอนทำลายพืชผักและผลไม้ ซึ่งอยู่ในวงศ์ย่อย Dacinae โดยมากกว่า 80% อยู่ในสกุล *Bactrocera* ชนิด *Bactrocera dorsalis* Hendel (Oriental fruit fly) จัดเป็นแมลงวันผลไม้ที่สำคัญของโลก มีเขตแพร่ระบาดอยู่ตามประเทศต่าง ๆ ในทวีปเอเชีย หมู่เกาะมาเรียนา ออสเตรเลียตอนเหนือและหมู่เกาะฮาวาย เป็นต้น (มนตรี, 2544ก) แมลงวันผลไม้ชนิดนี้มีลำตัวสีดำ หน้าแข้งขาสีดำทั้ง 3 คู่ ลำตัวยาว 1 เซนติเมตร ขอบปีกสีดำตลอดไปจนถึงปลายปีก พบแพร่กระจายทั่วทุกภาคของประเทศ ภาคใต้พบน้อยหรืออาจจะไม่พบ มีพืชอาหารมากกว่า 122 ชนิด พืชอาศัยมากกว่า 50 ชนิด มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในบริเวณภาคกลางและภาคเหนือของประเทศ (มนตรี, 2544ข)

แมงมุมวงศ์ Oxyopidae มี 9 สกุล และมีเขตแพร่กระจายทั่วโลก คำว่า Oxyopidae มาจากภาษากรีก มีความหมายว่า “sharp sighted” หรือ “good vision” เนื่องจากเป็นแมงมุมที่มีสายตาดีมาก ชื่อสามัญภาษาไทยเรียกว่า “แมงมุมตาหกเหลี่ยม” เนื่องจากมีตา 8 ตา แต่มีตา 6 ตา ที่เรียงเป็นรูปหกเหลี่ยม ชื่อสามัญภาษาอังกฤษเรียกว่า “lynx spider” เนื่องจากมีนิสัยว่องไว กระโดดไปตามกิ่งไม้ต่าง ๆ และล่าเหยื่อได้รวดเร็ว แมงมุมวงศ์นี้หากินกลางวัน ไม่ชักใยดักเหยื่อ แต่ล่าเหยื่อกินโดยตรง อาศัยหากินตามต้นไม้ พุ่มไม้ วัชพืช หญ้า ใบไม้ที่ร่วงหล่นตามพื้นดิน ถุงไข่ (egg sac) มีรูปทรงเกือบกลม แบน ติดตามกิ่งไม้ ใบไม้ แม่แมงมุมเฝ้าไข่จนไข่ฟักเป็นตัวอ่อน (Sherriffs, 1951)

ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีรายงานพบแมงมุมวงศ์ Oxyopidae 5 สกุล ได้แก่ *Hamataliwa*, *Megullia*, *Oxyopes*, *Peucetia* และ *Tapponia* *Oxyopes* เป็นสกุลที่พบชนิดต่าง ๆ มากที่สุด แมงมุมสกุล *Oxyopes* มีลักษณะรูปทรงของส่วนหัวและอก (carapace) โดยเฉพาะคือสูงและกลม ด้านหน้าส่วนหัวสูงและเป็นรูปตัด ตา 8 ตาเรียงแบบ 2-2-2-2 ตากลางคู่หน้าตั้งอยู่กึ่งกลางระหว่างด้านใต้ริมหัวและตากลางแถวหลัง มีเส้นสีดำพาดจากตากลางแถวหน้าผ่านหน้า (clypeus) และเขี้ยว (chelicerae) ไปจนถึงปลายฐานเขี้ยว ส่วนท้องอ้วนทางตอนหน้าท้องและยาวเรียวไปทางปลายท้อง ลายบนท้องมีลักษณะแตกต่างกันไป ขายาวมีหนามยาวและตั้งขึ้นทั่วไป (Murphy and Murphy, 2000)

ในประเทศไทยมีรายงานพบแมงมุมวงศ์ Oxyopidae 3 สกุล 5 ชนิดคือ *Hamataliwa sanmenensis* Song et Zheng, *Oxyopes javanus* Thorell, *O. lineatipes* (C.L.Koch), *Oxyopes sp และ Peucetia* sp (วิภาดา, 2544ก) ชนิดที่พบในพืชเศรษฐกิจทุกชนิดที่ได้สำรวจ เช่น ข้าว กล้วยไม้ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบเขียว มันเทศ ส้มโอ ส้มเขียวหวาน และตามวัชพืชต่าง ๆ ของประเทศไทย ได้แก่ *O. javanus* และ *O. lineatipes* (วิภาดา, 2541) จากการสำรวจชนิดและปริมาณแมงมุมด้วยสวิงจับแมลงตลอดฤดูปลูกข้าวทั้งนาข้าวและบนคันนา ปี พ.ศ. 2517 ที่จังหวัดอุบลราชธานี เชียงราย และปทุมธานี พบว่า ทั้งในนาข้าวและบนคันนาที่จังหวัดอุบลราชธานี พบปริมาณประชากร *O. javanus* มากกว่า *O. lineatipes* ที่จังหวัดเชียงราย พบปริมาณประชากร *O. javanus* และ *O. lineatipes* เท่า ๆ กัน ส่วนที่จังหวัดปทุมธานีพบปริมาณประชากร *O. lineatipes* มากกว่า *O. javanus* (Patarakulpong, 1977) การสำรวจชนิดและปริมาณประชากรแมงมุมในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ข้าว กล้วยไม้ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบเขียว มันเทศ ส้มโอ ส้มเขียวหวาน และวัชพืชรอบ ๆ แปลงปลูกพืชเศรษฐกิจด้วยสวิงจับแมลงในเขตภาคกลางของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2535 – 2540 พบปริมาณประชากร *O. lineatipes* มากกว่า *O. javanus* และในพืชบางชนิดพบปริมาณประชากร *O. lineatipes* มากกว่าแมงมุมชนิดอื่น เช่น ในกล้วยไม้ ถั่วเขียว กระเจี๊ยบเขียว มันเทศ และวัชพืชรอบ ๆ แปลงปลูกพืชเศรษฐกิจ (วิภาดา, 2541)

Carroll (1980) รายงานว่า ตัวอ่อนของ Brown lynx spiders, *Oxyopes scalaris* กินเพลี้ยไฟส้มโดยเฉพาะเหยื่อที่เคลื่อนที่จะถูกดึงดูดมากกว่าเหยื่อที่ไม่เคลื่อนที่ ในห้องปฏิบัติการแมงมุมชนิดนี้ยังกินเพลี้ยจักจั่นสีเขียว ริ้นและผีเสื้อตัวเล็ก ๆ

แมงมุมชนิด *Oxyopes lineatipes* มีเขตแพร่กระจายกว้างขวาง มีรายงานพบในประเทศจีน ญี่ปุ่น ไต้หวัน เวียตนาม ไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซีย ฟิลิปปิน บังคลาเทศ อินเดีย (Barrion & Litsinger, 1995; Daxiang et al, 1999; Okuma et. al,1993) Barrion & Litsinger (1995) และ Okuma et.al (1993) รายงานว่า แมงมุมสกุล *Oxyopes* มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมประชากรแมลงศัตรูข้าว จากการทดสอบเบื้องต้นพบว่า แมงมุม *O. lineatipes* กินแมลงวันผลไม้ มีที่อยู่อาศัยส่วนใหญ่ตามวัชพืชใต้ร่มเงาไม้ผล โดยเฉพาะหญ้าขน หญ้าไทร ซึ่งเป็นที่อยู่อาศัยเดียวกับตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ (มนตรี,

2542) จึงสมควรศึกษารายละเอียดต่าง ๆ ของแมงมุม *O. lineatipes* เพื่อเป็นความรู้พื้นฐานในการบริหารแมลงวันผลไม้โดยวิธีผสมผสานต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการจับแมงมุม ได้แก่ สวิงจับแมลง ท่อนไม้กลมยาว กล่องพลาสติกใสขนาด 7.5 x 5.5 x 3 เซนติเมตร กระดาษซับ ปากคีบ พู่กัน หลอดแก้วทดลอง

2. อุปกรณ์ในการเพาะต้นถั่ว ได้แก่ เมล็ดถั่วเขียว กระดาษซับ จานแก้ว petridish

3. อุปกรณ์ในการทดลอง ได้แก่ กล่องพลาสติกใสขนาด 7.5 x 5.5 x 3 และ 15 x 29 x 8.5 เซนติเมตร แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* กล้อง stereomicroscope

วิธีการ

เลี้ยงขยายปริมาณแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในห้องปฏิบัติการให้ได้ปริมาณมากเพื่อใช้เป็นเหยื่อสำหรับการทดลอง มี 9 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีแตกต่างกันที่วัยหรือเพศหรือจำนวนแมงมุมที่ใช้ทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 ซ้ำ ปล่อยแมงมุมลงในกล่องพลาสติกใสขนาด 15 x 29 x 8.5 ซม. ภายในกล่องวางจานแก้ว ซึ่งเพาะต้นถั่วเขียวอายุ 1 สัปดาห์ จานละ 20 ต้น กรรมวิธีที่ 1 ใส่แมงมุม ตัวอ่อนเพศผู้ขนาดลำตัวยาว 6.5 มม. กล่องละ 1 ตัว กรรมวิธีที่ 2 ใส่แมงมุมตัวอ่อนเพศเมียขนาดลำตัวยาว 7.5 มม. กล่องละ 1 ตัว กรรมวิธีที่ 3 ใส่แมงมุมตัวเต็มวัยเพศผู้ กล่องละ 1 ตัว กรรมวิธีที่ 4 ใส่แมงมุมตัวเต็มวัยเพศเมียกล่องละ 1 ตัว กรรมวิธีที่ 5 ใส่แมงมุมตัวเต็มวัยเพศผู้กล่องละ 2 ตัว กรรมวิธีที่ 6 ใส่แมงมุมตัวเต็มวัยเพศเมียกล่องละ 2 ตัว กรรมวิธีที่ 7 ใส่แมงมุมตัวเต็มวัยเพศผู้ เพศเมียรวมกัน เพศละ 1 ตัว กรรมวิธีที่ 8 ใส่แมงมุมตัวเต็มวัยเพศผู้กล่องละ 3 ตัว กรรมวิธีที่ 9 ใส่แมงมุมตัวเต็มวัยเพศเมียกล่องละ 3 ตัว หลังอดอาหาร 1 วัน ปล่อยแมลงวันผลไม้ใส่ในแต่ละกรรมวิธีกล่องละ 20 ตัว วันต่อมานับจำนวนแมลงวันผลไม้ที่ถูกกินและเพิ่มจำนวนแมลงวันผลไม้ในแต่ละกรรมวิธีในแต่ละกล่องให้ครบ 20 ตัว ใช้เวลาในการทดลอง 15 วัน

เวลาและสถานที่

1. **เวลา** เริ่มต้น ตุลาคม 2546 สิ้นสุด กันยายน 2547
2. **สถานที่** สวนผลไม้เกษตรกรจังหวัดปทุมธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แมงมุมตัวอ่อนเพศผู้กล่องละ 1 ตัว ตัวอ่อนเพศเมียกล่องละ 1 ตัว แมงมุมเพศผู้กล่องละ 1, 2, 3 ตัว และแมงมุมเพศเมียกล่องละ 1, 2, 3 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ยต่อวันเท่ากับ 7.4, 8.1, 6.3, 13.9, 15.7, 7.3, 14.8 และ 16.0 ตัว ตามลำดับ ส่วนกล่องที่ใส่แมงมุมเพศผู้ 1 ตัวกับเพศเมีย 1 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 15.1 ตัวต่อวัน (Table 1)

ใน Table 2 แมงมุมตัวอ่อนเพศผู้และตัวอ่อนเพศเมียมีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 7.4 และ 8.1 ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งตัวอ่อนเพศเมียกินมากกว่า และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แมงมุมเพศผู้และแมงมุมเพศเมียกล่องละ 1 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เท่ากับ 6.3 และ 7.3 ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งตัวเมียกินมากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แมงมุมเพศผู้ แมงมุมเพศเมียกล่องละ 2 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เท่ากับ 13.9 และ 14.8 ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งตัวเมียกินมากกว่าและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แมงมุมเพศผู้และแมงมุมเพศเมียความหนาแน่น 3 ตัวต่อกล่อง มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เท่ากับ 15.7 และ 16.0 ตัว/วัน ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่องที่ใส่แมงมุมเพศผู้ 1 ตัว รวมกับแมงมุมเพศเมีย 1 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เท่ากับ 15.1 ตัว/วัน ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกล่องที่ใส่แมงมุมเพศเมีย 2 ตัว ซึ่งมีอัตราการกินต่อวัน 14.8 ตัว กล่องที่ใส่แมงมุมตัวอ่อนเพศผู้ 1 ตัว ซึ่งมีอัตราการกินต่อวัน 7.4 ตัว ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกล่องที่ใส่แมงมุมเพศเมีย 1 ตัว ซึ่งมีอัตราการกินต่อวัน 7.3 ตัว

ผลการทดลองพบว่า แมงมุมตัวอ่อนเพศผู้ระยะก่อนเป็นตัวเต็มวัย มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ยสูงกว่าแมงมุมตัวเต็มวัยเพศผู้ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากตัวเต็มวัยเพศเมีย ส่วนแมงมุมตัวอ่อนเพศเมียระยะก่อนเป็นตัวเต็มวัย มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ยสูงกว่าแมงมุมตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย

แมงมุมทั้งเพศผู้และเพศเมีย ถ้าใส่จำนวนแมงมุมต่อกล่องมากขึ้นในอัตรา 1, 2 และ 3 ตัวต่อกล่อง จะกินแมลงวันผลไม้มากขึ้น โดยแมงมุมเพศผู้ใส่กล่องละ 1,2 และ 3 ตัว กินแมลงวันผลไม้ได้เฉลี่ย 6.3, 13.9, 15.7 ตัวต่อวันตามลำดับ และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และแมงมุมเพศเมียใส่กล่องละ 1, 2 และ 3 ตัว กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 7.3, 14.8 และ 16.0 ตัวต่อวัน ตามลำดับ และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาประสิทธิภาพการกินแมลงวันผลไม้ *Bactrocera correcta* ของแมงมุมตาหกเหลี่ยม *O. lineatipes* พบว่าการใส่จำนวนแมงมุมต่อกล่องที่มีขนาดกล่องเท่ากันกับการทดลองครั้งนี้ ในอัตรา 1, 2, 3 ตัวต่อกล่อง จะกินแมลงวันผลไม้มากขึ้น โดยแมงมุมเพศผู้ใส่กล่องละ 1, 2 และ 3 ตัว จะกินแมลงวันผลไม้ได้เฉลี่ย 2.8, 5.8 และ 7.7 ตัวต่อวันตามลำดับ และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และแมงมุมเพศเมียใส่กล่องละ 1, 2, 3 ตัวต่อกล่อง จะกิน

แมลงวันผลไม้ได้เฉลี่ย 3.2 , 7.1 และ 8.7 ตัวต่อวัน ตามลำดับ และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (วิภาดา, 2544ข) ฉะนั้นในสภาพที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์ การใส่แมงมุมตาหกเหลี่ยมอัตรา 1, 2 และ 3 ตัวต่อกล่อง ขนาด 15 x 29 x 8.5 เซนติเมตร จะไม่เกิดการต่อสู้กินกันเอง (cannibalism) ซึ่งแตกต่างจากแมงมุมสุนัขป่า *Pardosa pseudoannulata* ถ้าใส่ไปในกระถางทดลองมากกว่า 1 ตัวต่อกระถาง จะเกิดการต่อสู้กินกันเอง ทำให้ประสิทธิภาพการกินลดลง แม้อยู่ในสภาพที่มีเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งเป็นเหยื่อของแมงมุมชนิดนี้อย่างเกินพอ (วิภาดา, 2529) ดังนั้น การเลี้ยงขยายแมงมุมตาหกเหลี่ยมให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการ จึงสามารถที่จะทำได้ เพราะแมงมุมตาหกเหลี่ยมจะไม่กินกันเองในสภาพที่มีเหยื่ออุดมสมบูรณ์และขนาดพื้นที่เพียงพอ และในธรรมชาติก็สามารถจัดการให้เพิ่มประสิทธิภาพในการลดประชากรของศัตรูพืช เช่น แมลงวันผลไม้ได้ โดยการปล่อยเพิ่มจำนวนแมงมุมนี้ลงในพื้นที่

แมงมุมตัวอ่อนเพศผู้ ตัวเต็มวัยเพศผู้กล่องละ 1 และ 2 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ยต่ำกว่าแมงมุมเพศเมียในระยะหรืออัตราเดียวกันและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแมงมุมตัวอ่อนเพศผู้ ตัวเต็มวัยเพศผู้กล่องละ 1 และ 2 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 7.4, 6.3 และ 13.9 ตัวต่อวันตามลำดับ ส่วนแมงมุมตัวอ่อนเพศเมีย ตัวเต็มวัยเพศเมียกล่องละ 1 และ 2 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้ 8.1, 7.3 และ 14.8 ตัวต่อวันตามลำดับ ส่วนกล่องที่ใส่แมงมุมเพศผู้หรือเพศเมีย 3 ตัวต่อกล่อง แมงมุมเพศผู้มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 15.7 ตัวต่อวัน และเพศเมียกินเฉลี่ย 16.0 ตัวต่อวัน ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาประสิทธิภาพการกินของแมงมุมตาหกเหลี่ยมต่อแมลงวันผลไม้ชนิด *B. correcta* (วิภาดา, 2544,ข) พบว่า แมงมุมตัวอ่อนเพศผู้ ตัวอ่อนเพศเมีย แมงมุมเพศผู้กล่องละ 1, 2, 3 ตัว และแมงมุมเพศเมียกล่องละ 1, 2, 3 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ยต่อวัน 3.7, 3.9, 2.8, 5.8, 7.7, 3.2, 7.1, 8.7 ตัวตามลำดับ ส่วนกล่องที่ใส่แมงมุมเพศผู้ 1 ตัวร่วมกับเพศเมีย 1 ตัว กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 7.0 ตัวต่อวัน ซึ่งแมงมุมตาหกเหลี่ยมในระยะการเจริญเติบโต เพศและอัตราความหนาแน่นต่อกล่องเท่ากัน จะกินแมลงวันผลไม้ชนิด *B dorsalis* มากกว่า *B. correcta* แม้ว่าการทดลองประสิทธิภาพการกินของแมงมุมตาหกเหลี่ยมต่อแมลงวันผลไม้ *B. correcta* ได้ปล่อยแมลงวันใส่แต่ละกรรมวิธีกล่องละ 10 ตัวต่อวัน ซึ่งน้อยกว่าการทดลองประสิทธิภาพการกินของแมงมุมตาหกเหลี่ยมต่อแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ซึ่งปล่อยแมลงวันผลไม้ใส่แต่ละกรรมวิธีกล่องละ 20 ตัวต่อวัน แต่เมื่อดูการกินในกล่องที่มีความหนาแน่น 1 ตัวต่อกล่อง ก็มีปริมาณการกินเฉลี่ยสูงกว่าและอยู่ในสภาพห้องที่ปรับอุณหภูมิเช่นกัน เป็นไปได้ว่าแมงมุมตาหกเหลี่ยมชอบกิน *B. dorsalis* มากกว่า *B. correcta*

อัตราการกินแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ของแมงมุมตาหกเหลี่ยมเพศผู้และเพศเมียที่อยู่ในกล่องที่มีความหนาแน่น 1 และ 2 ตัวต่อกล่อง มีอัตราการกินต่อตัวต่อวันไม่ลดลง แต่ถ้าใส่ 3 ตัวต่อกล่องแล้วอัตราการกินดังกล่าวจะลดลง (Table 2)

ใน Table 1 ค่า C.V. (%) ของการกินแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในแต่ละวันของแมงมุมตาหกเหลี่ยมนี้ จะมีค่าที่ต่ำกว่า 10% ยกเว้นแมงมุมระยะตัวเต็มวัยเพศผู้กล่อง 1 ตัว ที่สูงเท่ากับ 10.9% ซึ่งแสดงถึงลักษณะการกินในแต่ละวันที่ไม่เปลี่ยนแปลงไปมาก

จากผลการทดลองจะเห็นว่าแมงมุมตาหกเหลี่ยมเป็นตัวห้ำที่สามารถใช้ลดประชากรของแมลงวันผลไม้ลงได้อย่างมีประสิทธิภาพ แมงมุมชนิดนี้มีปริมาณประชากรสูงในพืชเศรษฐกิจเกือบทุกชนิดและวัชพืชรอบ ๆ ไร่ นา สวน มีเขตแพร่กระจายกว้างขวางทั่วประเทศ (วิภาดา, 2541, 2544ก) แหล่งที่พบแมงมุมตาหกเหลี่ยมสูงสุดคือ ในวัชพืชที่อยู่ใต้ร่มเงาของไม้ผลต่าง ๆ จึงควรเก็บแปลงวัชพืชไว้บ้างเพื่อเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยเพาะพันธุ์ของแมงมุมตาหกเหลี่ยม

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพการกินของแมงมุมตาหกเหลี่ยม *Oxyopes lineatipes* ต่อแมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* พบว่า แมงมุมตัวอ่อนเพศเมียกินได้มากกว่าตัวอ่อนเพศผู้ แมงมุมเพศเมียระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยในอัตราต่อกล่อง 1 และ 2 ตัว มีอัตราการกินแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ที่มากกว่าแมงมุมเพศผู้ในระยะและความหนาแน่นเดียวกับข้างต้น แมงมุมเพศผู้กล่องละ 1, 2 และ 3 ตัว กินแมลงวัน ผลไม้เฉลี่ย 6.3, 13.9 และ 15.7 ตัวต่อวัน ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แมงมุมเพศเมียกล่องละ 1, 2, และ 3 ตัว กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 7.3, 14.8 และ 16.0 ตัวต่อวัน ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แมงมุมตัวอ่อนเพศผู้กินแมลงวันผลไม้มากกว่าแมงมุมตัวเต็มวัยเพศผู้กล่องละ 1 ตัว แต่ไม่แตกต่างกับแมงมุมเพศเมียกล่องละ 1 ตัว แมงมุมตัวอ่อนเพศเมียกินแมลงวันผลไม้เฉลี่ยต่อวันมากกว่าแมงมุมตัวเต็มวัยเพศผู้กล่องละ 1 ตัว และแมงมุมเพศเมียกล่องละ 1 ตัว ซึ่งมีอัตราการกินต่อวัน 7.3 ตัว แมงมุมตัวเต็มวัยเพศผู้กล่องละ 1 และ 2 ตัว กินแมลงวันผลไม้น้อยกว่าแมงมุมเพศเมียกล่องละ 1 และ 2 ตัว แมงมุมเพศผู้และเพศเมียกล่องละ 3 ตัว กินแมลงวันผลไม้ไม่แตกต่างกัน กล่องที่ใส่แมงมุมเพศผู้ 1 ตัวรวมกับเพศเมีย 1 ตัว กินแมลงวันผลไม้เฉลี่ยมากกว่ากล่องที่ใส่แมงมุมเพศผู้ 2 ตัว

Table 1. Consumption rates of lynx spider, *Oxyopes lineatipes*, of different stages or sex or densities/box on fruit fly, *Bactrocera dorsalis*

Spider No.	1Young stage male	1Young stage female	1 male	2 males	3 males	1 female	2 females	3 females	1 male + 1 female
1	7.73	9.07	7.40	13.13	16.47	8.00	14.60	15.40	14.53
2	7.73	7.73	7.20	13.87	15.20	8.47	15.13	16.80	15.20
3	7.47	8.00	5.40	13.93	15.73	6.93	14.53	15.87	15.07
4	7.93	7.60	6.60	14.13	15.20	6.80	14.00	16.00	14.67
5	7.47	8.40	6.27	14.27	15.53	7.20	14.87	14.87	15.47
6	7.47	8.87	5.73	13.87	16.33	6.87	15.00	16.33	15.73
7	7.00	7.47	5.93	14.07	15.73	7.40	15.33	15.47	14.60
8	7.13	8.27	6.33	14.47	15.60	7.07	14.73	16.07	15.40
9	6.93	7.93	5.40	13.13	15.33	6.93	13.40	17.40	15.67
10	6.80	7.27	6.27	14.47	15.93	7.20	16.00	15.93	14.13
X±	7.4±	8.1±	6.3±	13.9±	15.7±	7.3±	14.8±	16.0±	15.1±
S.D	0.38	0.59	0.68	0.48	0.44	.54	0.71	0.72	0.54
CV (%)	5.16	7.32	10.88	3.45	2.8	7.41	4.79	4.5	3.59

X = average consumption rate of spider

SD = standard deviation

Table 2. Comparison of consumption rates of lynx spider, *O. lineatipes,* of different stages or sex or densities on fruit fly, *B. dorsalis*

Stage or sex and densities/box of spiders	prey consumption / day[1/]
1 young male	7.4 b
1 young female	8.1 c
1 male	6.3 a
2 males	13.9 d
3 males	15.7 f
1 female	7.3 b
2 females	14.8 e
3 females	16.0 f
1 male + 1 female	15.1 e
C.V. (%)	5.0

[1/] Figures with the same letter in the same column are not significantly different at the 5% level by DMRT

เอกสารอ้างอิง

พิมลพร นันทะ. 2544. คำนำ. หน้า 5. ใน : แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

มนตรี จิรสุรัตน์. 2542. แมลงวันผลไม้. หน้า 128 – 145. ใน : เอกสารวิชาการเรื่อง แมลงศัตรูไม้ผล. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูไม้ผล สมุนไพรและเครื่องเทศ, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

_____ . 2544ก. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแมลงวันผลไม้. หน้า 7 – 12. ใน : แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

_____ . 2544ข. แมลงวันผลไม้ที่สำคัญของประเทศไทยและการแพร่กระจาย. หน้า 13 – 18. *ใน* : แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย . เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

วิภาดา วังศิลาบัตร. 2529. ประสิทธิภาพการกินของแมงมุมไลโคซ่า (*Lycosa pseudoannulata*) ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. ว. กีฏ. สัตว. 8 (3) : 120 – 126.

_____ . 2541. ความหลากหลายของชนิดแมงมุมในระบบนิเวศพืชเศรษฐกิจบางชนิด. หน้า 121 – 144. *ใน* : การประชุมสัมมนาทางวิชาการ แมลงและสัตว์ศัตรูพืช ประจำปี 2541 ครั้งที่ 11, 3 – 6 มีนาคม 2541. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

_____ . 2544ก. แมงมุมในสวนส้ม. เอกสารวิชาการ. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. 108 หน้า.

_____ . 2544ข. การศึกษาอนุกรมวิธาน ชีววิทยา และประสิทธิภาพการกินแมลงวันผลไม้ *Bactrocera correcta* (Sauders) ของแมงมุมตาหกเหลี่ยม ว.กีฏ.สัตว. 23(4) : 241 –252.

Barrion, A. T. and J. A. Litsinger. 1995. Riceland Spiders of South and Southeast Asia. IRRI.

Carroll, D.P. 1980. Biological notes on the spiders of some citrus groves in Central and Southern California. 91(5) : 147 – 154.

Daxiang, S., Z. Mingsheng. and C. Jun. 1999. The spiders of China. Hebei Science and Technology Publishing House. 640 p.

Murphy, F. and J. Murphy. 2000. An introduction to the spiders of South East Asia. Malaysian Nature Society. 625 p.

Okuma, C, N. Q. Kamal, Y. Hirashima, Md. Z. Alam and K. Ogata. 1993. Illustrated monograph of the rice field spiders of Bangladesh. Institute of Postgraduate Studies in Agriculture, Salna, Gaxipur Bangladesh. 93 p.

Patarakulpong, W. 1977. A preliminary survey of spider fauna and their predation in the paddy fields of Thailand. M.S. Thesis. Kasetsart university. 59 p.

Sherriffs, W. R. 1951. Some Oriental spider of the genus *Oxyopes*. Proc. Zool. Soc. London. 120 : 651 – 677.

Studies on Efficiency of Lynx Spider, *Oxyopes lineatipes* (C.L.Koch) (Araneae : Oxyopidae) on Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* Hendel

Wipada Vungsilabutr Amporn Winotai Montri Jirasurat
Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research Development Office

Abstract

Bactrocera dorsalis Hendel (Oriental fruit fly) is an economic and important insect pest of fruit trees. Host ranges of this fruit fly are wide. *B. dorsalis* distributes in Asia; in Thailand they distribute mostly in central and northern parts. *Oxyopes lineatipes*, lynx spider, is a predator of *B. dorsalis*. Lynx spider inhabites in weeds and economic crops such as rice, orchid, mungbean, sweet potato, okra, tangerine and pummelo. Predation efficiency of lynx spider on fruit fly, *B. dorsalis* was studied in the laboratory. The study had a CRD design, with 9 treatments and 10 replications. The treatments differed according to the growth stage, sex and densities of the spider. The two treatments of late growth before becoming adult stage of male (6.5 mm. in length) and of female (7.5 mm. in length). Other seven treatments had 1, 2 or 3 males, or 1, 2 or 3 females, or 1 male + 1 female per box. Spiders in each treatment were put in a plastic box (15 x 29 x 8.5 cm) with seven – day – old mungbean seedlings. They were provided with 20 fruit flies (*B. dorsalis*) and maintain at this density after each checking. The number of fruit flies consumed was recorded each day. The trial lasted 15 days.

The predation efficiency of lynx spider revealed that daily consumption of 1 young male, 1 young female, 1, 2 and 3 males, 1, 2 and 3 females, and 1 male + 1 female per box were in average 7.4, 8.1, 6.3, 13.9, 15.7, 7.3, 14.8, 16.0 and 15.1 fruit flies respectively. Daily predation between young male with one female, three males with three females, two females with one male + one female were not significantly different. The highest predation rate of 1 young male , 1 young female, 1, 2 and 3 males, 1, 2 and 3 females and 1 male + 1 female, consuming 14, 15, 10, 20, 20, 11, 20, 20 and 20 fruit flies per day. There were no consuming interferance and cannibalism of spiders observed at high density of prey, 20 fruit flies /day, among different density (2-3 spiders per box) of lynx spider which was different comparing with that of wolf

spider *Pardosa pseudoannulata* ever done. It should be noted from this trial that lynx spider consumed more prey, on *B. dorsalis*, than on *B. correcta* (of former paper, FFTC, 2002)

Keywords : Lynx spider (*Oxyopes lineatipes*) ; predation efficiency on fruit fly, *Bactrocera dorsalis*