กรมวิชาการเกษตร
Department of Agriculture
แหล่งความรู้ แหล่งพัฒนา แหล่งก้าวหน้า

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๔๙
เล่มที่ 2

ลำดับเลขที่ 4/2550 ISBN : 978-974-436-628-3

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คำนำ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ประกอบด้วยกลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช และกลุ่มวิจัยการกักกันพืช มีการค้นคว้าวิจัยพัฒนาที่คลอบคลุมงานด้านอารักขาพืช ครบทุกสาขา มีภารกิจที่ต้องปฏิบัติดำเนินการที่เกี่ยวข้องกับบุคคลหลายกลุ่ม ตั้งแต่เกษตรกรผู้ผลิต และพ่อค้าผู้ส่งออก นำเข้าสินค้าเกษตร และประชาชนผู้บริโภค โดยมีจุดมุ่งหมายที่จะทำให้สินค้าเกษตรของประเทศไทยมีมาตรฐาน คุณภาพ และความปลอดภัย ตั้งแต่ระบบการผลิตในไร่นา จนถึงผู้บริโภคทั้งภายในและภายนอกประเทศ ในการที่จะทำให้บรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าวการปฏิบัติการใด ๆ ในการผลิตและดูแลรักษาพืชต้องอาศัยข้อมูลงานวิจัยด้านอารักขาพืชเป็นหลัก

ในแต่ละปี นักวิชาการของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้ดำเนินงานวิจัยเป็นจำนวนมาก ทั้งงานวิจัยพื้นฐาน งานวิจัยประยุกต์ และงานวิจัยพัฒนา ดังนั้นสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงได้รวบรวมงานวิจัยของนักวิชาการ ที่ได้ดำเนินการในปีงบประมาณ 2549 โดยเป็นรายงานความก้าวหน้า ความสำเร็จของการวิจัยอย่างละเอียด ที่เป็นงานวิจัยภายใต้ 10 แผนงานวิจัย 23 โครงการวิจัย 35 กิจกรรม 70 กิจกรรมย่อย 130 การทดลอง 196 เรื่อง จัดพิมพ์เผยแพร่ สำหรับผู้สนใจใช้สืบค้นข้อมูล ใช้เป็นแนวทางในการค้นคว้าวิจัยต่อยอดขยายผลงานด้านอารักขาพืช เพื่อประโยชน์ของเกษตรกร และประชาชนต่อไป

(นายจุมพล สาระนาค)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กันยายน 2550

●● การศึกษาชนิดของโรคแมะม่วงเพื่อการส่งออก.....683
โดย นายวุฒิศักดิ์ บุตรธนู และคณะ
● ศึกษาวัชพืชเพื่อการส่งออก
●● การศึกษาวัชพืชในส้มโอเพื่อการส่งออก..... 695
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ
การทดลอง - วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน
● วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัย.....701
และวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทอง
ในผลลิ้นจี่เพื่อการส่งออก
โดย นางสาวรัชฎา อินทรกำแหง และคณะ
● วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน.....707
สำหรับกำจัดแมลงวันทองในมะม่วงพันธุ์มหาชนก
โชคอนันต์ และเขียวเสวย เพื่อการส่งออก
โดย นางสาวรัชฎา อินทรกำแหง และคณะ
● วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน 715
สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลส้มโอพันธุ์ทองดี
เพื่อการส่งออก
โดย นายอุดร อุณหวุฒิ และคณะ
● วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัย.....724
และวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน สำหรับกำจัดแมลงวันทอง
ในผลเงาะเพื่อการส่งออก
โดย นางสลักจิต พานคำ และคณะ
● วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัย.....724/1
และวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน สำหรับกำจัดแมลงวันทอง
ในผลลำไยเพื่อการส่งออก
โดย นางสลักจิต พานคำ และคณะ

กิจกรรมย่อย วิจัยการกักกันพืชเพื่อการนำเข้า

การทดลอง - การจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชนำเข้า
● ศึกษาชนิดของแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชของพืชนำเข้า
●● ศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชของพืชนำเข้า..... 730
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ

● ● การศึกษาชนิดไรศัตรูพืชของพืชเพื่อการนำเข้า..... 736
โดย นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
● การศึกษาชนิดของโรคพืชเพื่อการนำเข้า
● ● การศึกษาชนิดของโรคพุทราและทับทิม.....741
เพื่อการนำเข้า
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
● ● การศึกษาชนิดโรคของส้มเพื่อการนำเข้า.....763
โดย นายวุฒิศักดิ์ บุตรธนู และคณะ
● การศึกษาชนิดของวัชพืชของพืชเพื่อการนำเข้า
● ● การศึกษาชนิดวัชพืชในทับทิม.....777
โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ
● ● การศึกษาชนิดวัชพืชในมะเขือเทศและข้าวโพด.....785
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ
การทดลอง - การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชนำเข้า
● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....800
ศัตรูพืชของข้าวสาลีนำเข้า
โดย นายสุรพล ยินอัศวพรรณ และคณะ
● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....809
ของพุทรานำเข้า
โดย นางวรัญญา มาลี และคณะ
● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....815
ของทับทิมนำเข้า
โดย นางวลัยกร รัตนเดชากุล และคณะ
● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....826
ของพริกนำเข้า
โดย นางณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ
● การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช สำหรับการนำเข้า 847
เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากต่างประเทศ
โดย นางสาวชลธิชา รักใคร่ และคณะ

● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช
ของพืชตระกูลแตงนำเข้า
●● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง 853
ศัตรูพืชของสควัอซและฟักทองนำเข้า
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ
● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช
ของพืชตระกูลกะหล่ำนำเข้า
●● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช....867
ของผักกาดหัวที่นำเข้าจากต่างประเทศ
โดย นางสาวนงพร มาอยู่ดี และคณะ
●● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช....870
ของบล๊อคโคลี่
โดย นางสาวสุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ
● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของมันฝรั่งนำเข้า
●● การสำรวจและศึกษาสายพันธุ์ของ *Potato virus Y*.....881
กับมันฝรั่งในประเทศไทย
โดย นางสาวปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และคณะ
●● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงของเชื้อ.....898
Spongospora subterranean ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง
โดย นางสาวปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และคณะ
●● การไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับ.....903
หัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ
โดย นายวานิช คำพานิช และคณะ
การทดลอง - วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชนำเข้า
● แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.....909
สาเหตุโรค bacterial speck ของมะเขือเทศ และ
การพัฒนาเทคนิคพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ

● การพัฒนาการตรวจสอบเชื้อ PVY บน..... 923
หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า
โดย นางสุรภี กีรติยะอังกูร และคณะ
● การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรอยด์กับเมล็ด.....932
มะเขือเทศที่เหมาะสมในงานกักกันพืช
โดย นายปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และคณะ
● การพัฒนาการตรวจสอบเชื้อ *Acidovorax avenae*.....938
subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์แตงโม
โดย นางสาวศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ

แผนงานวิจัย การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์
โครงการวิจัย ศึกษาและสำรวจเชื้อพันธุ์พืช จุลินทรีย์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ 09-02-49-01
กิจกรรม สำรวจ รวบรวมและศึกษาเชื้อพันธุ์พืช
กิจกรรมย่อย การสำรวจวัชพืชต่างถิ่นในประเทศไทย (ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)
การทดลอง - การสำรวจวัชพืชต่างถิ่นในประเทศไทย 944
(ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)
โดย นางสาวศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ
กิจกรรม สำรวจ รวบรวม และศึกษาจุลินทรีย์แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จุลินทรีย์
การทดลอง - สำรวจ รวบรวม จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร
● สำรวจ รวบรวม และจำแนกราไมคอร์ไรซากล้วยไม้..... 972
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
● การคัดเลือกและจำแนกเชื้อราที่มีประโยชน์..... 980
ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อ
โดย นางสาววรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ
การทดลอง - จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช
● สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืชในประเทศ ประเทศไทย

● ● สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อราสนิม.....993
สาเหตุโรคพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ
และวัชพืชในแปลงปลูก
โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ
● ● สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดราสนิม 1004
สาเหตุโรคไม้ผล ไม้ยืนต้น และวัชพืชในแปลงปลูก
โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
● ● สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อราสนิม.....1017
สาเหตุโรคพืชไร่ และวัชพืชในแปลงปลูก
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ
● ● สำรวจ รวบรวม และจำแนกราเขม่าดำ 1026
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
● ● สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อรา.....1043
สกุล Ganoderma
โดย นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และคณะ
● ● สำรวจ รวบรวม และจำแนกราดำ 1050
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
● ● สำรวจ รวบรวมและจำแนกเชื้อราน้ำค้าง.....1058
สาเหตุโรคพืชไร่
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ
● ● สำรวจ รวบรวมเชื้อราโรคราน้ำค้าง.....1063
ของพืชผักและไม้ผล
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
● สำรวจ รวบรวมและจำแนกเชื้อแบคทีเรีย.....1071
Xanthomonas oryzae pv. *oryzae*
โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
● การประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย.....1075
Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* จากการสร้างสาร
เอ๊กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (EPS)
โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

- สำรวจ รวบรวม จำแนกเชื้อแบคทีเรีย.....1087
  Xanthomonas axonopodis pv. *dieffenbachiae*
  สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว *(Anthurium andreanum)*
  โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
- การประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย.....1098
  Xanthomonas axonopodis pv. *dieffenbachiae*
  สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว *(Anthurium andreanum)*
  โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
- สำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรคพืชในประเทศไทย.....1108
  โดย นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และคณะ

การทดลอง - จุลินทรีย์ผลิตสารชีวภัณฑ์และมีศักยภาพในการกำจัดโรคและศัตรูพืช

- สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย.....1127
  ควบคุมแมลงศัตรูพืช
  โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
- ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพ.....1143
  ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ
  โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรีย.....1157
  กลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย
  สาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ
  โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

การทดลอง - จุลินทรีย์ที่มีต่อแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ

- การสำรวจและรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย.....1164
  Bacillus thuringiensis และเชื้อไวรัส NPV
  โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ
- การสำรวจ รวบรวม ตรวจจำแนกสายพันธุ์.....1167
  ปรสิตโปรโตซัว
  โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง - อนุกรมวิธานแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

- อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในสกุล *Bemisia*.....1171
  โดย นายสมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ
- อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus*.....1177
  โดย นางชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ
- อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis*.....1182
  โดย นางลักขณา บำรุงศรี และคณะ
- อนุกรมวิธานด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae และ Alticinae.....1186
  วงศ์ Chrysomelidae
  โดย นางพรรณเพ็ญ ชโยภาส และคณะ
- อนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบ สกุล *Liriomyza* 1190
  โดย นางรัตนา นชะพงษ์ และคณะ
- อนุกรมวิธานของมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* .1194
  วงศ์ Reduviidae และการเก็บรักษา
  โดย นางรัตนา นชะพงษ์ และคณะ
- อนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera*.....1211
  โดย นางสาวยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ
- อนุกรมวิธานของด้วงในเผ่า Cryptonychini 1216
  วงศ์ Chrysomelidae และการเก็บรักษา
  โดย นางพรรณเพ็ญ ชโยภาส และคณะ

การทดลอง - อนุกรมวิธานไรศัตรูพืช ไรศัตรูธรรมชาติ แมงมุม

- การศึกษาอนุกรมวิธานไรแมงมุมในสกุล *Tetranychus*.....1235
  โดย นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

การทดลอง - อนุกรมวิธานสัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

- ชีววิทยาหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude).....1241
  โดย นางสาวดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

● ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่ 1246
โดย นางสาวปิยาณี หนูกาฬ และคณะ
● สำรวจ และศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศ.....1248
ปาล์มปลูกใหม่
โดย นางกรแก้ว เสือสะอาด และคณะ
● ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่ง.....1253
สงวนชีวมณฑลสะแกราช
โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ
● สำรวจและศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติ.....1257
ของหนูในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่
โดย นางสาวพวงทอง บุญทรง และคณะ
การทดลอง - การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์.....1261
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ

โครงการวิจัย การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช จุลินทรีย์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในธนาคารเชื้อพันธุ์ 09-02-49-02

กิจกรรม การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืช จุลินทรีย์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในธนาคารเชื้อพันธุ์

กิจกรรมย่อย วิจัยการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ เห็ด และศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง - การศึกษาเทคโนโลยีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ แมลง ไร 1265
สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในธนาคารเชื้อพันธุ์ (Gene bank)
โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
● ลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ และความหลากหลายทางพันธุกรรม...1273
ของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.
dieffenbachiae เชื้อสาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัวโดยเทคนิค
Rep-PCR
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ

กิจกรรม การเก็บรักษาพืช ตัวอย่างโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในพิพิธภัณฑ์ (Museum)

กิจกรรมย่อย การเก็บรักษาตัวอย่างพืช และโรคพืช

การทดลอง - การเก็บรักษาตัวอย่างโรคพืชในพิพิธภัณฑ์.....1287
โดย นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และคณะ

กิจกรรมย่อย การเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ

- การเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืช และ ศัตรูธรรมชาติใน พิพิธภัณฑ์แมลง

● การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์.....1293
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนากลุ่มพืชผัก และเห็ด

โครงการวิจัย การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตพริก 01-16-49-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์พริกเพื่อเพิ่มผลผลิตและทนทานต่อโรค

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่

การทดลอง - การปรับปรุงพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่เพื่อต้านทานโรค

● การปรับปรุงพริกขี้หนูสดใหญ่เพื่อต้านทาน.....1300
โรคแอนแทรคโนส
โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ

● การปรับปรุงพริกขี้หนูสดใหญ่เพื่อ.....1308
ต้านทานโรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย
โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ

● การปรับปรุงพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่.....1318
ต้านทานโรคใบหงิกเหลือง
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พริกชี้ฟ้าเพื่ออุตสาหกรรม

การทดลอง - การปรับปรุงพันธุ์พริกชี้ฟ้าเพื่อแปรรูปเป็นซอสพริก

● การผสมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์พริกชี้ฟ้า.....1326
เป็นซอสพริกเพื่อต้านทานโรคแอนแทรคโนส
โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ

กิจกรรม ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูพริก

การทดลอง - การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน.....1334
การควบคุมวัชพืชสำคัญในพริก
โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว 01-16-49-02

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียวในการผลิตเพื่อผลผลิตที่ปลอดจากสารพิษ

การทดลอง - การระบาดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในกระเจี๊ยบเขียว 1343
ภาคกลาง
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด
- การจัดการวัชพืชในการผลิตกระเจี๊ยบเขียวฝักสด 1353
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเห็ด 01-16-49-03

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์เห็ด

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์เห็ดขอนขาว

การทดลอง - การประเมินเชื้อพันธุ์เห็ดขอนขาวที่เหมาะสม 1360
กับการเพาะในพื้นที่ภาคกลาง
โดย นางสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์เห็ดตีนแรด

การทดลอง - รวบรวม คัดเลือกพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่าง ๆ..... 1371
เพื่อเป็นพันธุ์ทางการค้า
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ

กิจกรรม การเขตกรรมและการจัดการผลิตเห็ด

กิจกรรมย่อย กระบวนการผลิตเห็ดฟาง

การทดลอง - การจัดระบบการผลิตที่มีผลต่อการให้ผลผลิต..... 1382
เห็ดฟาง
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ

กิจกรรมย่อย กระบวนการผลิตเห็ดนางรม

การทดลอง - การจัดระบบการผลิตที่มีผลต่อการให้ผลผลิตของ..... 1394
เห็ดนางรม (ภาคกลาง)
โดย นางสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และคณะ

กิจกรรม การพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาเห็ด

กิจกรรมย่อย การศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด *Formicomotes heteromorphus* Magowski และ ไร *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ด

การทดลอง - การศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด.....1398
Formicomotes heteromorphus Magowski และ ไร
Dolichocybe indica Mahunka ในเห็ด
โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดหูหนู โดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

การทดลอง - ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราโรคใยแมงมุม.....1408
บนดอกเห็ดหูหนูโดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การแพร่กระจายและการป้องกันกำจัดราเขียวในก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมโดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

การทดลอง - ศึกษาชนิด แหล่งที่มา และระดับการแพร่กระจาย.....1417
ของราเขียวไตรโคเดอร์มาที่ปนเปื้อนในการเพาะเห็ดสกุลนางรม
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ
- ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดราเขียวที่ปนเปื้อนใน.....1426
การเพาะเห็ดสกุลนางรมโดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อนในแม่เชื้อเห็ดและการป้องกันกำจัด

การทดลอง - ศึกษาสาเหตุ และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อรา.....1433
ปนเปื้อนในการผลิตเชื้อเห็ด
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายเห็ดที่ผลิตเพื่อการค้าและการป้องกันกำจัด

การทดลอง - ศึกษาชนิด และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย.....1444
ที่เข้าทำลายดอกเห็ดเพื่อการค้า
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง 01-16-49-05

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูมันฝรั่ง

การทดลอง - การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมันฝรั่ง 1452
ที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยวิธีผสมผสาน
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตขิงที่ได้คุณภาพ 01-16-49-06

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตขิงคุณภาพ

กิจกรรมย่อย การเขตกรรมและการจัดการผลิตขิงอย่างยั่งยืน

การทดลอง - การบริหารจัดการวัชพืชในขิง 1460
โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนากลุ่มพืชไร่เศรษฐกิจอื่น ๆ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 01-17-49-06

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

การทดลอง - การศึกษาข้อมูลจำเพาะของพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทาน.....1467
  ต่อโรคช่อดอกเน่าและยอดบิดที่มีสาเหตุ
  จากเชื้อรา *Fusarium moniliforme*
  โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ
- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทาน.....1471
  ต่อโรคลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Macrophomina phasceolina*
  โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ
- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทาน 1475
  ต่อโรคลำต้นเน่าแดงที่มีสาเหตุจาก *Colletotrichum graminicola*
  โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

● ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทาน..... 1479
ต่อโรคสมัทที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนากลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว 01-15-49-02

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว

กิจกรรมย่อย ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวต่อโรคใบด่างบิดเบี้ยว

การทดลอง - ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวต่อโรคใบด่างบิดเบี้ยว..... 1483
โดย นายสิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว 01-15-49-03

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว

กิจกรรมย่อย การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมาโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

การทดลอง - ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยว..... 1487
ของปทุมมาในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง
โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาพืชทดแทนพลังงาน

โครงการวิจัย ศึกษาระบบการจัดการการผลิตวัตถุดิบจากพืชสำหรับผลิตพลังงาน 10-01-49-01

กิจกรรม ศึกษาระบบการจัดการการผลิตวัตถุดิบจากพืชสำหรับผลิตแก๊สโซฮอล์

กิจกรรมย่อย ศึกษาระบบการจัดการการผลิตข้าวฟ่างหวานเพื่อผลิตเอทานอล

การทดลอง - การจัดการวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน..... 1495
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

การวิจัยหาวิธีการกำจัดวัชพืชหลังอ้อยงอกที่เหมาะสมในแต่ละแหล่งปลูก

ตรียนัย ตุงคะเสน อรรถสิทธิ์ บุญธรรม วีรวัฒน์ นิลรัตนคุณ เบญจมาศ คำสีบ
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ทำการทดลองเกี่ยวกับการกำจัดวัชพืชหลังอ้อยงอก 3 แห่ง คือ ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ และ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครราชสีมา วางแผนการทดลองแบบ split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ Main plot คือ 1) วิธีการให้น้ำ 2) ไม่ให้น้ำ Sub plot คือ วิธีการกำจัดวัชพืช 7 วิธีการ คือ 1) ใช้จอบหมุนติดท้ายรถไถเดินตาม 2)ใช้จอบหมุนติดท้ายรถแทรกเตอร์ 3)ใช้สารกำจัดวัชพืช hexazinone/diuron อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ 4)ใช้สารกำจัดวัชพืช ametryn อัตรา 400 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ 5)ใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat อัตรา 82.8 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ 6)ใช้แรงงานคนดายหญ้า 7)ไม่มีการกำจัดวัชพืช ดำเนินการกำจัดวัชพืชด้วยวิธีการต่าง ๆ ภายหลังการปลูกอ้อย 45 วัน ผลการทดลองอยู่ระหว่างการวิเคราะห์ข้อมูล

คำนำ

วัชพืชเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในการปลูกอ้อยของเกษตรกร ถึงแม้จะมีการไถเตรียมดินกำจัดวัชพืชแล้ว ประกอบกับอ้อยเป็นพืชอายุยาว และมีการให้น้ำบ่อยครั้ง จึงเหมาะในการงอกและการแข่งขันของวัชพืช การป้องกันกำจัดวัชพืชของเกษตรกรในการปลูกอ้อยอาจทำได้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีการ ให้การควบคุมวัชพืชได้ต่างกัน และระยะเวลาการควบคุมได้ไม่เหมือนกัน โดยเฉพาะในสภาพการปลูกที่ต่างกัน หลังจากปลูกอ้อย เมื่ออ้อยงอกแล้วมีวัชพืชขึ้น เกษตรกรชาวไร่อ้อยทั่วไปมักกำจัดวัชพืชโดยการใช้สารกำจัดวัชพืช ที่นิยมใช้มากที่สุด คือ paraquat เพราะว่ามีราคาถูก ให้ผลในการกำจัดวัชพืชรวดเร็ว แต่สารกำจัดวัชพืช paraquat เป็นสารกำจัดวัชพืชสัมผัสตายแบบไม่เลือกทำลาย ถ้ากำจัดวัชพืชในขณะที่อ้อยต้นเล็กมักทำให้หน่ออ้อยเสียหาย ถ้าไม่ตายหน่อมักจะแคระแกร็น โดยเฉพาะอ้อยที่ปลูกในเขตอาศัยน้ำฝนอ้อยจะเสียหายมาก นอกจากนี้ วัชพืชข้ามปีหรือวัชพืชที่มีเหง้าอยู่ใต้ดินมักจะไม่ตาย เฉพาะส่วนที่เป็นสีเขียวที่สัมผัสสาร paraquat เท่านั้นที่แสดงอาการไหม้ ในแต่ละปีสารกำจัดวัชพืช paraquat ทำความเสียหายให้กับอ้อยมาก (ผลผลิตต่อไร่ลดลง 1 – 2 ตัน) นอกจากนี้ paraquat ยังเป็นสารกำจัด

รหัสโครงการ 01-05-49-01

วัชพืชที่มีความเป็นพิษสูง ถึงแม้อ้อยที่ให้น้ำได้ผลผลิตไม่ลดลงจากการใช้ paraquat กำจัดวัชพืช แต่ชาวไร่อ้อยต้องเสียค่าใช้จ่ายในการให้น้ำ ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืช ametryn จะมีพิษต่ออ้อยน้อย แต่มีราคาแพง วัชพืชบางชนิดไม่ตาย ส่วนการใช้เครื่องมือติดท้ายรถแทรกเตอร์กำจัดวัชพืชมักทำให้อ้อยเสียหาย ทำงานได้ไม่ละเอียด และถ้าอ้อยต้นสูงแล้วไม่สามารถเข้าไปทำงานได้ นอกจากนี้ การกำจัดวัชพืชหลังอ้อยงอกในดินต่างชนิดกัน จะต้องใช้เครื่อง ทุ่นแรงและวิธีการที่แตกต่างกันด้วย จึงจะทำการทดลองศึกษาเปรียบเทียบวิธีการกำจัดวัชพืชในอ้อยปลูกใหม่โดยวิธีเขตกรรม หรือการใช้สารกัดวัชพืช เพื่อเป็นข้อมูลที่เหมาะสมในการแนะนำแก่เกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อ้อยพันธุ์ 94-2-483
- จอบหมุนติดท้ายรถไถเดินตาม
- จอบหมุนติดท้ายรถแทรกเตอร์เล็ก
- ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ (ก่อนเก็บตัวอย่างวัชพืช)
- สารกำจัดวัชพืช imazapic/pendimethalin ametryn paraquat hexazinone/diuron
- เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง

วิธีการ

แผนการทดลอง Split plot in RCB 4 ซ้ำ

กรรมวิธี

Main plot คือ 1) วิธีการให้น้ำ
2) ไม่ให้น้ำ

Sub plot คือ วิธีการกำจัดวัชพืช 7 วิธีการ คือ

1) ใช้จอบหมุนติดท้ายรถไถเดินตาม
2) ใช้จอบหมุนติดท้ายรถแทรกเตอร์
3) ใช้สารกำจัดวัชพืช hexazinone/diuron อัตรา 500 กรัมต่อไร่
4) ใช้สารกำจัดวัชพืช ametryn อัตรา 500 กรัมต่อไร่
5) ใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat อัตรา 300 ซีซีต่อไร่
6) ใช้แรงงานคนดายหญ้า
7) ไม่มีการกำจัดวัชพืช

ขนาดแปลงย่อย 6.5 x 8 เมตร

เตรียมดินปลูกอ้อยโดยการไถพรวน และยกร่องกว้าง 1.3 เมตร ใช้ท่อนพันธุ์ 2 ตา 2 ท่อน วางพันธุ์อ้อยในร่องห่างกัน 0.5 เมตร กลบพันธุ์อ้อยและให้น้ำ หลังจากให้น้ำ 2 วัน พ่นสารกำจัดวัชพืช imazapic/pendimethalin อัตรา 12 + 120 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ หลังจากนั้น 45 วัน กำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีที่กำหนด

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการดำเนินงาน มีนาคม 2549-มีนาคม 2550

ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี

ศูนย์วิจัยพืชไร่นครราชสีมา

ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

อยู่ระหว่างการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนอนเจาะผลส้มโอในแปลงปลูก

Biology and Ecology of Citrus Fruit Borer, *Citripestis sagittiferella* Moore

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา บุษบง มนัสมั่นคง
สุเทพ สหายา เกรียงไกร จำเริญมา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการทดลองชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนอนเจาะผลส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore ในปี 2549 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา และแปลงส้มโอของเกษตรกร จ.ตราด, ชุมพร พบว่า ผีเสื้อเพศเมียวางไข่เป็นกลุ่มบนผลส้มโอในช่วงเวลากลางคืน ไข่มีลักษณะกลมแบนสีขาวเกาะเป็นแพ ระยะไข่ใช้เวลาประมาณ 7-10 วัน ระยะหนอนประมาณ 12-13 วัน ระยะดักแด้ 8-10 วัน และเจริญออกมาเป็นตัวเต็มวัยมีปีกคู่หน้าลายทางสีน้ำตาลอ่อน ปีกคู่หลังมีสีขาวนวล ขนาดประมาณ 1.3-1.5 เซนติเมตร ผีเสื้อเพศผู้มีขนาดตัวเล็กกว่าเพศเมีย ระยะผีเสื้อเพศเมีย 5-8 วัน เพศผู้ 4-7 วัน

คำนำ

ส้มโอ เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง เป็นสินค้าเกษตรของประเทศไทยที่มีศักยภาพสูงในการส่งออก เนื่องจากมีรสชาติดี เปลือกหนาเก็บรักษาได้นาน สามารถทนทานต่อการขนส่งทางไกล และมีคุณภาพทางโภชนาสูง เป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ อัตราการส่งออกมีการขยายตัวทุกปี ประเทศที่มีการสั่งซื้อส้มโอมากที่สุดคือ ฮ่องกง จีน สิงคโปร์ ซึ่งใช้ในเทศกาล และมีความต้องการเป็นช่วงเวลา มากกว่าคุณภาพผลผลิต ส่วนการส่งออกส้มโอไปยังตลาดยุโรป เช่น เนเธอร์แลนด์ ฝรั่งเศส เบลเยี่ยม กรีซ มีปริมาณไม่แน่นอน เนื่องจากคุณภาพของส้มโอไม่ค่อยสม่ำเสมอ (กรมวิชาการเกษตร, 2005) ปัจจุบันมีพื้นที่การปลูกทั่วประเทศประมาณ 242,628 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2543) พันธุ์ที่ตลาดต่างประเทศต้องการ คือ พันธุ์ทองดี และพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ซึ่งมีผลผลิตในปี 2543 เท่ากับ 86,243 และ 10,831 ตัน คิดเป็น 46.89 และ 5.89 % ของผลผลิตรวม การแข่งขันทางการค้าภายใต้องค์การการค้าโลก (WTO) มีปัจจัยต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อกิจกรรมทางการค้าเพิ่มขึ้น ผลผลิตเกษตรจึงจำเป็นต้องมีคุณภาพและมาตรฐานตามที่กำหนด การใช้มาตรการด้านสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช

รหัสโครงการ 01-10-49-02

(SPS) เป็นอุปสรรคที่สำคัญในการขยายตลาดส่งออก เพราะฉะนั้นในการดูแลปฏิบัติในสวนส้มโอเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อให้ได้ส้มโอมีคุณภาพสม่ำเสมอ ปราศจากโรค และแมลง และมีพิษตกค้างในผลผลิตน้อย

หนอนเจาะผลส้มโอ *Citripestis sagittiferella* Moore เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งของส้มโอ โดยหนอนจะเจาะกินเข้าไปในผลส้มโอ รอยเจาะและรอยทำลายจะเห็นได้ชัดเจน เพราะมีมูลของหนอนที่ถ่ายออกมา บริเวณรอยแผลมียางไหลเยิ้ม ทำให้ผลเน่าและร่วง โดยหนอนเริ่มเข้าทำลายตั้งแต่ส้มโอมีอายุ 45 วัน จนถึงระยะเก็บเกี่ยว หากมีการระบาดรุนแรงความเสียหายอาจเกิดขึ้นได้ 100% (บุษบง, 2542) ข้อมูลด้านชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนอนเจาะผลส้มโอค่อนข้างน้อย จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการทดลองเพื่อให้ทราบข้อมูลทางชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนอนเจาะผลส้มโอ เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลเพื่อหาแนวทางการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เลี้ยงแมลง เช่น กล่องพลาสติก ผ้าขาวบาง โหลพลาสติก น้ำผึ้ง พู่กัน กรงเลี้ยงแมลง เป็นต้น
2. ต้นส้มโอ
3. ไฟฉาย
4. มีด คัตเตอร์
5. กรงเลี้ยงแมลง
6. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาษ ดินสอ เป็นต้น

วิธีการ

1. *แผนการทดลอง* -
2. *กรรมวิธี* -
3. *วิธีปฏิบัติทดลอง*

(1) ทำการเก็บตัวอย่างแมลงในแปลงและนำมาศึกษาชีววิทยาในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการเก็บผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลาย นำมาเลี้ยงและเก็บดักแด้ จากนั้นนำดักแด้มาแยกใส่กล่องพลาสติกปิดที่เจาะรูเพื่อระบายอากาศ และมีสำลีชุบน้ำผึ้ง 5% ไว้ เมื่อดักแด้เปลี่ยนเป็นผีเสื้อ ทำการการเก็บผีเสื้อตัวเต็มวัยมาเลี้ยงในกรงที่วางผลส้มโอ และมีน้ำผึ้ง 5 % เพื่อให้ผีเสื้อวางไข่ จากนั้นเก็บผลมาเลี้ยงต่อในกล่องพลาสติก ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมในระยะต่างๆ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติที่เหมาะสมต่อไป

(2) เก็บข้อมูลและสังเกตชีววิทยาและนิเวศวิทยาเบื้องต้นในสภาพแปลงปลูก

4. *การบันทึกข้อมูล* - วงจรชีวิต
- พฤติกรรม
- การทำลาย/การแพร่ระบาด

เวลาและสถานที่

เดือนกันยายน 2548 – ตุลาคม 2549

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา
- แปลงส้มโอของเกษตรกร จ.ตราด, ชุมพร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปีงบประมาณ 2549 ได้ทำการเก็บผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore ทำลายนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยาแล้ว พบว่า ผีเสื้อเพศเมียเริ่มวางไข่บนผลส้มโอที่มีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ขึ้นไป (ขนาดผลส้มโอเท่ากับผลมะนาว) ในช่วงเวลากลางคืน โดยจะวางไข่เป็นกลุ่มที่บริเวณส่วนกลางผลถึงก้นผล ประมาณ 2-19 ฟอง ไข่มีลักษณะกลมแบนสีขาวเกาะเป็นแพ เมื่อใกล้ฟักไข่จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ระยะไข่ใช้เวลาประมาณ 7-10 วัน เมื่อฟักออกมาเป็นตัวหนอนใหม่ๆ ลำตัวจะมีสีเหลือง หัวสีน้ำตาลเข้ม และเจาะเข้าไปที่ผลส้มโอเป็นกลุ่ม หนอนจะค่อยๆเจริญเติบโต กัดกินจากเปลือกไปสู่เนื้อภายในผลส้มโอ หนอนเมื่อเจริญเติบโตเต็มที่ลำตัวจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูแดง และมีแผ่นแข็งสีน้ำตาลเข้มที่บริเวณอกปล้องที่ 1 ระยะหนอนประมาณ 12-13 วัน ก่อนที่หนอนจะเข้าดักแด้สีลำตัวจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้าอมเขียว ออกจากผลและเข้าดักแด้ในดินโดยจะสร้างถุงค่อนข้างเหนียวหุ้มไว้ภายนอกโดยมีเศษดินห่อหุ้มอีกชั้นหนึ่ง ขนาดดักแด้ประมาณ 1.0-1.3 เซนติเมตร ระยะดักแด้ 8-10 วัน และเจริญออกมาเป็นตัวเต็มวัยมีปีกคู่หน้าลายทางสีน้ำตาลอ่อน ปีกคู่หลังมีสีขาวนวล ขนาดประมาณ 1.3-1.5 เซนติเมตร ผีเสื้อเพศผู้มีขนาดตัวเล็กกว่าเพศเมีย ระยะผีเสื้อเพศเมีย 5-8 วัน เพศผู้ 4-7 วัน

คำขอบคุณ

คุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์นโยบายและแผน คุณณิชาพร ฉ่ำประวิง นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยดำเนินการทดลองและเก็บข้อมูลในแปลงและห้องปฏิบัติการ ตลอดจนรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นจึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2545. การปลูกไม้ผลไม้ยืนต้น ปี 2543. กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร. 204 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2545. เกษตรดีที่เหมาะสม สำหรับส้มโอ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 26 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2548. ข้อมูลพืชชนิดต่างๆ : ส้มโอ จาก http://www.doa.go.th/data-

บุษบง มนัสมั่นคง. 2542. แมลงศัตรูส้มโอ. น. 79-89. *ใน* แมลงศัตรูไม้ผล. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูไม้ผล สมุนไพร และเครื่องเทศ, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

การป้องกันกำจัดหนอนฝีดาษส้มในส้มโออย่างเหมาะสม

Appropriate Control of Citrus Rind Borer on Pummelo

บุษบง มนัสมั่นคง ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา
ศรุต สุทธิอารมณ์ เกรียงไกร จำเริญมา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาการป้องกันกำจัดหนอนฝีดาษส้มในส้มโออย่างเหมาะสม ได้ดำเนินการที่ สวนส้มโอของเกษตรกร กิ่งอำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด ระหว่างเดือนกันยายน 2548 – ตุลาคม 2549 โดยการเปรียบเทียบ กรรมวิธีพ่นด้วยสารฆ่าแมลง cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร สลับกับ abamectin 1.8%EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร โดยพ่นก่อนดอกบาน 1 ครั้ง และเมื่อติดผลอ่อนทำการพ่น 8 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน กับกรรมวิธีพ่นด้วยสาร pretoleum spray oil 83.9% EC ความเข้มข้น 0.5% สลับกับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาความเข้มข้น 50 ppm. ก่อนดอกบาน 1 ครั้ง และเมื่อติดผลอ่อนทำการพ่น 8 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน และกรรมวิธีพ่นด้วยสารฆ่าแมลง cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร สลับกับ abamectin 1.8%EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร โดยพ่นก่อนดอกบาน 1 ครั้ง และเมื่อติดผลอ่อนทำการพ่น 4 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน และห่อผลเมื่อผลส้มโออายุ 1 เดือน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการป้องกันกำจัด พบว่าการพ่นสาร cypermethrin/ phosalone 6.25/22.5%EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร สลับกับสาร abamectin 1.8%EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร โดยพ่นก่อนดอกบาน 1 ครั้ง และพ่นสารสลับทุก 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง ร่วมกับการห่อผลเมื่อผลมีอายุประมาณ 1 เดือน จะสามารถป้องกันการเข้าทำลายผลส้มโอของหนอนฝีดาษส้มได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองอยู่ในระหว่างการดำเนินการทดลองเพื่อการยืนยันผลซึ่งจะได้รายงานต่อไป

รหัสโครงการ 01-10-49-02

คำนำ

หนอนฝีดาษส้ม (หนอนปม หรือ หนอนสร้างปม citrus rind borer, *Prays citri* Milliere) อยู่ในวงศ์ Yponomeutidae อันดับ Lepidoptera เป็นศัตรูที่สำคัญในแหล่งปลูกส้มโอหลายพื้นที่ เช่น สมุทรสงคราม นครศรีธรรมราช นครนายก และตราด เป็นต้น โดยตัวหนอนจะกัดกินอยู่ภายในเปลือกของผลซึ่งเป็นสีขาว เกิดลักษณะเป็นปุ่มปมคล้ายอาการของโรคฝีดาษ ผลผลิตไม่เป็นที่ต้องการของตลาดโดยเฉพาะอย่างยิ่งตลาดส่งออก การทำลายของหนอนจะอยู่เฉพาะบริเวณเปลือกไม่ถึงเนื้อ ยังสามารถบริโภคได้ และมีตลาดรองรับส้มโอที่เอาเปลือกออกแล้ว ทำให้เกษตรกรละเลยการป้องกันกำจัด เป็นผลให้เกิดการสะสมของแมลงมากและเพิ่มขึ้นทุกปี เกิดความสูญเสียต่อผลผลิตเพิ่มมากขึ้น เป็นปัญหาที่สำคัญในการพัฒนาคุณภาพผลผลิตเพื่อเพิ่มปริมาณการส่งออก เนื่องจากส้มโอเป็นพืชที่มีศักยภาพในการส่งออก ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาแนวทางในการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสม เพื่อลดการสะสมของแมลง เพิ่มผลผลิตที่มีคุณภาพ เพื่อสนับสนุนการส่งออกส้มโอที่มีคุณภาพ จำหน่ายยังต่างประเทศ อันเป็นนโยบายทางการค้าที่สำคัญของประเทศในปัจจุบัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นส้มโอที่ให้ผลผลิตแล้ว
2. สาร Parzon (cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC), abamectin (Jacket 1.8%EC), SK99 (pretoleum spray oil 83.9% EC) และสารสกัดจากเมล็ดสะเดา
3. สารจับใบ
4. อุปกรณ์ชั่ง ตวงสารเคมี
5. เครื่องยนต์พ่นสารแรงดันน้ำสูง แบบลากสาย
6. ถุงรีเมย์
7. บันได
8. มีด เชือก ฯลฯ

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1. พ่นด้วยสารฆ่าแมลง cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร สลับกับ abamectin 1.8%EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร โดยพ่นก่อนดอกบาน 1 ครั้ง และเมื่อติดผลอ่อนทำการพ่น 8 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน

กรรมวิธีที่ 2. พ่นด้วยสาร pretoleum spray oil 83.9% EC ความเข้มข้น 0.5% สลับกับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาความเข้มข้น 50 ppm. ก่อนดอกบาน 1 ครั้ง และเมื่อติดผลอ่อนทำการพ่น 8 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3. พ่นด้วยสารฆ่าแมลง cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร สลับกับ abamectin 1.8%EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร โดยพ่นก่อนดอกบาน 1 ครั้ง และเมื่อติดผลอ่อนทำการพ่น 4 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน และห่อผลเมื่อผลส้มโออายุ 1 เดือน

กรรมวิธีที่ 4. ไม่มีการป้องกันกำจัด

คัดเลือกแปลงส้มโอที่มีประวัติการระบาดของหนอนฝีดาษส้ม จำนวน 20 ต้น เมื่อส้มโอมีการออกดอก ดำเนินการตามกรรมวิธีต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น ทำการตรวจนับจำนวนผลส้มโอที่ถูกหนอนฝีดาษส้ม และศัตรูพืชชนิดอื่นๆ ทำลาย หลังการพ่นสารครั้งสุดท้าย 7 วัน บันทึกข้อมูล จำนวนผลส้มโอที่ถูกทำลายโดยหนอนฝีดาษส้ม จำนวนรอยทำลาย ศัตรูพืชชนิดอื่นๆ และต้นทุนในการป้องกันกำจัด เพื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนกันยายน 2548 – ตุลาคม 2549 ที่สวนส้มโอของเกษตรกร กิ่งอำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด และห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาการป้องกันกำจัดหนอนฝีดาษส้มในส้มโอ โดยการพ่นสารก่อนดอกบาน 1 ครั้ง และพ่นสารทุก 7 วัน เมื่อส้มโอมีการติดผลแล้ว ร่วมกับการห่อผล พบว่าการพ่นสาร cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC สลับกับสาร abamectin 1.8%EC ร่วมกับการห่อผลเมื่อผลมีอายุ

ประมาณ 1 เดือน จะสามารถป้องกันการเข้าทำลายผลส้มโอของหนอนฝีดาษส้มได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การพ่นสาร cypermethrin/ phosalone 6.25/22.5%EC สลับกับสาร abamectin 1.8%EC ทุก 7 วัน ยังพบการเข้าทำลายของหนอนบ้าง แต่ให้ผลดีกว่าการใช้สารสกัดจากสะเดาสลับกับสารน้ำมันธรรมชาติ petroleum spray oil ทุก 7 วัน ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการไม่พ่นสาร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การพ่นสาร cypermethrin/ phosalone 6.25/22.5%EC อัตรา 30 มล./น้ำ 20 ลิตร สลับกับสาร abamectin 1.8%EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร โดยพ่นก่อนดอกบาน 1 ครั้ง และพ่นสารสลับทุก 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง ร่วมกับการห่อผลเมื่อผลมีอายุประมาณ 1 เดือน จะสามารถป้องกันการเข้าทำลายผลส้มโอของหนอนฝีดาษส้มได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองอยู่ในระหว่างการดำเนินการทดลองเพื่อการยืนยันผลซึ่งจะได้รายงานต่อไป

การตรวจสอบและติดตามโรคแคงเกอร์ในแปลงปลูกส้มโอ

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] **อรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์**[2/] **วิชัย โฆสิตรัตน**[3/]
สุธามาศ ณ น่าน[4/] **วุฒิศักดิ์ บุตรธนู**[1/]
1/ **กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
2/ **หน่วยพันธุวิศวกรรมด้านพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีแห่งชาติ**
3/ **ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน**
4/ **ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่** 1

บทคัดย่อ

ทำการทดลอง 2 แปลง ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย เป็นแปลงเก่าที่ปลูกส้มโอรวบรวมพันธุ์ หนึ่งแปลง และแปลงที่ปลูกใหม่โดยใช้ส้มโอพันธุ์ทองดีปลอดโรค ติดป้ายต้นส้มโอในแปลงประเมินการเกิดโรคในแปลง โดย สุ่มยอดอ่อนต้นละ 5 ยอด จำนวน 10 ต้น ติดป้ายเพื่อประเมินโรค หลังติดป้าย 30 วัน ประเมินการเกิดโรคแล้วย้ายป้ายสุ่มยอดอ่อนใหม่จำนวน 5ยอดต่อต้น จำนวน 10 ต้นทุก 30 วัน พบว่าในแปลงรวบรวมพันธุ์ ตรวจพบอาการโรคแคงเคอร์ในเดือน พ.ค.-ก.ย. 49 และ แปลงปลูกใหม่โดยใช้ส้มโอทองดีปลอดโรค พบโรคแคงเกอร์ ในเดือน มิ.ย. –ก.ย. 49 ซึ่งเป็นช่วงที่เริ่มมีฝนตกและลมแรง เมื่อสุ่มเก็บยอดส้มโอที่ใบโตเต็มที่ ต้นละ 5 ยอด จำนวน 10 ต้น นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี PCR และ แยกเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ พบว่า แปลงปลูกส้มโอรวบรวมพันธุ์ ตรวจพบเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv.*citri* ในห้องปฏิบัติการ ในเดือน ม.ค – ก.พ. 49 และเดือน พ.ค.-ก.ย. 49 ตรวจไม่พบเชื้อในเดือน มี.ค.-เม.ย. 49 แปลงปลูกใหม่โดยใช้ส้มโอทองดีปลอดโรคเริ่มตรวจพบเชื้อ *X.axonopodis* pv.*citri* ในห้องปฏิบัติการในเดือน พ.ค.- ก.ย.49

คำนำ

โรคแคงเกอร์เป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งของพืชตระกูลส้ม สามารถเข้าทำลายต้นส้มได้ในทุกส่วนของต้น และมักพบระบาดรุนแรงในช่วงฤดูฝน เมื่อเป็นโรคมากๆจะทำให้ต้นส้มทรุดโทรม ใบร่วงต้นแคระแกรน ผลผลิตลดลงและไม่มีคุณภาพ สาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (=*Xanthomonas campestris* pv. c*itri*) เป็นเชื้อที่มี

รหัสโครงการ 01-10-49-02

ความสำคัญทางกักกันพืช ในกลุ่มสหภาพยุโรปจัดให้อยู่ในกลุ่ม EPPO A1 list (OEPP/EPPO, 1977) และเป็นศัตรูทางกักกันพืชของ IAPSC, JUNAC and NAPPOเช่นกัน EPPO ได้มีข้อกำหนดว่าประเทศที่มีเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ปรากฏอยู่ห้ามส่งต้นพันธุ์ตลอดจนผลส้ม ยกเว้นเมล็ดและต้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เข้าประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป (OEPP/EPPO, 1990a) ประเทศที่ส่งออกผลส้มหรือต้นส้มเข้าไปยังสหภาพยุโรปต้องมาจากประเทศที่ไม่มีเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ปรากฏอยู่และได้ปฏิบัติตามข้อกำหนดของ EPPO Phytosanitary Procedure No. 27 (OEPP/EPPO, 1990b)หรือ จากพื้นที่ที่ปลอดศัตรูพืชโดยมีวิธีการสำรวจและตรวจสอบโรคแคงเกอร์ที่เป็นที่ยอมรับของสหภาพยุโรปจาก การศึกษาเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถแบ่งกลุ่มตามการแพร่ระบาดในแหล่งต่างๆทั่วโลก (geographic distribution) และตามพืชอาศัย (Host rage) และแบ่งตามคุณสมบัติทางชีวเคมีเป็น 5 กลุ่ม ซึ่งเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ที่พบในประเทศไทยจัดอยู่ในกลุ่ม CBCD-A (Citrus Bacterial Canker Disease – A) เป็นกลุ่มที่แพร่ระบาดมากที่สุดในเอเชีย แอฟริกา หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก และในอเมริกาใต้ เชื้อในกลุ่มนี้จัดเป็นเชื้อที่มีพืชอาศัยกว้างที่สุด เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ที่พบระบาดในประเทศไทยเข้าทำลายพืชตระกูลส้มทุกชนิดที่ปลูก และสามารถแพร่ระบาดไปกับผลส้ม มะนาว และกิ่งพันธุ์ โดยเฉพาะกิ่งพันธุ์ถ้ามีโรคนี้ติดไป จะทำให้เกิดการระบาดไปยังต้นอื่นๆได้ ปัจจุบันได้มีการพยายามส่งออกผลส้มออกไปขายยังต่างประเทศ โดยเฉพาะส้มโอ ทำให้จำเป็นต้องหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคนี้ มิฉะนั้นจะไม่สามารถส่งผลส้มไปขายได้ เพราะเชื้อโรคนี้เป็นเชื้อที่สำคัญทางกักกันพืช โดยเฉพาะในประเทศในกลุ่มยุโรป ประเทศอเมริกา ออสเตรเลีย และญี่ปุ่น ห้ามนำผลส้มจากประเทศที่มีการระบาดของโรคแคงเกอร์เข้าประเทศ จนกว่าจะมีการสำรวจหาพื้นที่ปลูกที่ไม่มีโรคแคงเกอร์ (pest free area) รับรองแปลงปลอดโรคแคงเกอร์ มีการเฝ้าระวังและติดตามตลอดจนมีวิธีการตรวจสอบที่เป็นที่ยอมรับของประเทศนำเข้า จึงสามารถส่งออกได้

Hartung และคณะ (1993) ได้ทำการศึกษาการตรวจสอบเชื้อ*Xanthomonas campestris* pv. *citri*โดยวิธีเทคนิค PCR โดยใช้ fragment ขนาด 572 bp EcoRI จาก plasmid DNA ของ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* XC62 ที่เชื่อมต่อกับ pUC9 นำไปหาลำดับเบส และ design primer ได้ primer ขนาด 18 bp จำนวน 7 primer นำมาทดสอบโดยใช้เทคนิคPCR กับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* และ เชื้อแบคทีเรียอื่นๆ พบว่า มี 4 primer ที่สามารถเพิ่มปริมาณได้กับเชื้อ Xanthomonas campestris pv. citri และไม่เพิ่มปริมาณในเชื้ออื่นๆ และพบว่า primer 2-3 สามารถ เพิ่มปริมาณได้กับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* pathotype A

Hartung และคณะ(1996) ได้ศึกษาการตรวจสอบอย่างรวดเร็ว โดยใช้เทคนิค Immunocapture และ nested PCR ในการตรวจสอบเชื้อ *Xanthomonas axodopodis* pv. *citri*

โดยใช้ specific primer ในการเพิ่มปริมาณในส่วนของ plasmid DNA ของเชื้อแบคทีเรีย PCR product ที่ได้ถูกนำมาใช้ในการตรวจหาโดยวิธี immunocapture โดยใช้ monoclonal antiserum ในการตรวจสอบพบว่า สามารถตรวจหาเชื้อในใบส้มได้ในปริมาณที่ต่ำได้ โดยมีประสิทธิภาพเพิ่มมากกว่าการใช้ nested PCR อย่างเดียวอยู่ถึง 100 เท่า

การทดลองนี้เป็นการนำวิธีสำรวจเป็นประจำและการนำเทคนิคการตรวจสอบทั้งทางเซรุ่มวิทยาและอณูชีววิทยามาปรับใช้ เพื่อเป็นการติดตามและเฝ้าระวังโรค เป็นการเตือนการระบาดของโรค เพื่อจะได้ป้องกันกำจัดได้อย่างทันท่วงที ทำให้สามารถรับรองแปลงปลอดศัตรูพืชได้อีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย หัวพันธุ์ปทุมมา
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

ตรวจสอบเชื้อ*Xanthomonas axonopodis* pv.*citri* ในแปลงปลูก

ทำการสำรวจส้มโอทุกต้นในแปลงปลูก โดยการสังเกตลักษณะอาการของโรคแคงเกอร์ด้วยสายตา ทำการประเมินและให้คะแนนต้นส้มโอทุกต้นในแปลงปลูก ทำการสำรวจก่อนการกำจัดโรคแคงเกอร์หนึ่งครั้ง หลังทำการกำจัดโรคให้หมดจากแปลงแล้วทำการสำรวจด้วยสายตาทุกๆ 30 วัน โดยประเมินและให้คะแนนทุก 30 วัน

ทำการแบ่งแปลงปลูกออกเป็นแปลงเล็กเท่าๆกัน ขนาด 50 x 50 เมตร เลือกต้นส้มโอในแต่ละแปลงเล็ก จำนวน 2 ต้น เป็นตัวแทนของแปลง ทำการติดเครื่องหมายบอกให้ชัดเจน สุ่มเก็บกิ่งอ่อนที่มีใบคลี่เต็มที่แล้ว (ใบเพสลาด) จากต้นที่ทำเครื่องหมายไว้ในแต่ละแปลงเล็ก จำนวน 5 กิ่งต่อต้น เพื่อในไปตรวจหาเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv.*citri* ในห้องปฏิบัติการ โดยทำการสุ่มเก็บกิ่งอ่อนทุกๆ 30 วัน

การตรวจเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* จากตัวอย่างส้มโอในห้องปฏิบัติการ

นำกิ่งอ่อนที่สุ่มมาจากแต่ละแปลงเล็ก นำมาแช่ด้วย PBS buffer เพื่อให้แบคทีเรียที่ติดอยู่ภายนอกใบส้มโอถูกล้างออกมา นำไปตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เก็บตะกอนที่ได้ ไปละลายด้วย PBS buffer จำนวน 5 มิลลิลิตร นำไปตรวจหาเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv.*citri* ด้วยวิธี Polymerase chain reaction (PCR)ใช้ specific primerที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv.*citri* ตามวิธีการของ Hartung, *et.al*.(1993) ตรวจยืนยันด้วยการเลี้ยงบนอาหารเฉพาะ (selective media)

เวลาและสถานที่

ต.ค.48 - ก.ย.49 ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลอง

ทำการทดลอง 2 แปลง ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย เป็นแปลงเก่าที่ปลูกส้มโอรวบรวมพันธุ์ หนึ่งแปลง และแปลงที่ปลูกใหม่โดยใช้ส้มโอพันธุ์ทองดีปลอดโรค ติดป้ายต้นส้มโอในแปลง

ประเมินการเกิดโรคในแปลง โดย สุ่มยอดอ่อนต้นละ 5 ยอด จำนวน 10 ต้น ติดป้ายเพื่อประเมินโรค หลังติดป้าย 30 วัน ประเมินการเกิดโรคแล้วย้ายป้ายสุ่มยอดอ่อนใหม่จำนวน 5ยอดต่อต้น จำนวน 10 ต้นทุก 30 วัน พบว่าในแปลงรวบรวมพันธุ์ ตรวจพบอาการโรคแคงเคอร์ในเดือน พ.ค.-ก.ย. 49 และ แปลงปลูกใหม่โดยใช้ส้มโอทองดีปลอดโรค พบโรคแคงเกอร์ ในเดือน มิ.ย. – ก.ย. 49 ซึ่งเป็นช่วงที่เริ่มมีฝนตกและลมแรง

การตรวจเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ในห้องปฏิบัติการ สุ่มเก็บยอดส้มโอที่ใบโตเมที่ ต้นละ 5 ยอด จำนวน 10 ต้น นำมาตรวจในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี PCR และ แยกเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ พบว่า แปลงปลูกส้มโอรวบรวมพันธุ์ ตรวจพบเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv.*citri* ในห้องปฏิบัติการ ในเดือน ม.ค – ก.พ. 49 และเดือน พ.ค.-ก.ย. 49 ตรวจไม่พบเชื้อในเดือน มี.ค.-เม.ย. 49 แปลงปลูกใหม่โดยใช้ส้มโอทองดีปลอดโรคเริ่มตรวจพบเชื้อ *X.axonopodis* pv.*citri* ในห้องปฏิบัติการในเดือน พ.ค.- ก.ย.49

เอกสารอ้างอิง

Hartung, J. S., Daniel, J. F. and Pruvost, O. P .1993. Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* by the polymerase chain reaction method. *Appl Environ Microbiol* ;59:1143-8.

Hartung, J. S., Pruvost, O. P ,Villemot I.,and Alvarez, A. 1996. Rapid and colorimetric detection of *Xanthomonas axonopodis* p.v. *citri* by immunocapture and nested – polymerase chain reaction assay. *Phytopathology* 86:95-101.

OEPP/EPPO. 1977. Data sheets on quarantine organisms No. 1, *Xanthomonas citri*. *Bulletin OEPP/EPPO* 9 (2).

OEPP/EPPO (1990a) Specific quarantine requirements. *EPPO Technical Documents* No. 1008.

OEPP/EPPO (1990b) Quarantine procedures No. 27. *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. Inspection test and survey methods. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 20, 263-272.

ความสัมพันธ์ของหนอนชอนใบส้ม (*Phyllocnistis citrella* Stainton) กับการแพร่ระบาดของโรคแคงเกอร์ในแปลงส้มโอ

Relationship Between Citrus Leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton and Dispersed of Citrus Canker on Pummelo Orchard

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา บุษบง มนัสมั่นคง
สัญญาณี ศรีคชา ศรุต สุทธิอารมณ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ความสัมพันธ์ของหนอนชอนใบส้ม (*Phyllocnistis citrella* Stainton) กับการแพร่ระบาดของโรคแคงเกอร์ในแปลงส้มโอ ดำเนินการในแปลงส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวาของเกษตรกร อำเภอมโนรมย์ จังหวัดชัยนาท ในช่วงเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม 2549 โดยประเมินการทำลายของหนอนชอนใบและเปอร์เซ็นต์การทำลายของโรคแคงเกอร์ จากต้นส้มโอจำนวน 20 ต้นๆ ละ 5 ยอด ทุก 15 วัน ครั้ง จำนวน 3 ครั้ง พบว่า การเกิดโรคแคงเกอร์จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อรอยทำลายของหนอนชอนใบเพิ่มขึ้น ในสภาพแวดล้อมที่ความชื้นในอากาศค่อนข้างสูง

คำนำ

ส้มโอเป็นไม้ผลที่มีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากมีรสชาติดี และสามารถเก็บรักษาในรูปผลสดได้เป็นเวลานานโดยไม่เสียคุณภาพ เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีเปลือกหนา สามารถขนส่งได้ในระยะไกล สินค้าเกษตรของประเทศไทยที่มีศักยภาพสูงในการส่งออก เป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ ในปี 2544 ประเทศไทยส่งออกส้มโอ 7,517 ตัน มูลค่า 101.388 ล้านบาท (กรมวิชาการเกษตร, 2547) แต่พบว่าปริมาณและมูลค่าการส่งออกค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับไม้ผลบางชนิดที่มีศักยภาพต่ำกว่า สาเหตุสำคัญส่วนหนึ่งมาจากการที่ผลผลิตส้มโอของไทยมีคุณภาพไม่สอดคล้องกับความต้องการของตลาดส่งออก โดยเฉพาะปัญหาเรื่องโรคแมลงและการปนเปื้อนของสารเคมีบนผลผลิต ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นข้อจำกัดเพื่อกีดกันทางการค้าภายใต้กฎหมายกักกันพืช และมาตรการว่าด้วยสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชขององค์การการค้าโลก (WTO)

รหัสโครงการ 01-10-49-02

เนื่องจากพืชตระกูลส้มเป็นพืชที่มีปัญหาศัตรูพืชมาก ทำให้เกิดความเสียหายและผลผลิตในปีหนึ่งๆ คิดเป็นมูลค่าจำนวนมาก นอกจากการจัดการองค์ประกอบอื่นๆ แล้ว เช่น การเลือกทำเลปลูก ระบบปลูก ต้นตอ ดิน น้ำ การระบายน้ำ ธาตุอาหารแล้ว การจัดการศัตรูส้มอย่างมีประสิทธิภาพเป็นสิ่งหนึ่งที่มีความสำคัญมาก แมลง ไรและโรคศัตรูส้มโอสามารถเข้าทำลายทุกระยะการเจริญเติบ โต ของส้มโอ ตั้งแต่การแทงยอดอ่อน ช่อดอก ผลอ่อน ไปจนกระทั่งผลแก่ใกล้เก็บเกี่ยว เช่น เพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ หนอนฝีดาษส้ม หนอนเจาะผลส้มโอ ไรแดง ไรขาว โรคแคงเกอร์ โรคเมลาโนส โรครากเน่าโคนเน่า เป็นต้น โรคแคงเกอร์ หรือโรคขี้กลากเป็นโรคที่พบระบาดเสมอในแปลงปลูกพืชตระกูลส้มทุกชนิด และเป็นโรคที่กลุ่มประเทศสหภาพยุโรปใช้เป็นข้อกีดกันการนำเข้าพืชตระกูลส้มทุกชนิดภายใต้กฎหมายกักกันพืช และมาตรการว่าด้วยสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campaestris* pv. *citri* มักพบระบาดในระยะที่ส้มแตกใบอ่อน โดยจะระบาดรุนแรงในฤดูฝน สภาพอากาศร้อนชื้น ประมาณเดือนมิถุนายน จนถึงเดือนพฤศจิกายน พบหนอนชอนใบซึ่งเป็นแมลงที่พบระบาดในช่วงแตกใบอ่อนนั้น เป็นตัวช่วยสนับสนุนทำให้การเกิดการแพร่ระบาดมากขึ้น โดยหนอนชอนใบ (อำไพวรรณ, 2542) จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาความสัมพันธ์ของหนอนชอนใบส้ม (*Phyllocnistis citrella* Stainton) กับการแพร่ระบาดของโรคแคงเกอร์ในแปลงส้มโอ เพื่อให้ทราบบทบาทและความสัมพันธ์ของหนอนชอนใบส้ม ในการสนับสนุนการแพร่กระจายของโรคแคงเกอร์ และความสัมพันธ์กับปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ ในสภาพแปลงปลูก เพื่อเป็นแนวทางในการพยากรณ์การระบาดและป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นส้มโอ พันธุ์ขาวแตงกวา อายุ 7 ปี
2. เครื่องนับ
3. เครื่องวัดอุณหภูมิ ความชื้น
4. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาษ ดินสอ เป็นต้น

วิธีการ

1 ดำเนินการวิจัยในแปลงส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา ขนาด 4 ไร่ โดยตรวจนับจำนวนหนอนชอนใบส้มและประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแคงเกอร์จากยอดส้มโอ 5 ยอด/ต้น โดยทำการตรวจจากต้นส้มโอจำนวน 20 ต้น ทุก 15 วันครั้ง พร้อมทั้งเก็บข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณน้ำฝน

ศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชของพืชนำเข้า

Study on the Species of Insect Pests of Imported Crops

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ พรรณเพ็ญ ชโยภาส
รัตนา นชะพงษ์ ลักขณา บำรุงศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 – เดือน กันยายน 2549 ในพืชนำเข้า 2 พืช คือ พุทรา และทับทิม จากการสืบค้นข้อมูลและจากการสำรวจพบแมลงศัตรู**พุทรา** ทั้งหมด จำนวน 4 อันดับ 7 วงศ์ 8 ชนิด ได้แก่อันดับLepidoptera 4วงศ์ 4 ชนิด หนอนเจาะผล *Meridarchis* sp.* (Lepidoptera : Carposinidae) ,หนอนกินใบ *Euproctis* sp. (Lepidoptera : Lymantridae) หนอนคืบละหุ่ง *Achaea janata* Linnaeus (Lepidoptera : Noctuidae) หนอนม้วนใบ *Archips micaceana* (Walker) (Lepidoptera : Tortricidae) อันดับ Diptera 1 วงศ์ 1 ชนิด แมลงวันผลไม้ *Bactocera correcta* (Bezzi) (Diptera, Tephritidae) อันดับ Homoptera 1 วงศ์ 2 ชนิด เพลี้ยจักจั่น*Dryadomorpha pallida* Kirkaldy (Homoptera: Cicadellidae), เพลี้ยจักจั่นฝอยพุทรา *Qadria pakistanica* (Ahmed) (Homoptera: Cicadellidae)อันดับ Coleoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* (Fabricius) (Coleoptera : Curculionidae) แมลงศัตรู **ทับทิม** 2 อันดับ 6 วงศ์ 7 ชนิด อันดับ Lepidoptera 5 วงศ์ 6 ชนิด หนอนเจาะลำต้นกาแฟ *Zeuzera coffeae* Nietner (Lepidoptera : Cossidae) หนอนร่านกินใบ *Parasa lepida* Cramer (Lepidoptera : Limacodidae) *Dasychira mendosa* (Hübner) *Euproctis fraternal* Moore (Lepidoptera : Lymantridae) หนอนคืบละหุ่ง *Achaea janata* (Linnaeus) (Lepidoptera : Noctuidae) หนอนเจาะผล *Conogethes punctiferalis* (Guenée) (Lepidoptera : Pyralidae)อันดับThysanoptera 1 วงศ์ 1 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood (Thysanoptera : Thripidae) ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพุทรา ที่จังหวัดอยุธยา หนอนแดงพุทรา *Meridarchis* sp.เป็น

รหัสโครงการ 07-01-49-07

ผีเสื้อวงศ์ Carposinidae โดยหนอนเจาะทำลายผล ด้วงผลไม้แห้ง *Carpophilus* sp. เป็นด้วงในวงศ์ Nitidulidae และแมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* เป็นด้วงในวงศ์ Curculionidae กัดทำลายใบ แมลงศัตรูพุทรา เก็บตัวอย่างจากจังหวัดนครปฐม ได้แก่ เพลี้ยจักจั่น *Dryadomorpha pallida* Kirkaldy วงศ์ Cicadellidae ดูดน้ำเลี้ยงใบพุทรา และแมลงศัตรูทับทิม ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา พบ เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood วงศ์ Thripidae ทำลายใบทับทิม

คำนำ

การที่ประเทศสนับสนุนให้มีเขตการค้าเสรี (Free Trade Area, FTA) กับประเทศต่างๆ เพิ่มขึ้น สินค้าที่เคยมีการนำเข้าแล้วจะมีปริมาณนำเข้าเพิ่มขึ้น และเปิดโอกาสให้มีการนำเข้าสินค้าชนิดใหม่จากต่างประเทศ หากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เข้มงวด นอกจากจะเสียเปรียบต่อประเทศคู่ค้าแล้วอาจก่อให้เกิดปัญหาของศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศติดมากับสินค้าที่นำเข้า เกิดการแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดผลเสียต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างใหญ่หลวง จึงจำเป็นจะต้องทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชของพืชที่มีการนำเข้าทั้งหมด เฉพาะอย่างยิ่งสินค้าที่มีปริมาณนำเข้ามากและมีความเสี่ยงสูงที่จะมีศัตรูพืชเล็ดลอดติดเข้ามาโดยต้องเร่งทำการวิจัยเกี่ยวกับด้านชนิด จำนวนของแมลงศัตรูพืช ชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัด เพื่อที่จะได้จัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชที่พบในพืชนำเข้าทั้ง 9 พืช ไว้ตรวจสอบกับบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชที่ประเทศคู่ค้าส่งมา รวมทั้งนำไปเป็นข้อมูลสำคัญของฝ่ายกักกันพืชในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต่อไป รวมทั้งเป็นการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ เพื่อใช้เป็นแหล่งสืบค้นอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

พู่กัน แอลกอฮอล์ 75 % กล่องพลาสติกใส เข็มปักแมลง กล้องจุลทรรศน์ เอกสารวิชาการ คอมพิวเตอร์

วิธีการ

ขั้นตอนและวิธีการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. **ศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า**

1. การสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูพืชจากเอกสารที่มีการรายงานไว้ในประเทศไทย

2. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืช

2.1 วิธีการรวบรวมแมลง ใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่งหรือต้นพืชให้แมลงตกลงมาบนอุปกรณ์ที่รองรับ / ใช้พู่กันเขี่ยใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดองหากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะหนอน / ตัวอ่อน ต้องแบ่งตัวอย่างนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

2.2 การบันทึกข้อมูล บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรูพืชบันทึกข้อมูลสำคัญ อาทิ พืช / ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

3. ตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด

3.1 จัดเตรียมตัวอย่างจัดรูปร่าง (set) แมลง หรือ ทำสไลด์ถาวร นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 – 60 °C

3.2 ตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิด ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานโดยใช้เอกสารแนวทางการวินิจัยชนิดของแมลงศัตรูพืชประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์และตรวจวิเคราะห์ใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3 จัดทำป้ายบันทึกข้อมูล บันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน / เดือน / ปีและสถานที่จับ
วัน / เดือน / ปี ที่ทำ สไลด์ถาวร ชื่อน้ำยาที่ใช้เมาท์สไลด์

4.เก็บรักษาตัวอย่างแมลง โดยนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยแล้วเก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ แบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง ตุลาคม2548 – กันยายน 2549 ที่แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ และห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า

จากการศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า ระหว่างเดือน ตุลาคม2548 – กันยายน 2549 ในพืชนำเข้า 2 พืช คือ พุทรา และทับทิม

สืบค้นข้อมูลแมลงศัตรูพืชนำเข้า 2 พืช คือ พุทรา ทับทิม จากเอกสารในประเทศไทย และสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชนำเข้าจากแหล่งปลูกจังหวัดต่าง ๆ นำตัวอย่างแมลงมาจัดรูปร่างและวิเคราะห์ชนิด พบแมลงศัตรู **พุทรา** ทั้งหมดจำนวน 4 อันดับ 7 วงศ์ 8 ชนิด พบแมลงศัตรู **ทับทิม** 2 อันดับ 6 วงศ์ 7 ชนิด ดังตาราง

แมลงศัตรู **พุทรา** 8 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะผล *Meridarchis* sp.* (Lepidoptera : Carposinidae) ,หนอนกินใบ *Euproctis* sp. (Lepidoptera : Lymantridae) หนอนคืบละหุ่ง *Achaea janata* Linnaeus (Lepidoptera : Noctuidae) หนอนม้วนใบ *Archips micaceana* (Walker) (Lepidoptera : Tortricidae) แมลงวันผลไม้ *Bactocera correcta* (Bezzi) (Diptera, Tephritidae) , เพลี้ยจักจั่น*Dryadomorpha pallida* Kirkaldy (Homoptera: Cicadellidae), เพลี้ยจักจั่นฝอยพุทรา *Qadria pakistanica* (Ahmed) (Homoptera: Cicadellidae),แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* (Fabricius) (Coleoptera : Curculionidae)

แมลงศัตรู **ทับทิม** 7 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะลำต้นกาแฟ *Zeuzera coffeae* Nietner (Lepidoptera : Cossidae) หนอนร่านกินใบ *Parasa lepida* Cramer (Lepidoptera : Limacodidae) *Dasychira mendosa* (Hübner) *Euproctis fraternal* Moore (Lepidoptera : Lymantridae) หนอนคืบละหุ่ง *Achaea janata* (Linnaeus) (Lepidoptera : Noctuidae) หนอนเจาะผล *Conogethes punctiferalis* (Guenée) (Lepidoptera : Pyralidae) เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood (Thysanoptera : Thripidae)

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพุทรา ที่จังหวัดอยุธยา หนอนแดงพุทรา *Meridarchis* sp.เป็นผีเสื้อวงศ์ Carposinidae โดยหนอนเจาะทำลายผล ด้วงผลไม้แห้ง *Carpophilus* sp. เป็นด้วงในวงศ์ Nitidulidae และแมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* เป็นด้วงในวงศ์ Curculionidae กัดทำลายใบ แมลงศัตรูพุทรา เก็บตัวอย่างจากจังหวัดนครปฐม ได้แก่ เพลี้ยจักจั่น *Dryadomorpha pallida* Kirkaldy วงศ์ Cicadellidae ดูดน้ำเลี้ยงใบพุทรา และแมลงศัตรูทับทิม ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา พบ เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood วงศ์ Thripidae ทำลายใบทับทิม

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 – เดือน กันยายน 2549 ในพืชนำเข้า 2 พืช ได้แก่ **พุทรา** พบแมลงทั้งหมด จำนวน 4 อันดับ 7 วงศ์ 8 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะผล *Meridarchis* sp.* (Lepidoptera : Carposinidae) ,หนอนกินใบ *Euproctis* sp. (Lepidoptera : Lymantridae) หนอนคืบละหุ่ง *Achaea janata* Linnaeus (Lepidoptera : Noctuidae) หนอนม้วนใบ *Archips micaceana* (Walker) (Lepidoptera : Tortricidae) แมลงวันผลไม้ *Bactocera correcta* (Bezzi) (Diptera, Tephritidae) เพลี้ยจักจั่น *Dryadomorpha pallida* Kirkaldy (Homoptera: Cicadellidae), เพลี้ยจักจั่นฝอยพุทรา *Qadria pakistanica* (Ahmed) (Homoptera: Cicadellidae) แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* (Fabricius) (Coleoptera : Curculionidae) แมลงศัตรู **ทับทิม** 2 อันดับ 6 วงศ์ 7

ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะลำต้นกาแฟ *Zeuzera coffeae* Nietner (Lepidoptera : Cossidae) หนอนร่านกินใบ *Parasa lepida* Cramer (Lepidoptera : Limacodidae) *Dasychira mendosa* (Hübner) *Euproctis fraternal* Moore (Lepidoptera : Lymantridae) หนอนคืบละหุ่ง *Achaea janata* (Linnaeus) (Lepidoptera : Noctuidae) หนอนเจาะผล *Conogethes punctiferalis* (Guenée) (Lepidoptera : Pyralidae) เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood (Thysanoptera : Thripidae) จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพุทรา พบแมลงศัตรูที่สำคัญคือ หนอนแดงพุทรา *Meridarchis* sp. โดยหนอนเจาะทำลายผล ส่วนด้วงผลไม้แห้ง *Carpophilus* sp. ทำลายผลที่เน่าเสีย และแมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* เป็นด้วงซึ่งตัวเต็มวัยกัดทำลายใบ พบทั่วไปไม่รุนแรง และพบเพลี้ยจักจั่น *Dryadomorpha pallida* Kirkaldy ดูดน้ำเลี้ยงใบพุทรา พบ เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood ทำลายใบทับทิม ซึ่งการศึกษาครั้งนี้เป็นการสืบค้นข้อมูลและการสำรวจ ศัตรูที่พบและมีในประเทศไทย และนำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชดังกล่าวมาทำการวิเคราะห์ความเสี่ยง ว่าชนิดใดที่เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญ ร่วมกับการศึกษาบัญชีรายชื่อศัตรูพืชนำเข้า 2พืชที่พบในต่างประเทศ

ตาราง รายชื่อแมลงศัตรูพืชนำเข้า(ต.ค.48-ก.ย.49)พืช พุทรา และทับทิม

ชื่อพืช	ชื่อแมลง		อันดับ	วงศ์	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์			
พุทรา (แมลง)	หนอนเจาะผล Fruit boring caterpillar	*Meridarchis* sp.*	Lepidoptera	Carposinidae	ผล
	หนอนกินใบ Leaf eating caterpillar	*Euproctis* sp.	Lepidoptera	Lymantridae	ใบ, ยอดอ่อน
	หนอนคืบละหุ่ง Castor semilooper	*Achaea janata* Linnaeus	Lepidoptera	Noctuidae	ใบ
	หนอนม้วนใบ Leaf roller	*Archips micaceana* (Walker)	Lepidoptera	Tortricidae	ใบ
	แมลงวันผลไม้ Fruit fly	*Bactocera correcta* (Bezzi)	Diptera	Tephritidae	ผล
	เพลี้ยจักจั่น Leafhopper	*Dryadomorpha pallida* Kirkaldy *	Homoptera	Cicadellidae	ใบ
	เพลี้ยจักจั่นฝอยพุทรา Leafhopper	*Qadria pakistanica* (Ahmed)	Homoptera	Cicadellidae	ใบ, ยอดอ่อน
	แมลงค่อมทอง green weevil	*Hypomeces squamosus* (Fabricius) *	Coleoptera	Curculionidae	ใบ

ทับทิม (แมลง)	หนอนเจาะลำต้นกาแฟ Red coffee borer	*Zeuzera coffeae* Nietner	Lepidoptera	Cossidae	ลำต้น
	หนอนร่านกินใบ Nettle caterpillar	*Parasa lepida* Cramer	Lepidoptera	Limacodidae	ใบ
	หนอนบุ้งกินใบ Leaf eating caterpillar	*Dasychira mendosa* (Hübner)	Lepidoptera	Lymantriidae	ใบ
	หนอนบุ้งกินใบ Leaf eating caterpillar	*Euproctis fraternal* Moore	Lepidoptera	Lymantriidae	ใบ
	หนอนบุ้งกินใบ Leaf eating caterpillar	*Achaea janata* (Linnaeus)	Lepidoptera	Noctuidae	ใบ
	หนอนเจาะผล Fruit boring carterpillar	*Conogethes punctiferalis* (Guenée)	Lepidoptera	Pyralidae	ผล
	เพลี้ยไฟพริก chilli thrips	*Scirtothrips dorsalis* Hood*	Thysanoptera	Thripidae	ใบ

* สำรวจพบในช่วงเวลาที่ทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Hongsaprug , V. 2000. Leafhoppers and planthoppers of economic crops in Thailand.126 pp.(in Thai)

Wongsiri, N. 1991. List of insect, mite and other zoologicals pests of economic plants in Thailand. Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand

การศึกษาชนิดไรศัตรูของพืชเพื่อการนำเข้า

Study on the Species of Mite Pests of Imported Crops

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน
เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ วัฒนา จารณศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจไรศัตรูพืชนำเข้าตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2549 บนพุทราไทย พุทราจีน และทับทิม พบไรรวมทั้งสิ้น 11 ชนิด 4 วงศ์ แบ่งเป็นไรศัตรูพืช 5 ชนิด 2 วงศ์ และไรศัตรูธรรมชาติ 6 ชนิด 2 วงศ์

1. พุทราไทย จากการสำรวจที่อำเภอกำแพงแสน จ.นครปฐมและ อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี พบไร 3 ชนิด 2 วงศ์ได้แก่ *Oligonychus biharensis* (Hirst) ซึ่งเป็นไรศัตรูพืชอยู่ในวงศ์Tetranychidae และอีก 2 ชนิด เป็นไรตัวห้ำอยู่ในวงศ์ Phytoseiidae ได้แก่ *Phytoseius* sp. และ *Phytoseius hawaiiensis* Prasad

2. พุทราจีน จากการสำรวจในพื้นที่ อำเภอเวียงป่าเป้า และ อำเภอแม่สรวย จ. เชียงราย พบไรศัตรูพืชจำนวน 2 ชนิด คือ *Tetranychus kanzawai* Kishida และ *Eutetranychus africanus* (Tucker) ที่เหลืออีก 2 ชนิดเป็นไรศัตรูธรรมชาติ คือ *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando และอีกชนิดอยู่ใน Family Stigmaeidae

3. ทับทิม จากการสำรวจในพื้นที่เขตจตุจักร กรุงเทพฯ และพื้นที่ อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี พบไร 3 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่ *Oligonychus punicae* (Hirst), *E. africanus* เป็นไรศัตรูพืชอยู่ในวงศ์ Tetracychidae และ *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) อยู่ในวงศ์ Tenuipalpidae ส่วนไรตัวห้ำพบ 2 ชนิด ได้แก่ *Typhlodromus* sp. และ *Amblyseius nicholsi* Ehara and Lee อยู่ในวงศ์ Phytoseiidae

---

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

จากการเปิดเสรีทางการค้าทำให้ประเทศที่เป็นสมาชิกองค์การค้าโลก (World Trade Organization ; WTO) ไม่อาจใช้มาตรการด้านภาษี เพื่อการกีดกันทางการค้าได้ แต่ได้กำหนดมาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary Measures ; SPS) ขึ้นเพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการปกป้องผู้บริโภค พืชและสัตว์ ตลอดจนสภาพแวดล้อมภายในประเทศของตน มาตรการหนึ่งที่ประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรจะต้องให้ความสำคัญคือ การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดเข้ามากับสินค้าเกษตรจากประเทศผู้ส่งออก ในการที่จะวิเคราะห์ความเสี่ยงได้ ประเทศไทยซึ่งนำเข้าสินค้าจำพวกผัก ไม้ผล และไม้ดอก ไม้ประดับหลายชนิดจากต่างประเทศจะต้องมีข้อมูลเกี่ยวกับศัตรูของพืชที่จะนำเข้าทั้งที่มีปรากฏอยู่ในประเทศไทย และที่มีรายงานอยู่ในต่างประเทศอย่างครบถ้วนสมบูรณ์ก่อนจึงจะทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูของพืชที่จะนำเข้าได้ และจากการศึกษาชนิดของไรศัตรูพืชที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศเป็นปริมาณสูง (พุทรา ทับทิม) มีรายงานพบไรศัตรูพืชหลายชนิดด้วยกันที่เป็นศัตรูที่สำคัญเข้าทำลายพืชที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศเช่น *Brevipalpus lewisi* McGregor (Citrus flat mite) เป็นไรที่มีการสำรวจพบครั้งแรกบนมะนาวที่แคลลิฟลอเนียในปี 1942 มีพืชอาหารที่กว้างมากเช่น ส้ม ถั่วแอลฟัลฟา กุหลาบ ทับทิมและ ฝ้าย (Kerns *et al*., No date) นอกจากนี้มีรายงานพบไรอีก 3 ชนิด ในทับทิม ได้แก่ *Tenuipalpus punicae* Prichard and Baker, *Eriophyes granati* Canestrini และ *Lorrya formosa* Cooreman (Juan *et a*l., No date*)* Bolland *et al* (1998) รายงานพบไรศัตรูพืชในทับทิมหลายชนิดด้วยกัน เช่น *Oligonychus coffeae* (Neitner), *O. punicae* (Hirst), *Tetranychus kanzawai* Kishida และ *T. urticae* Koch สำหรับในพุทรา Bolland *et al* (1998) ได้รวบรวมไรศัตรูพุทราไว้หลายชนิดด้วยกันเช่น *Eutetranychus banksi* (McGregor) และ *E. orientalis* (Beglyarov & Mitrofanov)

สำหรับในประเทศไทย วัฒนา (2547) รายงานพบไรศัตรูพืชในทับทิม 2 ชนิด ได้แก่ *Oligonychsu punicae* (Hirst) และ *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) ส่วนในพุทรา วัฒนาและคณะ (2544) รายงานพบไรหลายชนิดด้วยกันในประเทศไทยได้แก่ ไรแดงมะม่วง *Oligonychus mangiferus* (Rahman and Sapra) ไรปมพุทรา *Larvacarus transitans* Ewing ไรอิริโอไฟอิดส์ปมพุทรา *Aceria ghanii* Keifer

จากที่มีรายงานพบไรศัตรูพืชที่สำคัญบนพืชนำเข้าต่าง ๆ จะเห็นได้ว่า การสำรวจและตรวจจำแนกชนิดของศัตรูพืชเหล่านี้ที่ปรากฏอยู่ในประเทศไทย เป็นสิ่งจำเป็นที่จะช่วยให้สามารถจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชนำเข้าเพื่อวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช ที่จะติดมากับพืชนำเข้าชนิดต่าง ๆ ได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไรเพื่อนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ถุงกระดาษ หรือกล่องพลาสติกใสสำหรับใส่ตัวอย่างพืชที่ถูกไรทำลาย กล่องพลาสติกรักษาความเย็น ขนาดความจุ 68 ควอทซ์ แว่นขยาย (กำลังขยาย 20x) กล้องสำหรับถ่ายภาพลักษณะการทำลายของไรบนส่วนต่าง ๆ ของพืช

2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการจำแนกชนิด ได้แก่ แผ่น สไลด์, coverglass, Hoyer's solution เข็มเขี่ยปลายแหลม พู่กันเบอร์ 0 ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตู้อบ สไลด์ยาทาเล็บ และกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ติดกล้องสำหรับใช้ถ่ายภาพไร

3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound microscope และ key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรศัตรูพืชและไรศัตรูธรรมชาติ

4. อุปกรณ์สำหรับการจัดทำรายงานผลการวิจัย ได้แก่ computer พร้อมแผ่นแม่เหล็กจัดเก็บข้อมูล หมึกพิมพ์สำหรับใช้กับเครื่อง computer

วิธีการ

การศึกษาชนิดไรศัตรูพืชบนพืชนำเข้า 2 ชนิด

1. ออกสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างไร บน พุทรา ทับทิม จากแหล่งปลูกในท้องที่จังหวัดต่าง ๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยเก็บใบ หัว และส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ถูกไรทำลาย ใส่กล่องพลาสติกใส พร้อมบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะการทำลายพืชอาศัย วันที่ สถานที่ ๆ เก็บตัวอย่างไรได้ และชื่อผู้เก็บไว้ที่กล่อง ก่อนที่จะนำไปแช่ในกล่องพลาสติกรักษาความเย็น ขนาดความจุ 68 ควอทซ์ ภายในบรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ ขณะนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

2. นำตัวอย่างไรที่เก็บได้จากใบ หัว และส่วนต่าง ๆ ของพืชเมาท์บนสไลด์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope) โดยใช้ Hoyer's solution เป็น mounting medium ปิดทับด้วย coverglass นำขึ้นอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์ เพื่อให้ระยางและส่วนต่าง ๆ ของไรยืดออกเต็มที่ นำตัวอย่างไรที่เมาท์แล้วบนสไลด์ เข้าอบในตู้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5 – 7 วัน จึงนำออกมาผนึกขอบ พร้อมบันทึกชื่อพืช สถานที่ วันที่ และชื่อผู้เก็บไว้ที่มุมข้างซ้ายของสไลด์

3. นำตัวอย่างไรบนสไลด์มาตรวจจำแนกชนิดใต้กล้อง compound microscope โดยใช้ key สำหรับจำแนกชนิดของไรศัตรูพืช ในกรณีพบไรตัวห้ำบนพืชที่กล่าวมาแล้ว ก็ใช้ key สำหรับจำแนกชนิดของไร ตัวห้ำ เช่น key สำหรับจำแนกไรในวงศ์ Phytoseiidae ใส่ชื่อชนิดของไรไว้ที่มุมทางด้านขวาของแผ่นสไลด์

4. รวบรวมสไลด์ตัวอย่างไรที่ได้รับการจำแนกชนิดแล้ว ใส่กล่องเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับการสืบค้นและอ้างอิงทางวิชาการที่เชื่อถือได้ต่อไป

5. จดบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของไรที่เก็บได้พุทรา ทับทิม รวมทั้งลักษณะการทำลายพืชอาศัย และเขตแพร่กระจายของไรบนพืชต่าง ๆ เหล่านั้น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจไรศัตรูพืชนำเข้าตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2549 บนพุทราไทย พุทราจีน และทับทิมพบไรรวมทั้งสิ้น 11 ชนิด 4 วงศ์ แบ่งเป็นไรศัตรูพืช 5 ชนิด 2 วงศ์ และไรศัตรูธรรมชาติ 6 ชนิด 2 วงศ์

1. พุทราไทย จากการสำรวจที่ อำเภอกำแพงแสน จ.นครปฐม และ อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี พบไร 3 ชนิด 2 วงศ์ได้แก่ *Oligonychus biharensis* (Hirst) ซึ่งเป็นไรศัตรูพืชอยู่ในวงศ์Tetranychidae และอีก 2 ชนิด เป็นไรตัวห้ำอยู่ในวงศ์ Phytoseiidae ได้แก่ *Phytoseius* sp. และ *Phytoseius hawaiiensis* Prasad

2. พุทราจีน จากการสำรวจในพื้นที่ อำเภอเวียงป่าเป้า และ อำเภอแม่สรวย จ. เชียงราย พบไรศัตรูพืชจำนวน 2 ชนิด คือ *Tetranychus kanzawai* Kishida และ *Eutetranychus africanus* (Tucker) ที่เหลืออีก 2 ชนิดเป็นไรศัตรูธรรมชาติ คือ *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando และอีกชนิดอยู่ใน Family Stigmaeidae

3. ทับทิม จากการสำรวจในพื้นที่เขตจตุจักร กรุงเทพฯ และพื้นที่ อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี พบไร 3 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่ *Oligonychus punicae* (Hirst), *E. africanus* เป็นไรศัตรูพืชอยู่ในวงศ์ Tetracychidae และ *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes) อยู่ในวงศ์ Tenuipalpidae ส่วนไรตัวห้ำพบ 2 ชนิด ได้แก่ *Typhlodromus* sp. และ *Amblyseius nicholsi* Ehara and Lee อยู่ในวงศ์ Phytoseiidae

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาการศึกษาชนิดไรศัตรูของพืชเพื่อการนำเข้า ยังไม่สิ้นสุดการทดลอง จึงยังไม่สามารถสรุปผลการทดลองได้

เอกสารอ้างอิง

วัฒนา จารณศรี มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2544. ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 192 .

วัฒนา จารณศรี. 2547. ไรที่เป็นศัตรูพืชและทำลายผลผลิตการเกษตรของประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร. 211น.

Bolland, H. R., J. Gutierrez and C. H. W. Flechtmann. 1998. World Catalogue of the Spider Mite Family(Acari:Tetranychidae). Koninklijke Brill NV. Netherlands. 392 pp.

Juan, p., J. Martinez,J.J. Matinez,M.A. Oltra and M. Ferrández. (No date). Current situation of pomegranate growing (Punica granatum L.) in southern Alicants. Chemical control of pests and diseases and financial cost. [online]. Aviilable: http://ressources.ciheam.org/om/pdf/a42/00600266.pdf

Kerns, D., G. Wright, and J. Loghry. (No date). Citrus Flat Mite (*Brevipalpus lewisi*). http://ag.arizona.edu/crops/citrus/insects/flatmite.pdf

การศึกษาชนิดของโรคพุทราและทับทิมเพื่อการนำเข้า

Diseases Survey and Diagnosis for Import Jujube and Pomegranate

พรพิมล อธิปัญญาคม
ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช พจนา ตระกูลสุขรัตน์
ดารุณี ปุญญพิทักษ์ บูรณี พั่ววงศ์แพทย์ นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล อมรรัตน์ ภูไพบูลย์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคชนิดต่าง ๆ ของพุทราและทับทิมจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย จำนวน 16 จังหวัด นำตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างปี 2548-2549 พบโรคของพุทราหลายชนิด ได้แก่ โรคใบจุดดำเกิดบนใบ สาเหตุเกิดจากรา *Pseudocercospora jujubae* เป็นโรคที่พบระบาดมากที่สุด โรคใบจุด ซึ่งลักษณะอาการแตกต่างกันเกิดจากราสาเหตุหลายชนิด ได้แก่ *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Guignardia*, *Pestalotiopsis*, *Phyllosticta* พบที่จังหวัดราชบุรี นครปฐม และ *Mycosphaerella* พบที่จังหวัดนครราชสีมา โรคใบจุดสาหร่าย พบที่จังหวัดเชียงราย โรคราแป้ง เกิดที่ใบและผลสาเหตุเกิดจากรา *Oidium zizyphi* พบที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี ปทุมธานี โรคราสนิม เกิดที่ใบ สาเหตุเกิดจากรา *Phakopsora ziziphi-vulgaris* พบที่จังหวัดราชบุรี นครนายก ปราจีนบุรี นครราชสีมา เชียงรายและเชียงใหม่ ราดำที่ใบพบที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ราชบุรีและสระบุรี และพบโรคราดำที่ผลในจังหวัดเชียงรายโรคผลเน่าแอนแทรคโนสสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* พบที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ราชบุรี นครราชสีมา โรคโคนและรากเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Rhizoctonia* เป็น Mutinucleate *Rhizoctonia* พบที่จังหวัดนครราชสีมา

จากการสำรวจโรคทับทิมพบโรคใบจุดสาเหตุเกิดจากรา *Phyllosticta punicae* พบที่จังหวัดนครราชสีมา ศรีสะเกษ กระบี่ เชียงใหม่ เชียงราย กาญจนบุรี สุราษฎร์ธานี ชลบุรี จันทบุรี และพบโรคราดำ นอกจากนั้นยังพบโรคเหี่ยวทับทิม สาเหตุเกิดจากรา *Ceratocystis fimbriata* ทำให้ต้นทับทิมยืนต้นตาย บ้านกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ในปัจจุบันการนำสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออกและนำเข้านั้นจะต้องมีข้อมูลการระบาดของศัตรูพืชของประเทศที่จะส่งสินค้าออกและประเทศคู่ค้า และประเทศไทยเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก โดยสมาชิกมีพันธกรณีต้องปฏิบัติภายใต้ข้อตกลงด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) พุทราและทับทิมเป็นผลไม้ที่นำเข้ามาจากประเทศจีนเป็นส่วนใหญ่ ประเทศผู้นำเข้าต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูของสินค้าเกษตร ดังนั้นการสำรวจ การประเมินความรุนแรงและการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุของโรคพุทราและทับทิมจึงมีความสำคัญเนื่องจากได้บัญชีรายชื่อโรคของพืชทั้งสองชนิดซึ่งเป็นข้อมูลการระบาดและความรุนแรงของโรคในปัจจุบัน ตลอดจนทราบชนิดสาเหตุของโรค เพื่อนำข้อมูลเหล่านี้ไปวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชต่อไป โดยการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาอนุกรมวิธานทั้งหมดไปจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญอย่างยิ่งที่ต้องส่งให้ประเทศคู่ค้าได้นำไปพิจารณาก่อนนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศไทย ในขณะเดียวกันข้อมูลด้านอนุกรมวิธานก็ใช้เป็นข้อมูลสำคัญของประเทศ สำหรับเปรียบเทียบกับข้อมูลบัญชีรายชื่อของประเทศคู่ค้าที่ส่งมา เพื่อประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ก่อนนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศคู่ค้านอกจากนี้ข้อมูลด้านอนุกรมวิธานยังเป็นประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน (Quarantine Pest) เพื่อการควบคุมศัตรูพืชจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาแพร่กระจายในประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ส่วนของพุทราและทับทิมที่เป็นโรค
2. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%
3. อาหารวุ้นสังเคราะห์ potato dextrose agar (PDA), corn meal agar (CMA), V8 juice agar, RNV เป็นต้น
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด Light microscope (LM) และ Stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายภาพ
5. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ได้แก่ เครื่องแก้ว กระบอกพลาสติก กรวยแก้ว จานเลี้ยงเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. และกระดาษกรอง (Whatman #2) เป็นต้น

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลโรคพุทราและทับทิมในประเทศไทย

สืบค้นข้อมูลโรคพุทราและทับทิมในประเทศไทย จากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเลคโทรนิค

2. การสำรวจรวบรวม และศึกษาโรคของพุทราและทับทิม

เก็บตัวอย่างโรคพุทราและทับทิมที่แสดงอาการโรคที่ใบ ดอก ผล ลำต้น และราก โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติค บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และข้อมูลภูมิศาสตร์ นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่ใบอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

3.1 การศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง

ศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคโดยตรงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เขี่ยเชื้อจากตัวอย่างดอก ใบ ผล กิ่ง ลำต้น ราก ของพุทราและทับทิมที่เป็นโรคลงบนแผ่นสไลด์ (slide) แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2 การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค (Tissue transplant)

แยกเชื้อจากส่วนที่เป็นโรคของพุทราและทับทิม (ตารางที่ 1) ตัดตัวอย่างโรคพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของราสาเหตุต่อไป

4. การพิสูจน์เชื้อ

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของพุทราหรือทับทิม โดยทำแผลและไม่ทำแผลอย่างละ 10 เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
ตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

สถานที่ แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลโรคพุทราและทับทิมในประเทศไทย

ได้รายชื่อโรคพุทราและทับทิมที่พบรายงานในประเทศไทย (ตารางที่ 1)

2. การสำรวจรวบรวม โรคของพุทราและทับทิม

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคชนิดต่าง ๆ ของพุทราและทับทิมในภาคกลาง จังหวัดนครปฐม ราชบุรี ปราจีนบุรี นครนายก ปทุมธานี สระบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดนครราชสีมา ศรีสะเกษ สุรินทร์ บุรีรัมย์ ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย ภาคตะวันออก จังหวัดจันทบุรี ภาคตะวันตก จังหวัดกาญจนบุรี และภาคใต้ จังหวัดกระบี่ สุราษฎร์ธานี ได้ตัวอย่างโรคพุทรา จำนวน 40 ตัวอย่าง และ โรคทับทิม จำนวน 15 ตัวอย่างและนำตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในระหว่างปี 2548-2549

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

โรคพุทรา

โรคใบจุดดำ

จากการสำรวจครั้งนี้พบโรคใบจุดดำระบาดมากที่สุด โดยเฉพาะในพื้นที่มีสภาพความชื้นสูงพบโรคมากกว่าในพื้นที่ที่มีสภาพอากาศแล้ง พบที่จังหวัดเชียงรายเชียงใหม่ กาญจนบุรี ปราจีนบุรี ศรีสะเกษ สุรินทร์ และ นครราชสีมา (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ ไม่พบอาการใบจุดบนผิวใบด้านบน พบแต่อาการสีเหลือง เป็นวงกลมขนาด 0.5-5.5 มิลลิเมตร ราสร้างเส้นใยและสปอร์สีน้ำตาลดำ เป็นกลุ่มหนาแน่น บนผิวใบด้านล่างทำให้ใบด้านบนตรงบริเวณที่ราเจริญอยู่มีสีเหลือง มักพบเห็นเส้นใยราเจริญอยู่ใต้ใบ ลักษณะอาการจะไม่เกิดเป็นใบจุด ลักษณะคล้ายกับราดำ มักพบเห็นเส้นใยราสีดำเจริญอยู่ใต้ใบพุทรา

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคใบจุดดำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเป็นกลุ่มฟูอยู่บริเวณด้านใต้ใบ สีน้ำตาลดำออกเขียว

ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Pseudocercospora jujubae* (Chowdhury) A.Z.M.N.A.Khan & S. Shamsi

Cercospora jujubae Chowdhury, J. Agric. Sci. 16:525, 1946

ไม่พบ stromata ราสร้าง conidiophore ลักษณะแตกเป็นกอ สีน้ำตาลอมเขียวอ่อน ๆ ขนาด 400-250 x 4-8 ไมครอน conidia สีน้ำตาลอมเขียวอ่อน ๆ ขนาด 30-55 x 7-13 ไมครอน มี 2-5 septate แต่ส่วนในใหญ่พบ 3 septate รูปร่าง ovclavate หรือ fusoid ตรงหรือโค้งเล็กน้อย

พบระบาดในประเทศพม่า อินเดีย ลาว มอริเทียส ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน และอเมริกา พบบนใบพุทรา (*Zizyphus mauritina*) (Ellis, 1993; Hsieh and Goh, 1990; Guo, 1995)

Chowdlhury (1946) รายงานพบรา *Cercospora jujubae* บนพุทราจีน (*Ziziphus jujube*) ในประเทศอินเดีย แต่ต่อมาในปี 1983 A.Z.M.N.A. Khan และ S. Samsi เปลี่ยนชื่อเชื้อเป็น *Pseudocercospora*

Gupta และ Madaan (1977) รายงานพบรา *Isariopsis indica* var. *zizyphi* P.C. Gupta & R.L. Madaan พุทรา ในประเทศอินเดียและพบว่าราชนิดนี้มีลักษณะคล้ายกับ *Cercospora jujubae* และเชื่อว่ารา *Isariopsis indica* var. *zizyphi* มีชื่อพ้องกับรา *Pseudocercospora jujubae*

โรคใบจุด

จากการสำรวจพบโรคใบจุดในจังหวัดราชบุรี นครปฐม และนครราชสีมา ลักษณะอาการเป็นแผลใบจุดแต่มีการแตกต่างกันหลายชนิด (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ

เชื้อสาเหตุเข้าทำลายใบของพุทราทำให้เกิดจุดแผลสีน้ำตาลอ่อนลักษณะกลม รี หรือรูปร่างไม่แน่นอน แผลมีสีน้ำตาลอ่อน มีราเจริญอยู่บนแผล

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคใบจุด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound พบราหลายชนิดเจริญอยู่บนแผล ผลของการตรวจเชื้อพบราหลายชนิดดังนี้

สาเหตุ *Alternaria alternata*

Colletotrichm gloeosporioides

Guignardia sp.

Mycosphaerella sp.

Pestalotiopsis sp.

Phoma sp.

Phyllosticta sp.

Alternaria alternata (Fr.) Keissler, 1912, Beih.Bot.Zbl., 29:434

Colony บนแผลเป็นจุดสีดำ หรือดำออกเขียว บางครั้งพบสีเทา ราสร้าง conidiophore อันเดียว ลักษณะตั้งตรง หรืออาจแตกแขนงบ้างแต่ไม่มาก conidia สีน้ำตาล รูปร่าง obclavate, obpyriform, ovoid หรือ ellipsoidal ขนาด 8-15 x11.5-42.5 ไมครอน ปลายข้างหนึ่งเรียวเล็กกว่าอีกข้างหนึ่ง มีผนังกั้นตามแนวตั้ง เกิดต่อกันเป็นลูกโซ่บนก้านชูสปอร์ (Ellis, 1971)

มีรายงานพบรา *A. alternata* บนพุทราจีน (*Z. jujuba*) ในประเทศจีน (Wang and Zhang, 2003) พบรานี้บนพุทรา (*Z. maurtiana*) ในประเทศอินเดีย (Diwakar and Manoharachary, C. 1980) และพบพุทรา (*Ziziphus* sp.) ในประเทศบาซิล (Mendes *et al*., 1998)

จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *A. alternata* บนใบจุดพุทรา ที่ตำบลบางช้าง อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม และบ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี

Colletotrichm gloeosporioides (Penz.) Sacc., Fung. Agrum. 2: 6 (1882)

ราสร้าง setae อยู่ใน acervulus และเจริญอยู่บนใบ conidia เกิดอยู่บนก้าน conidiophore การเกิดอาจเกิดอยู่เดี่ยว ๆ หรืออยู่รวมเป็นกลุ่ม conidiophore ขนาด 3.9-5.2 x 10.4-17.3 ไมครอน conidia ใส รูปร่าง ovoid หรือ oblong เซลล์เดียว ผนังเรียบ

มีรายงานพบ *C. gloeosporioides* บนพุทรา (*Z. jujuba* var. *inermis*) ในประเทศเกาหลี (Cho and Shin, 2004) และพบรานี้บนพุทรา (*Z. maurtiana*) ในประเทศอินเดีย (Gupta and Madaan, 1977)

จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *C. gloeosporioides* บนใบจุดพุทรา ที่ตำบลบางช้าง อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม และบ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี

Guignardia **sp.**

รา *Guignardia* อยู่ใน Class Ascomycetes Family Mycosphaerellaceae Oder Dohideales ราสร้าง ascomata เป็นจุดสีดำและมีรอยแตกด้านบนอยู่บนรอยแผล pseudothecium สีน้ำตาลดำ รูปร่าง globose-subglobose ผนังหนา asci มีลักษณะเป็น bitunicate รูปร่าง clavate –cylindrical ภายในมี 8 ascospores อยู่ใน asci ascospore ใส เซลล์เดียว รูปร่าง fusiform-ellipsoidal ตรงกลางเซลล์กว้างและปลายทั้งสองด้านมน

Anamorph ของราชนิดนี้คือ *Phyllosticta* ในการศึกษาครั้งนี้ก็พบรา *Phyllosticta* บนใบจุดพุทรา ที่อำเภอสันมราย จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งจะต้องทำการศึกษาต่อไปว่าเชื้อทั้งสองชนิดนี้เป็นเชื้อชนิดเดียวกันหรือไม่ ราใน genera นี้เป็นสาเหตุของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น โรค black spot ของพืชตระกูลส้ม สาเหตุเกิดจาก *Guignardia citricarpa* โรคใบจุดองุ่นสาเหตุเกิดจาก *Guignardia bidwellii* และโรคผลจุดดำของฝรั่งสาเหตุเกิดจาก *Guignardia psidii*

จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *Guignardia* sp. บนใบจุดพุทรา ที่บ้านโพหัก อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ไม่พบรายงานเชื้อนี้บนพุทราในประเทศอื่น

***Mycosphaerella* sp.**

รา *Mycosphaerella* อยู่ใน Class Ascomycetes Family Mycosphaerellaceae Oder Dohideales

รา *Mycosphaerella* อยู่ใน Class Ascomycetes Family Mycosphaerellaceae Oder Dohideales ราสร้าง ascomata เป็น uniloculate มั pseudothecium เป็นจุดสีดำและมีรอยแตกด้านบนอยู่บนรอยแผล หรือบางครั้งพบฝังอยู่ในเนื้อเยื่อพืช สีน้ำตาลดำ ขนาดเล็กมาก รูปร่าง globose มีผนังหนา 1-4 ชั้น asci มีลักษณะเป็น bitunicate รูปร่าง clavate ภายในมี 8 ascospores อยู่ใน asci ascospore ใส มี 2 เซลล์ ผนังกั้นเซลล์อยู่ตรงกลาง

Anamorph ของราชนิดนี้คือรา *Cercosporoid fungi* ในการศึกษาครั้งนี้พบรา *Mycosphaerella* sp. บนใบจุดพุทรา ที่บ้านซับยาง อ.หนองสาหร่าย

รา *Mycosphaerella* เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชหลายชนิด ในประเทศไทย พรพิมล และศรีสุรางค์ (2549) รายงานพบรา *M. musicola* เป็นสาเหตุโรคซิกาโตก้าของกล้วยน้ำว้าพบที่อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนกันยายน – ตุลาคม นอกจากนั้นยังพบรา *Mycosphaerella* sp. บนอาการใบจุดของลิ้นจี่ที่อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย พบโรคนี้เพียงครั้งเดียวเท่านั้น

จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *Mycosphaerella* sp.. บนใบจุดพุทรา ที่บ้านซับยาง ตำบลหนองสาหร่าย อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ไม่พบรายงานเชื้อนี้บนพุทราในประเทศอื่น

***Pestalotiopsis* sp.**

จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *Pestalotiopsis* sp.บนใบจุดพุทรา ที่บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี

พบรายงานราชนิดนี้บนพุทรา (*Z. maurtiana*) ในประเทศอินเดีย (Rai and Lal, 1982.)

***Phoma* sp.**

จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *Phoma* sp. บนใบจุดพุทรา ที่บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี

พบรายงานรา *P. hissarensis* บนพุทรา (*Z. maurtiana*) ในประเทศอินเดีย (Mathur,1979; Gupta and Madaan, 1977) พบรา *P. zizyphi* บนพุทราจีนในเอเชียกลาง (Koshkelova and Frolov, 1973

Phyllosticta sp.

จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *Phyllosticta* sp. บนใบจุดพุทรา ที่บ้านหนองจ๋อม อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่

โรคราสนิม

จากการสำรวจครั้งนี้ส่วนใหญ่พบพบโรคราสนิมบนต้นตอป่าที่ บ้านโพหัก อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี และอำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก ซึ่งที่สองแหล่งนี้เป็นแหล่งขายกิ่งพันธุ์ และยังพบระบาดบนพุทราที่อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ พบอาการจุดราสนิม ขนาดเล็ก กระจายอยู่ใต้ใบ ทำให้เกิดอาการจุดเป็นวงสีเหลืองด้านบนใบ

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพุทราเป็นโรคราสนิมภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Phakopsora ziziphi-vulgaris* Dietel

มีรายงานพบราสนิมบนพุทราจีนในประเทศจีน อินเดีย ปากีสถาน และไต้หวัน พบราสนิม บนพุทรา (Z. jujuba var. *inermis*) ในประเทศจีน เกาหลี และไต้หวัน พบราสนิมบนพุทรา (*Z. maurtiana*) ในประเทศไต้หวัน

โรคราแป้ง

จากการสำรวจครั้งนี้ส่วนใหญ่พบพบโรคราแป้ง ตั้งแต่ใบพุทราเริ่มแตกใบอ่อน หลังจากการตัดแต่งกิ่ง ราแป้งมีลักษณะเป็นผงสีขาวเจริญปกคลุมใบทั้งด้านบนใบและใต้ใบ ทำให้ใบซีดเหลือง บ้านโพหัก อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี และอำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก ซึ่งที่สองแหล่งนี้เป็นแหล่งขายกิ่งพันธุ์ และยังพบระบาดบนพุทราที่อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ พบอาการจุดราสนิม ขนาดเล็ก กระจายอยู่ใต้ใบ ทำให้เกิดอาการจุดเป็นวงสีเหลืองด้านบนใบ

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพุทราเป็นโรคราแป้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Oidium zizyphi* (Yen & Wang) U. Braun, Zbl. Mikrobiol. 137, p. 148 (1982)
Syn.: *Oidium erysiphoides* f. *zizyphi* Yen & Wan, Rev Myc. 37, p. 142 (1973)

ราสร้างเส้นใย effuse ไม่มีสี แตกแขนง มีผนังกั้น ผนังเรียบ slightly undulate ขนาด 3-7 ไมครอน appressoria multilobed ราสร้าง conidiophores ตั้งตรง มีผนังกั้น 3 septate ขนาด 97-130 x 6.5-8 ไมครอน foot cells รูปร่าง cylindric มีขนาด 50-65 x 5-7 ไมครอน conidia มีเซลล์เดียว รูปร่าง ovoid - dolifirm ขนาด 15-30x11-20 ไมครอน

มีรายงานพบราแป้งบนพุทรา ในประเทศอินเดีย ไต้หวันและประเทศไทย และยังมีรายงานพบรา *Oidium* บนพุทรา (*Zizyphus nummularia*) ในปากีสถาน(Braun, 1987)

โรคราดำ

จากการสำรวจพบโรคราดำที่ใบที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ราชบุรีและสระบุรี และพบโรคราดำที่ผลในจังหวัดเชียงราย ราสร้างเส้นใยเจริญอยู่ที่ขั้วของผลพุทรา (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ

เชื้อสาเหตุสร้างเส้นใยเจริญคลุมบนผิวของใบพุทรา ลักษณะเป็นเส้นใยสีดำ เกิดกระจัดกระจาย บนผิวด้านใต้ใบ ไม่หนาแน่น เชื้อสาเหตุไม่ทำลายพืชโดยตรงแต่จะทำให้การสังเคราะห์แสงของใบลดลง คราบสีดำของเชื้อสาเหตุจะพบได้ทั้งบนใบ และผล ราดำผลนั้นทำให้คุณภาพต่ำ

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคราดำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเป็นจุดสีดำบนใบขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร เจริญฟูบนผิวด้านใต้ใบ พบราทั้ง 3 ชนิดอยู่รวมกัน ได้แก่ *Cladosporium* , *Polychaeton* sp. และ *Scorias* sp.

มีรายงานพบรา *Cladosporium* บนพุทราจีน และผลพุทรา *(Z. mauritiana*) ในประเทศอินเดีย (Diwakar and Manoharachary, 1980; Borborua, 1990)

โรคใบจุดสาหร่าย (Red rust, Algal spot)

จากการสำรวจครั้งนี้พบโรคใบจุดสาหร่ายเพียงแหล่งเดียวเท่านั้น ได้แก่ อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย ในพื้นที่มีสภาพอากาศค่อนข้างชื้นจะพบการเกิดโรคสูงกว่าในสภาพอากาศแห้ง นอกจากนี้ในแปลงที่ไม่มีการดูแลจะพบโรคจุดสาหร่ายมาก

ลักษณะอาการ

เกิดจุดแผลกลมสีส้มปนเทากระจายบนผิวใบด้านบน แต่ไม่พบอาการด้านล่างของใบ จุดแผลที่เป็นโรคเมื่อมีอายุมากขึ้นมีลักษณะฟูเป็นขุยสีสนิมเหล็กมองดูคล้ายกำมะหยี่ ด้านล่างของใบเป็นแผลเนื่องจากเนื้อเยื่อถูกทำลาย ถ้าอาการของโรครุนแรงทำให้ใบที่เป็นโรคแห้งและร่วง โรคนี้

ส่วนใหญ่เกิดอาการบนใบแก่ที่ได้รับแสงแดดเนื่องจากสาหร่ายซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพืชจึงต้องการแสงแดดและความชื้นในการเจริญเติบโต

การศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคใบจุดสาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พบ sporangium ของสาหร่ายชูขึ้นมาบริเวณรอบแผลบนใบ และตรวจเชื้อภายใต้กล้อง compound microscope พบว่าสาหร่ายสร้าง sporangium สีส้มบนก้าน sporangiophore ยาว

สาเหตุ โรคใบจุดสาหร่ายเกิดจากสาหร่าย *Cephaleuros virescens* Kunze

โรคผลเน่าแอนแทรคโนส

จากการสำรวจพบโรคผลเน่าแอนแทรคโนส ที่อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ บ้านโพหัก อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี และอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ

ผลพุทราแสดงอาการจุดเน่าดำเล็ก ๆ ที่ขั้วผลและก้นผล แผลเป็นสีน้ำตาลขยายลุกลามทำให้เนื้อเยื่อยุบตัว ขยายตัวเป็นวง และพบกลุ่มสปอร์สีชมพูอมส้มเจริญอยู่บนแผล อาการโรคจะรุนแรมากในช่วงระยะเวลาใกล้เก็บเกี่ยว

การศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ

จากการศึกษาลักษณะของราสาเหตุจำแนกชนิดได้ *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุของโรคผลเน่าแอนแทรคโนส

Diwakae และคณะ (1980) ศึกษาโรคหลังเก็บเกี่ยวของพุทรา (*Z. mauritina*) ใน Hyderabad A.P. ประเทศอินเดีย พบราสาเหตุโรคหลังเก็บเกี่ยว 3 ชนิด ได้แก่ *Alternaria alternate*, *Fusarium decemcellulau* และ *Cladosporium cladosporioides*

โรคโคนและรากเน่า

จากการสำรวจพบโรคโคนและรากเน่าที่อำเภอปากช่อง จังหวัดลำพูน 1-5 เปอร์เซ็นต์ และที่ อำเภอปากช่อง จังหวัดเชียงใหม่ พบเพียงสวนเดียวนั้น

ลักษณะอาการ

ต้นพุทราจะแสดงอาการเหี่ยว ใบร่วงและยืนต้นตายในที่สุด จากการสำรวจพบพุทราเป็นโรคเพียงสวนเดียวเท่านั้น และเก็บตัวอย่างมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

แยกเชื้อสาเหตุจากโคนต้นและราก โดยวิธี Tissue transplanting พบรามีลักษณะโคโลนีสีเหลืองอมน้ำตาล ราสร้าง sclerotium เส้นใยมีลักษณะตั้งฉาก และมีนิวเคลียสหลายอันต่อเซลล์ (Mutinucleate) จากการศึกษาและจำแนกชนิดเป็นรา *Rhizoctonia* ลักษณะคล้ายกับ teleomorph ของ *Rhizoctonia* ซึ่งกำลังศึกษาจำแนกชนิดรานี้ต่อไป

เนื่องจากโรคนี้พบใหม่จึงทำการพิสูจน์การเกิดโรคตามวิธีของ Koch's postulates พบว่าราชนิดนี้ทำให้เกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อภายใน 21-30วัน และต้นตายหลังจากนั้น 7 วัน

โรคทับทิม

โรคใบจุด

จากการสำรวจครั้งนี้พบอาการใบจุดมากที่สุด พบที่จังหวัดเชียงใหม่ อุตรดิตถ์ นครราชสีมา กาญจนบุรี ปราจีนบุรี ศรีสะเกษ สุรินทร์ และ นครราชสีมา ศรีสะเกษ นครปฐม จันทบุรี สุราษฎร์ธานี และกระบี่ (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ แสดงอาการจุดเล็ก วงกลมขนาด 0.2-0.5 มิลลิเมตร แผลสีเทา ราสร้าง fruiting body บนแผล จุดเล็ก ๆ

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

เมื่อทำการจากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคใบจุดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Phyllosticta punicae* Saccardo & Spegazzini

จากการสำรวจพบโรคใบจุดหลายพื้นที่ ได้แก่ ตำบลหนองจ๋อม อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา อำเภอขุนหาน จังหวัดศรีสะเกษ อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี อำเภอเมือง จังหวัดกระบี่ ไม่พบรายงานเชื้อนี้บนพุทราในประเทศอื่น

ในปี 1952 พบโรคใบจุดของทับทิม มีสาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Xantomonas campestris* pv. *punicae* ที่ Tamil Nadu, Karnataka และ Maharashtra ทางตอนเหนือของประเทศอินเดีย นอกจากนั้นยังพบราหลายชนิดเข้าทำลายผล ได้แก่ *Aspergillus* spp, *Gloeosporium* sp., *Penicillium* sp. และยับพบโรคใบจุดเกิดจากรา *Cercospora punicae*, *C. lythracearum*, *Sphaceloma punicae, Phyllosticta* และ *Phomopsis* (Rangaswami, 1996) ต่อมาปี 1974 ในประเทศอินเดียยังพบราเข้าทำลายทับทิมหลังการเก็บเกี่ยวทำให้เกิดผลเน่าสาเหตุจากรา

Alternaria solani ทำให้ผลแตก นอกจากนั้นยังพบโรคที่ไม่มีความสำคัญมากนัก ได้แก่ โรคใบจุดและผลจุด สาเหตุเกิดจากรา *Cercospora, Gloeosporium* และ *Pestalotia* เป็นต้น (Morton, 1987)

โรคราดำ

จากการสำรวจพบโรคราดำที่ใบที่จังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และกระบี่ ราดำที่ผลพบที่จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 2)พบราดำที่ใบ ราสร้างกลุ่มของเส้นใยสีดำกระจายอยู่บนใบ

ลักษณะอาการ

เชื้อสาเหตุสร้างเส้นใยเจริญคลุมบนผิวของใบทับทิม ลักษณะเป็นเส้นใยสีดำ เกิดกระจัดกระจาย บนผิวด้านใต้ใบ ไม่หนาแน่น เชื้อสาเหตุไม่ทำลายพืชโดยตรงแต่จะทำให้การสังเคราะห์แสงของใบลดลง คราบสีดำของเชื้อสาเหตุจะพบได้ทั้งบนใบ และผล ราดำผลนั้นทำให้คุณภาพต่ำ

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคราดำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเป็นจุดสีดำ เจริญฟูบนผิวด้านใต้ใบ พบรา *Cladosporium* sp.

โรคเหี่ยว

จากการสำรวจโรคเหี่ยวของทับทิมพบโรคเหี่ยวที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

พรพิมล และคณะ (2548) รายงานพบโรคเหี่ยวของ ระบาดที่ตำบลกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (14º37.208′N; 101º14.755′E) จำแนกชนิดสาเหตุเป็นรา *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst และได้ทำการพิสูจน์การเกิดโรคตามวิธีของ Koch's postulates พบว่าราทำให้เกิดโรคที่ใบและลำต้นของทับทิมหลังจากปลูกเชื้อภายใน 14 วัน และต้นตายหลังจากนั้น 7 วัน รายงานนี้เป็นรายงานครั้งแรกที่พบรา *C. fimbriata* เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวทับทิมในประเทศไทย

ลักษณะอาการ

อาการของโรคเริ่มแรกพบว่าใบมีสีเหลือง และเหี่ยวจากกิ่งหนึ่งต่อมาแพร่กระจายไปยังกิ่งอื่น ๆ ทำให้เกิดอาการเหี่ยวทั้งต้น ต่อมาต้นทับทิมยืนต้นตายในที่สุด เมื่อถากผิวลำต้นตามแนวยาวตรงส่วนที่เป็นโรคออกพบเนื้อไม้เป็นสีน้ำตาล กระจัดกระจายเป็นหย่อม ๆ ถ้าอาการรุนแรงก็พบเนื้อไม้เป็นสีน้ำตาลเป็นพื้นที่กว้าง สำหรับในส่วนของรากที่เป็นโรคพบว่ารากที่ถูกทำลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ เกิดรอยแผลที่ราก จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของทับทิมที่เกิดในตำบลกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย มีลักษณะอาการคล้ายกับอาการที่เกิดโรคเหี่ยวของทับทิมในประเทศไทย (พรพิมล และคณะ, 2548) ประเทศอินเดีย (Somasekhara, 1999) และจีน (Huang *et el*., 2003)

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จำแนกราสาเหตุเป็น *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halst (Conodial state: *Thielaviopsis* sp. (Syn. *Chalara* sp.) ราสร้าง perithecia สีน้ำตาลถึงดำ ที่ฐานมีรูปร่างกลม มีขนาด 103 -340 ไมครอน ฝังตัวอยู่ใต้อาหาร ส่วนคอของ ostiole ยาวกว่าเส้นผ่าศูนย์กลางของ peritheicia หลายเท่า เกิดอยู่เหนืออาหาร สีดำ และที่ปลายสีค่อนข้างใส มีความยาว 330 – 876 ไมครอน ascospores สีใส ไม่มีสี รูปร่างคล้ายหมวก (hat – shaped) ไม่มีผนังกั้น ผนังเรียบ มีเกิดออกมาจากส่วนปลายของคอ perithecia มีขนาด 5-6 x 4-6 ไมครอน ascospores เกิดภายใน ascus รูปร่างกลม เมื่อแก่ผนังสลายตัวได้เอง (deliquescent) conidiophore สีใสถึงสีน้ำตาลอ่อนอมเขียว รูปร่างยาวเรียว แตกออกทางด้านข้างของเส้นใย มีผนังกั้น มีความยาวมากกว่า 150 ไมครอน conidia สีใส รูปร่างทรงกระบอก ผนังหนา มีขนาด 7.5 – 35 x 2.5 – 5 ไมครอน ที่ปลายตัด (truncate) conidia เกิดจากภายใน conidiophore เกิดต่อกันเป็นโซ่ประมาณ 10 หรือมากกว่า chlamydospores สีเขียวอมน้ำตาล รูปร่างกลมถึงรูปไข่ ผนังหนา มีขนาด 10 – 17.5 x 8.75 – 13.75 ไมครอน ส่วนใหญ่ chlamydospores เกิดที่ปลายเส้นใย (terminal) (พรพิมลและคณะ, 2548)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคชนิดต่าง ๆ ของพุทราและทับทิมจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างปี 2548-2549 พบโรคของพุทราหลายชนิด ได้แก่ โรคใบจุดดำเกิดบนใบ สาเหตุเกิดจากรา *Pseudocercospora jujubae* โรคใบจุด ซึ่งลักษณะอาการแตกต่างกันเกิดจากราสาเหตุหลายชนิด ได้แก่ *Alternaria alternata, Colletotrichum gloeosporioides, Guignardia, Pestalotiopsis, Phyllosticta* และ *Mycosphaerella* โรคใบจุดสาหร่าย โรคราแป้ง สาเหตุเกิดจากรา *Oidium zizyphi* โรคราสนิม สาเหตุเกิดจากรา *Phakopsora ziziphi-vulgaris* โรคผลเน่าแอนแทรคโนสสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* โรคราดำพบที่ใบและผล โรคโคนและรากเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Rhizoctonia* เป็น Multinucleate *Rhizoctonia*

จากการสำรวจโรคทับทิมพบโรคใบจุดสาเหตุเกิดจากรา *Phyllosticta ponicae* โรคราดำสาเหตุเกิดจาก *Cladosporium* และโรคเหี่ยวทับทิม สาเหตุเกิดจากรา *Ceratocystis fimbriata* ทำให้ต้นทับทิมยืนต้นตาย บ้านกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

รายชื่อโรคพุทราและทับทิมจากการสำรวจและจำแนกชนิดในครั้งนี้ นำไปใช้สำหรับเปรียบเทียบกับข้อมูลบัญชีรายชื่อของประเทศคู่ค้าที่ส่งมา เพื่อประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ก่อนนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศคู่ค้านอกจากนี้ข้อมูลด้าน

อนุกรมวิธานยังเป็นประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน (Quarantine Pest) เพื่อการควบคุมศัตรูพืชจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาแพร่กระจายในประเทศ

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ วิสารธานนท์. 2542.โรคพุทรา. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร “หมอพืช-ไม้ผล” ฉบับที่ 10. 13 หน้า.

พรพิมล อธิปัญญาคม และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2549. ราสาเหตโรคพืช Class Ascomycetes บนไม้ผล. หน้า 762-770. *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน วันที่ 30 มกราคม-2 กุมภาพันธ์ 2549.

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และสุพัตรา อินทวิมลศรี. 2548. โรคเหี่ยวของทับทิม *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7 โรงแรมปางสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่ วันที่ 1-4 พฤศจิกายน 2548.

Borborua, A. 1990. New host records of fungi from India. Indian J. Mycol. Pl. Pathol. 20: 201.

Braun, U. 1987. A monograph of the Erysiphales (powdery mildews). Printing in German. 700 pp.

Cho, W.D., and Shin, H.D., Eds. 2004. List of plant diseases in Korea. Fourth edition. Korean Society of Plant Pathology, 779 pp.

Chowdhury, S. 1946. Some fungi from Assam II. Ind. J. Agric. Sci. 16:520-527.

Diwakar Rama Wadia, K., and Manoharachary, C. 1980. Three postharvest diseases of *Zizyphus mauritiana* fruits from India. Pl. Dis. 64: 323-324 .

Diwakar Rama Wadia, K., and Manoharachary, C. 1980. Three postharvest diseases of *Zizyphus mauritiana* fruits from India. Pl. Dis. 64: 323-324.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew, Surrey, England. 608 pp.

Ellis, M.B. 1993. More Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew, Surrey, England. 507pp.

Hsieh, W.H and T.K Goh.1990. *Cercospora* and Similar Fungi from Taiwan. Maw Chang Book Company, Taiwan, Republic of China. 376 pp.

Guo, Y.I. 1995. The Genus *Pseudocercospora* in China. International Acadamic Publishers, Beijing, Republic of China. 388 pp.

Gupta, P.C., and Madaan, R.L. 1977. Fruit rot diseases of ber (*Ziziphus mauritiana* L.) from Haryana. Indian Phytopathol. 30: 554-555 .

Gupta, P.C. and R.L. Madaan. 1977. Diseases of fruits from Haryana. A new leaf spot disease of *ZiZyphus mauritiana* Lamk. Curr. Sci. 46: 237-238.

Huang, Q., Y.Y. Zhu, H.R. Chen. Y.Y. Wang, Y.L. Liu, W.J. Lu and X.Y. Ruan. 2003. First report of pomegranate wilt caused by *Ceratocystis fimbriata* in Yunnan, China. Plant Dis. 87: 1150.

Mathur, R.S. 1979. The Coelomycetes of India. Bishen Singh Mahendra Pal Singh, Delhi, India., 460 pp.

Mendes, M.A.S., da Silva, V.L., Dianese, J.C., and et al. 1998. Fungos em Plants no Brasil. Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, Brasilia, 555 pp.

Morton, J. 1987. Pomegranate. Pages 352-355. *In* : Fruits of Warm Climate. Julia F. Morton.Ploetz, R.C. 2003. Diseases of Mango. Pages 327-363. *In* : Diseases of Tropical Fruit Crops. CABI Publishing, UK.

Rangaswami, G. 1966. Diseases of Crop Plants in India. 3rd Ed. 498p.Somasekhara, Y.M. 1999. New record of *Ceratocystis fimbriata* causing wilt of pomegranate in India. Plant Dis. 83 (4): 400.

Rai, R.N., Arya, A., and Lal, B. 1982. *Pesalotiopsis* rot of ber (*Ziziphus mauritiana*). Indian Phytopathol. 35: 709-710.

Wang, H.-K., and Zhang, T.Y. 2003. RAPD analysis on small-spored *Alternaria* species. Mycosystema 22: 35-41.

Koshkelova, E.N., and Frolov, I.P. 1973. [Microflora of Kopet-Dag lowland and Central Karakum (micromycetes)]. Ylym, Ashkhabad, 194 pp. (36206)

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 โรคพุทราและทับทิมที่มีรายงานในประเทศไทย

เชื้อสาเหตุ	โรค	เอกสารอ้างอิง
โรคพุทรา		
Colletotrichum gloeosporiodes	โรคแอนแทรคโนส	นิพนธ์ (2542)
Oidium erysiphoides	โรคเราแป้ง	นิพนธ์ (2542)
Phakopsora ziziphi-vulgaris	โรคเราสนิม	นิพนธ์ (2542)
Phytophthora palmivora	โรคเผลเน่าและใบจุด	นิพนธ์ (2542)
โรคทับทิม		
Ceratocystis fimbriata	โรคเหี่ยว	พรพิมลและคณะ (2548)

ตารางที่ 2 โรคพุทราและเชื้อสาเหตุที่พบการระบาดในจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

โรค	เชื้อสาเหตุ	ส่วนที่เป็นโรค	สถานที่
โรคใบจุดดำ	*Pseudocercospora jujubae*	ใบ	- อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่ - ต. ปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่ - อ. แม่สรวย จ เชียงราย - สวนส้มดอยหลวง กิ่ง อ.ดอยหลวง จ. เชียงราย - อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - บ้านซับยาง ต.หนองสาหร่าย อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา - บ้านโปร่งประทุน ต. ปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา - ต. บ้านพระ อ. เมือง จ. ปราจีนบุรี - บ้านจำนรรจ์ ต. กระแชง อ. กันทรลักษณ์ จ. ศรีสะเกษ - อ. สังขละ จ. สุรินทร์
ใบจุด	*Alternaria alternata*	ใบ	- ต.บางช้าง อ. สามพราน จ.นครปฐม - บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี

โรค	เชื้อสาเหตุ	ส่วนที่เป็นโรค	สถานที่
ใบจุด	*Colletotrichum gloeosporioides*	ใบ	- ต.บางช้าง อ. สามพราน จ.นครปฐม - บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
	Guignardia sp.	ใบ	- บ้านโพหัก อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี
	Mycosphaerella sp.	ใบ	- บ้านซับยาง ต. หนองสาหร่าย อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	Phyllosticta sp.	ใบ	- บ้านหนองจ๋อม อ. สันทราย จ. เชียงใหม่
	Pestalotiopsis sp.	ใบ	- บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
	Phomo sp.	ใบ	- บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
ราสนิม	*Phakopsora ziziphi-vulgaris*	ใบ	- อ. แม่สรวย จ. เชียงราย - บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี - อ. บ้านนา จ. นครนายก
ราแป้ง	*Oidium zizyphi*	ใบ ผล	- บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี - อ. แม่สรวย จ. เชียงราย
ราดำ	*Aithaloderma* sp.	ใบ ใบ	- อ. เมือง จ. เชียงราย - สถานีทดลองโครงการหลวงปางดะ สะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
		ใบ	- บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
		ใบ	- บ้านหมอ จ. สระบุรี
	Cladosporium sp.	ผล	- อ. แม่สรวย จ. เชียงราย
	Polychaeton sp.	ผล	
	Scorias sp.	ผล	
ใบจุดสาหร่าย	*Cephareulos virescense*	ใบ	- อ. แม่สรวย จ. เชียงราย
แอนแทรคโนส	*Colletotrichum gloeosporioides*	ผล	- อ. แม่สรวย จ. เชียงราย - อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่ - บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี - อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
โรคโคนและรากเน่า	*Rhizoctonia* sp.		- อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

ตารางที่ 3 โรคทับทิมและเชื้อสาเหตุที่พบการระบาดในจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

โรค	เชื้อสาเหตุ	ส่วนที่เป็นโรค	สถานที่
โรคใบจุด	*Phyllosticta punicae*	ใบ	- บ้านทินเกวียน ต. หนองจ๋อม อ.สันทราย จ. เชียงใหม่ - อ. เมือง จ. อุตรดิตถ์ - บ้านกลางดง อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - ไร่สุวรรณ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - ไร่ตะวันออก อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - บ้านกระมัลพัฒนา ต. โพวงศ์ อ. ขุนหาน จ. ศรีสะเกษ - ต. ทรงคะนอง อ. สามพราน จ.นครปฐม - ต.บางกระเจ้า อ.แหลมสิงห์ จ.จันทบุรี - ต. ขุนทะเล อ. เมือง จ.สุราษฎร์ธานี - อ. เมือง จ. กระบี่
ราดำ	*Cladosporium* sp.	ใบ	- อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - อ. เมือง จ. กระบี่ - บ้านโป่งประทุน ต. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - อ. พนมทวน จ. กาญจนบุรี
โรคเหี่ยว	*Ceratocystis fimbriata*	โคนและราก	- อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

<u>ตารางที่ 3</u> บัญชีรายชื่อโรคพุทรา ที่พบการระบาดในจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

Pest	Geographical Distribution	Plant Part Affected	Quarantine Pest	Likely to Follow Partway
ALGAE				
Cephaleuros virescens Kunze [Chroolepidales]	อ.แม่สรวย จ.เชียงราย	L		
FUNGI				
Alternaria alternate [Mitosporic Fungi]	ต.บางช้าง อ. สามพราน จ.นครปฐม บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี	L		
Aithaloderma sp. Capnodiaceae Dothideales [Ascomycota]	- อ. เมือง จ. เชียงราย - สถานีทดลองโครงการหลวงปางดะ สะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ - บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี - บ้านหมอ จ. สระบุรี	L		
Cladosporium sp. [Mitosporic Fungi]	- อ. แม่สรวย จ. เชียงราย	F		
Colletotrichum gloeosporioides [Mitosporic Fungi]	ต.บางช้าง อ. สามพราน จ.นครปฐม บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี อ. ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี อ. แม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ อ.แม่สรวย จ.เชียงราย	L F		

Pest	Geographical Distribution	Plant Part Affected	Quarantine Pest	Likely to Follow Partway
Mycosphaerella Mycosphaerellaceae Dothideales [Ascomycota]	บ้านซับยาง ตำบลหนองสาหร่าย อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา	L		
Oidium zizyphi [Mitosporic Fungi]	อ. ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี อ. แม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ อ.แม่สรวย จ.เชียงราย	L, F		
Pestalotiopsis sp. [Mitosporic Fungi]	- บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี	L		
Phomo sp. [Mitosporic Fungi]	- บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี	L		
Phyllosticta sp. [Mitosporic Fungi]	- บ้านหนองจ๋อม อ. สันทราย จ. เชียงใหม่	L		
Polychaeton sp. Capnodiaceae Dothideales [Ascomycota]	- อ. แม่สรวย จ. เชียงราย	F		
Pseudocercospora jujubae (Chowdhury) A.Z.M.N.A.Khan & S. Shamsi	- อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่ - ต. ปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่ - อ. แม่สรวย จ เชียงราย - อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - บ้านซับยาง ต.หนองสาหร่าย อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา	L		Yes

Pest	Geographical Distribution	Plant Part Affected	Quarantine Pest	Likely to Follow Partway
[Mitosporic Fungi]	-ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จ. กาญจนบุรี - บ้านโปร่งประทุน ต. ปากช่อง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา - สวนส้มดอยหลวง กิ่ง อ.ดอยหลวง จ. เชียงราย - ต. บ้านพระ อ. เมือง จ. ปราจีนบุรี - บ้านจำนรรจ์ ต. กระแชง อ. กันทรลักษณ์ จ. ศรีสะเกษ - อ. สังขละ จ. สุรินทร์ - บ้านซับยาง ต. หนองสาหร่าย อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา			
Rhizoctonia sp. [Agonomycetes]	- อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา	S, R		
Scorias sp. Capnodiaceae Dothideales [Ascomycota]	- อ. แม่สรวย จ. เชียงราย	F		

ตารางที่ 4 บัญชีรายชื่อโรคทับทิม ที่พบการระบาดในจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

Pest	Geographical Distribution	Plant Part Affected	Quarantine Pest	Likely to Follow Partway
FUNGI				
Ceratocystis fimbriata Ellis & Halst Microascaceae Microascales [Ascomycota]	- อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา	S, R		
Cladosporium sp. [Mitosporic Fungi]	- อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - อ. เมือง จ. กระบี่ - บ้านโปร่งประทุน ต. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - อ. พนมทวน จ. กาญจนบุรี	L		
Phyllosticta punicae Saccardo & Spegazzini [Mitosporic Fungi]	- บ้านทินเกวียน ต. หนองจ๋อม อ.สันทราย จ. เชียงใหม่ - อ. เมือง จ. อุตรดิตถ์ - บ้านกลางดง อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - ไร่สุวรรณ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - ไร่ตะวันออก อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา - บ้านกระมัลพัฒนา ต. โพวงศ์ อ. ขุนหาน จ. ศรีสะเกษ - ต. ทรงคะนอง อ. สามพราน จ.นครปฐม - ต.บางกระเจ้า อ.แหลมสิงห์ จ.จันทบุรี - ต. ขุนทะเล อ. เมือง จ.สุราษฎร์ธานี - อ. เมือง จ. กระบี่	L		

การศึกษาชนิดโรคของส้มเพื่อการนำเข้า

Diseases Survey and Diagnosis for Imported Tangerines

วุฒิศักดิ์ บุตรธนู ไมตรี พรหมมินทร์ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
นุชนารถ ตั้งจิตรสมคิด ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาชนิดของโรคส้มเพื่อการจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อโรคและศัตรูของส้ม เพื่อประกอบการจัดการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ดำเนินการระหว่างปี 2547-2548 การศึกษามี 2 ส่วน คือค้นคว้าศึกษาข้อมูลจากเอกสารวิชาการต่างๆ และศึกษาโดยการสำรวจและประเมินโรคส้มจากแปลงปลูกส้มตามแหล่งปลูกในเขตจังหวัดภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ ผลของการศึกษา จากเอกสารวิชาการ พบโรคมีโรคส้มที่สำคัญ 42 ชนิด เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา 33 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 3 ชนิด ไวรอยด์ 1 ขนิด ฟายโตพลาสมา 1 ชนิด และเกิดจากสาหร่าย 1 ชนิด ผลจากการสำรวจ ศึกษาและประเมินการเป็นโรคในแปลงปลูกส้มเขียวหวาน ส้มโชกุนหรือสายน้ำผึ้ง ส้มโอ มะนาว ส้มโอเชียนนัมเบอร์วัน พบโรคที่สำคัญ 18 ชนิด เกิดจากเชื้อรา 13 ชนิด แบคทีเรีย 2 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด สาหร่าย 1 ชนิด และไม่ทราบเชื้อสาเหตุ 1 ชนิด คือ โรคแคงเคอร์ โรคแอนแทรคโนส โรคราสีชมพู โรคราดำ โรคเมลาโนส โรคคริสซี่เมลาโนส โรคกรีนนิ่ง โรคทรีสเทซ่า โรคขั้วผลเน่า พบการระบาดทุกแหล่งปลูก เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 10 -100 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะในแปลงปลูกที่ส้มอายุมากมีการระบาดดังกล่าวรุนแรงมากกว่าแปลงที่ต้นส้มอายุน้อย โรคสแคป พบระบาดในช่วงฤดูฝนในเขตปลูกภาคเหนือ ภาคเหนือตอนล่าง และภาคใต้ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ กำแพงเพชร และชุมพร โรครากเน่าโคนเน่าพบระบาดกับต้นส้มที่อายุมากในเขตจังหวัดแพร่ สุโขทัย ปทุมธานี และสุราษฎร์ธานี โรคผลเน่า (Crotch rot) ผลเน่าราดำ(Aspergillus rot) ผลเน่าราเขียว (Green mold) พบระบาดในช่วงเก็บเกี่ยวถึงหลังเก็บเกี่ยว ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ สุโขทัย ลพบุรี ปทุมธานี และสุราษฎร์ธานี โรคยางไหล ต้นแห้งตายจากเห็ด พบในเขตจังหวัดจันทบุรี ปทุมธานี กาญจนบุรี และเชียงใหม่

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ส้ม (Citrus) เป็นไม้ผลกึ่งร้อนที่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชีย ปัจจุบันมีการปลูกทั่วโลกพบได้ทั้งในแถบหนาวและแถบกึ่งร้อนของขั้วโลกเหนือและขั้วโลกใต้ แหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ยุโรป อัฟริกาตอนใต้ ออสเตรเลีย อินเดีย และสาธารณรัฐประชาชนจีน แหล่งปลูกส้มที่สำคัญของประเทศไทยแตกต่างกันตามชนิดของส้ม คือ ส้มเกลี้ยง มีแหล่งปลูกส่วนใหญ่จะอยู่ทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคใต้ จังหวัดที่ปลูกมากที่สุดได้แก่ ลำปาง เพชรบูรณ์ อุดรธานี ส้มเขียวหวาน ปลูกทั่วไป แต่ปลูกมากในเขตภาคกลางที่จังหวัดปทุมธานี กำแพงเพชร ลพบุรี จันทบุรี และภาคเหนือ ที่จังหวัดแพร่ เชียงใหม่ เชียงราย สุโขทัย ส้มจุก ภาคใต้ ที่จังหวัดสงขลา และสตูล ส้มตรา หรือส้มเช้ง ปลูกทั่วไปทุกภาค จังหวัดที่ปลูกมากได้แก่ ราชบุรี สมุทรสาคร เชียงใหม่ ส้มโอ ปลูกทั่วไปทุกภาคเช่นเดียวกัน แหล่งปลูกที่สำคัญ คือ จังหวัดชุมพร นครศรีธรรมราช นครปฐม ราชบุรี สระบุรี พิจิตร ชัยนาท และเชียงราย (นิรนาม, 2544)

การผลิตส้มในประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกส้มรวมโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 300,000-400,000 ไร่ ได้ผลผลิตรวม 676,894 ตัน ผลผลิตที่ได้ 99 % ใช้บริโภคในประเทศ ส่วนใหญ่บริโภคในรูปผลสด มีการแปรรูปในลักษณะน้ำส้มสดบ้างเล็กน้อย จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้มีการขยายพื้นที่ปลูกส้มมากขึ้น จากสถิติพื้นที่ปลูกส้ม ปี 2536-2544 พบว่าพื้นที่ปลูกส้มในประเทศเพิ่มมากขึ้นทุกปี อัตราการเพิ่มของพื้นที่ปลูกโดยประมาณ 1.24 % แต่ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่กลับลดลง อัตราการลดของผลผลิตต่อไร่ 3.67 % (นิรนาม, 2544)

ส่วนการนำเข้าส้ม ในแต่ละปีประเทศไทยมีการนำเข้าส้มค่อนข้างมากและเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จะเห็นได้จาก ในปี 2539 นำเข้าส้มส้มเขียวหวาน 39.55 ล้านตัน มูลค่า 0.74 ล้านบาท ปี 2545 นำเข้า 42.50 ตัน มูลค่า 1.41 ล้านบาท และปี 2546 นำเข้า 363.76 ตัน มูลค่า 7.19 ล้านบาท ประเทศคู่ค้าที่สำคัญ คือ จีน มีการนำเข้าส้มเนเว้ล วาเลนเซีย และแมนดาริน จากสหรัฐอเมริกา และออสเตรเลีย ปริมาณ 889.96 ตัน มูลค่า 25.04 ล้านบาท อย่างไรก็ดี ได้มีการส่งออกส้มเขียวหวานไปจำหน่ายต่างประเทศ ตลาดส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ ลาว กัมพูชา มาเลเซีย ฮ่องกง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นลักษณะของการค้าผ่านชายแดน (นิรนาม, 2544)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

- วัสดุและอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างโรคพืชในแปลง เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก กระดาษฟาง เฟรมอัดตัวอย่าง และ เลนส์ขยาย

- วัสดุอุปกรณ์ในการแยกเชื้อสาเหตุโรค เช่นอาหารวุ้น จานแก้วเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้วเลี้ยงเชื้อ เข็มเขี่ย ตะเกียง และ ตู้ปลอดเชื้อ
- วัสดุอุปกรณ์ในการจำแนกเชื้อสาเหตุโรค เช่น กล้องจุลทรรศน์ แผ่นสไลด์ สารเม้าท์สไลด์ ฟิล์มถ่ายรูป และเอกสารคู่มือการจำแนกเชื้อสาเหตุโรคพืช
- วัสดุอุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่น สมุดบันทึก กระดาษบันทึกข้อมูล แผ่นบันทึกข้อมูลคอมพิวเตอร์ และกล้องถ่ายรูป
-เอกสารวิชาการต่างๆ ภาษาไทย เช่น รายงานผลการทดลอง วารสารการเกษตร รายงานงานประชุม ภาษาอังกฤษ เช่น CABI, Proceeding, Compendium of Rice diseases, Rice diseases Mango diseases เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

การดำเนิน มี 3 ขั้นตอน คือ

1. ศึกษาจำแนกและรวบรวมชนิดของโรคส้มและพืชตระกูลส้มจากเอกสารวิชาการ

ทำการรวบรวมเอกสารวิชาการ ผลงานวิจัยและสิ่งตีพิมพ์ต่างๆ เกี่ยวกับโรคของส้มและพืชตระกูลส้ม ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ทำการสืบค้น ศึกษาและรวบรวมชนิดโรค เชื้อสาเหตุ ลักษณะอาการ การแพร่ระบาด และการป้องกันกำจัดโดยทั่วไป แล้วจัดทำบัญชีรายชื่อในส่วนของการค้นคว้าเอกสาร

2. ศึกษาและประเมินการเป็นโรคในสภาพสวนส้มหรือแปลงปลูกส้ม

โดยการประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคแต่ละชนิดที่พบระบาดในแปลง และประเมินความรุนแรงของโรคแต่ละชนิดโดยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของพืชที่ถูกทำลาย (รายละเอียดในส่วนท้าย ตารางที่ 2) ปฏิบัติงานจำนวน 5 ครั้ง รวมแหล่งปลูกส้มทั้งสิ้น 9 จังหวัด จำนวนสวนส้ม 34 แปลง ดังนี้

ครั้งที่ 1 วันที่ 21 สิงหาคม 2546 เขตปลูกส้ม อ. หนองเสือ จังหวัดปทุมธานี จำนวน 4 แปลง

ครั้งที่ 2 ช่วงวันที่ 25-28 สิงหาคม 2546 เขตปลูกส้ม อ. ร้องกวาง อ.เมือง อ. ลอง และ อ. วังชิ้น จังหวัดแพร่ อ. ศรีสัชนาลัย จังหวัดสุโขทัย จำนวน 11 แปลง

ครั้งที่ 3. ช่วงวันที่ 5-6 กันยายน 2546 เขตปลูกส้ม อ. เมือง จ. กำแพงเพชร จำนวน 5 แปลง

ครั้งที่ 4 ช่วงวันที่ 16-19 กันยายน 2546 เขตปลูกส้ม อ.ท่ายาง จ. เพชรบุรี อ.ประทิว จ. ชุมพร และ อ. เมือง จ. สุราษฎร์ธานี จำนวน 8 แปลง

ครั้งที่ 5. ช่วงวันที่ 29 กันยายน - 4 ตุลาคม 2546 เขตปลูกส้ม อ. เมือง จ. เชียงราย อ.แม่อาย และ อ. ฝาง จ. เชียงใหม่ 6 แปลง

การบันทึกข้อมูล บันทึกชื่อของสถานที่ทำการสำรวจ พันธุ์พืช อายุพืช สภาพการปลูกและการปฏิบัติดูแลโดยทั่วไป ชนิดโรคที่ปรากฏ เชื้อสาเหตุ ลักษณะอาการ เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้น

เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคและความรุนแรงของโรค มีมาตรการของการบันทึกข้อมูล คือ

โรคทางใบ (Foliar diseases) ส่วนยอด และ ผล เช่น โรคใบจุด กรีนนิ่ง แอนแทรคโนส ขั้วผลเน่า เมลาโนส เป็นต้น ประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยสุ่มตรวจประชากร 10 เปอร์เซ็นต์ของประชากรทั้งแปลง ขณะเดียวกันประเมินความเสียหายหรือความรุนแรงของพืชส่วนที่เป็นโรคเป็นเปอร์เซ็นต์เช่นเดียวกัน

โรคทางรากและ/หรือลำต้น (Root or Stem diseases) เช่น โรครากเน่าโคนเน่า โรคเปลือกแตกยางไหล เป็นต้น ประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคโดยสุ่มตรวจประชากร 10 เปอร์เซ็นต์ของประชากรทั้งแปลง

3. ศึกษาและจำแนกชนิดของโรคในห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างโรคส้มและพืชตระกูลส้ม จากทุกแปลงที่ทำการสำรวจ จะนำมาทำการแยกเชื้อสาเหตุ รวมทั้งพิสูจน์ และจำแนกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. โรคส้มและพืชตระกูลส้มจากการตรวจเอกสารวิชาการต่าง ๆ

โรคส้มและพืชตระกูลส้มที่สำคัญ 40 ชนิด (ตารางที่ 1) จำแนกเป็น 3 กลุ่มโรค คือ

1. โรคส้มและพืชตระกูลส้มที่ตรวจพบจากการสำรวจและตรวจพบในเอกสารวิชาการ มี 17 ชนิด คือ โรคแคงเคอร์(Canker) โรคโรคกรีนนิ่ง(greening) โรคทิสเตซ่า(Tristeza) โรคแอนแทรคโนส(Anthracnose) โรคมีลาโนส(melanose) โรคกรีสซิมีลาโนส(Greasymelanose) โรคราดำ(Sooty mold) โรคราสีชมพู(Pink disease) โรคใบจุดสาหร่าย(Algal spot) โรคสแคป(Citrus scab) โรคกิ่งแห้ง(Gummosis/Die-back) โรคขั้วผลเน่า(Stem end rot) โรคผลเน่าดำ(Aspergillus rot/Black fruit rot) โรคกิ่งแห้ง(Crotch rot) โรคผลเน่าสีเขียว(Green/blue mold) โรครากและโคนเน่า(Root and stem rot/ Foot rot)โรคที่เกิดจากเชื้อเห็ดรา(Mushroom root rot)

2. โรคส้มและพืชตระกูลส้มที่ไม่พบจากการสำรวจแต่ตรวจพบในเอกสารวิชาการว่ามีการระบาดในประเทศไทย มี 13 ชนิด คือ โรคเน่าคอดิน(Collar rot/Damping off) โรคผลเน่า(Fruit rot) โรคใบจุดสีน้ำตาล(Brown spot) โรคใบจุดวง(Leaf spot) โรคใบจุด(Cercospora leaf spot) โรค

ใบจุดอัลเทอร์นาเรีย(Alternaria leaf spot) โรคใบจุดเซบทอเรีย(Septoria leaf spot) โรคใบจุดสีดำ (Black spot) โรคเน่าใส้กลางผล (Center rot) โรคผลเน่าเปรี้ยว(Sour rot) โรคราแป้ง(Powdery mildew) โรครากเน่าโคนเน่า(Root rot/Foot rot/ Stem rot) และโรคราก้ามะหยี่(Felt fungus)

3 โรคส้มและพืชตระกูลส้มที่ตรวจพบในเอกสารวิชาการและไม่มีรายงานการระบาดในประเทศไทย มี 8 ชนิด คือ โรคราสีเทา(Grey mold) โรคผลเน่าสีน้ำตาล (Phytophthora brown rot) โรครากเน่า(Dry root rot) โรคต้นเหี่ยว(Fusarium wilt) โรคผลด่าง(Sooty blotch) โรคโซโรซีส (Psorosis) โรคใบฝอยหรือโรคสต๊ับบอน(Stubborn) และโรคเปลือกแตก(Scaly butt/Exocortis) (ตารางที่ 1)

2. ศึกษาประเมินการเป็นโรคในสภาพสวนส้มหรือแปลงปลูกส้ม และจำแนกชนิดของโรคในห้องปฏิบัติการ

จากผลการสำรวจและประเมินโรคในสภาพแปลงปลูกส้มของเกษตรกร พบโรคที่สำคัญ 16 ชนิด และผลการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรค (ตารางที่ 2) ดังนี้

1. โรคกรีนนิ่ง (Greening ; Bacterial like organism: BLO) พบการแพร่ระบาดทุกแปลง เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคในแต่ละแปลงแตกต่างกัน มีตั้งแต่เพียง 4.62 % บางแปลงเป็นโรคมากถึง 100 % แต่ส่วนใหญ่มีพืชเป็นโรคมากกว่า 75 00% ความรุนแรงของโรคพบตั้งแต่ระยะเริ่มแสดงอาการ อาการชัดเจน ถึงระยะต้นโทรม พบระบาดรุนแรงในแหล่งปลูกที่จังหวัดปทุมธานี สุราษฎร์ธานี สุโขทัย แพร่ และ เชียงราย ซึ่งแสดงอาการของโรคในส้มและพืชตระกูลส้มทุกชนิด ทั้งส้มเขียวหวาน โชกุน เลมมอน โอเชียนเบอร์ 1 ส้มโอ และ มะนาว (ตารางที่ 2)

2. โรคทริสเตซ่า (Tristeza ; Citrus tristeza virus : CTV) พบการแพร่ระบาดทุกแปลง ยกเว้นที่ จังหวัดกำแพงเพชร เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคในแต่ละแปลงแตกต่างกัน ระหว่าง 62.74-100 % ความรุนแรงของโรค 10.50-100 % (ตารางที่ 2) ระบาดรุนแรงในแหล่งปลูกจังหวัด ชุมพร ปทุมธานี เชียงใหม่ และ เชียงราย ในส้มเขียวหวาน โชกุน ส้มแลงเพอไลม์(Ranger lime) โอเชียนเบอร์ 1 และ มะนาว

3. โรคมีลาโนส (Melanose; *Phomopsis citri* Fawc.) พบการระบาดทุกแปลง ยกเว้นมะนาวที่ จังหวัดเพชรบุรี เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคระหว่าง 35.00-94.44 % ความรุนแรงของโรค 0.10-22.00 % (ตารางที่ 2) พืชเป็นโรครุนแรงในท้องที่จังหวัดสุโขทัย เชียงราย และปทุมธานี ส้มเขียวหวานเป็นโรครุนแรงกว่าส้มชนิดอื่นๆ

4. โรคกรีสซิมีลาโนส หรือโรคใบจุดน้ำหมาก (Greasy melanose; *Cercospora citri-grisea* Fisher.) พบการระบาดทุกแปลง เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคแตกต่างกัน อยู่ระหว่าง 5.38-100 %

ความรุนแรงของโรค 0.20-25.50 % ระบาดรุนแรงในเขตจังหวัดปทุมธานี สุโขทัย แพร่ และเชียงราย ส้มเขียวหวาน เป็นโรครุนแรงกว่าส้มชนิดอื่นๆ

5. โรคราดำ (Sooty mold ; *Capnodium citri* Berk& Desm) พบโรคระบาดเกือบทุกแปลง ต้นพืชเป็นโรค 10-83.12 % ความรุนแรงของโรค 0.20-15.00 % ระบาดรุนแรงในแปลงปลูกส้ม จังหวัดปทุมธานี สุโขทัย และสุราษฎร์ธานี ส้มเขียวหวาน เป็นโรครุนแรงกว่าส้มชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะส้มที่มีอายุมาก จะพบอาการของโรคที่ส่วนของใบ กิ่ง ลำต้น และผล

6. โรคราสีชมพู (Pink disease ; *Corticium salmonicolor* Berk&Br.) พบโรคที่กิ่ง และลำต้น ระบาดเกือบทุกแปลงเช่นเดียวกัน เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคโดยเฉลี่ยระหว่าง 6.67-76.67 % ความรุนแรงของโรค 0.20-20.40 % ระบาดรุนแรงในเขตปลูกส้ม เชียงราย กำแพงเพชร และปทุมธานี ส้มเขียวหวาน เป็นโรครุนแรงกว่าส้มชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะส้มที่มีอายุมาก

7.. โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose ; *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.) พบโรคที่ใบ และกิ่ง ระบาดทุกแปลง เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคโดยเฉลี่ยระหว่าง 18.40-83.33 % ระดับความรุนแรงของโรค .0.20-15.50 % พืชเป็นโรครุนแรงในเขตปลูกส้ม จังหวัดปทุมธานี เชียงราย และสุราษฎร์ธานี รวมทั้งพบอาการของโรคบนมะนาวที่จังหวัดเพชรบุรี

8. โรคใบจุดสาหร่ายหรือโรคราสีเขียว (Algal spot ;*Cephaleuros virescences* Kunze) พบโรคระบาดเกือบทุกแปลง เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคอยู่ระหว่าง 2.55-25.37% ระดับความรุนแรงของโรค 0.10-2.50 ระบาดรุนแรงในเขตปลูกส้มจังหวัดเชียงราย แพร่ สุโขทัย ปทุมธานี ชุมพร และพบบนมะนาวที่จังหวัดเพชรบุรี

9. โรคแคงเคอร์ (Canker ; *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Hasse) Dye.) พบโรคระบาดเพียงบางแปลง เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคอยู่ระหว่าง 3.33-100 % ความรุนแรงของโรค 0.20-40.00 % ระบาดรุนแรงในเขตปลูกส้มจังหวัดชุมพร กำแพงเพชร เชียงใหม่ สุโขทัย แพร่ และมะนาวที่จังหวัดเพชรบุรี โดยเฉพาะส้มโอเชียนเบอร์ 1 ที่ จังหวัดกำแพงเพชร ส้มโอที่จังหวัดแพร่ ส้มโชกุนที่จังหวัดชุมพร และมะนาวที่จังหวัดเพชรบุรี

10. โรคสแคป (Scab ; *Sphaceloma fawcettii* Jenkin.) พบโรคระบาดเพียงบางแปลง เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคอยู่ระหว่าง 3.33-53.97 % ความรุนแรงของโรค 0.10-75.00 % ระบาดรุนแรงในเขตปลูกส้มจังหวัดชุมพร กำแพงเพชร และเชียงใหม่ พบพืชเป็นโรคเล็กน้อยที่จังหวัดแพร่ และเชียงราย ส้มโชกุนที่จังหวัดชุมพร กำแพงเพชร เชียงใหม่ และส้มแลงเพอไลม์ที่จังหวัดเชียงราย เป็นโรครุนแรง-รุนแรงมาก

11. โรคกิ่งแห้ง (Gummosis/Dieback ; *Diplodia natalensis* P.Evan. และ *Botryodiplodia theobromae* Pat.) พบโรคระบาดประปรายเกือบทุกแปลง เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคอยู่ระหว่าง 1.53 -5.91 % ความรุนแรงของโรค 0.40-15.00 % ระบาดรุนแรงในเขตปลูกส้มจังหวัดแพร่ สุโขทัย

กำแพงเพชร และปทุมธานี ส้มเขียวหวาน ส้มโชกุนที่จังหวัดแพร่ ส้มโอเชียนเบอร์ 1 ที่กำแพงเพชร เป็นโรครุนแรง -รุนแรงมาก

12. โรครากและโคนเน่า (Root and Stem rot; *Phytophthora parasitica* Dast) พบโรคระบาดเพียงเล็กน้อย ประปรายเพียงบางแปลง เปอร์เซ็นต์ต้นพืชเป็นโรคอยู่ระหว่าง 0.94-3.33 % ความรุนแรงของโรค 1.00-5.00 พบพืชเป็นโรคในเขตปลูกส้มจังหวัดแพร่ สุโขทัย ปทุมธานี และสุราษฎร์ธานี พบโรคบนส้มเขียวหวาน ส่วนที่จังหวัดแพร่พบบนส้มโชกุน

13. โรคขั้วผลเน่า (Stem end rot; *Phomopsis citri* Faw.และ *Botryodiplodia theobromae* Pat.) พบโรคประปรายเพียงบางแปลง เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 0.50-5.56 % พบมากบนส้มเขียวหวาน ที่ปลูกในเขตจังหวัดแพร่ สุโขทัย และปทุมธานี

14. โรคผลเน่าดำ (Aspergillus rot ; *Aspergillus niger* Van Tiegh) พบโรคประปรายเพียงบางแปลง เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 0.58 -1.91 % พบมากในเขตปลูกส้มจังหวัดแพร่ สุโขทัย กำแพงเพชร และปทุมธานี

15. โรคผลเน่าสีเขียว/เทา (Green mold ; *Penicillium digitatum* Sacc.) พบโรคประปรายเพียงบางแปลงเช่นเดียวกัน เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 0.22-2.53 % พบมากในเขตปลูกส้มจังหวัดแพร่ สุโขทัย กำแพงเพชร และปทุมธานี

16. โรครากเน่าโคนเน่าจากเชื้อเห็ดรา [Mushroom root rot : *Amillaria mellea*(Vahi ex Fer.)Kummer] พบโรคเล็กน้อย ประปรายเพียงบางแปลงในเขตปลูกส้มจังหวัดแพร่ สุโขทัย และปทุมธานี

17. โรคกิ่งแห้ง (Crotch rot : *Phomopsis citri*) พบโรคเล็กน้อย ประปรายเพียงบางแปลงในเขตปลูกส้มจังหวัดแพร่ และปทุมธานี

18. อาการแผลดาวกระจาย (Star flash/ star melanose ; Unknown) พบอาการนี้เกือบทุกแปลง เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 8.87-15.69 % พบมากในเขตปลูกส้มจังหวัดเชียงรายเชียงใหม่ แพร่ กำแพงเพชร และปทุมธานี โดยเฉพาะส้มโชกุนแสดงอาการแผลดาวกระจายรุนแรงกว่าส้มพันธุ์อื่นๆ

สรุปผลการทดลอง

จากผลการสำรวจและศึกษาโรคส้มและพืชตระกูลส้มในช่วงเดือนสิงหาคม-กันยายน 2546 ในเขตปลูกภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคใต้ พบการระบาดโรคชนิดต่างๆ แตกต่างกัน เช่นโรคสแคป พบระบาดรุนแรงในเขตจังหวัดกำแพงเพชร เชียงใหม่ และชุมพร โรคทริสเตซ่า ไม่พบการระบาดที่จังหวัดกำแพงเพชร เนื่องจากเกษตรกรปลูกด้วยต้นพันธุ์ส้มปลอดโรค สำหรับโรครากและโคนเน่าที่เคยเป็นปัญหาที่สำคัญของการปลูกส้ม ปัจจุบันพบพืชเป็นโรคเพียงเล็กน้อย อาจ

เนื่องจากเกษตรกรปลูกด้วยต้น stock ที่ทนทานต่อโรค ส่วนโรคกิ่งแห้งกับส้มที่อำเภอวังชิ้น จังหวัดแพร่ เกิดจากเชื้อรา *Phomosis citri* พบว่ายังไม่มีรายงานการเกิดโรคที่กิ่ง แต่เชื้อราชนิดนี้มีรายงานทำให้เกิดโรคขั้วผลเน่าของส้ม จากผลการศึกษานี้จะนำไปจัดทำบัญชีรายชื่อโรคของส้มฉบับสมบูรณ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Annonymous. 1958. The public services on plant disease diagnostic. Page 83-86 *in* : The Division of Plant Pathology Annual Report 1958. Dept. of Agriculture, Bangkok. (In Thai)

Annonymous. 1960. The public services on plant disease diagnostic. Page 168-181 *in* : The Division of Plant Pathology Annual Report 1958. Dept. of Agriculture, Bangkok (In Thai)

Bharadornuvuth, A., V. Koapradithsakul, W. Kumjaipaiy, S. Uthatham and N. Thaveechai. 1984. Citrus Diseases in Thailand. Funny Pub. Bangkok. 126 pp. (In Thai)

Boon-Long, T., S. Vijitranonta and S. Chingduang. 2002. Diseases of Fruit Trees. Plant Pathology and Microbiology Division, Dept of Agriculture, Bangkok.120 pp. (In Thai)

Chandrasrikul, A. 1962. A preliminary host list of plant diseases in Thailand. Tech. Bulletin No. 6. Dept. of Agriculture, Bangkok. 23 pp.

CABI, 2003. Crop Protection Compendium 2003. CAB International, Wallingford, UK.

Kaisuwan, T. 1972. Lemon Cultivation. Kasikon Journal 45(3):217- 223.(In Thai)

Kamjaipiay, W. 1984. Citrus diseases caused by fungi and bacteria. Page 20-42 *in* : Newsletter of Plant Protection : Diseases and Insects of Citrus in Thailand. The Thai Phytopathological Soc. Bangkok.(In Thai)

Kamjaipiay, W. and S. Intavimolsri. 1983. Foot rot of pummelo. Journal of Thai Phytopathological Soc. 3(4):201-203. (In Thai)

Kueprakon, U., S. Soengkong and S.Tontyaporn. 1985. The genera of a fungus Phytophthora spp. In Thailand. Page 409-421 *in* : Proceeding of the 28th Kasetsart University Annual Conference(Plant).4-6 Feb. 1985. Kasetsart University, Bangkok. (In Thai)

Kueprakon, U., S.Tontyaporn and P. Pongam. 1990. Phytophthora disease of citrus in Thailand. Pages 258-262 in : Proceeding of the 4th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation. Chiangmai Thailand(Aubert, B., S. Tontyaporn and D. Buangsuwon eds.). Dept of Agriculture, Bangkok.

Mayers, P.E. and D.M. Persley. 1993. Citrus. Pages 37-48 in : Diseases of Fruit Crops. Dept. of Primary Industries, Queensland, Australia.

Pienpuck, K., W. Choobamroong, and A. Somrith. 2001. Scab disease caused by *Sphaceloma* spp. In Thailand. Page 278-285 *in* : Proceeding of the Fifth National Plant Protection Conference, 21-23 Nov. 2001. Kanchana Buri.(In Thai)

Prommintra, M. and N. Deema. 1972. Studies on virus diseases of citrus. Page 105-107 *in* : Horticulture Research Division Annual Report 1973. Dept. of Agriculture, Bangok. (In Thai)

Prommintra, M. and N. Deema. 1985. Studies on the abnormality of citrus cells induced by greening disease infection. Page 429-433 in : : Proceeding of the 28th Kasetsart University Annual Conference(Plant).4-6 Feb. 1985. Kasetsart University, Bangkok. (In Thai)

Puckdeedindan, P.1966. A supplementary host list of plant disease in Thailand. Tech. Bulletin No. 7. Dept. of Agriculture, Bangkok. 24 pp.

Rienvarakorn, K. 1984. Pummelo diseases and the production of plant stock disease free. The Thesis for Master Degree. Kasetsart University, Bangkok. 62 pp. (In Thai)

Sianglew, P. 1989. Sooty mold in Thailand. The Thesis for Master Degree. Kasetsart University, Bangkok. 177 pp. (In Thai)

Sontirat, P., M. Srihadhagam and W. Choobamroong. 1991. Corynespora leaf spot of black gram. Thai Agricultural Research Journal 9(1) :1-5. (In Thai)

Sontirat, P., P. Pitakpaiwan, T. Kumhangrithirong, W. Choobumroong and U. Keuprakon. 1994. Host Plant Disease Index in Thailand. Plant Pathology and Microbiology Division, Dept. of Agriculture, Bangkok. 225 pp. (In Thai)

Thawechai, N., A. Bharadornuvuth and P. Hummerink. 2001. Manual of the Management on Citrus Orchard. Technical Bulletin of “The Technology Transfer Program on

Sweet Tangerine". Under the cooperative program of The Ministry of Agriculture and Cooperative and Kasetsart University. Bangkok. 112 pp. (In Thai)

Vematsu, T., S. Chuenchitt, S. Karnjanarat, S. Vitithajinda, N. Napeerong, S. Benjathikul, S. Nilmanee, W. Dhirabhava and D. Buangsuwon. 1983. Bacterial diseases on economic crops in Thailand. Trop. Agri. Res. Center, Ministry of Agr, Forestry and Fisheries. Japan and Dept. of Agriculture, The Ministry of Agri. And Cooperative, Thailand. 266 pp.

Visarathanonth, N. 1985. Diseases of Some Tropical Fruits and Their Controls. Hand book for regular course teaching on "The Diseases of Fruit Crops". Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. 40 pp. (In Thai)

Visarathanonth, N. 1999. Diseases of Subtropical Fruits : Pomegranet, Sugar apple, Longan, Litchi, Citrus, Grapevine and Avocado : Technical Bulletin No.2, A Plant Clinic Handbook(Fruit Crops). Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. 144 pp. (In Thai)

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

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 รายชื่อชนิดโรคของส้มและพืชตระกูลส้ม เชื้อสาเหตุ ส่วนของพืชที่เป็นโรคสถานภาพที่ทำให้เกิดโรคในประเทศ สถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันและเอกสารอ้างอิงที่ใช้สืบค้น

Scientific name	Common Name	Area Distribution	Plant part affected	Present in Thailand	Reference
BACTERIA					
Candidatus liberibacter Bacteria like organism(BLO)	-Greening -Leaf mottling -Yellow shoot -Dieback	[1/] CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	L, B, S	Yes	Prommintra and Deema, 1972; Prommintra and Deema, 1985; Visaratthanonth,1999, Whiteside *et al.*,1988; CABI, 2003
Pseudomonas syringae Van Hall.	-Blast -Black pith	PT, CB	F, L, S	Yes	Visarathanonth, 1999; Whiteside *et al.*,1988; CABI, 2003
Xanthomonas campestris pv. *citri*(Hasse) Dye.	-Citrus canker -Canker	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	F, L, S	Yes	Kamjaipiay, 1984; Uematsu *et al.*, 1983; Visarathanonth, 1999; Whiteside *et al.*,1988; CABI, 2003
VIRUS					
Citrus tristeza virus(CTV)	-Tristeza -Stem pitting -Quick decline	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	L B S	Yes	Prommintra and Deema, 1972; Prommintra and Deema, 1985; Visaratthanonth,1999, Whiteside *et al.*,1988; CABI, 2003
ALGAE					
Cephaleuros virescens Kunze syn. *C. mycoidea* Karst.	-Algal spot -Red rust -Green scurf	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	F L S	Yes	Bharadornuvuth *et al.*, 1984; Seanglew,1989; Visarathanonth, 1999; CABI, 2003
FUNGI					
Armillaria mellea (Vahl ex Fr.) Kummer. Syn.- *Armillariella mellea*(Vahl ex Fr.) Karst. -*Clitocybe tabescens*(Scop ex Fr.) Bres.	-Mushroom root rot, -Armillaria root rot, -Collar crack -Honey agaric	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	R S	Yes	Mayers and Persley,1993; Thawechai et al., 2001; Visaratthanonth,1999, Whiteside *et al.*,1988; CABI, 2003
Capnodium citri Berk.&Desm.	-Sooty mold	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	F L S	. Yes	Boon-Long *et al.*, 2002; Chandrasrikul, 1962; Mayers and Persley,1993; Thawechai et al., 2001; Visarathanonth, 1999, CABI, 2003
Rhizoctonia solani Kuhn. teleomorph, *Thanatephorus cucumeris* (Frank.) Donk.	-Damping off -Seedling blight -Stem rot	NI	R, S	Yes	Kueprakon et al.,1990; Mayers and Persley, 1993; Visarathanonth, 1999; Whiteside *et al.*,1988, CABI, 2003
Phomopsis citri Faw. teleomorph, *Diapotthe citri* Wolf.	-Stem end rot -Citrus stem end rot -Gummosis Melanose of citrus	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	F	Yes	Kamjaipiay, 1984; Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1985, Whiteside *et al.*,1988, CABI, 2003
Phyllostictina citricarpa (Mc Alp)Petrak. syn. *Phoma citricarpa* Mc Alp. Tele. *Guignardia citricarpar* Kiely.	-Black spot	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	F, L	Yes	Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1999, Whiteside *et al.*,1988, CABI, 2003

Scientific name	Common Name	Area Distribution	Plant part affected	Present in Thailand	Reference
Botryosphaeria ribis Grossenb &Duggar. syn. *Dothiorella gregaria Sacc*.	-Fruit rot	NI	F	Yes	Chandrasrikul, 1962 ; Whiteside *et al*.,1988, CABI, 2003
Botrytis cinerea Pers. Ex. Fr.	-Grey mold	NI	F	Yes	Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1985, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Fusarium solani (Mart.)Sacc.	-Dry root rot	NI	R	Yes	Whiteside *et al*.,1988; CPC, 2003
Fusarium oxysporum(Schlech.) Snyd&Hans. f.sp. *citri* Timmer.	-Fusarium wilt -Branch canker	NI	R, S	Yes	Whiteside *et al*.,1988, CABI, 2003
Meliola butleri	-Sooty mold	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	F, L, S	NO	Sianglew, 1989
Sphaceloma fawcettii Jenkins. teleomorph, *Elsinnoe fawcettii* Bitancourt&Jenkins.	-Citrus scab -Tryon's scab -Verrucosis	CM, CR, PR, KP, CP, SR, CB	F, L, B	Yes	Bharadornuvuth *et al*., 1984; Kaisuwan, 1972; Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1999, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Cercospora citri-grisea Fisher. teleomorph, *Mycosphaerella horii* Hara.	-Greasy spot	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	L F	Yes	Chandrasrikul, 1962; Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1985, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Cercospora citri-grisea Fisher. syn. *Stenella citri-grisea*(Fisher) Siv. teleomorph, *Mycosphaerella citri*. Whiteside	-Greasy melanose, -Greasy spot -Greasy spot rind blotch	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	L F	Yes	Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1985, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Corticium salmonicolor Berk.&Br. Syn. *Necator decretus* Mass. Teleomorph, *Botryobasidium salmonicolor* (Berk.&Br) Venk.	-Damping off -Pink disease	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	S	Yes	Annonymous, 1960; Bharadornuvuth *et al*., 1984; Boon-Long *et al*., 2001; Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1985, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Phytophthora citrophthora (R.E.Sm.&E.H.Sm.)Leonian *Syn. Pythiaspora citrophthora*	-Damping off -Fruit brown rot -Foot rot	NI	R, S	Yes	Kueprakon et al.,1990; Mayers and Persley, 1993; Visarathanonth, 1999; Whiteside *et al*.,1988, CABI, 2003
Phytophthora cinnamomi	-Root rot -Foot rot -Stem rot	NI	F, L, R, S	Yes	Kueprakon *et al*., 1990, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Phytophthora palmivora (Butler)Butler.	-Root rot -Foot rot -Stem rot	NI	F, L, R, S	Yes	Kamjaipiay and Intavimolsri, 1983; Mayers and Persley,1993; Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Phytophthora parasitica Dast. syn.-*P. nicotianae* var.*parasitica* (Dast.)Waterhouse; -*P. parasitica* var. *nicotianae* Breda.	-Root rot -Foot rot -Stem rot	PR, SK, PT, SR	F, L, R, S	Yes	Kamjaipiay and Intavimolsri, 1983; Kueprakon *et al*., 1985, Kueprakon *et al*., 1990, Mayers and Persley,1993; Whiteside *et al*.,1988, CABI, 2003
Pythium aphanidermatum	-Damping off	NI	R, S	Yes	Kueprakon et al.,1990; Mayers and Persley, 1993; Visarathanonth, 1999; Whiteside *et al*.,1988, CABI, 2003
Alternaria alternata(Pv.) Keissler.	-Brown spot	PR, SK, PT, S	L	Yes	Mayers and Persley,1993; Visarathanonth,

Scientific name	Common Name	Area Distribution	Plant part affected	Present in Thailand	Reference
					1999; Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Alternaria alternata pv. *citri* Solel.	-Center rot	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	F	Yes	Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1985, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Alternaria citri Ellis and Pierce	-Alternaria leaf spot	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	L	Yes	Visaratthanonth,1999; Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Cercospora angolensis	-Cercospora leaf spot	CM, CR, PR, SK, KP, PT, PC, CP, SR, CB	L	Yes	Sontirat *et al*., 1994
Corynespora cassicola	-Leaf spot	CM, CR, PR, SK, KP, PC, CP, SR, CB	L	Yes	Sontirat *et al*., 1991
Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc Teleomorph; *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld&Schrenk.	-Anthracnose -Blossom blight -Fruit drop -Leaf spot	CM, CR, PR, SK, PT, PC, CP, SR	F, L, S	Yes	Bharadornuvuth *et al*., 1984; CABI, 2003; Chandrasrikul, 1962; Kamjaipiay, 1984; Mayers and Persley,1993; Whiteside *et al*.,1988
Aspergillus niger Van Tiegh.	-Aspergillus rot	CM, PR, SK, KP, PT	F	Yes	Annonymous, 1960; Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1985, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Endomyces geotrichum Butler&Petersen and *Geotrichum candidum* Link. Ex Pers.	-Sour rot	NI	F	Yes	Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1985, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Oidium tingitaninum Carter. teleomorph, *Acrosporium tingitaninum* (Carter) Subram	-Powdery mildew	NI	F, L	Yes	Visaratthanonth,1999, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Penicillium italicum Wehmer; *P. digitatum* Sacc.	-Blue mold -Green mold	NI	F	Yes	Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1985, Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Septobasidium pseudopedicellatum Burt.	-Felt fungus	NI	S	Yes	Bharadornuvuth *et al*., 1984; CABI, 2003; Mayers and Persley,1993; Visaratthanonth,1999, Whiteside *et al*.,1988
Septoria citri Pass.	-Septoria spot	NI	F L	Yes	Visaratthanonth,1999; Whiteside *et al*.,1988; CABI, 2003
Lasiodiplodia theobromae Pat *Syn.--Diplodia natalensis*	-Gummosis	NI	S	Yes	Bharadornuvuth *et al*., 1984; Rianvarakorn, 1984; Visarathanonth, 1999, CABI, 2003

Remark ; CM.= Chiangmai, CR = Chiengrai, PR = Prae, SK=Sukothai. KP.= Kampaengpet, PT.= Pathumtani, PC =.Petchaburi, CP = Chumporn, SR= Surathani, CB = Chanthaburi, NI = No imformation

ตารางที่ 2 รายชื่อชนิดโรคของส้ม เชื้อสาเหตุ เปอร์เซ็นต์การเป็นโรค และความรุนแรงของโรคที่พบในแต่ละแหล่งปลูก

Disease	Pathogen	Locations	Plant Part Affected	Disease Incidence(%)	Disease Severity(%)	Remark
1. Canker	*Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Hasse) Dye.	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR,CB	Leaf, bud, fruit,	3.33-100	0.20-40.00	Lime, pummello, Ocean #1
2. Scab	*Sphaceloma fawcettii* Jenkins. (tele., *Elsinnoe fawcettii* Bit.&Jenkins.)	CM,CR,PR,,CP,CB	Leaf, bud, fruit	3.33-53.97	0.10-75.00	Sour orange, Shogun orange
3.Anthracnose	*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR CB	branch, stem	18.46-83.33	0.20-15.50	Shogun orange, sweet orange, Ocean #1
4. Pink disease	*Corticium salmonicolor* Berk.&Br.	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR,CB	branch, stem	13.33-76.67	0.10-20.40	Shogun orange, sweet orange, Ocean #1
5. Sooty mold	*Capnodium citri* Berk.&Desm.	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR,CB	Leaf, fruit, branch, stem	10.00-83.12	0.20-15.00	Shogun orange, sweet orange, ocean # 1, pummello
6.Root/ stem rot	*Phytophthora parasitica* Dast.	PR,SK,PT,SR	branch, stem	0.94-5.19	1.00-5.00	Sweet orange
7. Melanose	*Phomopsis citri* Farc. (tele. *Diaporthe citri* Wolf. syn. *D. medusaea* Nits.)	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR,CB	Leaf, fruit	35.00-94.44	0.10-22.00	Shogun orange, sweet orange, Ocean #1
8. Greasy melanose	*Cercospora citri-grisea* Fisher. syn. *Stenella citri-grisea*(Fisher) Siv. (tele.*Mycosphaerella horii* Hara.)	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR,CB	Leaf, fruit	5.38-100	0.20-25.00	Shogun orange, sweet orange, Ocean #1
9. Gummosis/ Dieback	*Diplodia natalensis* P. Evan. *Botryodiplodia theobromae* Pat.	PR,SK,PT	Stem	0.33-2.40	0.50-6.67	Sweet orange
10. Stem end rot	*Phomopsis citri* Faw. (tele. *Diapotthe citri* Wolf.)	CM,PR,SK,KP,PT	Fruit	2.41-6.67	0.10-3.80	Shogun orange, sweet orange
11. Crotch rot	*Phomopsis citri* Faw	PR,SK,KP, PT	Branch, stem	0.10-4.67	0.20-2.50	Shogun orange, sweet orange
12. Aspergillus rot	*Aspergillus niger* Van Tiegh.	CM,PR,SK,KP,PT	Fruit	0.21-2.22	0.20-1.80	Shogun orange, sweet orange
13. Green mold	*Penicillium digitatum* Sacc.	PR,PT,	Fruit	0.10-1.88	0.30-1.40	Shogun orange, sweet orange
14. Greening	Bacteria Like Organism	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR,CB	Leaf, bud, stem	4.62-100	1.00-100	Shogun orange, sweet orange, Ocean #1, lime
15. Tristeza	Citrus tristeza virus(CTV)	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR,CB	Leaf, bud, stem	62.74-100	13.30-100	Shogun orange, sweet orange, Ocean #1, lime
16. Algal spot	*Cephaleuros virescens* Kunze (syn. *C. mycoidea* Karst.)	CR,PR,SK,KP, PT	Leaf, branch, stem	5.56-24.50	1.20-2.50	Shogun orange, sweet orange, Ocean #1
17. Mushroom root rot	*Amillaria mellea* (Vahi ex Fer.) Kummer.	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR	Root, stem	0.12-0.50	1.00-5.00	Sweet orange
18. Star Flash / Star melanose	-	CM,CR,PR,SK,KP, PT,PC,CP,SR,CB	Fruit	17.42-33.33	2.50-4.50	Shogun orange

Remark ; CM.= Chiangmai, CR = Chiengrai, PR = Prae, SK=Sukothai. KP.= Kampaengpet, PT.= Pathumtani, PC =.Petchaburi, CP = Chumporn, SR= Surathani, CB = Chanthaburi

ศึกษาชนิดวัชพืชในทับทิม

Collection of Certain Weeds in Pomegranate (*Punica granatum* Linn.)

เสริมศิริ คงแสงดาว ศิริพร ซึงสนธิพร
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาชนิดวัชพืชในทับทิม ตรวจเอกสารค้นหาและสำรวจวัชพืชแหล่งปลูกทับทิมในไทย ดำเนินการระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนกันยายน 2549 จากการสำรวจแหล่งปลูกทับทิมพบว่า ที่ จังหวัดนครราชสีมา ตาก ลพบุรี และจังหวัดเลย ปลูกเพื่อจำหน่ายผลและต้นพันธุ์ ปลูกในพื้นที่ขนาดใหญ่ ส่วนที่จังหวัดนครสวรรค์ ปราจีนบุรี และจังหวัดนครปฐม พื้นที่ปลูกขนาดเล็กปลูกเพื่อจำหน่ายต้นพันธุ์ พันธุ์ทับทิมที่พบได้แก่ แดงอินเดีย ศรีปัญญา เพชรชมภู เด่นตะวัน แดงมารวย แดงเจ้าพระยา มีทั้งพันธุ์เมล็ดแข็งและพันธุ์เมล็ดนิ่ม รวมพบวัชพืชทั้งสิ้น 26 วงศ์ (family) 71 สกุล (genus) 85 พันธุ์ (species) วัชพืชใบแคบจำแนกได้ 1 วงศ์ รวม 21 ชนิด วัชพืชใบกว้างจำแนกได้ 24 วงศ์ รวม 18 ชนิด วัชพืชพวกกกจำแนกได้ 1 วงศ์ รวม 5 ชนิด

วัชพืชที่พบมากและบ่อยครั้งจัดเป็นวัชพืชเด่นในการสำรวจได้แก่ น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta* L.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.) Link.) หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) ผักโขม (*Amaranthus gracilis* Desf.) หญ้ายาง (*Euphorbia heterophyll* Linn.) หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* (L.) Schult.) หญ้าปากควาย (Dactyloctenium aegyptium(L.) P.Beauv.) ผักปลาบ (*Commelina benghalensis* L.) หญ้าละออง (*Vernonia cinerea* (L.) Less.) ตำลึง (*Coccinia indica* W. et A.) หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl.) ผักโขมหิน (*Boerhavia diffusa* L.) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gard & Hubb.) หญ้ารังนก (*Chloris barbata* Sw.) หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* Linn.) กระดุมใบเล็ก (*Borreria laevis* (Lamk.) Griseb.) สาบเสือ (*Chromolaena odoratum* (L.) R.M.King & H.Rob.) ผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) ผักปลาบ (*Commelina diffusa* Burm. f.) หญ้าดอกแดง (*Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E.Hubb.) กกตุ้มหู (*Cyperus kyllingia* Endl.) และแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ทับทิม (*Punica granatum* Linn.) อยู่ในวงศ์ Punicaceae มีชื่อสามัญอังกฤษ Pomegranate ชื่อสามัญเสปน Granada ชื่อสามัญฝรั่งเศส Grenade มีชื่ออื่นๆ ก้อแกง (เชียงราย) พิลา (หนองคาย) พิลาขาว, มะก่องแก้ว (น่าน) เซียะลิ้ว (จีน) (นิรนาม, 2548) ทับทิมเป็นพืชพื้นเมืองของอิหร่าน ถูกนำไปปลูกในพื้นที่แห้งแล้งแถบเมดิเตอร์เรเนียน ภาคเหนือของอินเดีย และเขตแห้งแล้งของรัฐแคลิฟอร์เนียและอริโซนาในอเมริกา ในประเทศไทยชาวจีนนิยมปลูกหน้าบ้าน เพื่อความเป็นสิริมงคลแก่ผู้อยู่อาศัยและมีคนนิยมชมชอบ ใช้เป็นสมุนไพรแก้ท้องร่วง บิด ขับพยาธิ ประเทศที่ปลูกทับทิม ได้แก่ สเปน อิตาลี ยูโกสลาเวีย อาเมเนีย อาเซอไบจัน จีน อินเดีย อิหร่าน อิรัก อิสราเอล จอร์แดน ตุรกี เยเมน อียิปต์ เคนยา ลิเบีย แทนซาเนีย บราซิล อเมริกา เวเนซูเอล่า แหล่งปลูกดั้งเดิมของไทยอยู่ที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และจังหวัดลพบุรี ปัจจุบันแหล่งปลูกทับทิมใหญ่ ๆ ในไทยอยู่ที่ จังหวัดนครราชสีมา อำเภอปากช่อง และจังหวัดตาก อำเภอพบพระ ส่วนแหล่งอื่นๆปลูกเพียงเล็กน้อยเพื่อขายต้นพันธุ์ (Anonymous, 2006)

ทับทิมเป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดเล็ก สูง 5-8 เมตร กิ่งอ่อนมักเป็นเหลี่ยม เมื่อแก่จะมน ปลายกิ่งมักมีหนามแหลม ใบเดี่ยวออกตรงกันข้าม ใบรูปขอบขนานหรือยาวเรียวแคบ ปลายใบและโคนใบอาจมนหรือแหลม ขอบใบเรียบ ผิวใบเป็นมัน มีขนาดยาว 3-7 ซม. กว้าง 2 ซม.ดอกออกทั้งเดี่ยวหรือเป็นช่อ 2-5 ดอกก็ได้ มีทั้งดอกสีขาว สีแดง สีแดงส้ม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางดอก 3 ซม. มี 5 กลีบ ผลกลมรูปหกเหลี่ยมมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางผล 7-12 ซม. เปลือกผลหนาแข็งมีหลายสีทั้งสีเขียวอมเหลืองจนถึงสีน้ำตาลแดง ก้นผลมีส่วนแหลม 5-7 อันคล้ายมงกุฎ ผิวเปลือกเรียบเป็นมัน ภายในผลแบ่งออกเป็น 5 ช่อง แต่ละช่องมีผนังสีครีมอมเหลืองอ่อน เมล็ดอัดเรียงกันแน่นอยู่ภายในเต็มผล เมล็ดเป็นเหลี่ยมมนๆ มีเนื้อฉ่ำน้ำสีแดงสีแดง สีชมพูหรือสีเหลืองอ่อน มีรสหวานหรืออมเปรี้ยว เปลือกมีแทนนินและน้ำมีสารอนุมูลอิสระมาก (Sauls, 1998 ; Morton, 1987)

วัชพืชนอกจากจะแย่งปัจจัยการเจริญเติบโตของทับทิม โดยเฉพาะแปลงที่ต้นทับทิมยังเล็กจะทำให้ต้นแคระแกรน สำหรับทับทิมต้นโต วัชพืชยังเป็นแหล่งอาศัยหลบซ่อนของโรคและแมลงศัตรูพืชทับทิม ทำให้ผลผลิตทับทิมไม่ได้คุณภาพหรืออาจไม่ได้ผลผลิตเลย วัชพืชที่ขึ้นแข่งขันในแปลงปลูก มีหลากหลายชนิดแตกต่างกันไป การจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อวัชพืชเพื่อประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชนำเข้า การจึงเป็นเรื่องเร่งด่วนที่ต้องรีบดำเนินการ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ยานพาหนะรถยนต์ แผงไม้เก็บตัวอย่างวัชพืช พร้อมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์และเชือก ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างวัชพืช มีด เสียม กล้องถ่ายภาพ ฟิล์มสี และฟิล์มสไลด์

วิธีการ

เดินทางโดยรถยนต์พาหนะไปยังพื้นที่ที่เป็นแหล่งปลูกทับทิมในพื้นที่ต่าง ๆ บันทึกชนิดวัชพืชที่พบ ความหนาแน่น และวิธีการป้องกันกำจัดที่ปฏิบัติ บันทึกภาพวัชพืชที่สำคัญในแปลงปลูกทับทิมเก็บตัวอย่างวัชพืชมาอัดลงในแผงไม้ คัดเลือกต้นที่มีต้น ใบ ดอกและเมล็ดสมบูรณ์ นำออกตากแดดจนกระทั่งแห้ง เพื่อนำมาจำแนกชื่อสามัญ และชื่อวิทยาศาสตร์

เวลาและสถานที่

ดำเนินการสำรวจที่จังหวัด ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึง เดือนกันยายน ปี พ.ศ. 2549

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทับทิมเป็นไม้มงคล ผลไม้ศักดิ์สิทธ์ เป็นอัญมณีแห่งผลไม้ ประชาชนนิยมปลูกทั่วไป โดยปลูกไว้หน้าบ้านบ้านละหนึ่งต้นเพื่อเป็นสิริมงคลแก่ผู้อยู่อาศัยและมีคนนิยมชมชอบ พันธุ์ที่ปลูกดั้งเดิมในประเทศไทยมีเมล็ดแข็ง แหล่งปลูกทับทิมเพื่อจำหน่ายผลและขายต้นพันธุ์ อยู่ที่ตำบลกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา พบปลูกทั่วไป รองลงมาคืออำเภอพบพระ จังหวัดตาก อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย อำเภอหนองม่วง จังหวัดลพบุรี ส่วนใหญ่ปลูกเพื่อขายผลสดและขายต้นพันธุ์ เฉพาะที่จังหวัดตากมีการคั้นน้ำบรรจุขวดขาย แหล่งที่ปลูกเพื่อเน้นขายต้นพันธุ์คือ ที่อำเภอหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี ทับทิมส่วนใหญ่นำพันธุ์มาจากประเทศอินเดีย มีทั้งพันธุ์เมล็ดแข็งและพันธุ์เมล็ดนิ่ม ปัจจุบันนิยมปลูกทับทิมพันธุ์เมล็ดนิ่ม มีชื่อแตกต่างกันไป เช่น แดงมารวย แดงเจ้าพระยา แดงอินเดีย เพชรชมพู ศรีสยาม เด่นตะวัน สำรวจและเก็บตัวอย่างวัชพืชในท้องที่ต่าง ๆ ที่เป็นแหล่งปลูกทับทิม เกษตรกรส่วนใหญ่กำจัดวัชพืชด้วย เครื่องร่อนและรถไถตัดหญ้าให้แปลงสะอาด วัชพืชที่พบในแปลงจึงเป็นต้นที่ถูกตัดให้สั้นอย่างต่อเนื่อง แม้จะออกดอกก็มักเป็นต้นจากตอเตี้ยๆ ไม่สามารถตรวจนับปริมาณได้

จังหวัดนครราชสีมา ที่อำเภอปากช่อง และอำเภอสีคิ้ว เป็นแหล่งที่ปลูกทับทิมมากที่สุด ปลูกในสภาพไร่ พบได้ทั่วไป สำรวจ 8 สวน พันธุ์ที่ปลูกได้แก่ เพชรชมพู แดงอินเดีย ศรีปัญญา ให้น้ำด้วยสายยางและระบบพ่นฝอย กำจัดวัชพืชโดยใช้เครื่องร่อน รถไถเล็กตัดหญ้า บางสวนมีการปลูกพืชแซม เช่น กะหล่ำดอก ตะไคร้ โหระพา ขึ้นฉ่าย วัชพืชใบแคบที่พบได้แก่ พะดอเงียว หญ้าตีนติด ผักปลาบ หญ้าตีนนก หญ้าแพรก หญ้าตีนกา หญ้าปุ้ง หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าดอกแดง หญ้าปากควาย หญ้ารังนก หญ้าดอกขาว หญ้านกสีชมพู หญ้าหวาย หญ้าโขย่ง หญ้าข้อ *Brachiaria eruciformis* (Sm.) Gnseb. วัชพืชใบกว้างที่พบได้แก่ ปัวเปียะ สารพัดพิษ กระดุมใบเล็ก กระดุมขน มะแว้งนก ตีนตุ๊กแก ผักโขม ผักโขมหิน หูปลาช่อน ส้มกบ น้ำนมราชสีห์ หญ้ายาง

จิงโจ้เล็ก ลูกใต้ใบ ตำแยแมว พันงูขาว หญ้าละออง ตำลึง หญ้ากำมะหยี่ เส้งเล็ก ต้นไม้กวาดกะเม็งและอุตพิด วัชพืชพวกกกที่พบ ได้แก่ แห้วหมู

จังหวัดตาก อำเภอพบพระ พบทั้งหมด 3 สวน ปลูกในสภาพไร่ แหล่งปลูกทับทิมใหญ่ที่สุดในเอเชีย มีพื้นที่ปลูก 800 ไร่ มีจำนวนต้นทับทิมประมาณ 50,000 ต้น รองลงมาปลูกสวนละ 5 ไร่ และ 1 ไร่ ปลูกทับทิมพันธุ์ศรีปัญญา เป็นทับทิมเมล็ดแข็ง และพันธุ์ศรีสยามวัชพืช เป็นทับทิมเมล็ดนิ่ม ปลูกเพื่อขายผลและกิ่งพันธุ์ วัชพืชใบแคบที่พบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้าคา หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าบุ้ง หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้ารังนก พะดอเงียว หญ้านกสีชมพู หญ้านก และวัชพืชใบกว้างที่พบ ได้แก่ ผักโขม หญ้ายาง ผักโขมหิน ผักเผ็ดแม้ว ก้นจ้ำ มะแว้งนก จ้อล่อ สาบเสือ กระดุมใบเล็ก หงอนไก่ป่า ส้มกบ น้ำนมราชสีห์ สาบแร้งสาบกา ผักเบี้ยใหญ่ ผักเผ็ด ผักโขมหนาม หญ้าละออง ผักแครด ฉัตรพระอินทร์ และ *Galinsoga ciliata* (Raf.) Blake. วัชพืชพวกกกที่พบได้แก่ กกทราย และ หนวดปลาดุก

จังหวัดนครสวรรค์ อำเภอหนองบัว พบ 1 สวน พื้นที่ 12 ไร่ ปลูกในสภาพร่องสวนมีน้ำล้อมรอบ ปลูกทับทิมพันธุ์เมล็ดนิ่ม ชื่อแดงเจ้าพระยา วัชพืชใบแคบที่พบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา หญ้าตีนนก หญ้าดอกขาว หญ้าปากควาย หญ้าตีนติด หญ้าหวาย หญ้าแพรก วัชพืชใบกว้างที่พบได้แก่ ผักเบี้ยใหญ่ เทียนนา น้ำนมราชสีห์ เส้งเล็ก ขยุ้มตีนหมา กระต่ายจาม หญ้างวงช้าง ผักโขมหิน ผักโขม ลูกใต้ใบ หญ้าไข่เหา โสนหิน ถั่วลิสงนา ตีนตุ๊กแก หญ้ายาง หญ้าละออง ถั่วผี ผักปลาบ ตำลึง ตดหมูตดหมา วัชพืชพวกกกที่พบได้แก่ กกทราย หนวดปลาดุก

จังหวัดลพบุรี อำเภอหนองม่วง พบ 1 สวน ในสภาพไร่ ปลูกพันธุ์เพชรชมพูเพื่อขายผล วัชพืชใบแคบที่พบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนติด หญ้าขจรจบดอกเล็ก พะดอเงียว หญ้าปากควาย หญ้าปากควาย หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู ผักปลาบ และวัชพืชใบกว้างที่พบ ได้แก่ หญ้ายาง น้ำนมราชสีห์ ตีนตุ๊กแก ผักโขมหิน หญ้ากำมะหยี่ ปอกระเจา กระถิน โสนหิน ผักเบี้ยใหญ่ ถั่วลิสงนา หญ้าเกล็ดหอย

จังหวัดปราจีนบุรี อำเภอเมือง ปลูกในพื้นที่เล็กๆ เพื่อขายกิ่งพันธุ์ทั่วๆไป พบ 3 สวน วัชพืชใบแคบที่พบ ได้แก่ หญ้าแพรก หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้าคา หญ้านมหนอน ผักปลาบ ผักปลาบ และวัชพืชใบกว้างที่พบ ได้แก่ หญ้ายาง สะอึก หญ้าละออง ตำลึง ลูกใต้ใบ น้ำนมราชสีห์ ผักโขม กะเม็ง ต้อยติ่ง สร้อยนกเขา ปอกระเจา ผักเผ็ด แพงพวย บานไม่รู้โรยป่า ไมยราบ ผักเสี้ยนขน ขี้กาแดง ขยุ้มตีนหมา ถั่วลิสงนา ต้นขัดใบยาว หญ้าท่าพระ ผักบุ้ง

จังหวัดเลย อำเภอภูเรือ ปลูกพันธุ์เด่นตะวันพื้นที่ใหญ่ในสภาพไร่ เพิ่งเริ่มปลูกเพื่อขายผล พบ 2 สวน วัชพืชใบแคบที่พบ ได้แก่หญ้าตีนติด หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าแพรก หญ้าปากควาย หญ้าตีนกา หญ้าคา หญ้านมหนอน *Chloris pycnothrix* Trin. วัชพืชใบกว้างที่พบ ได้แก่ น้ำนมราชสีห์ มะแว้งนก สาบเสือ ผักโขม หญ้าไข่เหา ผักแครด ก้นจ้ำ สาบแร้ง

สาบกา ผักเผ็ดแม้ว จ้อล่อ ผักเผ็ด กระต่ายจาม ไมยราบ ไมยราบเครือ หญ้าท่าพระ วัชพืชพวกกก ที่พบ ได้แก่ หนวดปลาดุก แห้วหมู กกตุ้มหู

จังหวัดนครปฐม อำเภอเมือง ปลูกพันธุ์เด่นตะวันพื้นที่ใหญ่เพื่อขายพันธุ์ทั้งต้นเล็กและต้นโต พบ 1 สวน วัชพืชใบแคบที่พบ ได้แก่ หญ้ารังนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู หญ้ายูง วัชพืชใบกว้างที่พบ ได้แก่สะอึก ตำลึง น้ำนมราชสีห์ กะเม็ง วัชพืชพวกกกที่พบได้แก่ หนวดปลาดุก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

วัชพืชที่สำรวจพบในแปลงปลูกทับทิม ในช่วงเดือนมกราคม ถึง เดือนกันยายน ปี พ.ศ. 2549 ดังนี้

Family	Genus	Species / Thai name	ประเภท	จำนวน	อ้างอิง
Acanthaceae	*Dipteracanthus*	*repens* (L.) Hassk . / ปัวเปี๊ยะ	B	1*	2
	Ruellia	*tuberosa* L. / ต้อยติ่ง	B	1*	8
Aizoaceae	*Mollugo*	*stricta* L. / หญ้าไข่เหา	B	3	2
Amaranthaceae	*Achyranthes*	*aspera* L. / พันงูขาว	B	1	8
	Amaranthus	*spinosus* L. / ผักโขมหนาม	B	1	8
		gracilis Desf. / ผักโขม	B	5*	8
	Celosia	*argentea* L. / หงอนไก่ป่า	B	1	8
	Gomphrena	*celosioides* Mart. / บานไม่รู้โรยป่า	B	1*	13
Araceae	*Typhonium*	*trilobatum* (L.) Schott / อุตพิด	B	1	8
Asteraceae	*Ageratum*	*conyzoides* L. / สาบแร้งสาบกา	B	2	8
	Biden	*pilosa* L. / ก้นจ้ำ	B	2*	8
	Chromolaena	*odoratum* (L.) R.M.King&H.Rob. / สาบเสือ	B	2*	4
	Conyza	*sumatrensis* (Retz.) Walker / จ้อล่อ	B	2	8
	Crassocephalum	*crepidioides* (Benth.) S.Moore / ผักเผ็ดแม้ว	B	2	8
	Eclipta	*prostrate* L./ กะเม็ง	B	3	8
	Emilia	*sonchifolia* (L.) DC / หูปลาช่อน	B	1	8
	Galinsoga	*ciliata* (Raf.) Blake / -	B	1*	8
	Lagascea	*mollis* Cav. / หญ้ากำมะหยี่	B	2	8
	Spilanthes	*paniculata* Wall. ex DC. / ผักเผ็ด	B	3	8
	Synedrella	*nodiflora* (L.)Gaertn. / ผักแครด	B	2*	8
	Tridax	*procumbens* L. / ตีนตุ๊กแก	B	3*	8
	Vernonia	*cinerea* (L.) Less. / หญ้าละออง	B	4*	8
Boraginaceae	*Heliotropium*	*indicum* L. / หญ้างวงช้าง	B	1	8
Capparidaceae	*Cleome*	*rutidosperma* DC. (Allen.) / ผักเสี้ยนขน	B	1	1

Family	Genus	Species / Thai name	ประเภท	จำนวน	อ้างอิง
Commelinaceae	*Commelina*	*benghalensis* L. /ผักปลาบ	B	4*	8
		diffusa Burm.f. / ผักปลาบ	B	1*	8
Convolvulaceae	*Hewittia*	*sublobata* (L.f.) O. ktze. / จิงโจ้เล็ก	B	1*	8
	Ipomoea	*aquatica* Forsk. / ผักบุ้ง	B	1	8
		pes-tigridis L. / ขยุ้มตีนหมา	B	2	10
		triloba L. / สะอึก	B	2	10
Cucurbitaceae	*Coccinia*	indica W. et A. / ตำลึง	B	4	8
	Trichosanthes	*integrifolia* Kurz / ขี้กาแดง	B	1	2
Cyperaceae	*Cyperus*	*cyperoides* (L.) O. Kuntze / กกหางกระรอก	S	3*	8
		iria L. / กกทราย	S	2	8
		kyllingia Endl. / กกตุ้มหู	S	1*	8
		rotundus L. / แห้วหมู	S	2	8
	Fimbristylis	*miliacea* (L.)Vahl / หนวดปลาดุก	S	4	8
Euphorbiaceae	*Acalypha*	indica L. / ตำแยแมว	B	1*	8
	Euphorbia	*heterophylla* Linn. / หญ้ายาง	B	5*	4
		hirta L. / น้ำนมราชสีห์	B	7*	8
	Phyllanthus	*amarus* Schum.et Th. Kongl. / ลูกใต้ใบ	B	3	8
Labiatae	*Leonotis*	*nepetaefolia* (L.) R.Br. / ฉัตรพระอินทร์	B	1	8
Leguminosae	*Aeschynomene*	*indica* L. / โสนหิน	B	2	8
	Alysicarpus	*vaginalis* (L.) DC. / ถั่วลิสงนา	B	3	4
	Leucaena	*leucocephala* (Lam.)de Wit. / กระถิน	B	1	8
	Mimosa	*invisa* Mart. Ex colla / ไมยราบเครือ	B	1	4
		pudica Linn. / ไมยราบ	B	2*	4
	Phaseolus	*lathyroides* L. / ถั่วผี	B	1	8
Malvaceae	*Sida*	*acuta* Burm.f. / ต้นไม้กวาด	B	2	8
Nyctaginaceae	*Boerhavia*	*diffusa* L. / ผักโขมหิน	B	4	8
Onagraceae	*Ludwigia*	*adscendens* (L.) Hara. / แพงพวย	B	1	8
		hyssopifolia (C. Don) Exell / เทียนนา	B	1	8
Oxalidaceae	*Oxalis*	*corniculata* L. / ส้มกบ	B	2	8
Papilionaceae	*Desmodium*	*triflorium* L. DC / หญ้าเกล็ดหอย	B	1	10
Poaceae	*Brachiaria*	*distachya* (Linn.) Stapf / หญ้าข้อ	N	1	2
		eruciformis (Sm.) Gnseb. / -	N	1	6

Family	Genus	Species / Thai name	ประเภท	จำนวน	อ้างอิง
Poaceae	*Brachiaria*	*reptans* (L.) Gard.& Hubb. / หญ้าตีนติด	N	4*	8
	Cenchrus	*brownie* Roem. & Schult. / หญ้าปุ้ง	N	2*	6
	Chloris	*barbata* Sw. / หญ้ารังนก	N	4*	8
		pycnothrix Trin. / -	N	1	8
	Cynodon	*dactylon* (L.) Pers. / หญ้าแพรก	N	4*	8
	Dactyloctenium	*aegyptium* (L.) P.Beauv. / หญ้าปากควาย	N	5	8
	Dichanthium	*annulatum* (Forssk.) Stapf / พะดอเงียว	N	3	8
	Digitaria	*ciliaris* (Retz.) Koel. / หญ้าตีนนก	N	6*	8
	Echinochloa	*colonum* (L.) Link / หญ้านกสีชมพู	N	6	8
	Eleusine	*indica* (L.) Gaertn. / หญ้าตีนกา	N	7*	8
	Eragrostis	*tenella* (L.)P. Beauv. et Roem.& Schult. / หญ้าหวาย	N	3	4
	Eriochloa	*procera* (Retz.) C.E.Hubb. / หญ้านก, หญ้ายูง	N	2	1
	Imperata	*cylindrica* (L.) P. Beauv. / หญ้าคา	N	3	8
	Leptochloa	*chinensis* (L.) Nees. / หญ้าดอกขาว	N	2	8
		panicea (Retz.) Ohwi. / หญ้านก	N	1*	7
	Paspalum	*conjugatum* Berg. / หญ้านมหนอน	N	2*	8
	Pennisetum	*polystachyon* (L.) Schult. / หญ้าขจรจบดอกเล็ก	N	5*	10
	Rhynchelytrum	*repens* (Willd.) C.E.Hubb. / หญ้าดอกแดง	N	1*	8
	Rottboellia	*exaltata* L.f. / หญ้าโขย่ง	N	1*	8
Portulacaceae	*Portulaca*	*pilosa* L. / สารพัดพิษ	B	1*	1
		oleracea L. / ผักเบี้ยใหญ่	B	3	8
Rubiaceae	*Borreria*	*laevis* (Lamk.) Griseb. / กระดุมใบเล็ก	B	2*	8
	Mitracarpus	*villosus* (Sw.) DC. / กระดุมขน	B	1	8
	Paederia	*scandens* Merr. / ตดหมูตดหมา	B	1*	8
	Richardia	*brasillensis* Gomez / หญ้าท่าพระ	B	2	8
Scrophulariaceae	*Scoparia*	*dulcis* L. / กระต่ายจาม	B	2	8
Solanaceae	*Solanum*	*nigrum* L. / มะแว้งนก	B	3	8
Sterculiaceae	*Melochia*	*corchorifolia* L. / เส้งเล็ก	B	1	13
Tilliaceae	*Corchorus*	olitorius L. / ปอกะเจา	B	2	13

ประเภท : ประเภทวัชพืช B-วัชพืชใบกว้าง N-วัชพืชใบแคบ S-วัชพืชพวกกก

จำนวน : จำนวนจังหวัดที่พบ * : พบปริมาณมาก อ้างอิง : เอกสารเล่มที่อ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้, สำนักวิชาการป่าไม้. บริษัทประชาชนจำกัด. 809 หน้า.

อำไพ ยงบุญเกิด, สกล สุธีสร และ จเร สดากร. 2527. วัชพืชในสวนยางพารา. เอกสารวิชาการสมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย เลขที่ 3. แอ๊สเสทการพิมพ์ , กรุงเทพ. 171 หน้า.

นิรนาม. 2548. ทับทิม. สำนักส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 จังหวัดเชียงใหม่. 1 หน้า.

Anonymous. 2002. Common Weeds of Central Thailand. Weed Science Society of Thailand. Funny Publishing. Bangkok.135 pp.

Anonymous. 2006. Pomegranate-Wikipedia, the free encyclopedia. Retrieves from " http://en.wikipedia. org/wiki/Pomegranate"

Hafliger, E. and H. Scholz. 1980. Grass Weeds 1. Switzerland : Ciba-Geigy Ltd. Basle. 142 pp.

Hafliger, E. and H. Scholz. 1981. Grass Weeds 2. Switzerland : Ciba-Geigy Ltd. Basle. 137 pp.

Harada, J., H. Shibayama and H. Morita. 1996. Weeds in the Tropics. Tokyo: Association Co-operation of Agriculture & Forestry. 304 pp.

Harada, J., Y. Paisooksantivatana and S. Zungsontiporn. 1987. Weeds in the Highlands of Northern Thailand. Bangkok: National Weed Science Research Institute Project. 126 pp.

Moody, K., C. E. Munroe, R. T. Lubigan and E. C. Paller Jr. 1984. Major Weeds of the Philippines. Laguna: Weed Science Society of the Philippines. 328 pp.

Morton, J. 1987. Pomegranate. p 352-355. In : Fruits of Warm Climates. Julia F. Morton, Miami, FL.

Noda, K., M. Teerawatsakul, C. Prakongwongs, and L. Chaiwiratnukul. 1994. Major Weeds in Thailand, 2 nd Ed. Bangkok: National Weed Science Research Institute Project. 142 pp.

Sauls, J.W.1998. Home Fruit production-Pomegranate. Texas Citrus AND Sub tropical Fruits. 3 pp.

การจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืชในมะเขือเทศและข้าวโพด

Weed Lists in Tomato and Corn Field

จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ ทวี แสงทอง
ไชยยศ สุพัฒนกุล เพ็ญศรี นันทสมสราญ
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจ รวบรวมชนิดวัชพืชในแปลงปลูกมะเขือเทศ และข้าวโพด ได้ดำเนินงานสำรวจในแหล่งปลูกมะเขือเทศ และข้าวโพด ตามภาคต่าง ๆ คือภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือของประเทศไทย การสำรวจเริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2547 ถึงเดือน กุมภาพันธ์ 2549 จากการสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกมะเขือเทศ พบวัชพืชทั้งหมด 28 วงศ์ (family) 47 สกุล (genus) 54 พันธุ์ (species) วัชพืชที่พบปริมาณมาก และมีความถี่ที่พบสูงก็จะจัดเป็นวัชพืชเด่น (dominant species) ของการสำรวจครั้งนี้ โดยพิจารณาจากค่า sum dominant ratio (SDR) ซึ่งได้แก่ หญ้าตีนนก *(Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel. และ หญ้าตีนกา *(Eleusine indica* L.) มีค่า SDR 12.0 % และ 10.6 % ตามลำดับ วัชพืชลำดับรอง (co-dominant species) พบ 4 ชนิด ได้แก่ หญ้าแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) ผักโขม *(Amaranthus viridis* L.) สร้อยนกเขา (*Mollugo pentaphylla* L.) และ *Chenopodium ficifolium* Smith spp. Blomionum มีค่า SDR 7.0% 5.6% 4.8%และ 4.7% ตามลำดับ ส่วนวัชพืชที่สำรวจพบในแปลงปลูกข้าวโพดมีทั้งหมด 22 วงศ์ 55 สกุล 61 พันธุ์ วัชพืชเด่นได้แก่ หญ้าสาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) มีค่า SDR 10.5% วัชพืชลำดับรองพบ 4 ชนิดเช่นกัน คือ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา ผักเบี้ยหิน *(Trianthema portulacastrum L.)* และ ผักเสี้ยนผี *(Cleome viscosa L.)* ซึ่งมีค่า SDR 5.6% 4.6% 3.9% และ 3.6% ตามลำดับ

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยได้นำเข้าสินค้าเกษตรเป็นปริมาณมาก หากไม่มีมาตรการสุขอนามัยที่เข้มแข็ง นอกจากจะเสียเปรียบประเทศคู่ค้าแล้ว ยังมีผลทำให้เกิดปัญหาของศัตรูพืชชนิดที่ไม่เคย

รหัสโครงการ 06-01-49-07

พบในประเทศไทยติดมากับสินค้าที่นำเข้า และแพร่กระจายเป็นศัตรูพืชชนิดใหม่ทำให้เกิดผลเสียต่อผลผลิตการเกษตรภายในประเทศ กลุ่มวิจัยวัชพืชจึงได้ดำเนินการสำรวจชนิดและปริมาณวัชพืชในพื้นที่ปลูกพืชที่นำเข้าจากต่างประเทศชนิด เพื่อจะได้ข้อมูลชนิดและปริมาณวัชพืชในการจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืช ประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นของพืชนำเข้า ในการกำหนดชนิดศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) และกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม ซึ่งจะนำไปสู่การแก้ไข ปรับปรุงกฎระเบียบต่าง ๆ ที่ออกภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ให้รัดกุมยิ่งขึ้น โดยไม่ขัดแย้งกับข้อตกลงระหว่างประเทศ (นิรนาม (2), 2547) และการสำรวจในครั้งนี้คณะทำงานเพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชเพื่อการส่งออกและนำเข้าผลผลิตการเกษตร ได้กำหนดให้ดำเนินงานสำรวจวัชพืชในพืชนำเข้า 2 ชนิดคือ มะเขือเทศ และข้าวโพด

มะเขือเทศเป็นพืชพื้นเมืองของประเทศเปรู ก่อนที่จะแพร่กระจายเข้าไปในอเมริกา ยุโรป และเอเชีย จัดเป็นพืชผักเศรษฐกิจที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง (นิรนาม(2),2547) ใช้ทั้งรับประทานสด และเป็นอุตสาหกรรม สำหรับประเทศไทยปี 2548 มีพื้นที่ปลูกมะเขือเทศ 49,000 ไร่ ผลผลิตรวม 187,000 ตัน หรือผลผลิต 3,934 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นมูลค่ารวม 339 ล้านบาท (นิรนาม, 2548) มะเขือเทศสามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย แต่แหล่งปลูกที่สำคัญจะอยู่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือในจังหวัดกาฬสินธุ์ นครพนม สกลนคร หนองคาย เชียงใหม่ และเชียงราย (http./www.google.co.th.) เพ็ญศรี (2546) รายงานว่า การปลูกมะเขือเทศนั้น จะให้ผลผลิตดีในช่วงฤดูหนาว เนื่องจากมีโรคแมลงรบกวนน้อยกว่าฤดูอื่น ๆ ส่วนฤดูฝนและฤดูร้อนนั้นมะเขือเทศเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร และยังมีปัญหาด้านโรค แมลง วัชพืช รบกวนมาก มีรายงานชนิดวัชพืชที่พบในแปลงมะเขือเทศที่ อ. เมือง จังหวัดหนองคาย 17 ชนิด จัดเป็นวัชพืชใบแคบ 3 ชนิด คือ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา และหญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L.) และเป็นวัชพืชใบกว้าง 14 ชนิดคือ หญ้ายาง *(Euphorbia heterophylla L.)* ผักเสี้ยนผี *(Cleome viscosa* L.) กกทราย *(Cyperus iria* L.) ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.) หงอนไก่ป่า *(Celosia argentia* L.) สร้อยนกเขา *(Mollugo pentaphylla* L.) เซ่งใบมน *(Melochia corchorifolia* L.) ผักแครด *(Synedrella nodiflora* Gaertn.) ไมยราบ *(Mimosa pudica* L.) ผักปราบไร่ *(Commelina benghalensis* L.) ลูกใต้ใบ *(Phyllanthus amarus* Schumach & Thonn.) น้ำนมราชสีห์ *(Euphorbia hirta* L.) สาบแร้งสาบกา *(Ageratum conyzoides* L.) และเทียนนา *(Ludwigia hyssopifolia* (G.Don.) Exell

ข้าวโพด มีแหล่งกำเนิดที่ประเทศเม็กซิโก เป็นธัญพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก รองจากข้าวสาลี และข้าว ใช้เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรท สำหรับมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้ยังนำข้าวโพดไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น แป้ง น้ำตาล สบู่ สีทาบ้าน และเครื่องดื่มประเภทอัลกอฮอล์ เป็น

ต้น สำหรับแหล่งปลูกข้าวโพดในประเทศไทยนั้น อาจกล่าวได้ว่า ข้าวโพดสามารถปลูกได้ดีทุกภาค จังหวัดที่ผลิตข้าวโพดมากในแต่ละภาคเรียงตามปริมาณการผลิตมากไปหาน้อยคือ ภาคกลาง ปลูกที่จังหวัด เพชรบูรณ์ ลพบุรี นครสวรรค์ สระบุรี ลพบุรี พิษณุโลก พิจิตร สุโขทัย และ ปราจีนบุรี ภาคเหนือปลูกที่จังหวัด แพร่ น่าน เชียงราย และเชียงใหม่ ภาคตะวันออกตะวันออกเฉียงเหนือ ปลูกที่จังหวัดนครราชสีมา ศรีสะเกษ อุบลราชธานี ขอนแก่น และชัยภูมิ และภาคใต้ปลูกที่จังหวัด สงขลา สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช (Thai Junior Encyclopedia Project of Royal Command of H.M The King Net Work Web Master.) มีรายงานการสำรวจพบวัชพืชหลายชนิด และเป็นปัญหาในการปลูกข้าวโพด มีผลทำให้ผลผลิตข้าวโพดลดลง วัชพืชที่พบมีทั้งประเภทใบแคบ ใบกว้าง และกก เช่น หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) C.A. Gardner & C.E. Hubb.) หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link.) หญ้าไม้กวาด *(Leptochloa chineniss* (L.) Nees.) หญ้าขจรจบดอกเหลือง *(Pennisetum setosum* (Swz.) L.C.Rich.) หญ้าขจรจบดอกใหญ่ (*P. pedicellatrum* Trin.) หญ้าโขย่ง (*Rottboellia exaltata* L.f.) หญ้ายาง ปอวัชพืช (*Corchorus olitorius* L.) ผักโขมหิน *(Boerhavia diffusa* L.) หญ้ากำมะหยี่ *(Lagascea mollis* Cav.) ตดหมูตดหมา (*Paederia linearis* Hook.f.) และหญ้าแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) (นิรนาม(1),2547)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงสุ่ม (Sample plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร
- เลนส์ขยาย
- วัสดุ และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างวัชพืช เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก เฟรมอัดตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์/กระดาษฟาง กระดาษลูกฟูก และเชือกมัดเฟรม
- อุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่น กระดาษ หรือ แบบฟอร์มในการบันทึกข้อมูล และกล้องบันทึกภาพ

วิธีการ

1. การค้นคว้าจากเอกสาร

ค้นคว้าเอกสารวิชาการต่าง ๆ เกี่ยวกับมะเขือเทศ และข้าวโพด และแหล่งปลูกของพืชทั้ง 2 ชนิด รายงานการแพร่กระจายของวัชพืชในมะเขือเทศ และข้าวโพด

2. การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชจากแปลงปลูกมะเขือเทศและข้าวโพด

แผนการสำรวจวัชพืชในมะเขือเทศ ได้แบ่งเขตการสำรวจเป็นเขตปลูกมะเขือเทศในภาค

กลางที่จังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม ราชบุรี และกาญจนบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือจังหวัดนครราชสีมา หนองคาย กาฬสินธุ์ สกลนคร และนครพนม ภาคเหนือที่จังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย ช่วงเวลาการสำรวจนั้นเป็นช่วงที่มะเขือเทศกำลังเจริญเติบโตทางลำต้น และช่วงติดผล

แผนการสำรวจ วัชพืชในข้าวโพดก็ปฏิบัติเช่นเดียวกัน คือแบ่งเขตสำรวจเป็นเขตลูกในภาคกลางที่จังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม ราชบุรี และกาญจนบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่จังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธานี และหนองคาย ภาคเหนือที่จังหวัดนครสวรรค์ เพชรบูรณ์ พิษณุโลก เชียงใหม่ และ เชียงราย ช่วงเวลาสำรวจตั้งแต่ข้าวโพดกำลังเจริญเติบโตจนถึงระยะออกดอก

วิธีสุ่มตัวอย่างวัชพืชในการสำรวจนั้น ใช้แปลงสุ่ม (sample plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous, 1982) ทำการสุ่ม 4 จุดต่อหนึ่งแปลง บันทึก จำนวน ชนิด นับปริมาณวัชพืชแต่ละชนิด และหาชื่อวัชพืช บันทึกภาพ เก็บตัวอย่างวัชพืชที่สมบูรณ์ คือมีส่วนของราก ต้น ใบ และดอก อัดไว้ในแผงไม้ เพื่อนำมาตากแห้งและเก็บรักษาไว้ที่ห้องเก็บตัวอย่างพรรณไม้ เพื่อใช้ในการศึกษา และเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลต่อไป ส่วนการวิเคราะห์ลักษณะเชิงปริมาณ (quantitative characteristic) ของวัชพืชที่สำรวจพบในแปลง เพื่อจัดลำดับวัชพืชเด่น (dominant species) และวัชพืชรอง (co- dominant species) นั้นได้อาศัยค่าของ sum dominance ratio ซึ่งคำนวณได้จากค่า relative density และ ค่า relative frequency จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{Relative density (RD)} = \frac{\text{Density for a species x 100}}{\text{Total density for all species}}$$

$$\text{Relative frequency (RF)} = \frac{\text{Frequency value for a species x 100}}{\text{Total frequency value for all species}}$$

$$\text{Sum dominant ratio (SRD)} = \frac{RD + RF}{2}$$

การจำแนกวัชพืช (classfication) และการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ (identification) นั้นได้อาศัยความชำนาญและประสบการณ์ของนักวิชาการและเอกสารวิชาการดังต่อไปนี้

1. เต็ม สมิตินันท์ 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544). ฟันนี่พับลิชชิ่ง . กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.
2. Anonymous. 1982. Weed Surveying Techniques. Paper in ASEAN PLANTI. Advance Course On weed Identification. 6 - 25 June 1982. ASEAN PLANTI Quarantine Centre and Training Institute. Malaysia 20 pp.

3. Anonymous. 1997. Weeds in the Tropics. Sanbi Printing Co. Ltd. Tokyo. Japan. 304 pp.

4. Noda. K. , M. Teerawatsakul, C. Prakongvongs and L. Chaiwiratnukul. 1994 . Major Weeds in Thailand. Mass Medias Co.Ltd. Bangkok. Thailand. 164 pp.

5. R. Tavatchai and J.F. Maxwell. 1994. Weeds in Soybean Fields in Thailand. Multiple Cropping Center. Faculty of Agriculture. Chiang Mai University. Thailand.

ระยะเวลา

การสำรวจวัชพืชในพืชนำเข้าทั้ง 2 ชนิดคือ มะเขือเทศ และข้าวโพด ได้เริ่มดำเนินงานตั้งแต่เดือนมีนาคม 2547 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2549

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

มะเขือเทศ

วัชพืชที่พบในแปลงปลูกมะเขือเทศตามภาคต่าง ๆ มีความแตกต่างกันไปตามสภาพของพื้นที่ปลูก ตลอดจนการดูแลและกรรมวิธีในการป้องกันกำจัดวัชพืชของเกษตรกร บริเวณภาคกลางที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี และกาญจนบุรี จะพบวัชพืชน้อยที่สุด คือพบเพียง 12 ชนิด รองลงมาแปลงปลูกมะเขือเทศในเขตภาคเหนือที่จังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย พบวัชพืช 24 ชนิด และในแปลงปลูกมะเขือเทศภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่จังหวัด นครราชสีมา หนองคาย สกลนคร และนครพนม พบวัชพืชมากที่สุดคือ 48 ชนิด สำหรับวัชพืชที่สำรวจพบเกือบทุกแปลงสุ่มนั้นได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้าปากควาย น้ำนมราชสีห์ และ ผักเบี้ยหิน

เมื่อนำข้อมูลจากการสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกมะเขือเทศตามภาคต่างๆมารวมกัน และวิเคราะห์ข้อมูลโดยอาศัยค่าของ SDR ที่ได้จากการคำนวณในสมการดังกล่าวข้างต้น ซึ่งเป็นค่าความสัมพันธ์ของจำนวนหรือความหนาแน่นของวัชพืชแต่ละชนิดต่อพื้นที่ และค่าความสัมพันธ์ของความถี่ของวัชพืชแต่ละชนิด ทำให้สามารถแบ่งกลุ่มของวัชพืช ออกชนิดเป็น 4 กลุ่มตามค่าของ SDR คือ กลุ่มวัชพืชเด่น กลุ่มวัชพืชรอง กลุ่มวัชพืชที่พบระดับปานกลาง และกลุ่มวัชพืชที่พบระดับน้อย และจากการสำรวจวัชพืชในแปลงมะเขือเทศตามภาคต่างๆ พบว่าหญ้าตีนนก และหญ้าตีนกา จัดเป็นวัชพืชเด่นคือมีค่า SDR สูงมากกว่าค่า SDR ของวัชพืชในกลุ่มอื่นๆ คือ 12.0 % และ 10.6 % ส่วนวัชพืชที่สำรวจพบและมีความสำคัญอยู่ในกลุ่มวัชพืชรองมี 4 ชนิด คือ หญ้าแห้วหมู ผักโขม สร้อยนกเขา และ *Chenopodium ficifolium* Smith spp. blomianum มีค่า SDR 7.0 % 5.6% 4.8% และ 4.7 %ตามลำดับ วัชพืชที่สำรวจพบและจัดอยู่ในกลุ่มระดับปานกลาง มีทั้งหมด 6 ชนิดคือ ลูกใต้ใบ *(Phyllanthus amarus* Schumach & Thorn.) หญ้านกสีชมพู *(Echinochloa*

colona (L.) Link) ผักปราบ (*Commelina benghalensis* L.) สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) หญ้าแพรก *(Cynodon dactylon* L.) และผักเบี้ยใหญ่ *(Portulaca oleracea* L.) มีค่า SDR 4.0% 4.0% 4.0% 3.4% 3.3%และ 3.1% ตามลำดับ ส่วนกลุ่มวัชพืชที่พบในระดับน้อย มีทั้งหมด 42 ชนิด คือ หญ้าตีนติด *(Brachiaria reptans* (L.) Gard & Hubb. ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscos*a L.) กกทราย (*Cyperus iria* L.) กระดุมใบเล็ก(*Borreria laevis* (L.) Lank. Griseb เงี่ยง (*Lindernia viscosa* (Hom.) Bold. ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) โคกกระออม *(Cardiospermum halicacabum* L.) หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinesis* (L.) Nees. น้ำนมราชสีห์ *(Euphorbia hirta* L.) หญ้ายาง *(E. hetero*phylla Ort.) หญ้าปากควาย *(Dactyloctenium aegyptium* (L.) Beauv. ผักโขมหนาม *(Amaranthus spinosus* L.) กระเม็ง *(Eclipta alba* (L.) Hassk. ปีกนกไส้ *(Bidens pillosa* L.) หญ้าสาบ *(Chromolaena* sp.) ถั่วผี *(Phaseolus lathyroides* L.f.) เซ่งใบมน *(Melochia corchorifolia* L.) ผักปราบไร่ *(Commelina diffusa* Brum.f.) เทียนนา *(Ludwigia hyssopifolia* (G.Don.) Exell.) กระดุมใบใหญ่ *(Borrenia latifolia* (Aubt.) Schum. หญ้าหวาย *(Eragrostis tenella* (L.) P. Beauv. ปอวัชพืช (*Corchorus alitorius* L.) ผักเป็ดไทย *(Alternanthera sessilis* DC.) หนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl.) สะอึก *(Ipomcea gracllis* R.Br.) โสนดอน (*Aeschynomene americana* L.*)* *Malachra capitata* L.) กระต่ายจาม (*Scoparia dulcis* L.) ตีนตุ๊กแก *(Tridex procumbens* L.) หญ้าโขย่ง *(Rottboellia exaltata* L.f.) เทียนนาใหญ่ *(Ludwigia octovalvis* (Jacq.) Raven.) หญ้าท่าพระ *(Richardia brasiliensis* Gomez.) โทงเทง *(Physalis angulata* L.) หญ้ากำมะหยี่ *(Lagascea mollis* Cav.) ตำแยแมว *(Acalypha* indica L.) หญ้านก *(Leptochloa penicea* Ohwi.) ไมยราบเลื้อย *(Mimosa invisa* Mart.) โคกกระสุน *(Triburus terrestris* L.) ตดหมูตดหมา *(Paederia linearis* Hook.f.) ส้มกบ *(Oxalis corniculata* L.) หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-gall* (L.) และ หญ้าปล้องหิน *(Paspalum scrobiculatum* L.) มีค่า SDR ต่ำกว่า 3.0% (ตารางที่ 1)

นอกจากการแบ่งกลุ่มวัชพืชที่สำรวจได้โดยอาศัยค่า SDR เพื่อจัดลำดับตามปริมาณของวัชพืชแต่ละชนิดแล้ว ในด้านการป้องกันกำจัดนั้นจะจัดแบ่งกลุ่มของวัชพืชโดยอาศัยลักษณะของวัชพืช และขนาดของใบ เพื่อความเหมาะสมในการเลือกกรรมวิธีหรือสารกำจัดวัชพืชในการกำจัด คือ แบ่งเป็นกลุ่มวัชพืชใบแคบ ได้แก่วัชพืชทีมีลักษณะใบเล็กเรียวยาว เป็นวัชพืชที่อยู่ในวงศ์ Poaceae มีจำนวน 12 ชนิด กลุ่มวัชพืชใบกว้างจะเป็นกลุ่มวัชพืชที่มีขนาดใบกว้างและใหญ่กว่าวัชพืชใบแคบ ประกอบด้วยวัชพืชจากหลายวงศ์ เช่น วงศ์ Asteraceae Aizoaceae Capparidaceae Scrophulariaceae Amaranthaceae Euphorbiaceae Solanaceae Onagraceae Boroginaceae Nyctaginaceae Portulacaceae Minosoideae Rubiaceae

Malvaceae Convolvulaceae Tiliaceae Sterculiaceae Commelinaceae Papilionaceae ซึ่งเป็นกลุ่มวัชพืชที่พบมากที่สุดในการสำรวจครั้งนี้ คือมีจำนวน 39 ชนิด และกลุ่มวัชพืชกก เป็นวัชพืชที่อยู่ในวงศ์ Cyperceae ซึ่งจะเป็นวัชพืชที่มีลักษณะใบเล็กเรียวยาวคล้ายวัชพืชใบแคบในวงศ์ Poaceae แต่มีลำต้นที่แตกต่างจากพวกวัชพืชใบแคบคือลำต้นกลวง และรูปร่างเป็นรูปสามเหลี่ยมหรือทรงกลม ส่วนลำต้นของวัชพืชใบแคบจะตันและเป็นทรงกลม พบทั้งหมด 3 ชนิด

ข้าวโพด

วัชพืชที่สำรวจพบในแปลงข้าวโพดตามภาคต่าง ๆ นั้นมีความหลากหลาย และแตกต่างกันตามสภาพพื้นที่ และกรรมวิธีป้องกันกำจัดวัชพืชที่เกษตรกรปฏิบัติในแต่ละพื้นที่เช่นกัน วัชพืชที่สำรวจพบในแปลงปลูกข้าวโพดบริเวณภาคกลาง ที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ปราจีนบุรี สระบุรี และลพบุรี มีจำนวน 49 ชนิด ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่จังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธานี หนองคาย และอุบลราชธานี พบวัชพืชในแปลงปลูกข้าวโพด 43 ชนิด และภาคเหนือที่จังหวัดนครสวรรค์ เพชรบุรี พิษณุโลก พิจิตร เชียงใหม่ และเชียงราย พบวัชพืชในแปลงปลูกข้าวโพด 5 ชนิด วัชพืชที่พบทุกภาคที่สำรวจคือ หญ้าดอกขาว หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา น้ำนมราชสีห์ ผักเสี้ยนผี กระเม็ง สาบเสือ สาบแร้งสาบกา กกทราย เทียนนา ผักเบี้ยหิน หญ้าตีนติด ปอวัชพืช ถั่วลิสงนา และหญ้าขจรจบดอกเล็ก

เมื่อนำข้อมูลการสำรวจวัชพืชในข้าวโพดของทุกภาคมารวมกัน และวิเคราะห์ข้อมูลโดยการหาค่าของ RD RF และ SDR ซึ่งเป็นตัวชี้วัดในการจัดกลุ่มของวัชพืชเด่น หรือวัชพืชรองตามตารางที่ 2 สามารถแบ่งกลุ่มวัชพืชออกเป็นสี่กลุ่มเช่นกัน คือ กลุ่มวัชพืชเด่น วัชพืชรอง กลุ่มวัชพืชที่พบระดับปานกลาง และกลุ่มวัชพืชที่พบระดับน้อย ซึ่งพบว่าสาบแร้งสาบกาอยู่ในกลุ่มวัชพืชเด่น คือมีค่า SDR สูงที่สุดคือ 10.5 % กลุ่มวัชพืชรอง มีจำนวน 4 ชนิด คือ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา ผักเบี้ยหิน และผักเสี้ยนผี มีค่า SDR 5.6% 4.6% 3.9% และ 3.6 %ตามลำดับ กลุ่มวัชพืชที่พบระดับปานกลางมี 12 ชนิดคือ หญ้าแห้วหมู เงี่ยง *(Lindernia crustacea* (Horr.) Bold.) กะเม็ง ผักโขม หญ้านกสีชมพู ลูกใต้ใบ โทงเทง (*Physalis angulata* L.) เทียนนา น้ำนมราชสีห์ หญ้างวงช้าง (*Helio troppium indicum* L.) หญ้าตีนติด กกทราย มีค่า SDR 3.0% 2.9% 2.8% 2.6% 2.5% 2.4% 2.4% 2.3% 2.2% 2.1% 2.2% และ 2.0% ตามลำดับ และสำหรับกลุ่มวัชพืชที่พบระดับน้อยมีทั้งหมด 43 ชนิด คือ สาบเสือ กระต่ายจาม หญ้าจรจบดอกเหลือง *(Pennisetum setosum* (Swz.) L.C. Rich. หญ้าพวงยาว ผักโขมหิน (*Boerhavia diffusa* L.) หญ้าโขย่ง (*Rottboellia exaltata* L.f.) ผักเบี้ยใหญ่ ไมยราบเลื้อย ตดหมูตดหมา หญ้าไม้กวาด (*Sida acuta* Burm.f.) หญ้ารังนก (Ch*loris barbata* Sw.) ผักบุ้ง *(Ipomoea aquatica* Forsk.) หญ้ายาง ปอวัชพืช หญ้าขจรจบดอกเล็ก *(P.polystachyon* (L.) Schult. หญ้าปากควาย หญ้าขจรจบดอกใหญ่ (*P.pedicellatum* Trin.) กกขนาก (*Cyperus difformis* L.) หนวดปลาดุก เซ่งใบมน

กระดุมใบเล็ก ผักปราบ ฟันสี ตีนตุ๊กแก สะอึก ผักไข่เห่า (*Panicum incomtum* Trin.) หญ้าแพรก โสนดอน (*Aeschynomene americana* L.) หญ้าหวาย หญ้าหางนกยูงใหญ่ (*Acrachne racemosa* Ohwi.) หญ้านมหนอน (*Paspalum conjugatum* Berg.) ถั่วลิสงนา *(Alysicarpus vaginalis* (L.) DC.) ผักโขมหนาม ถั่วผี ไมยราบ (*Mimosa pudica* L.) หงอนไก่ป่า (*Celosia argentia* L.) หญ้าเกล็ดหอย (*Desmodium triflorum* (L.) DC.) บานไม่รู้โรยป่า (*Gomphrena celosiodes* Mart.) หญ้าคา (*Imperata cylindrical* (L.) P. Beauv.) หูปลาช่อน (*Emilia sonchifolia* (L.) DC.) ผักเป็ดน้ำ (*Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb.) ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pestigridis* L.) และหญ้ากำมะหยี่ (*Lagascea mollis* Cav.) วัชพืชในกลุ่มสุดท้ายนี้จะมีค่า SDR น้อยกว่า 2.0%

นอกจากการจัดกลุ่มวัชพืชที่สำรวจพบในแปลงข้าวโพดได้โดยอาศัยค่า SDR เพื่อจัดกลุ่มตามปริมาณและความถี่ที่พบวัชพืชแต่ละชนิดแล้ว ในด้านการป้องกันกำจัดนั้นจะจัดแบ่งประเภทของวัชพืชโดยอาศัยลักษณะและขนาดของใบวัชพืช เพื่อความเหมาะสมในการเลือกกรรมวิธีหรือการใช้สารในการกำจัดเช่นกันคือ แบ่งออกเป็นกลุ่มวัชพืชใบแคบ ซึ่งได้แก่วัชพืชทีมีลักษณะใบเล็กเรียวยาว เป็นวัชพืชในวงศ์ Poaceae มีจำนวน 16 ชนิด กลุ่มวัชพืชใบกว้างจะเป็นกลุ่มวัชพืชที่มีขนาดใบกว้างและใหญ่กว่าวัชพืชใบแคบ ประกอบด้วยวัชพืชจากหลายวงศ์ เช่น วงศ์ Asteraceae Aizoaceae Capparidaceae Scrophulariaceae Amaranthaceae Euphorbiaceae Solanaceae Onagraceae Boraginaceae Nyctaginaceae Portulacaceae Minosoideae Rubiaceae Malvaceae Convolvulaceae Tiliaceae Sterculiaceae Commelinaceae และ Papilionaceae ซึ่งเป็นกลุ่มวัชพืชที่พบมากที่สุดในการสำรวจครั้งนี้ คือมีจำนวน 41 ชนิด และกลุ่มสุดท้ายคือ กลุ่มวัชพืชกก เป็นวัชพืชที่อยู่ในวงศ์ Cyperceae มีลักษณะใบเล็กเรียวยางคล้ายวัชพืชใบแคบในวงศ์ Poaceae แต่มีลำต้นที่แตกต่างจากพวกวัชพืชใบแคบคือลำต้นกลวง และรูปร่างเป็นรูปสามเหลี่ยมหรือทรงกลม ส่วนลำต้นของวัชพืชใบแคบจะตันและเป็นทรงกลม พบทั้งหมด 4 ชนิด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกมะเขือเทศตามภาคต่าง ๆ คือภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ พบวัชพืชทั้งหมด 54 ชนิด จัดอยู่ใน 28 วงศ์ (family) 47 สกุล (genus) และพบวัชพืชในแปลงปลูกข้าวโพด 61 พันธุ์ (species) 22 วงศ์ และ 55 สกุล
2. วัชพืชเด่นในแปลงมะเขือเทศคือ หญ้าตีนนก และหญ้าตีนกา ส่วนวัชพืชรองได้แก่ หญ้าแห้วหมู ผักโขม สร้อยนกเขา และ *Chenopoohium ficifolium* Smith spp. blomionum สำหรับ

วัชพืชเด่นที่พบในแปลงข้าวโพดคือ สาบแร้งสาบกา และวัชพืชรองคือ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา ผักเบี้ยหิน และผักเสี้ยนผี

3. จำนวนวัชพืชที่สำรวจพบในแปลงมะเขือเทศ จัดกลุ่มตามรูปร่างและขนาดของใบเพื่อความเหมาะสมในการป้องกันกำจัดคือ กลุ่มวัชพืชใบแคบ พบจำนวน 12 ชนิด กลุ่มวัชพืชใบกว้าง พบจำนวน 39 ชนิด และกลุ่มวัชพืชกกพบจำนวน 3 ชนิด ส่วนแปลงข้าวโพดพบกลุ่มวัชพืชใบแคบจำนวน 16 ชนิด กลุ่มวัชพืชใบกว้างจำนวน 41 ชนิด และกลุ่มวัชพืชกกจำนวน 3 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันทน์. 2523. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. ฟันนี่พับบลิชริ่ง. กรุงเทพมหานคร. 37 หน้า.

นิรนาม (1), 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืช และการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่ม วิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 133 หน้า.

นิรนาม (2), 2547. เอกสารวิชาการศัตรูพืชกักกันที่สำคัญของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 43 หน้า.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2546. ศึกษาช่วงวิกฤติของการแข่งขันระหว่างวัชพืชกับมะเขือเทศ. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม เล่มที่ 1 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 559 – 575.

นิรนาม, 2548. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2548. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. สหมิตรพริ้นติ้ง นนทบุรี. 121 หน้า.

Anonymous. Weed Surveying Techniques. Paper in ASEAN PLANTI Advance Course on Weed Identification. 6-25 June 1982. ASEAN PLANTI Quarantine Centre and Training Institute, Malaysia. 20 pp.

Anonymous. 1997. Weeds in The Tropic. Sanbi Prining Co.Ltd. Tokyo. Japan. 304 pp. http./www. goole. coth.

Noda. K., M. Teerawatsakul, C. Prakongvongs and L. Chaiwiratnukul. 1994. Major Weeds in Thailand. Mass Medias Co. Ltd. Bangkok, Thailand. 164 pp.

R. Tavachai and J.F Maxwell. 1994. Weeds of Soybean Fields in Thailand. Multiple Cropping Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. Chiang Mai. Thailand. 408 pp.

Thai Junior Encyclopedia Project of Royal Command of H.M. King Net Work Web Master.

Table 1 List of weed species in tomato field and their relative density (RD), relative frequency (RF) and sum dominance ratio (SDR)

Weed Species	Family	Form	%		
			RD	RF	SDR
Digitaria ciliaris (Retz.) Koel. (หญ้าตีนนก)	Poaceae	N	8.8	8.2	12.0
Eleusine indica L. (หญ้าตีนกา)	Poaceae	S	8.7	8.5	10.6
Cyperus rotundus L. (หญ้าแห้วหมู)	Cyperaceae	N	8.6	5.7	7.0
Amarathus viridis L. (ผักโขม)	Amaranthaceae	B	5.7	5.5	5.6
Mollugo pentaphylla L. (สร้อยนกเขา)	Aizoaceae	B	6.3	3.2	4.8
Chenopodium ficifolium Smith spp. *blomianum*	Chenopodiaceae	B	6.5	2.6	4.7
Phyllanthus amarus Schumach & Thonn. (ลูกใต้ใบ)	Euphorbiaceae	B	5.0	2.7	4.0
Echinochloa colona (L.) (Link) (หญ้านกสีชมพู)	Poaceae	N	2.7	5.2	4.0
Commelina benghalensis L. (ผักปราบไร่)	Commelidaceae	B	3.3	4.7	4.0
Ageratum conyzoides L. (สาบแร้งสาบกา)	Asteraceae	B	0.9	3.8	3.4
Cynodon dactylon L. (หญ้าแพรก)	Poaceae	N	4.7	1.8	3.3
Protulaca oleracea L. (ผักเบี้ยใหญ่)	Portulacaceae	B	2.9	3.2	3.1
Brachiaria reptans (L.) Gard & Hubb. (หญ้าตีนติด)	Poaceae	N	2.2	2.9	2.6
Cleome viscosa L. (ผักเสี้ยนผี)	Capparidaceae	B	1.8	3.2	2.5
Cyperus iria Linn. (กกทราย)	Cyperaceae	S	2.0	2.3	2.0
Borreria laevis (L.) Lamk. Griseb. (กระดุมใบเล็ก)	Rubiaceae	B	2.9	1.2	2.1
Lindernia viscosa (Horn.) Bold. (เงี่ยง)	Scrophulariaceae	B	1.5	2.3	1.9
Trianthema portulacastrum L.(ผักเบี้ยหิน)	Aizoaceae	B	1.3	2.0	1.7
Cardiospermum halicacabum L. (โคกกระออม)	Sapindaceae	B	2.4	0.9	1.7
Leptochloa chinensis (L.) Nees. (หญ้าดอกขาว)	Poaceae	N	1.0	2.3	1.7
Euphorbia hirta L. (น้ำนมราชสีห์)	Euphorbiaceae	B	0.4	2.0	1.2
Euphorbia geniculata Ort. (หญ้ายาง)	Euphorbiaceae	B	0.7	1.7	1.2
Dactyloctenium aegyptium (L.) Beauv. (หญ้าปากควาย)	Poaceae	N	0.6	1.2	0.9
Amaranthus spinosus L. (ผักโขมหนาม)	Amaranthaceae	B	0.9	0.9	0.9
Eclipta alba (L.) Hassk. (กระเม็ง)	Asteraceae	B	0.6	0.9	0.8
Bidens pillosa L. (ปีกนกไส้)	Asteraceae	B	0.6	0.9	0.8
Chromolaena sp. (หญ้าสาบ)	Asteraceae	B	0.5	0.9	0.7
Phaseolus lathyroides L.f. (ถั่วผี)	Papilionoideae	B	0.4	0.9	0.7

Table 1 continued

Weed Species	Family	Form	%		
			RD	RF	SDR
Melochia corchorifolia L. (เซ่งใบมน)	Sterculiaceae	B	0.4	0.9	0.7
Commelina diffusa Burm.f. (ผักปราบนา)	Commelinaceae	B	0.5	0.6	0.6
Ludwigia hyssopifolia (G.Don.) Exell. (เทียนนา)	Onagraceae	B	0.3	0.9	0.6
Borreria latifolia (Aubl.) Schum. (กระดุมใบใหญ่)	Rubiaceae	B	0.9	0.3	0.6
Eragrostis tenella (L.) P. Beauv. (หญ้าหวาย)	Poaceae	N	0.6	0.6	0.6
Corchorus alitorius L. (ปอวัชพืช)	Tiliaceae	B	0.3	0.9	0.6
Alternanthera sessilis DC. (ผักเป็ดไทย)	Amaranthaceae	B	0.3	0.6	0.5
Fimbristylis miliacea (L.) Vahl. (หนวดปลาดุก)	Cyperaceae	F	0.1	0.6	0.4
Ipomoea gracillis R.Br. (สะอึก)	Convolvulaceae	B	0.2	0.6	0.4
Protulaca oleracea L. (โสนดอน)	Portulacaceae	B	0.1	0.6	0.4
Malachra capitata L	Malvaceae	B	0.1	0.6	0.4
Scoparia dulcic L. . (กระต่ายจาม)	Scrophulariaceae	B	0.2	0.6	0.4
Tridax procumbens L. (ตีนตุ๊กแก)	Asteraceae	B	0.2	0.6	0.4
Rottboellia exaltata L. f. (หญ้าโขย่ง)	Poaceae	N	0.1	0.6	0.4
Ludwigia octovalvis (Jacq.) Raven. (เทียนนาใหญ่)	Onagraceae	B	0.2	0.6	0.4
Richardia brasiliensis Gomez. (หญ้าท่าพระ)	Rubiaceae	B	0.4	0.1	0.3
Physalis angulata L. (โทงเทง)	Solanaceae	B	0.2	0.3	0.3
Lagascea mollis Cav. (หญ้ากำมะหยี่)	Asteraceae	B	0.2	0.3	0.3
Acalypha indica L. (ตำแยแมว)	Euphorbiaceae	B	0.2	0.3	0.3
Leptochloa panicea Ohwi. (หญ้านก)	Poaceae	N	0.2	0.3	0.3
Mimosa invisa Mart. (ไมยราบเลื้อย)	Mimosoideae	B	0.1	0.3	0.2
Triburus terrestris L. (โคกกระสุน)	Asteraceae	B	0.1	0.3	0.2
Paederia linearis Hook.f. (ตดหมูตดหมา)	Rubiaceae	B	0.1	0.3	0.2
Oxalis corniculata L. (ส้มกบ)	Oxalidaceae	B	0.1	0.3	0.2
Echinochloa crus-galli (L.) Beauv. (หญ้าข้าวนก)	Poaceae	N	0.1	0.3	0.2
Paspalum scrobiculatum L. (หญ้าปล้องหิน)	Poaceae	N	0.1	0.3	0.2

N = Narrow leaves ; B = Broad leaves ; S = Sedge

Table 2 List of weed species in corn field and their relative density (RD), relative frequency (RF) and sum dominance ratio (SDR)

Weed Species	Family	Form	%		
			RD	RF	SDR
Ageratum conyzoides L. (สาบแร้งสาบกา)	Asteraceae	B	16.1	4.7	10.4
Digitaria ciliaris (Retz.) Koel. (หญ้าตีนนก)	Poaceae	N	6.4	4.8	5.6
Eleusine indica L. (หญ้าตีนกา)	Poaceae	N	4.0	5.2	4.6
Trianthema portulacastrum L. (ผักเบี้ยหิน)	Aizoaceae	B	4.0	3.8	3.9
Cleome viscosa L. (ผักเสี้ยนผี)	Capparidaceae	B	3.9	3.3	3.6
Cyperus rotundus L. (หญ้าแห้วหมู)	Cyperaceae	S	2.9	3.1	3.0
Lindernia crustscea (Horr.) Bold (เงี่ยง)	Scrophulariaceae	B	4.3	1.4	2.9
Eclipta alba (L.) Hassk. (กระเม็ง)	Asteraceae	B	2.0	3.5	2.8
Amarathus viridis L. (ผักโขม)	Amaranthaceae	B	2.3	2.9	2.6
Echinochloa colona Link. (หญ้านกสีชมพู)	Poaceae	N	1.3	3.1	2.5
Phyllanthus amarus Schumach & Thonn. (ลูกใต้ใบ)	Euphorbiaceae	B	1.9	2.8	2.4
Physalis angulata L. (โทงเทง)	Solanaceae	B	3.0	1.7	2.4
Ludwigia hyssopifolia (G.Don.) Exell. (เทียนนา)	Onagraceae	B	2.5	2.1	2.3
Euphorbia hirta L. (น้ำนมราชสีห์)	Euphorbiaceae	B	1.6	2.7	2.2
Heliotropium indicum L. (หญ้างวงช้าง)	Boraginaceae	B	2.7	1.4	2.1
Brachiaria reptans (L.) Gard & Hubb. (หญ้าตีนติด)	Poaceae	N	1.5	2.4	2.0
Cyperus iria L. (กกทราย)	Cyperaceae	S	1.6	2.4	2.0
Chromolaena odoratum (L.) R.M.King & H.Rob. (สาบเสือ)	Asteraceae	B	1.4	2.1	1.8
Scoparia dulcis L.. (กระต่ายจาม)	Scrophulariaceae	B	1.9	1.6	1.8
Pennisetum setosum (Swz.) L.C. Rich. (หญ้าขจรจบดอกเหลือง)	Poaceae	N	1.0	1.9	1.5
Lindernia viscosa (Horn.) Bold. (ผักพวงยาว)	Scrophulariaceae	B	1.3	1.7	1.5
Boerhavia diffusa L. (ผักโขมหิน)	Nyctaginaceae	B	1.2	1.6	1.4
Rottboellia exaltata L. f. (หญ้าโขย่ง)	Poaceae	N	1.1	1.7	1.4
Portulaca oleracea L. (ผักเบี้ยใหญ่)	Portulacaceae	B	0.9	1.6	1.3
Mimosa invisa Mart. (ไมยราบเลื้อย)	Mimosoideae	B	0.9	1.6	1.3
Paederia linearis Hook.f. (ตดหมูตดหมา)	Rubiaceae	B	0.9	1.6	1.3
Sida acuta Burm.f. (หญ้าไม้กวาด)	Malvaceae	B	0.8	1.6	1.2
Chloris barbata Sw. (หญ้ารังนก)	Poaceae	N	0.6	1.6	1.1

Table 2 continued

Weed Species	Family	Form	%		
			RD	RF	SDR
Ipomoea aquatica Forsk . (ผักบุ้ง)	Convolvulaceae	B	0.9	1.2	1.1
Euphorbia heterophylla L. (หญ้ายาง)	Euphorbiaceae	B	0.8	1.4	1.1
Corchorus alitorius L. (ปอวัชพืช)	Tiliaceae	B	0.7	1.4	1.1
Pennisetum polystachyon (L.) Schult. (หญ้าขจรขบดอกเล็ก)	Poaceae	N	0.7	1.4	1.1
Dactyloctenium aegyptium (L.) Beauv. (หญ้าปากควาย)	Poaceae	N	1.0	1.0	1.0
Pennisetum pedicellatum Trin. (ขจรจบดอกใหญ่)	Poaceae	N	0.7	1.2	1.1
Cyperus difformis L. (กกขนาก)	Cyperaceae	S	0.8	0.9	0.9
Fimbristylis miliacea (L.) Vahl. (หนวดปลาดุก)	Cyperaceae	S	1.1	0.7	0.9
Melochia corchorifolia L. (เซ่งใบมน)	Sterculiaceae	B	0.5	1.2	0.9
Borreria laevis (L.) Lamk. Griseb. (กระดุมใบเล็ก)	Rubiaceae	B	0.9	0.9	0.9
Commelina benghalensis L. (ผักปราบ)	Commelidaceae	B	0.8	0.9	0.9
Abutilon indicum (L.) Sweet (ฟันสี)	Malvaceae	B	0.6	0.9	0.8
Tridax procumbens L. (ตีนตุ๊กแก)	Asteraceae	B	0.7	0.9	0.8
Ipomoea gracillis R.Br. (สะอึก)	Convolvulaceae	B	0.5	1.0	0.8
Panicum incomtum Trin. (ผักไข่เหา)	Poaceae	N	0.7	0.7	0.7
Cynodon dactylon L. (หญ้าแพรก)	Poaceae	N	0.5	0.9	0.7
Aeschynomene americana L. (โสนดอน)	Papilionoideae	B	0.4	0.9	0.7
Eragrostis tenella (L.) P. Beauv. (หญ้าหวาย)	Poaceae	N	0.4	0.9	0.7
Acrachne racemosa Ohwi (หญ้าหางนกยูงใหญ่)	Poaceae	N	0.6	0.5	0.6
Paspalum conjagatum Berg. (หญ้านมหนอน)	Poaceae	N	0.3	0.9	0.6
Alysicarpus vaginalis (L.) DC. (ถั่วลิสงนา)	Papilionoideae	N	0.2	1.0	0.6
Amaranthus spinosus L. (ผักโขมหนาม)	Amaranthaceae	B	0.2	0.5	0.4
Phaseolus lathyroides L.f. (ถั่วผี)	Papilionoideae	B	0.4	0.3	0.4
Mimosa pudica L. (ไมยราบ)	Mimosoideae	M	0.3	0.5	0.4
Celosia argenta L. (หงอนไก่ป่า)	Amaranthaceae	B	0.2	0.5	0.4
Desmodium triflorum (L.) DC. (หญ้าเกล็ดหอย)	Papilonoideae	B	0.2	0.5	0.4
Gomphrena celosioides Mart. (บานไม่รู้โรยป่า)	Amaranthaceae	B	0.2	0.3	0.3

Table 2 continued

Weed Species	Family	Form	%		
			RD	RF	SDR
Imperata cylindrica (L.) P. Beacea (หญ้าคา)	Poaceae	N	0.2	0.2	0.2
Emilia sonchifolia (L.) DC. (หูปลาช่อน)	Asteraceae	B	0.2	0.2	0.2
Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb (ผักเป็ดน้ำ)	Amaranthaceae	B	0.2	0.1	0.2
Ipomoea pestigridis L. (ขยุ้มตีนหมา)	Convlovalacae	B	0.2	0.1	0.2
Lagascea mollis Cav. (หญ้ากำมะหยี่)	Asteraceae	B	0.2	0.1	0.2

N = Narrow leaves ; B = Broad leaves ; S = Sedge

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของข้าวสาลีนำเข้า

Pest Risk Analysis for Wheat Importation

สุรพล ยินอัศวพรรณ ชลธิชา รักใคร่
สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ อุดร อุณหวุฒิ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเทศไทยนำเข้าข้าวสาลี (wheat: *Triticum aestivum*) จากต่างประเทศเป็นปริมาณมากทุกปี ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ข้าวสาลีจากทุกแหล่งเป็นสิ่งกำกัด การนำเข้ามีเพียงใบรับรองปลอดศัตรูพืชจากต้นทาง การศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของข้าวสาลี พบว่ามีสิ่งมีชีวิตทั้งที่รายงานพบบนข้าวสาลีที่มีรายงานทั่วโลกรวม 501 ชนิด เป็นแมลง 226 ชนิด ไร 21 ชนิด ไวรัส 19 ชนิด แบคทีเรีย 21 ชนิด รา 99 ชนิด ไส้เดือนฝอย 18 ชนิด และวัชพืช 92 ชนิด ศัตรูพืชดังกล่าวมีในประเทศไทยรวมทั้งสิ้นจำนวน 100 ชนิด เป็นแมลง 38 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 18 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด และวัชพืช 38 ชนิด ยังไม่มีข้อมูลของไรบนข้าวสาลีในประเทศไทย การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันโดยทำการประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาดและประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่จะเกิดขึ้นของศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด กำลังอยู่ในระหว่างการดำเนินการ

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีพืชมากมายหลายชนิดที่เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ ผลผลิตของพืชเหล่านี้ส่วนหนึ่งใช้ภายในประเทศและที่เหลือจะส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ปัจจุบันประเทศไทยไม่สามารถผลิตข้าวสาลีได้เพียงพอ จำเป็นที่จะต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศ จึงมีโอกาสเสี่ยงสูงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามากับข้าวสาลีที่นำเข้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อโรคพืช เช่น รา แบคทีเรีย ไวรัส ซึ่งไม่สามารถจะมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า นอกจากนี้ ข้าวสาลีที่นำเข้าไม่ได้มีการควบคุมคุณภาพในกระบวนการผลิตที่ดีแล้ว อาจจะมีเมล็ดวัชพืชร้ายแรงในแปลงปลูกซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับเมล็ดข้าวสาลีติดปะปนเข้ามา และเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทยได้

รหัสโครงการ 07-01-49-07

ในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศ ประเทศไทยได้อาศัยกฎหมายควบคุมการนำเข้าพืช ได้แก่ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ควบคุมการนำเข้าพืชจากต่างประเทศ โดยแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม ข้าวสาลีปัจจุบันถูกจัดเป็นสิ่งกำกัด ซึ่งตามระเบียบกำหนดให้การนำเข้าสิ่งกำกัดต้องมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับมาด้วย จากการศึกษารวบรวมข้อมูลศัตรูพืชในเบื้องต้นปรากฏว่า มีศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงายในประเทศไทย ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้มีโอกาสที่จะติดเข้ามากับข้าวสาลีที่นำเข้าได้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องปรับปรุงเงื่อนไขนำเข้าให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นโดยผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช โดยการกำหนดเงื่อนไขนำเข้าหรือมาตรการสุขอนามัยพืชใหม่ต้องเป็นไปตามความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) (Anonymous, 1994) มาตรการสุขอนามัยและมาตรการสุขอนามัยพืชจะใช้ได้เท่าที่จำเป็นในการปกป้องสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช บนพื้นฐานของวิทยาศาสตร์ โดยผ่านการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช และใช้มาตรการดังกล่าวอย่างเลือกปฏิบัติ ไม่มีเหตุผล หรือสร้างมาตรการที่มีความเข้มงวดแอบแฝง ก่อให้เกิดอุปสรรคต่อการค้าไม่ได้ สำหรับการประเมินความเสี่ยงนั้นต้องเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนดโดยหน่วยงานระหว่างประเทศ สำหรับทางด้านพืชใช้มาตรฐานจากอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ International Plant Protection Convention: IPPC) (Anonymous, 1992)

ที่ผ่านมาไม่มีบันทึกศัตรูพืชกักกันของข้าวสาลีที่เป็นเหตุผลในการจัดข้าวสาลีเป็นสิ่งกำกัด ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เบื้องต้นเพื่อวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของข้าวสาลี โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 2 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) (Anonymous, 1996) และฉบับที่ 11 เรื่อง คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks) (Anonymous, 2004a) เพื่อใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนในการประกาศทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าข้าวสาลีจากต่างประเทศต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมเครื่องพิมพ์ 1 ชุด
2. ระบบอินเตอร์เนทสำหรับสืบค้นข้อมูลพืช และกฎระเบียบต่างๆ

3. แผ่นข้อมูล Crop Protection Compendium (CABI 2005)

วิธีการ

1. การศึกษาข้อมูลข้าวสาลีและข้อมูลศัตรูพืชของข้าวสาลี

ศึกษาข้อมูลของพืชที่จะวิเคราะห์ คือข้าวสาลี โดยค้นคว้ารวบรวมจากเอกสารที่มีรายงานจากทั่วโลกและจากข้อมูลในประเทศไทย เพื่อให้ได้ข้อมูลของข้าวสาลีอันได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) ชื่อพ้อง (Synonym) ชื่อสามัญ (Common name) แหล่งปลูก (Geographical distribution) เอกสารอ้างอิง (References) และข้อมูลศัตรูพืชที่สำคัญของข้าวสาลี ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง ชื่อสามัญ แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย (Plant part affected) พบในประเทศไทยหรือไม่: พบ/ไม่พบ (Present in Thailand: Yes/No) การควบคุม (Control) เป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่: เป็น/ไม่เป็น (Quarantine pest: Yes/No) และเอกสารอ้างอิง

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับข้าวสาลีนำเข้าตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง “การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช” และฉบับที่ 11 เรื่อง “คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” โดยมีขั้นตอน ดังนี้

2.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยง (STAGE1: INITIATING THE PRA PROCESS)

พิจารณาสถานภาพของข้าวสาลีในปัจจุบัน เหตุผลความจำเป็นที่ต้องวิเคราะห์ความเสี่ยง นโยบายของประเทศไทย พิจารณาสถานภาพเดิม ปริมาณการค้านำเข้า สรุปปัญหาเสนอแนวนโยบายปรับปรุง

2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (STAGE 2: PEST RISK ASSESSMENT) **ของข้าวสาลี**

โดยแบ่งขั้นตอนออกเป็น

2.2.1 การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest Categorization) **ที่พบบนข้าวสาลี**

ดำเนินการโดยการค้นคว้ารวบรวมรายชื่อของสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานพบบนข้าวสาลี โดยจัดแบ่งออกเป็นทั้งหมด 10 กลุ่ม เรียงตามลำดับดังนี้ (1). แมลง (Insect) (2). ไร (Mite) (3). ไวรัส (Virus) (4). ไวรอยด์ (Viroid) (5). แบคทีเรีย (Bacteria) (6). รา (Fungus) (7) ไส้เดือนฝอย (Nematode) (8) ไฟโตพลาสมา (Phytoplasma) (9).วัชพืช (Weed) และ (10). ไม่ทราบสาเหตุ (Unknown Etiology)

สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่มีรายงานพบบนข้าวสาลีจะถูกบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับ (1). ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) (2). ชื่อพ้อง (Synonym) (3). ชื่อสามัญ (Common

name) (4). แหล่งแพร่กระจาย (Geographical distribution) (5). ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย (Plant part affected) (6). พบในประเทศไทยหรือไม่ : พบ/ไม่พบ (Present in Thailand: Yes/No) (7). เป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ : เป็น/ไม่เป็น (Quarantine pest: Yes/No) และ เอกสารอ้างอิง (References)

2.2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Risk Assessment) ของข้าวสาลี

เป็นการประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืชในข้าวสาลีที่สำคัญที่ไม่พบในประเทศไทย ที่อาจมีโอกาสติดเข้ามาแล้วแพร่ระบาดในประเทศ และการประเมินศักยภาพที่มีผลกระทบทางเศรษฐกิจ (Economic importance criteria) รวมทั้งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อให้แสดงศักยภาพในความสำคัญทางเศรษฐกิจ ศัตรูพืชนั้นต้องเข้ามาดำรงชีวิตและแพร่กระจายได้ ปัจจัยที่พิจารณาคือ

2.2.2.1 ศักยภาพในการเข้ามาดำรงชีวิต (Establishment Potential)

เพื่อให้สามารถประมาณศักยภาพการเข้ามาดำรงชีวิตของศัตรูพืช ต้องมีข้อมูลชีววิทยา (วงจรชีวิต พืชอาศัย กระแพร่ระบาด การอยู่รอดข้ามฤดู ฯลฯ) ในพื้นที่ที่เกิดศัตรูพืชระบาดนั้น สถานภาพในพื้นที่ที่อยู่ในอันตราย (PRA area) (Anonymous, 2004) จะถูกเปรียบเทียบกับสถานภาพในพื้นที่ที่เกิดขึ้นในปัจจุบัน และจะทำการประเมินศักยภาพในการเข้ามาดำรงชีวิต สามารถพิจารณาจากประวัติเก่าที่เกี่ยวข้อง ตัวอย่างปัจจัยที่ที่ใช้พิจารณา คือ ปริมาณและการแพร่กระจายของพืชอาศัยในพื้นที่ PRA area สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมใน PRA area ศักยภาพในการปรับตัวของศัตรูพืช การขยายพันธุ์ของศัตรูพืช วิธีการอยู่รอดข้ามฤดูของศัตรูพืช หากศัตรูพืชไม่มีศักยภาพเข้ามาดำรงชีวิตใน PRA area การประเมินความเสี่ยงจะหยุดตรงจุดนี้

2.2.2.2 ศักยภาพการแพร่กระจายหลังการเข้ามาดำรงชีวิต (Spread Potential after Establishment)

เพื่อประมาณศักยภาพการแพร่กระจายของศัตรูพืช ต้องมีข้อมูลชีววิทยาของศัตรูพืชนั้นจากพื้นที่ที่ระบาดอยู่ในปัจจุบัน เปรียบเทียบสถานภาพในพื้นที่ PRA area กับในพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นระบาดอยู่ในปัจจุบัน และจะทำการประเมินศักยภาพในการเข้ามาดำรงชีวิต สามารถพิจารณาจากประวัติเก่าที่เกี่ยวข้อง ตัวอย่างปัจจัยที่ที่ใช้พิจารณา คือ ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อม และ/หรือสภาพแวดล้อมที่ปรับปรุงเพื่อให้เกิดการแพร่กระจายอย่างธรรมชาติของศัตรูพืช การเคลื่อนย้ายสินค้าหรือพาหนะ เจตนาในการใช้สินค้าพืชนั้น พาหะที่มีศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่ PRA area ศัตรูธรรมชาติ (Natural enemies) ที่มีศักยภาพในพื้นที่ PRA area ข้อมูลเกี่ยวกับศักยภาพการแพร่กระจายจะนำมาใช้ประมาณความเร็วในการก่อความเสียหายที่สำคัญทางเศรษฐกิจภายในบริเวณ PRA area ข้อมูลนี้มีความสำคัญในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงในการพิจารณาความยากง่ายของการควบคุมหรือกำจัดศัตรูพืชที่เข้ามา

2.2.2.3 **ศักยภาพในความสำคัญทางเศรษฐกิจ** (Potential Economic Importance)

ขั้นถัดไปในขบวนการ PRA คือ การตัดสินว่าศัตรูพืชมีศักยภาพความสำคัญทางเศรษฐกิจใน PRA area หรือไม่ เพื่อที่จะประมาณศักยภาพความสำคัญทางเศรษฐกิจของศัตรูพืชได้ ต้องมีข้อมูลจากพื้นที่ที่ปัจจุบันระบาดอยู่ สำหรับแต่ละพื้นที่นั้นขอให้มีข้อมูลความเสียหายว่าเสียหายเป็นส่วนใหญ่ เสียหายเล็กน้อยหรือไม่เสียหายเลย เกิดความเสียหายขึ้นบ่อยแค่ไหน หากเป็นไปได้ ให้ดูความสัมพันธ์กับ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งสภาพภูมิอากาศ

เปรียบเทียบสถานภาพใน PRA area กับในพื้นที่ที่เกิดการระบาดในปัจจุบัน และจะทำการประเมินศักยภาพในการเข้ามาดำรงชีวิต สามารถพิจารณาจากประวัติเก่าที่เกี่ยวข้อง ตัวอย่างปัจจัยที่ที่ใช้พิจารณา คือ แบบความเสียหาย การลดลงของผลผลิต สูญเสียตลาดส่งออก เพิ่มต้นทุนการกำจัดศัตรูพืช ผลกระทบต่อโครงการ IPM การทำลายสภาพแวดล้อม ความสามารถเป็นพาหะสำหรับศัตรูพืชชนิดอื่น และภาระทางสังคมเนื่องจากการไม่จ้างงาน

หากศัตรูพืชไม่มีศักยภาพความสำคัญทางเศรษฐกิจใน PRA area ก็ไม่เป็นศัตรูพืชกักกัน และการวิเคราะห์ความเสี่ยงจะหยุดลงแค่ตรงนี้

2.3 **การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช** (STAGE 3: PEST RISK MANAGEMENT)

การจัดการความเสี่ยง เพื่อปกป้องพื้นที่เสี่ยงภัย (Endangered area) ควรเป็นสัดส่วนกับความเสี่ยงที่จำแนกได้ในการประเมินความเสี่ยง อยู่บนพื้นฐานของข้อมูลที่รวบรวมได้ในการประเมินความเสี่ยง มาตรการสุขอนามัยพืชต้องใช้ตามความจำเป็นเพื่อประสิทธิภาพในการป้องกันของพื้นที่เสี่ยงภัย

2.3.1 **ทางเลือกในการจัดการความเสี่ยง** (Risk Management Option)

ต้องมีการรวมทางเลือกเพื่อลดความเสี่ยงลงมาถึงระดับที่ยอมรับได้ ทางเลือกเหล่านี้ต้องเกี่ยวข้องกับเส้นทางศัตรูพืชและโดยเฉพาะอย่างยิ่งในเงื่อนไขประกอบการอนุญาตนำเข้าของสินค้าพืชนั้น ตัวอย่างเช่น การรวมเข้าไปในรายชื่อศัตรูพืชที่ห้ามเข้า (Prohibited pests) การตรวจสอบเพื่อรับรองปลอดศัตรูพืชก่อนส่งออก ออกข้อกำหนดเงื่อนไขปฏิบัติก่อนส่งออก (เช่น การคลุกยา ผลิตจากพื้นที่ปลอดศัตรูพืช การตรวจสอบศัตรูพืชในระหว่างพืชกำลังเจริญเติบโตในแปลงปลูก) การตรวจสอบศัตรูพืชที่จุดนำเข้า การกำจัดศัตรูพืช ณ จุดนำเข้า ด่านตรวจพืช หรือถ้าเหมาะสมก็กระทำ ณ สถานที่ปลายทาง การกักในสถานกักพืช มีมาตรการหลังการนำเข้า (จำกัดการใช้ประโยชน์ของสินค้านำเข้า หรือมีมาตรการควบคุม) การห้ามนำเข้าสินค้าเฉพาะชนิดจากแหล่งนำเข้าเฉพาะแห่ง อาจเกี่ยวข้องกับทางลดความเสี่ยงของความเสียหาย

2.3.2 **ประสิทธิภาพและผลกระทบของทางเลือก** (Efficacy of Impact of the Options)

การประเมินประสิทธิภาพและผลกระทบของทางเลือกต่างๆ ในการลดความเสี่ยงลงมาถึงระดับที่ยอมรับได้ เช่น ประสิทธิภาพทางชีววิธี ต้นทุน/กำไรของการนำวิธีการไปใช้ปฏิบัติ ผลกระทบต่อกฎระเบียบที่มีอยู่ ผลกระทบทางการค้า ผลกระทบทางสังคม การพิจารณานโยบายด้านสุขอนามัยพืช ระยะเวลาที่จะปฏิบัติตามกฎระเบียบใหม่ ประสิทธิภาพของทางเลือกต่อศัตรูพืชกักกันอื่นๆ ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ต้องระบุข้อดีข้อเสียของทางเลือก แต่ละประเทศมีสิทธิที่จะใช้และกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชโดยมีหลักการ Minimal impact คือให้มีผลกระทบน้อยที่สุดต่อการเคลื่อนย้ายระหว่างประเทศของประชาชน สินค้าและพาหนะ

2.3.3 **สรุปขั้นตอนที่** 3 (Conclusion for Stage 3)

ในตอนท้ายของขั้นตอนที่ 3 เป็นการตัดสินใจใช้มาตรการสุขอนามัยที่เหมาะสมที่เกี่ยวข้องกับศัตรูพืชหรือเส้นทางศัตรูพืช ความสมบูรณ์ของขั้นตอนที่ 3 เป็นสิ่งจำเป็น ภายหลังใช้มาตรการสุขอนามัยพืชแล้วควรติดตามตรวจสอบประสิทธิภาพ และควรมีการทบทวนการจัดการความเสี่ยงที่เลือกใช้หากจำเป็น

2.4 **การจัดทำเอกสารขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยง** (DOCUMENT THE PRA PROCESS)

จัดทำรายงานเป็นเอกสารเพื่อใช้ทบทวนหรือใช้ได้เมื่อเกิดมีการพิพาทโต้แย้ง ข้อมูลผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงจะแสดงสถานะของแหล่งข้อมูลและคำชี้แจงเหตุผลที่ใช้ในการเข้าถึงการตัดสินใจเลือกจัดการความเสี่ยงในการใช้หรือถูกดำเนินการใช้มาตรการสุขอนามัยพืช

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

สถานที่ 1. แปลงปลูกพืชในประเทศชนิดที่จะวิเคราะห์

2. ด่านตรวจพืช

3. ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช

.ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยง

สถานภาพเดิมของข้าวสาลีเป็นสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืช การนำเข้ามาได้โดยต้องมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับมากับข้าวสาลีที่นำเข้า แต่ไม่มีเงื่อนไขเพิ่มเติมอื่นๆ ในมาตรการตรวจสอบและรับรองสุขอนามัยพืชจากต้นทาง เป็นโอกาสที่ศัตรูพืชอาจติดเข้ามาได้ จำเป็นต้องปรับปรุงมาตรการกักกันพืชให้สามารถป้องกันศัตรูพืชที่อาจติดมากับข้าวสาลี โดยผ่าน

ขั้นตอนการประเมินความเสี่ยง ดังนั้นจึงถือว่าเป็นการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากการปรับปรุงนโยบายเพื่อสร้างประสิทธิภาพในงานกักกันพืชสำหรับข้าวสาลีที่นำเข้า

จากการศึกษารวบรวมข้อมูลมีสิ่งมีชีวิตที่พบบนข้าวสาลีทั้งที่รายงานเป็นศัตรูของข้าวสาลีและไม่เป็นศัตรูของข้าวสาลี ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ การแพร่ระบาด ส่วนของพืชที่เข้าทำลายและเอกสารอ้างอิง รวมทั้งสิ้นมีจำนวน 501 ชนิด เป็นแมลง 226 ชนิด ไร 21 ชนิด ไวรัส 19 ชนิด แบคทีเรีย 21 ชนิด รา 99 ชนิด ไส้เดือนฝอย 18 ชนิด และวัชพืช 92 ชนิด

1.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

1.2.1 การจัดกลุ่มศัตรูพืชที่พบบนข้าวสาลี

การจัดกลุ่มศัตรูพืชที่พบบนข้าวสาลี ดำเนินการโดยพิจารณาสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานพบบนข้าวสาลีทั้ง 501 ชนิด ว่ามีปรากฏพบในประเทศไทยหรือไม่ และพิจารณาโอกาสติดมากับส่วนของพืชที่นำเข้า ผลการดำเนินการตรวจสอบพบว่า สิ่งมีชีวิตดังกล่าวเป็นศัตรูพืชที่มีในประเทศไทยรวมทั้งสิ้นจำนวน 100 ชนิด เป็นแมลง 38 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 18 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด และวัชพืช 38 ชนิด ยังไม่มีข้อมูลของไรบนข้าวสาลีในประเทศไทย

1.2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของข้าวสาลี

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันได้ดำเนินการโดยพิจารณาศัตรูพืชที่มีรายงานพบทำลายบนส่วนของข้าวสาลีและศัตรูพืชเหล่านั้นเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย พิจารณาความสำคัญของศัตรูพืชกักกันโดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามลำดับความสำคัญ ดังนี้

1.) **กลุ่ม 3 ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงในระดับสูง** (High risk): ศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ศัตรูพืชกักกันซึ่งการเข้ามาของศัตรูพืชเหล่านี้ในประเทศไทยจะทำให้เกิดผลกระทบต่อการส่งออกที่รุนแรงกับสินค้าหลายหลากชนิด การเข้ามาของศัตรูพืชในกลุ่มนี้มีผลกระทบทางเศรษฐกิจต่อการผลิตและ/หรือสภาพแวดล้อม บางประเทศห้ามการนำเข้าพืชอาศัยของศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้

ศัตรูพืชกักกันในกลุ่มนี้มีพืชอาศัยเป็นจำนวนมากหลากหลายชนิด นอกจากจะทำความเสียหายให้ข้าวสาลีอย่างรุนแรงมากแล้ว ยังทำความเสียหายอย่างรุนแรงกับพืชอาศัยอื่นด้วยเช่นเดียวกัน โดยพืชอาศัยเหล่านั้นเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ศัตรูพืชกักกันเหล่านี้มีความเสี่ยงสูงที่จะติดเข้ามากับข้าวสาลี ไม่สามารถที่จะทำการตรวจสอบพืชให้ปลอดจากศัตรูพืชเหล่านี้ได้ด้วยวิธีการตรวจสอบด้วยตาเปล่า (Visual inspection) หรือการจัดการภายในแปลงปลูก เว้นแต่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Quarantine treatment) ที่

เฉพาะเท่านั้น จึงจะสามารถลดระดับความเสี่ยงลงอยู่ในระดับที่สามารถป้องกันได้อย่างเหมาะสม ยอมรับได้ (Appropriate level of protection: ALOP)

2.) **กลุ่ม 2 ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงในระดับปานกลาง** (Medium risk): ศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ศัตรูพืชกักกันซึ่งการเข้ามาของศัตรูพืชเหล่านี้ในประเทศไทยจะทำให้เกิดผลกระทบต่อการส่งออก เนื่องจากบางประเทศมีข้อกำหนดที่เฉพาะเจาะจงให้ดำเนินการกับพืชอาศัยของศัตรูพืชกักกันเหล่านี้ก่อนส่งออก การเข้ามาของศัตรูพืชในกลุ่มนี้มีผลกระทบทางเศรษฐกิจต่อการผลิตและ/หรือสภาพแวดล้อม

ศัตรูพืชกักกันในกลุ่มนี้มีพืชอาศัยน้อยและค่อนข้างจำกัดไม่หลากหลายชนิดเช่น ศัตรูพืชกักกันในกลุ่ม 3 ศัตรูพืชในกลุ่มนี้ทำความเสียหายเฉพาะข้าวสาลีและพืชอื่นที่อยู่ในกลุ่มที่ใกล้เคียงกันกับข้าวสาลีเท่านั้น มีความเสี่ยงในระดับปานกลางที่จะติดเข้ามากับข้าวสาลีที่นำเข้า แต่อย่างไรก็ดี ด้วยระบบการจัดการที่ดีภายในแปลงปลูกและระบบการจัดการก่อนส่งออก และการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชกับสินค้าก่อนส่งออก สามารถที่จะขจัดศัตรูพืชในกลุ่มนี้ออกจากส่วนของข้าวสาลีได้ สามารถทำการตรวจสอบศัตรูพืชได้ด้วยวิธีการตรวจสอบด้วยตาเปล่า

3.) **กลุ่ม 1 ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงในระดับต่ำ** (Low risk): ศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ศัตรูพืชกักกันซึ่งการเข้ามาของศัตรูพืชเหล่านี้ในประเทศไทยสามารถจะก่อให้เกิดผล กระทบทางเศรษฐกิจในการผลิตและ/หรือสภาพแวดล้อมในระดับที่ไม่สามารถยอมรับได้ ศัตรูพืชกักกันในกลุ่มนี้ทำความเสียหายรุนแรงบนพืชอาศัยชนิดอื่นมิใช่ข้าวสาลี โดยที่ข้าวสาลีเป็นเพียงพืชอาศัยระดับรอง (Secondary host) เท่านั้น มีความเสี่ยงในระดับต่ำที่จะติดเข้ามากับข้าวสาลี ด้วยระบบการจัดการที่ดีภายในแปลงปลูกและระบบการจัดการก่อนส่งออก สามารถที่จะกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มนี้ออกจากส่วนของข้าวสาลีได้

4.) **กลุ่ม 0 ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงในระดับต่ำมาก** (Very low risk): ศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ศัตรูพืชกักกันที่มีรายงานพบอาศัยบนส่วนของข้าวสาลี แต่ไม่มีรายงานความเสียหายหรือมีรายงานความเสียหายแต่ทำความเสียหายน้อยมากบนข้าวสาลีหรือพืชอาศัยชนิดอื่น

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันได้ทำการประเมินเบื้องต้นของโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาดและประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่จะเกิดขึ้น โดยทำการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับความเสียหายทางเศรษฐกิจ (Economic impact) และความเสี่ยงทางสุขอนามัยพืช (Phytosanitary risk) ของศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด ขณะนี้กำลังดำเนินการ

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของข้าวสาลี พบว่ามีสิ่งมีชีวิตทั้งที่รายงานพบบนข้าวสาลีที่มีรายงานทั่วโลกรวม 501 ชนิด เป็นแมลง 226 ชนิด ไร 21 ชนิด ไวรัส 19 ชนิด แบคทีเรีย 21 ชนิด รา 99 ชนิด ไส้เดือนฝอย 18 ชนิด และวัชพืช 92 ชนิด สิ่งมีชีวิตดังกล่าวเป็นศัตรูพืชที่มีในประเทศไทยรวมทั้งสิ้นจำนวน 100 ชนิด เป็นแมลง 38 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 18 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด และวัชพืช 38 ชนิด ยังไม่มีข้อมูลของไรบนข้าวสาลีในประเทศไทย การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันโดยทำการประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาดและประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่จะเกิดขึ้นของศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด กำลังอยู่ในระหว่างการดำเนินการ

เอกสารอ้างอิง

Anonymous. 1992. International Plant Protection Convention, 1992. FAO, Rome.

Anonymous. 1994. Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, 1994. World Trade Organization, Geneva.

Anonymous.1996. Guidelines for pest risk analysis, 1996. ISPM No. 2, FAO, Rome.

Anonymous.2004. Glossary of phytosanitary terms, 2004. ISPM No. 5, FAO, Rome.

Anonymous.2004a. Pest risk analysis for quarantine pests, including analysis of environmental risks and living modified organisms, 2004. ISPM No. 11, FAO, Rome.

Anonymous.2005. CAB *international*. 2005. **Crop Protection Compendium 2003 Edition**. (Computer Program). CAB International. Wallingford, UK.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพุทรานำเข้า

Pest Risk Analysis of Jujube Imported into Thailand

วรัญญา มาลี[1] วลัยกร รัตนเดชากุล[1] สุรพล ยินอัศวพรรณ[1]
สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ[1] ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช[2]
[1] กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพุทรานำเข้า ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 - กันยายน 2549 พบว่าศัตรูพืชของพุทรามีจำนวนทั้งสิ้น 107 ชนิด ได้แก่ (1) แมลง 58 ชนิด อยู่ในอันดับ Coleoptera 8 ชนิด อันดับ Diptera ซึ่งเป็นแมลงวันผลไม้ทั้งหมด 16 ชนิด อันดับ Hemiptera (แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยหอย) 16 ชนิด อันดับ Lepidoptera 17 ชนิด และอันดับ Thysanoptera (เพลี้ยไฟ) 1 ชนิด (2) ไร 11 ชนิด (3) เชื้อรา 31 ชนิด (4) แบคทีเรีย 1 ชนิด (5) สาหร่าย 1 ชนิด และ (6) วัชพืช 5 ชนิด ซึ่งศัตรูพืชดังกล่าวมีรายงานพบในประเทศไทยจำนวน 62 ชนิด ได้แก่ (1) แมลง 28 ชนิด อยู่ในอันดับ Coleoptera 1 ชนิด อันดับ Diptera 8 ชนิด อันดับ Hemiptera 9 ชนิด อันดับ Lepidoptera 10 ชนิด (2) ไร 11 ชนิด (3) เชื้อรา 19 ชนิด (4) สาหร่าย 1 ชนิด และ (5) วัชพืช 3 ชนิด สำหรับศัตรูพืชที่ไม่เคยมีรายงานว่าพบในประเทศไทยและมีโอกาสติดมากับผลสดพุทรานำเข้า จำนวน 18 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *Bactrocera aquilonis , Bactrocera neohumeralis, Bactrocera tryoni, Carpomya incompleta, Carpomya zizyphae*, *Ceratitis capitata* และ *Ceratitis rosa* เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii, Lepidosaphes ulmi, Parlatoria oleae, Ceroplastes japonicus, Perissopneumon ferox*, *Perissopneumon tamarindus* หนอนผีเสื้อ *Carposina sasakii*, *Lobesia botrana*, *Thiacidas postica* เพลี้ยไฟ *Hercinothrips femoralis* และ เชื้อรา *Nectria rigidiuscula* ซึ่งจะดำเนินการประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด ตลอดจนผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

พุทรา (Jujube) เป็นไม้ผลเมืองร้อนขนาดกลาง จัดอยู่ในวงศ์ Rhamnaceae สกุล *Ziziyphus* มีเขตแพร่กระจายในทวีปเอเชีย ยุโรป แอฟริกา อเมริกากลาง อเมริกาเหนือ และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก พุทราที่ปลูกเป็นการค้ามีหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Ziziyphus mauritiana* และ Z. *jujube* มีการปลูกเพื่อการค้าอย่างกว้างขวางในต่างประเทศ สำหรับประเทศไทยนำเข้าผลสดของพุทราจากประเทศจีน ไต้หวัน และพม่า โดยมีการนำเข้าจากประเทศจีนมากที่สุด จากรายงานของด่านตรวจพืช พบว่าปี 2547 มีการนำเข้าประมาณ 200 ตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 6 ล้านบาท นอกจากนี้ยังเป็นพืชที่อยู่ในข้อตกลงของการเจรจาเขตการค้าเสรีไทย-จีนอีกด้วย ในการนำเข้าพุทราจากต่างประเทศมีอาจมีศัตรูพืชร้ายแรงติดมากับผลพุทรา ศัตรูพืชที่ยังไม่เคยมีรายงานว่าพบในประเทศไทยและมีความเสี่ยงที่จะติดมากับผลพุทรานำเข้า เช่น แมลงวันผลไม้ *Bactrocera tryoni, Ceratitis capitata* และ *Ceratitis rosa* เป็นต้น (CABI, 2005; White and Elson-Harris, 1992) จัดเป็นศัตรูพืชร้ายแรงที่มีความสำคัญทางกักกันพืชในหลายประเทศ และมีมาตรการที่เข้มงวดในการนำเข้าผลไม้จากแหล่งที่มีการระบาดของศัตรูพืชดังกล่าว

การป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศ ประเทศไทยได้อาศัยกฎหมายควบคุมการนำเข้าพืช ได้แก่ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ควบคุมการนำเข้าพืชจากต่างประเทศ โดยแบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัด และสิ่งไม่ต้องห้าม พุทราถูกจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้ามซึ่งตามระเบียบแล้วเพียงแต่แจ้งการนำเข้าต่อพนักงานเจ้าหน้าที่โดยไม่จำเป็นต้องมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับมาด้วย จากการศึกษารวบรวมข้อมูลศัตรูพืชในเบื้องต้นปรากฏว่า มีศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงายในประเทศไทย ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้มีโอกาสที่จะติดเข้ามากับพุทรานำเข้าได้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องปรับปรุงเงื่อนไขนำเข้าให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นโดยผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช โดยการกำหนดเงื่อนไขนำเข้าหรือมาตรการสุขอนามัยพืชใหม่ต้องเป็นไปตามความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เบื้องต้นเพื่อวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพุทรา โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ตามมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 2 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) และฉบับที่ 11 เรื่อง คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks) เพื่อใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนในการประกาศทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าพุทราจากต่างประเทศต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาข้อมูลพืชและข้อมูลศัตรูพืชของพุทรา

ศึกษาข้อมูลของพืชที่จะวิเคราะห์ คือพุทรา โดยค้นคว้ารวบรวมข้อมูลงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ เอกสารเผยแพร่ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ จากแหล่งต่างๆ จากเอกสารที่มีรายงานในต่างประเทศและในประเทศไทย เพื่อให้ได้ข้อมูลของพุทรา ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) ชื่อพ้อง (Synonym) ชื่อสามัญ (Common name) แหล่งปลูก (Geographical distribution) เอกสารอ้างอิง (References) และข้อมูลศัตรูพืชที่สำคัญของพุทรา ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อพ้อง ชื่อสามัญ แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย (Plant part affected) มีรายงานการพบในประเทศไทยหรือไม่ การควบคุม เป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ และ เอกสารอ้างอิง

2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกับพุทรานำเข้าตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 เรื่อง “การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช” และฉบับที่ 11 เรื่อง “คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” โดยมีขั้นตอน ดังนี้

2.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยง (Stage 1: Initiating the PRA Process)

พิจารณาสถานภาพของพุทราในปัจจุบัน เหตุผลความจำเป็นที่ต้องวิเคราะห์ความเสี่ยง นโยบายของประเทศไทย พิจารณาสถานภาพเดิม ปริมาณการค้านำเข้า สรุปปัญหา เสนอแนวนโยบายปรับปรุง และวิเคราะห์เส้นทางศัตรูพืชคือผลพุทรานำเข้า

2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment) ของพุทรา

2.2.1 การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest Categorization) ที่พบบนพุทรา

ดำเนินการโดยการค้นคว้ารวบรวมรายชื่อของสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานว่าเป็นศัตรูพุทรา โดยจัดแบ่งออกเป็นทั้งหมด 10 กลุ่ม เรียงตามลำดับดังนี้ (1). แมลง (Insect) (2). ไร (Mite) (3). ไวรัส (Virus) (4). ไวรอยด์ (Viroid) (5). แบคทีเรีย (Bacteria) (6). รา (Fungus) (7) ไส้เดือนฝอย (Nematode) (8) ไฟโตพลาสมา (Phytoplasma) (9).วัชพืช (Weed) และ (10). ไม่ทราบสาเหตุ (Unknown Etiology)

บันทึกรายละเอียดของศัตรูพุทราแต่ละชนิดคือ (1). ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) (2). ชื่อพ้อง (Synonym) (3). ชื่อสามัญ (Common name) (4). แหล่งแพร่กระจาย (Geographical distribution) (5). ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย (Plant part affected) (6). พบ

ในประเทศไทยหรือไม่ : พบ/ไม่พบ (Present in Thailand: Yes/No) (7). เป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ : เป็น/ไม่เป็น (Quarantine pest: Yes/No) และ เอกสารอ้างอิง (References)

2.2.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Risk Assessment) ของพุทรา

เป็นการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพุทรานำเข้าที่ไม่พบในประเทศไทย มีโอกาสติดเข้ามากับผลพุทราแพร่ระบาดในประเทศ และการประเมินศักยภาพที่มีผลกระทบทางเศรษฐกิจรวมทั้งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อให้แสดงศักยภาพในความสำคัญทางเศรษฐกิจศัตรูพืชนั้นต้องเข้ามาดำรงชีวิตและแพร่กระจายได้ ปัจจัยที่พิจารณาคือ

2.2.2.1 การประเมินศักยภาพในการที่ศัตรูจะเข้ามาเจริญพันธุ์ตั้งรกรากอย่างถาวร และการแพร่ระบาด ในพื้นที่ที่ทำการวิเคราะห์ (Assessment of entry, established and spread) โดยพิจารณาปัจจัยต่าง ๆ ที่สามารถทำให้ศัตรูพืชเข้ามาเจริญแพร่พันธุ์ได้ โดยมีหลักฐานสนับสนุนผลการวิเคราะห์ เช่น สภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์และแพร่ระบาดของศัตรูพืช พืชอาศัย เครื่องกีดกั้นตามธรรมชาติ การเคลื่อนย้ายของศัตรูพืช และพาหะของศัตรูพืชที่มีปรากฏในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยง เป็นต้น

2.2.2.2 การประเมินศักยภาพที่จะเกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Potential economic consequence) ความเป็นไปได้สูงที่ศัตรูพืชจะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ ซึ่งอาจมีผลกระทบทางตรงต่อพืช สัตว์ มนุษย์ และสิ่งแวดล้อม หรือมีผลกระทบทางอ้อม เช่น การป้องกันกำจัด การค้าภายในประเทศและระหว่างประเทศ ผลกระทบทางสังคม เป็นต้น โดยพิจารณาว่ามีผลกระทบจนถึงระดับที่ยอมรับไม่ได้ ในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest Risk Management)

การจัดการความเสี่ยง เพื่อปกป้องพื้นที่เสี่ยงภัย (Endangered area) ควรเป็นสัดส่วนกับความเสี่ยงที่จำแนกได้ในการประเมินความเสี่ยง อยู่บนพื้นฐานของข้อมูลที่รวบรวมได้ในการประเมินความเสี่ยง มาตรการสุขอนามัยพืชต้องใช้ตามความจำเป็นเพื่อประสิทธิภาพในการป้องกันของพื้นที่เสี่ยงภัย

2.4 การจัดทำเอกสารขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยง (Document the PRA Process)

จัดทำรายงานเป็นเอกสารเพื่อใช้ทบทวนหรือใช้ได้เมื่อเกิดมีการพิพาทโต้แย้ง ข้อมูลผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงจะแสดงสถานะของแหล่งข้อมูลและคำชี้แจงเหตุผลที่ใช้ในการเข้าถึงการตัดสินใจเลือกจัดการความเสี่ยงในการใช้หรือถูกดำเนินการใช้มาตรการสุขอนามัยพืช

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2548-กันยายน 2549

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สถานภาพเดิมของพุทราไม่เป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช นำเข้ามาได้โดยไม่จำเป็นต้องมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับมาด้วย เป็นโอกาสที่ศัตรูพืชอาจติดเข้ามาได้ จำเป็นต้องปรับปรุงมาตรการกักกันพืชให้สามารถป้องกันศัตรูพืชที่อาจติดมากับผลพุทรา โดยผ่านขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ดังนั้นจึงถือว่าเป็นการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากการปรับปรุงนโยบายเพื่อสร้างประสิทธิภาพในงานกักกันพืชสำหรับพุทราที่นำเข้า

จากการศึกษารวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของพุทรา ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ การแพร่ระบาด ส่วนของพืชที่เข้าทำลายและเอกสารอ้างอิง พบว่ามีจำนวนทั้งสิ้น 107 ชนิด ได้แก่ (1) แมลง 58 ชนิด อยู่ในอันดับ Coleoptera 8 ชนิด อันดับ Diptera ซึ่งเป็นแมลงวันผลไม้ทั้งหมด 16 ชนิด อันดับ Hemiptera (แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยหอย) 16 ชนิด อันดับ Lepidoptera 17 ชนิด และอันดับ Thysanoptera (เพลี้ยไฟ) 1 ชนิด (2) ไร 11 ชนิด (3) เชื้อรา 31 ชนิด (4) แบคทีเรีย 1 ชนิด (5) สาหร่าย 1 ชนิด และ (6) วัชพืช 5 ชนิด

ศัตรูพืชที่ไม่เคยมีรายงานว่าพบในประเทศไทยและมีโอกาสติดมากับผลสดพุทรานำเข้ามีจำนวน 18 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *Bactrocera aquilonis* , *Bactrocera neohumeralis*, *Bactrocera tryoni*, *Carpomya incomplete*, *Carpomya zizyphae*, *Ceratitis capitata* และ *Ceratitis rosa* เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii*, *Lepidosaphes ulmi*, *Parlatoria oleae*, *Ceroplastes japonicus*, *Perissopneumon ferox*, *Perissopneumon tamarindus* หนอนผีเสื้อ *Carposina sasakii*, *Lobesia botrana*, *Thiacidas postica* เพลี้ยไฟ *Hercinothrips femoralis* และ เชื้อรา *Nectria rigidiuscula*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพุทรานำเข้า พบว่าศัตรูพทรามีจำนวนทั้งสิ้น 107 ชนิด ได้แก่ แมลง ไร เชื้อรา แบคทีเรีย สาหร่าย และ วัชพืช โดยพบว่า ศัตรูพืชที่ไม่เคยมีรายงานการปรากฏในประเทศไทยและมีโอกาสติดมากับผลสดพุทรานำเข้ามีจำนวน 18 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ *Bactrocera aquilonis* , *Bactrocera neohumeralis*, *Bactrocera tryoni*, *Carpomya incomplete*, *Carpomya zizyphae*, *Ceratitis capitata* และ *Ceratitis rosa* เพลี้ยหอย *Aspidiotus nerii*, *Lepidosaphes ulmi*, *Parlatoria oleae*, *Ceroplastes japonicus*, *Perissopneumon ferox*, *Perissopneumon tamarindus* หนอนผีเสื้อ *Carposina sasakii*, *Lobesia botrana*, *Thiacidas postica* เพลี้ยไฟ *Hercinothrips femoralis* และ เชื้อรา *Nectria rigidiuscula* สำหรับขั้นตอนดำเนินการต่อไปจะเป็นการประเมินความเสี่ยง

ศัตรูพืชในขั้นตอนการประเมินการเข้ามาเจริญพันธุ์ตั้งรกรากอย่างถาวร และการแพร่ระบาดในพื้นที่ที่ทำการวิเคราะห์ ตลอดจนผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช

เอกสารอ้างอิง

Anonymous. 1992. International Plant Protection Convention, 1992. FAO, Rome.

Anonymous. 1994. Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, 1994. World Trade Organization, Geneva.

Anonymous.1996. Guidelines for pest risk analysis, 1996. ISPM No. 2, FAO, Rome.

Anonymous.2004. Pest risk analysis for quarantine pests, including analysis of environmental risks and living modified organisms, 2004. ISPM No. 11, FAO, Rome.

Ben-Dov Y, 1993. A systematic catalogue of the soft scale insects of the world (Homoptera: Coccoidea: Coccidae) with data on geographical distribution, host plants, biology and economic importance. Gainesville, USA: Sandhill Crane Press, Inc., 536 pp.

CABI (CAB International). 2005. Crop Protection Compendium 2005 edition. Wallingford, UK: CAB International [CD-Rom].

Charanasri, V., M. Kongchuensin, T. Kulpiyawat and P. Chaowattanawong. 2001. Phytophagous mites and their control. Mite and Spider Reserch Group, Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand. 192 pp.

EPPO, 2005. PQR database (version 4.4). Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization.

Sontirat, P., P. Phitakpaiwan, T. Kamhangridthirong, W. Choobumroong and U. Kueprakone. 1999. Host Idex of Plant Diseases in Thailand. Plant Pathology and Microbiology Division, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand. 284 pp.

Waterhouse, D.F. 1993. The Major Arthropod Pests and Weeds of Agriculture in Southeast Asia. ACIAR Monograph No. 21. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 141 pp.

White IM, Elson-Harris MM, 1992. Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics. Wallingford, UK: CAB International, 601 pp.

Wongsiri, N. 1991. List of Insect, mite and Other Zoological Pests of economic plants in Thailand. Department of Agriculture, Bangkok, Thailand. Tech. Bull. 168 pp.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของทับทิมนำเข้า

Pest Risk Analysis of Pomegranate Imported into Thailand

วลัยกร รัตนเดชากุล[1] วรัญญา มาลี[1]
ณัฏฐพร อุทัยมงคล[1] ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช[2]
[1] กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลการจำแนกประเภทศัตรูพืชของทับทิมที่มีรายงานทั้งในและต่างประเทศ พบว่ามีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูและไม่เป็นศัตรูของทับทิมรวมทั้งสิ้นจำนวน 103 ชนิด เป็นแมลง 70 ชนิด เป็นแมลงในอันดับ Coleoptera 6 ชนิด อันดับ Diptera 12 ชนิด อันดับ Hemiptera 38 ชนิด อันดับ Isoptera 1 ชนิด อันดับ Lepidopetra 19 ชนิด อันดับ Thysanoptera 3 ชนิด ไร 3 ชนิด แบคทีเรีย 2 ชนิด รา 17 ชนิด ไส้เดือยฝอย 1 ชนิด และวัชพืช 1 ชนิด สิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูและไม่เป็นศัตรูของทับทิมที่มีรายงานในประเทศไทยมีทั้งหมด 59 ชนิด เป็นแมลง 46 ชนิด รา 14 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและมีโอกาสเข้ามากับผลทับทิมนำเข้าจากต่างประเทศมีจำนวน 12 ชนิดได้แก่ แมลงวันผลไม้ 7 ชนิด *Anastrepha fraterculus* Wiedemann, *Anastrepha ludens* (Loew), *Anastrepha suspensa* Loew, *Bactrocera jarvisi* (Tryon) , *Bactrocera kandiensis* Drew & Hancock , *Bactrocera tryoni* (Froggatt) และ *Ceratitis capitata* (Wiedemann) ผีเสื้อ 2 ชนิด *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick), *Cydia latiferreana* (Walsingham) เพลี้ยหอย 1 ชนิด *Lepidosaphes ulmi* (L) และรา 2 ชนิด *Armillaria tabescens* (Scop.) Dennis, P.D. Orton & Hora และ *Coniella granati* ศัตรูพืชเหล่านี้จะนำมาประเมินศักยภาพการเข้ามา เจริญแพร่พันธุ์ แพร่ระบาด และผลกระทบทางเศรษฐกิจในประเทศไทยในขั้นตอนต่อไป

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้เห็นชอบให้มีการทบทวนประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์และแก้ไขปรับปรุงพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่2) พ.ศ. 2542 เดิมแบ่งพืช ศัตรูพืช และพาหะของศัตรูพืชออกเป็น 3 ประเภท คือ สิ่งต้องห้าม สิ่งกำกัดและสิ่งไม่ต้องห้าม แต่ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์แก้ไขปรับปรุงใหม่ 3 ฉบับ ปี พ.ศ. 2550 ได้แก่ 1) ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 2) ประกาศฯเรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และ 3) ประกาศฯเรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อน ไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ได้แบ่งพืช ศัตรูพืชและพาหะของศัตรูพืชออกเป็น 2 ประเภทคือ สิ่งต้องห้ามและสิ่งกำกัด ซึ่งเป็นผลสะท้อนมาจากหลักฐานเหตุผลทางวิทยาศาสตร์ การนำสิ่งต้องห้ามเข้ามาในราชอาณาจักรต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดที่ได้ประกาศไว้ในกฎกระทรวงของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และประกาศกรมวิชาการเกษตรที่เกี่ยวข้องโดยเคร่งครัด ข้อกำหนดนี้มาจากผลสรุปการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงของศัตรูพืชกักกันที่จะเข้ามา เจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวร แพร่ระบาด และศักยภาพที่จะมีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลังจากเข้ามาในประเทศไทย รวมทั้งความเสี่ยงของพืชและผลิตผลพืชที่เป็นพืชอาศัยของศัตรูพืชกักกันเหล่านั้นที่เป็นพาหะในการเข้ามาและชนิดพืชและพื้นที่เสี่ยงภัยในประเทศไทย จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของทับทิมนำเข้าจากต่างประเทศ

ผลสรุปและประโยชน์ที่ได้จากการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของทับทิมนำเข้าจะนำไปกำหนดทางเลือกของมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช และกำหนดกฎระเบียบสุขอนามัยพืชในประกาศกรมวิชาการเกษตรเรื่องเงื่อนไขการนำเข้าผลสดทับทิมจากต่างประเทศ โดยออกข้อกำหนดเป็นหลักเกณฑ์ระเบียบและวิธีการปฏิบัติในประกาศกรมวิชาการเกษตรระดับทวิภาคี (Bilateral import condition) หรือข้อมูลในประกาศกลางของกรมวิชาการเกษตรเกี่ยวกับเงื่อนไขการนำเข้าผลไม้สดจากต่างประเทศ และที่สำคัญคือ เป็นหลักฐานที่แสดงเหตุผลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนการทบทวนกฎระเบียบข้อบังคับในประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ แก้ไขปรับปรุงพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ทั้ง 3 ฉบับ พ.ศ. 2550 นอกจากนี้ผลสรุปที่ได้จำนำไปพัฒนาปรับปรุงประสิทธิภาพการทำงานของเจ้าหน้าที่กักกันพืช และผู้ที่เกี่ยวข้องในการปฏิบัติงานเกี่ยวกับการตรวจศัตรูพืชกับผลไม้นำเข้า โดยกำหนดแนวทางและวิธีปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่กักกันพืชในเบื้องต้นว่าศัตรูพืชชนิดใดที่มีระดับความเสี่ยงสูงในการติดเข้ามากับผลทับทิม ประเทศใดที่ต้องเฝ้าระวังศัตรูพืชกักกัน หรือต้องตรวจเข้มกับพืชใดจากประเทศ

ไหน ต้องตรวจหาศัตรูพืชที่ส่วนใดของผลทับทิม รวมทั้งทราบวิธีการจัดการความเสี่ยงเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย ทั้งนี้ กฎเกณฑ์แนวทางการทำงานของเจ้าหน้าที่และผู้ที่เกี่ยวข้องที่ปฏิบัติงานนั้นต้องมีความสอดคล้องกับอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention, IPPC) และความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยพืช ผลลัพธ์ทำให้ประเทศคู่ค้ากับประเทศไทยสามารถดำเนินการค้าผลิตผลทางการเกษตรได้อย่างปลอดภัย

วิธีการดำเนินงาน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ข้อมูลพืช

รวบรวมข้อมูลพืชทับทิมเกี่ยวกับ ข้อมูลพืชด้านพฤกษาศาสตร์ การเพาะปลูก การดูแลรักษา การบริหารจัดการศัตรูพืชก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ข้อมูลที่มีรายงานในประเทศไทยและในต่างประเทศ ดำเนินการสืบค้นจากฐานข้อมูลอิเลคโทนิคของทางราชการ สถาบันการศึกษา องค์กรระหว่างประเทศที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายและเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ตำราวิชาการ เอกสารและวารสารวิชาการของ รายงานการประชุมและสัมมนาวิชาการ ข้อมูลสถิติการนำเข้า เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูทับทิม

2. การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของทับทิม

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชปฏิบัติตามแนวทางของมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures) อยู่ภายใต้อนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ ซึ่งกำหนดขึ้นโดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ได้ดำเนินการตามคำแนะนำมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 (ฉบับแก้ไขปรับปรุง) เรื่อง คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (SIPPC, 2006a) และ มาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 (ฉบับแก้ไขปรับปรุง) เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงความเสี่ยงด้านสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตที่ตัดต่อสารพันธุกรรม (SIPPC, 2006c) การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของทับทิมเป็นการวิเคราะห์ที่เน้นชนิดสินค้าคือพืชหรือผลทับทิมสด และเส้นทางศัตรูพืช (pathway) ขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยงประกอบ ด้วย 3 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ ดังนี้ ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นขบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage1: Initiation of pest risk analysis process) ขั้นตอนที่ 2:การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest risk assessment) และขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management)

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นขบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

เป็นการบ่งบอกเจตนารมณ์ของการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของทับทิมว่ามีเหตุผลหรือที่มาอย่างไร

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของทับทิมใช้หลักการประเมินเชิงคุณภาพ (qualitative) ซึ่งประเมินความเสี่ยงเป็น 3 ระดับ คือ ความเสี่ยงสูง ความเสี่ยงปานกลาง และความเสี่ยงต่ำ ในขั้นตอนนี้จะพิจารณาและตรวจสอบข้อมูลทุกๆด้านของศัตรูพืชที่ลงลึกในรายละเอียดโดยเฉพาะข้อมูลที่เกี่ยวกับการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ ข้อมูลด้านชีววิทยา และความสำคัญทางเศรษฐกิจ เป็นการประเมินความเสี่ยงจากข้อมูลที่รวบรวมได้จากฐานข้อมูลอิเลคโทนิคของทางราชการ สถาบันการศึกษา องค์กรระหว่างประเทศที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายและเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ตำราวิชาการ เอกสารและวารสารวิชาการของ รายงานการประชุม สัมมนาวิชาการและการประชุมอภิปราย จากแหล่งต่างๆทั่วโลกและเป็นข้อมูลที่ต่างประเทศให้ความเชื่อถือได้ ข้อมูลดังกล่าวนำมาใช้ประเมินศักยภาพการเข้ามา การตั้งรกราก เจริญแพร่พันธุ์ แพร่ระบาด และผลกระทบทางเศรษฐกิจในประเทศไทย จากนั้นกำหนดสถานภาพของศัตรูพืชว่ามีคุณสมบัติเหมาะสมเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ซึ่งตรงตามหลักเกณฑ์คำนิยามที่กำหนดสำหรับศัตรู พืชกักกัน คำนิยาม“*ศัตรูพืชกักกัน*” หมายถึง ศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสำคัญทางเศรษฐกิจในพื้นที่ที่อยู่ในอันตรายซึ่งมีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืช ซึ่งศัตรูพืชชนิดนี้ยังไม่เคยปรากฏมาก่อนในพื้นที่นี้ หรือมีอยู่แล้วแต่ไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวาง และอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ” การประเมินความเสี่ยง มีขั้นตอนดำเนินการตามลำดับ ดังนี้

2.1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช

เป็นการจำแนกเพื่อตรวจสอบว่าศัตรูพืชชนิดนั้นเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดยพิจารณาคุณสมบัติตามองค์ประกอบต่างๆ ดังนี้

2.1.1 ชนิดของศัตรูพืชพร้อมข้อมูลอนุกรมวิธาน และข้อมูลทางชีววิทยาและข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องเป็นของศัตรูพืชที่ต้องการประเมิน

2.1.2 มีหรือไม่มีศัตรูพืชนั้นในประเทศไทย

2.1.3 สถานภาพการควบคุม ถ้าศัตรูพืชมีรายงานพบในประเทศไทยแล้วแต่ไม่แพร่กระจายกว้างขวางศัตรูพืชชนิดนั้นจะต้องอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการหรือคาดว่าจะได้รับการควบคุมอย่างเป็นทางการในอนาคตอันใกล้

2.2 การประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด

2.2.1 การประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาด

ประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชโดยวิเคราะห์เส้นทางศัตรูพืชที่อาจติดมากับผลทับทิมจากต่างประเทศ จนเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในพื้นที่ของประเทศไทย การประเมินโอกาสความเป็นไปได้ในเบื้องต้นจะอยู่บนพื้นฐานการพิจารณาทางด้านชีววิทยา การรอดชีวิตของศัตรูพืชภายใต้เงื่อนไขสภาวะแวดล้อมขณะขนส่ง ความยากง่ายในการตรวจพบศัตรู พืชที่จุดตรวจนำเข้า การระบาดของศัตรูพืชอย่างรุนแรงในแหล่งผลิต การเกิดระบาดของศัตรูพืชในช่วงวงจรชีวิตซึ่งมีโอกาสปะปนมากับสินค้า ปริมาณและความถี่ของการเคลื่อนย้ายไปกับเส้นทางศัตรูพืช ช่วงฤดูกาลที่เหมาะสมในประเทศไทย การจัดการศัตรูพืช และกระบวนการผลิตและการค้าซึ่งดำเนินการจากประเทศต้นทาง ระยะเวลาของการขนส่งและเก็บรักษา ประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของการแพร่ระบาด และความเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะเข้ามากับศัตรูพืชอื่นๆ(พาหะ) รวมทั้งหลักฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชกับผลไม้นำเข้าของต่างประเทศ (pest interception record) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงโอกาสศัตรูพืชจะเล็ดลอดผ่านการตรวจสอบ หรือรอดจากกระบวนการสุขอนามัยพืชอื่นๆที่มีอยู่และมีชีวิตรอดในขณะขนส่งและเก็บรักษา

2.2.2 โอกาสการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์

เป็นการประเมินที่พิจารณาและให้คะแนนบนพื้นฐานการมีพืชอาศัยและสภาพภูมิอากาศเหมาะสมซึ่งเป็นปัจจัยสนับสนุนให้ศัตรูพืชมีศักยภาพการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ ใช้ข้อมูลสนับสนุนด้านชีววิทยา เช่น วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การอยู่รอด เป็นต้น ซึ่งเป็นข้อมูลที่ยอมรับระหว่างประเทศและเชื่อถือได้ ประเมินสถานการณ์ในพื้นที่เสี่ยงภัยของประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศเหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์และแพร่ระบาดของศัตรูพืชเปรียบเทียบกับสภาพพื้นที่ที่ศัตรูพืชระบาดหรือปรากฏอยู่ และประเมินโอกาสการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ องค์ประกอบที่นำมาพิจารณา ได้แก่

- จำนวนพืชอาศัยที่เหมาะสม พืชอาศัยสลับมีปริมาณมากน้อยเพียงใดการแพร่กระจายในพื้นที่กว้างขวางเป็นอย่างไรในพื้นที่ของประเทศไทย
- พยากรณ์พื้นที่เสี่ยงภัยในประเทศไทยที่ศัตรูพืชจะใช้เป็นแหล่งเพาะขยายพันธุ์และแหล่งแพร่กระจาย โดยพิจารณาจากการกระจายของขอบเขตพืชอาศัย (host range)
- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในพื้นที่ของประเทศไทย เช่น ความเหมาะสมของภูมิอากาศเป็นปัจจัยสำคัญในการพัฒนาของศัตรูพืช และความสามารถในการมีชีวิตรอดในช่วงเวลาที่มีสภาพอากาศไม่เหมาะสมและสามารถเจริญจนครบวงจรชีวิตได้
- ศักยภาพความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช และวิธีการมีชีวิตรอดของศัตรูพืช
- คุณสมบัติการขยายพันธุ์ ช่วงเวลาของวงจรชีวิต จำนวนรุ่นต่อปี ระยะพักตัว และอื่นๆ

ผลสรุปในขั้นตอนนี้ทำให้ทราบว่าศัตรูพืชชนิดใดมีศักยภาพในการเข้ามา ดำรงชีพอย่างถาวร แพร่ระบาด และก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ พื้นที่ใดในประเทศไทยที่มีความ

เสี่ยงการประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้นเป็นการชี้ให้เห็นชัดเจนว่าศัตรูพืชมีความเป็นไปได้สูงที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจจนถึงระดับที่ยอมรับไม่ได้ และส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมในประเทศไทย ดำเนินการโดยนำข้อมูลต่างๆที่สัมพันธ์กับศัตรูพืชที่ประเมินและพืชอาศัยมารวมกัน และใช้ข้อมูลนั้นเพื่อประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืชซึ่งผลกระทบที่เกิดขึ้น พิจารณาผลที่เกิดจากศัตรูพืชทั้งโดยตรงและโดยอ้อม และความไม่แน่นอน

2.3 สรุปการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชซึ่งจากการพิจารณาบนพื้นฐานของข้อมูลด้านชีววิทยา สภาพภูมิประเทศและสภาพภูมิอากาศ ขอบเขตพืชอาศัยและปัจจัยสภาพ แวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์จนทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สำคัญในประเทศไทย และนำมาพิจารณาการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

ข้อสรุปจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่าจำเป็นหรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยง และมาตรการที่ใช้จัดการความเสี่ยงจะมีความเข้มแข็งเพียงพอที่จะใช้หรือไม่และต้องจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ความปลอดภัยและยอมรับได้ซึ่งสามารถแสดงเหตุผลและมีความเป็นไปได้ภายใต้ข้อจำกัดเกี่ยวกับวิธีการที่สามารถดำเนินการได้เพื่อที่จะคัดเลือกหาทางเลือกที่เหมาะสมที่สุดโดยประเมินประสิทธิภาพของวิธีการจัดการศัตรูพืช และระบุวิธีการที่เหมาะสมที่สุดต่อผู้มีอำนาจในการตัดสินใจ การกำหนดทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยงมีหลักเกณฑ์พิจารณาดังนี้

1. ข้อมูลทางวิชาการ ข้อมูลที่รวบรวมได้ในช่วงระหว่างขั้นตอนที่ 1 และ 2 ของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ประกอบด้วยเหตุผลของการเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ การประเมินโอกาสการเข้ามาเจริญแพร่ขยายพันธุ์และการประเมินศักยภาพของผลที่ตามมาด้านเศรษฐกิจในประเทศไทย

2. การยอมรับความเสี่ยง กรณีที่พบว่าความเสี่ยงอยู่ในระดับที่ไม่สามารถยอมรับได้ ต้องจำแนกมาตรการสุขอนามัยพืชที่จะลดความเสี่ยงให้ถึงระดับที่ยอมรับได้หรือต่ำกว่าระดับที่ยอมรับได้รวมทั้งวิธีการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชให้คงอยู่ในระดับที่ต่ำที่พิสูจน์ได้

3. การจำแนกและคัดเลือกวิธีการจัดการความเสี่ยงให้เหมาะสม พิจารณาบนพื้นฐานของประสิทธิภาพของมาตรการเพื่อลดโอกาสการเข้ามาและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืช ต้องเป็นมาตรการที่มีประสิทธิภาพและมีความเป็นไปได้ในทางปฏิบัติ หรือ เป็นมาตรการที่กำลังดำเนินการอยู่และมีประสิทธิภาพ หรือ มาตรการที่กำลังดำเนินการอยู่มีประสิทธิภาพความเท่าเทียมกับวิธีการอื่นซึ่งพิสูจน์แล้วและเป็นที่ยอมรับในระดับสากล เป็นมาตรการที่ไม่เลือกปฏิบัติ ไม่เป็นอุปสรรคต่อการค้า

4 มาตรการจัดการกับสินค้าโดยตรง เป็นการกำหนดวิธีการกำจัดศัตรูพืชก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว วิธีกำจัดด้วยความร้อน วิธีกำจัดด้วยความเย็น วิธีกำจัดด้วยรังสี และวิธีการทางฟิสิกส์อื่นๆ อาจจะรวมถึงการใช้สารเคมี การกำหนดให้พืชมาจากแหล่งผลิตที่ปลอดศัตรูพืช วิธีการขนส่ง การจำกัดการใช้ประโยชน์

5 มาตรการห้ามนำเข้าสินค้า กรณีไม่มีมาตรการใดที่สามารถลดความเสี่ยงได้จนถึงระดับที่ยอมรับได้ให้ใช้มาตรการห้ามนำเข้าสำหรับสินค้าที่มีความเสี่ยงจะนำศัตรูพืชเข้ามาระบาดและใช้เป็นมาตรการสุดท้ายในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

6. บทสรุปการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

สรุปได้ว่าผลทับทิมนำเข้าอาจจะไม่มีความจำเป็นต้องมีมาตรการมาดำเนินการหรือต้องมีมาตรการหรือวิธีการจัดการความเสี่ยงซึ่งอาจมีหนึ่งวิธีหรือหลายวิธีมาดำเนินการเพื่อทำให้ความเสี่ยงลดต่ำอยู่ในระดับที่ยอมรับได้และยู่บนพื้นฐานของกฎระเบียบด้านสุขอนามัยพืช

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น-สิ้นสุด	ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550
สถานที่	กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ด่านตรวจพืช

ผลการวิเคราะห์และวิจารณ์

ผลการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูทับทิมที่ดำเนินการระหว่าง ตุลาคม 2548 –กันยายน 2549 เป็นดังนี้

1. ข้อมูลพืช

ทับทิมเป็นไม้ผลที่มีผู้นิยมปลูกเป็นการค้ากันทั้งในและต่างประเทศ เช่น สเปญ ออสเตรเลีย เลบานอน และสหรัฐอเมริกา โดยมีตลาดใหญ่อยู่ในยุโรป มลายู ปีนัง สิงคโปร์ ฮ่องกง และญี่ปุ่น โดยที่ผลทับทิมมีเนื้อฉ่ำน้ำ จึงนำไปคั้นทำเครื่องดื่มที่เรียกกันว่า grenadine ส่วนของราก เปลือกผลและเมล็ดก็นำไปทำเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้หลายชนิด นอกจากนี้ การเก็บรักษาและขนส่งผลก็ทำได้สะดวกเพราะเปลือกหนาไม่เน่าเสียง่าย โดยสามารถเก็บไว้ได้นานถึง 5-6 เดือน ในสภาพที่เหมาะสมโดยไม่กระทบต่อคุณภาพของผล

ทับทิมเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก อยู่ในวงศ์ Punicaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Punica granation* Unn. จัดเป็นไม้ผลเขตร้อนและกึ่งร้อน มีถิ่นกำเนิดแถบเอเซียไมเนอร์ คือ แถบเปอร์เซีย (หรืออิหร่านในปัจจุบัน) และประเทศที่อยู่ใกล้เคียง ซึ่งเป็นบริเวณที่ร้อนและแห้งแล้ง แต่อย่างไรก็ตามสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี สามารถปลูกได้ทั่วไปในพื้นที่เหนือระดับน้ำทะเล 1829 เมตร ก็สามารถขึ้นได้ นอกจากนี้ยังทนต่อสภาพน้ำแข็ง ในพื้นที่ที่มี

อุณหภูมิต่ำในหน้าหนาวจะมีสภาพเป็นไม้ผลัดใบ แต่ในสภาพอากาศแบบร้อนและกึ่งร้อนจะมีสภาพเป็นไม้ไม่ผลัดใบหรือกึ่งผลัดใบ และเป็นไม้ที่ต้องการสภาพอากาศร้อนและแห้งแล้งในช่วงขณะผลมีการพัฒนาไปจนเริ่มสุก โดยอุณหภูมิถึง 38^{O}C หรือสูงกว่านี้ก็ได้ แต่ทั้งนี้ต้องมีน้ำเพียงพอด้วย

ทับทิมสามารถเจริญเติบโตได้ในดินแทบทุกชนิด ยกเว้นแต่ดินที่มีสภาพเป็นกรดหรือด่างจัดเกินไปเท่านั้น แต่อย่าไรก็ตามจะให้ผลดีที่สุดก็ต่อเมื่อปลูกในดินที่มีหน้าดินลึก หรือดินตะกอนที่มีอินทรียวัตถุ ในประเทศไทยสามารถทำการปลูกได้ทั่วทุกภาค ปัจจุบันที่ปลูกเป็นการค้าและมีเสียงมากคือที่ ตำบลเขาเต่า อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งเป็นท้องที่แถบชายทะเล ดินมีการระบายน้ำดี แต่ความอุดมสมบูรณ์ต่ำและยังแห้งแล้งมากเกินกว่าพืชเศรษฐกิจอื่นๆ จะเจริญเติบโตได้ นอกจากสับปะรด

เนื่องจากทับทิมเป็นไม้ผลที่มีการขยายพันธุ์โดยเมล็ดเป็นส่วนใหญ่ โดยทั้งนี้จะสามารถเริ่มออกดอกติดผลไม้เมื่ออายุ 15 เดือนถึง 22 ปี และยังให้ระบบรากแก้วที่แข็งแรง ด้วยเหตุนี้การศึกษาเทคนิคต่างๆ ในการเพาะเมล็ดทับทิม เพื่อให้ได้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงจึงนับว่ามีส่วนสำคัญ จากรายงานพบว่าเมล็ดที่เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิเฉลี่ย 10^{O}C นาน 21 วัน มีเปอร์เซ็นต์การงอก 78.5% และพบว่าการเพาะเมล็ดทับทิมทั้งเนื้อหุ้มเมล็ดให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าการเพาะโดยลอกเนื้อหุ้มเมล็ดออกก่อน

สถิติการนำเข้าทับทิม

ประเทศไทยนำเข้าผลสดทับทิมจากต่างประเทศได้แก่ สเปน อินเดีย อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น ปากีสถาน บังคลาเทศ และจีน จากรายงานสถิติการนำเข้าผ่านทางด่านตรวจพืชทั่วประเทศในปี 2547 มีการนำเข้าประมาณ 65 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,865,417 บาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2549)

2. การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของทับทิม

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นขบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของทับทิมเริ่มมาจากการที่กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้เห็นชอบให้มีการทบทวนกฎระเบียบข้อบังคับในประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์และแก้ไขปรับปรุงพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่2) พ.ศ. 2542 ซึ่งเป็นฉบับเดิมที่ใช้กันมานานและมีสิ่งที่ต้องปรับปรุงแก้ไขให้รัดกุมและสอดคล้องกับข้อตกลงด้านการเกษตรเกี่ยวกับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชที่อยู่ภายใต้องค์กรการค้าโลก การแก้ไขปรับปรุงเป็นประกาศฯฉบับใหม่ 3 ฉบับ พ.ศ. 2550 ได้แก่ 1) ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 2) ประกาศฯเรื่อง

กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และ 3) ประกาศฯเรื่อง กำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 โดยแบ่งพืช ศัตรูพืชและพาหะของศัตรูพืชออกเป็น 2 ประเภทคือ สิ่งต้องห้ามและสิ่งกำกัด กระบวนการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นวิธีการที่มีการยอมรับระหว่างประเทศ เป็นหลักฐานที่แสดงเหตุผลทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับความสำคัญและความจำเป็นที่กระทรวงเกษตรเกษตรและสหกรณ์ต้องประกาศรายชื่อพืช ศัตรูพืช และพาหะเป็นสิ่งต้องห้าม กำหนดเงื่อนไขการนำเข้าสิ่งต้องห้าม และตอบข้อสงสัยจากประเทศคู่ค้าที่ได้รับผลกระทบจากการแก้ไขปรับปรุงพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ทั้ง 3 ฉบับ

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

2.1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช

ผลการจำแนกประเภทศัตรูพืชของทับทิมที่มีรายงานทั้งในและต่างประเทศ พบว่ามีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูและไม่เป็นศัตรูของทับทิมรวมทั้งสิ้นจำนวน 103 ชนิด เป็นแมลง 70 ชนิด เป็นแมลงในอันดับ Coleoptera 6 ชนิด อันดับ Diptera 12 ชนิด อันดับ Hemiptera 38 ชนิด อันดับ Isoptera 1 ชนิด อันดับ Lepidopetra 19 ชนิด อันดับ Thysanoptera 3 ชนิด เป็นไร 3 ชนิด รา 17 ชนิด แบคทีเรีย 2 ชนิด ไส้เดือยฝอย 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด สิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูและไม่เป็นศัตรูของทับทิมที่มีรายงานในประเทศไทยมีทั้งหมด 59 ชนิด เป็นแมลง 46 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด รา 14 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและมีโอกาสเข้ามากับผลทับทิมนำเข้าจากต่างประเทศ 12 ชนิด ซึ่งจะนำมาประเมินศักยภาพการเข้ามา เจริญแพร่พันธุ์ แพร่ระบาด และผลกระทบทางเศรษฐกิจในประเทศไทยในขั้นตอนต่อไปได้แก่ แมลงวันผลไม้ 7 ชนิด *Anastrepha fraterculus* Wiedemann, *Anastrepha ludens* (Loew), *Anastrepha suspensa* Loew, *Bactrocera jarvisi* (Tryon) , *Bactrocera kandiensis* Drew & Hancock , *Bactrocera tryoni* (Froggatt) และ *Ceratitis capitata* (Wiedemann) หนอนผีเสื้อ 2 ชนิด *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick), *Cydia latiferreana* (Walsingham) เพลี้ยหอย 1 ชนิด *Lepidosaphes ulmi* (L) และรา 2 ชนิด *Armillaria tabescens (Scop.) Dennis, P.D. Orton & Hora* และ *Coniella granati*

สรุปผลและคำแนะนำ

ศัตรูพืชของทับทิมที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและมีโอกาสเข้ามากับผลทับทิมนำเข้าจากต่างประเทศ 12 ชนิดได้แก่ แมลงวันผลไม้ 7 ชนิด *Anastrepha fraterculus* Wiedemann, *Anastrepha ludens* (Loew), *Anastrepha suspensa* Loew, *Bactrocera jarvisi* (Tryon) , *Bactrocera kandiensis* Drew & Hancock , *Bactrocera tryoni* (Froggatt) และ

Ceratitis capitata (Wiedemann) ผีเสื้อ 2 ชนิด *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick), *Cydia latiferreana* (Walsingham) เพลี้ยหอย 1 ชนิด *Lepidosaphes ulmi* (L) รา 2 ชนิด *Armillaria tabescens (Scop.) Dennis, P.D. Orton & Hora* และ *Coniella granati* ซึ่งจะนำมาประเมินศักยภาพการเข้ามา เจริญแพร่พันธุ์ แพร่ระบาด และผลกระทบทางเศรษฐกิจในประเทศไทยในขั้นตอนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์, 2531. ทับทิม กลุ่มเกษตรสัญจร 62 หน้า

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และสุพัตรา อินทวิมลศรี. 2548. โรคเหี่ยวของทับทิม. การประชุมอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 7 2-4 พฤศจิกายน 2548. โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว จ.เชียงใหม่. 11 หน้า

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และสุพัตรา อินทวิมลศรี. 2549. การศึกษาชนิดโรคของทับทิมเพื่อการนำเข้า. (อยู่ระหว่างการจัดพิมพ์)

วลัยกร รัตนเดชากุล และ อุดร อุณหวุฒิ. 2548. การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูส้มนำเข้าจากแอฟริกาใต้เข้ามาในราชอาณาจักร. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 150 หน้า.

วลัยกร รัตนเดชากุล และ อุดร อุณหวุฒิ. 2550. การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงแมลงศัตรูพืช False codling moth, *Cryptophlebia leucotreta* (Meyrick) กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 53 หน้า.

CABI, 2005. Crop protection compendium. Commonwealth Agricultural Bureau International, Wallingford, UK. (CD-ROM)

SIPPC (Secretariat of the International Plant Protection Convention), 2006a. Guideline for Pest Risk Analysis (1995) ISPM No. 2. pp. 11-20 In: International Standards for Phytosanitary Measures 1 to 24 (2006 edition). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

SIPPC (Secretariat of the International Plant Protection Convention), 2006b. Glossary of phytosanitary terms (2005). ISPM No. 5. pp. 40-63, in: International Standards for Phytosanitary Measures 1 to 24 (2006 edition). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

SIPPC (Secretariat of the International Plant Protection Convention), 2006c.Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks and Living Modified Organisms (2004) ISPM No. 11. pp. 115-138, *In*: International Standards for Phytosanitary Measures 1 to 24 (2006 edition). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพริกนำเข้า

Pest Risk Analysis of Imported Chili Seeds

ณัฏฐพร อุทัยมงคล สุรพล ยินอัศวพรรณ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เมล็ดพันธุ์พริก (*Capsicum* spp.) จัดเป็นเมล็ดพันธุ์ชนิดหนึ่งที่มีการนำเข้ามามากและเป็นประจำทุกๆปี ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 กำหนดให้พริกจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้ามการนำเข้าเพียงแต่แจ้งการนำเข้าแก่พนักงานเจ้าหน้าที่เท่านั้น การนำเข้าจากแหล่งต่างๆในปริมาณมากจึงมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาในราชอาณาจักร จึงเห็นควรที่ทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงเพื่อทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชโดยกำหนดมาตรการในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริกจากต่างประเทศให้เหมาะสมต่อไป

ผลการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงเมล็ดพันธุ์พริก โดยเริ่มจากการเก็บรวบรวมข้อมูลทั่วไปของพริกพบว่า พริก (*Capsicum* spp.)เป็นพืชในวงศ์ Solanales ตระกูล Solanaceae เช่นเดียวกับมะเขือเทศ มันฝรั่งฯ มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกาใต้ พริกมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์แตกต่างกันโดยอาศัยลักษณะของดอกและผลเป็นตัวจำแนก ในประเทศไทยสามารถปลูกได้ทุกภาคของประเทศมากน้อยจะแตกต่างกันในเรื่องพันธุ์ ลักษณะการปลูกในประเทศไทยจะปลูกในสภาพไร่ และในสภาพสวน ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ เพื่อใช้ขยายพันธุ์หรือจำหน่าย ในปี 2548 มีการนำเข้าเมล็ดพริกสูงถึง 4,057 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าประมาณ 12 ล้านบาท นำเข้า จากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา เกาหลีใต้ อินเดีย และฮอลแลนด์ เป็นต้น ขณะเดียวกันประเทศไทยมีการส่งออกไปยังต่างประเทศเช่น ประเทศ มาเลเซีย สิงคโปร์ สหรัฐอเมริกา เป็นต้นโดยส่งออกในรูปแบบพริกแห้ง และพริกสด ในปี พ.ศ. 2547 มีปริมาณ 2 ล้านกิโลกรัม คิดเป็นเงินประมาณ 63 ล้านบาท เมื่อได้ศึกษาและตรวจสอบเอกสารทางวิชาการต่างๆ จากภายในประเทศและต่างประเทศ รวมทั้งข้อมูล อิเลคโทนิคเว็บไซท์ต่างๆ พบศัตรูพืชของพริกทั้งหมดจำนวน 378 ชนิดพบว่า 111 ชนิดเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานการปรากฏในประเทศไทย และ จำนวน 42ชนิด ไม่พบในประเทศไทยและติดกับเมล็ดพริกซึ่งมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันได้

จากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่เคยนำเข้าจากต่างประเทศ ระหว่าง ตุลาคม 2546 – กันยายน 2548 จาก 8 ประเทศ คือ สหรัฐอเมริกา

รหัสโครงการ 07-01-49-07

สเปน ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล เกาหลีใต้ ญี่ปุ่น และไต้หวัน รวม 550 ตัวอย่าง พบศัตรูพืช 12 ชนิด ข้อมูลจากการตรวจสอบศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจากต่างประเทศใน ระหว่างทำการศึกษา ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน2549 รวม24 ครั้งจาก 9 ประเทศ รวม 12.047 กิโลกรัม จำนวน 206 ตัวอย่าง พบศัตรูพืช 5 ชนิดได้แก่ *Alternaria tenuis, Curvularia lunata* , *C. pallescense, Cladospolium* sp. และ *Fusarium solani* และจากการเก็บข้อมูลศัตรูพืชในประเทศไทยจากแปลงปลูกพริกในพื้นที่ 4 จังหวัด ได้แก่ ขอนแก่น สกลนคร มุกดาหาร และมหาสารคาม พบศัตรูพืชที่สำคัญ 14 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Cladosporium* sp., *Cercospora capsici* , *Curvularia lunata*, *C. pallescense, Corynespora* sp., *Colletotichum dematium* , *Sclerotium rolffsii*, *Phoma sp., Oidiopsis sp., Pseudomonas solanacearum, Xanthomonas campestis* pv. *vesicatoria* , *Cucumber mosaic virus* , *Potato spotted wilt virus* และ virus กลุ่ม ทอสโพไวรัส .

คำนำ

จากการตั้งองค์กรการค้าโลก (World Trade Organization, WTO) เมื่อวันที่ 1 มกราคม 2538 เพื่อทำหน้าที่บริหารข้อตกลงทางการค้า โดยมีความตกลงทางการเกษตรที่สำคัญหนึ่งคือ ความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measure : SPS Agreement) ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อแก้ปัญหาและอุปสรรคด้านสุขอนามัยในการเปิดตลาดการค้าระหว่างประเทศ โดยกำหนดกรอบของสิทธิและพันธกรณีของประเทศสมาชิกในการใช้ มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (นิรนาม,2542) จึงมีผลให้ประเทศไทยซึ่งเป็นสมาชิกของ WTO ต้องปฏิบัติตามความตกลงทุกความตกลงด้วย โดยให้ประเทศสมาชิกสามารถกำหนดมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชได้โดยใช้มาตรฐานสากลหรือบนพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ก็ได้ ซึ่งองค์การระหว่างประเทศที่ได้กำหนดมาตรฐานสากลไว้แล้วที่สำคัญและเกี่ยวข้องทางด้านพืชคือองค์การระหว่างประเทศและองค์การ แห่งภูมิภาคภายใต้กรอบอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention : IPPC) (FAO, 1992) เป็นอนุสัญญาซึ่งเกิดขึ้นจากการที่ ประเทศภาคีลงนามให้สัตยาบันร่วมกัน โดยอยู่ภายใต้ความรับผิดชอบขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO)ซึ่งมีวัตถุประสงค์หลักคือเพื่อให้เกิดความร่วมมือระหว่างประเทศในการควบคุมศัตรูพืชและผลผลิตพืชและการป้องกันการแพร่ระบาดระหว่างประเทศ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเข้ามาของศัตรูพืชในพื้นที่มีความเสี่ยงซึ่งมีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์ของศัตรูพืช ซึ่งหากศัตรูพืชเกิดระบาดในพื้นที่จะก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ(Anonymous, 1997)

IPPC ได้กำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards Phytosanitary Measures : ISPMs) เพื่อให้แต่ละประเทศมีการดำเนินมาตรการด้านสุขอนามัยพืชที่มีความสอดคล้องกัน ซึ่งต้องอยู่บนพื้นฐานเหตุผลทางวิทยาศาสตร์ที่ไม่เป็นอุปสรรคทางการค้า อย่างไรก็ตาม ISPMS เป็นมาตรฐานสมัครใจที่ประเทศต่างๆจะนำมาเป็นแนวทางในการปฏิบัติ ซึ่ง FAO ให้การยอมรับในปี 2494และมีผลใช้บังคับในปี 2495 ต่อมาได้มีการแก้ไขปรับปรุงจนมาถึงปัจจุบันคือแก้ไขปรับปรุงในปี 2450 และมีผลบังคับใช้ในปี 2495 หลังจากประเทศสมาชิกให้การรับรองสองในสาม

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรได้ตระหนักถึงมาตรการดังกล่าวซึ่งมีผลกระทบต่อการนำเข้าและส่งออกพืชและผลิตผลพืช ซึ่งต้องรีบปรับปรุงเตรียมจัดทำข้อกำหนดการนำเข้าสินค้าเกษตร รวมทั้งปรับปรุงแก้ไขพระราชบัญญัติกักพืชที่มีการบังคับใช้อยู่ ณ ปัจจุบัน คือ พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่2)พ.ศ.254 ที่ใช้สำหรับควบคุมการเคลื่อนย้ายพืชจากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร เพื่อป้องกันการแพร่ระบาดเข้ามาของศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศ หลังจากที่ประเทศไทยได้เข้าเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก การกำหนดมาตรการควบคุมการนำเข้าสินค้าจากประเทศสมาชิกต้องสอดคล้องกับความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช ประเทศสมาชิกจะใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชได้เท่าที่จำเป็นในการปกป้องสุขภาพของมนุษย์ สัตว์ และพืช บนพื้นฐานของการประเมินความเสี่ยง หรืออาจจะกล่าวว่าบนพื้นฐานของหลักการทางวิทยาศาสตร์ และไม่ใช้มาตรการดังกล่าวอย่างเลือกปฏิบัติโดยไม่มีเหตุผล หรือสร้างมาตรการที่มีความเข้มงวดอย่างแอบแฝงก่อให้เกิดอุปสรรคต่อการค้า

ปัจจุบันพริกเป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่งที่ปลูกเพื่อใช้ภายในประเทศและผลิตเพื่อส่งออกทำรายได้ปีละหลายล้านบาท มีพื้นที่ปลูกทุกภาคทั่วประเทศ เฉพาะปี พ.ศ. 2547-2548ปลูกประมาณ 7 ล้านไร่ แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ขึ้นอยู่ว่าพันธุ์นั้นต้องการปลูกในสภาพอย่างไร ชอบสภาพอากาศแบบไหน .

เนื่องจากมีการนำเมล็ดพันธุ์พริกจากต่างประเทศเข้ามาเป็นจำนวนมากในแต่ปีด้วยเหตุผลความจำเป็นดังกล่าวมาแล้วข้างต้น จึงมีโอกาสเสี่ยงสูงที่ศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) อาจจะเล็ดลอดติดเข้ามา แพร่ระบาด และเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรในประเทศ โดยเฉพาะเมล็ดพริกที่มาจากแหล่งที่มีโรคร้ายแรงระบาดจึงจำเป็นต้องทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสม โดยใช้การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นหลักในวิธีการประเมิน เพื่อกำหนดชนิดศัตรูพืชควบคุม (Regulated pest) และกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสม ซึ่งจะนำไปสู่การแก้ไขปรับปรุงกฎระเบียบต่างๆ ที่ออกภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2542 ให้รัดกุมยิ่งขึ้น โดยไม่ขัดแย้งกับข้อตกลงระหว่างประเทศ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสืบค้น รวบรวม จัดทำรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชของเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากฐานข้อมูลทั้งในและต่างประเทศ
2. เพื่อประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชและกำหนดมาตรการด้านสุขอนามัยพืชในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน
3. เพื่อทราบชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกนำเข้าจากต่างประเทศและศัตรูพืชที่ตรวจพบในแปลงปลูก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Nutrient Agar (NA) , Potato dextrose Agar
2. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี
3. ชุดตรวจสอบ Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA Kit) ของ Agdia
4. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ สำหรับการแยกเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส สาเหตุโรคพืช
5. โรงเรือนปลูกพืชมีตาข่ายกันแมลง
6. วัสดุและอุปกรณ์ในการปลูกพืช
7. วัสดุและอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืชและเมล็ดพันธุ์
8. ชุดคอมพิวเตอร์ที่ติดตั้งระบบอินเตอร์เน็ต
9. แผ่นเก็บข้อมูล กระดาษ
10. แผ่นข้อมูล Crop Protection Compendium (CABI 2005)

วิธีการ

วิธีการและขั้นตอนการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

1 การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืช

(1) การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืช (Information on crops) ที่จะดำเนินการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง เช่น อนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การจำแนกชนิดพริก สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการปลุก การเก็บเกี่ยว เป็นต้น สถิติการนำเข้า สถิติการส่งออก จากหนังสือ วารสารทางวิชาการ จากแหล่งต่างๆที่เชื่อถือได้

(2) การรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช โดยทำการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชจากเอกสารวิชาการต่างๆข้อมูลทางวิชาการงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศเช่นจาก

1. ฐานข้อมูล เอกสารวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุม และสัมมนาทางวิชาการ ทะเบียนวิจัยของกรมวิชาการเกษตรและหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้องข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆทั่วโลก ข้อมูลจากCrop protection compendium (CPC).

2. จากข้อมูลทางอิเลคโทนิค เว็บไซท์ ต่างๆ

3. ข้อมูลการวิเคราะห์ความเสี่ยงของประเทศที่เคยวิเคราะห์ความเสี่ยงมาก่อน

4. ข้อมูลการตรวจสอบศัตรูเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้ามาในราชอาณาจักร (Interception) ดำเนินการโดย

ก). โดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำเพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลงหรือเมล็ดวัชพืช จากนั้นตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชโดย

ข). ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อโรคพืชจะทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ตามวิธีมาตรฐานของ ISTA (International Seed Testing Association, 1993) แล้วนำตัวอย่างมาตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคพืช ซึ่งอาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ตามขั้นตอนและวิธีการ ดังต่อไปนี้

(1) การตรวจสอบเชื้อรา

1) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะยังไม่งอก (Dry seed examination)

โดยตรวจสอบลักษณะอาการโรคและส่วนขยายพันธุ์เชื้อราหรือตัวเชื้อโรค ซึ่งปะปนมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยตาเปล่าหรือตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เช่นเมล็ดพันธุ์มีรูปร่างผิดปกติ หรืออาจติดมา ภายในเมล็ดพันธุ์โดยไม่แสดงอาการ รวมทั้งอาจติดมากับเศษพืชในลักษณะเส้นใยหรือส่วนขยายพันธุ์เช่น Pycnidia เป็นต้น..

2) การตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์พืชขณะเมล็ดงอก

โดยใช้ Blotter method ใช้ตัวอย่างวิเคราะห์จำนวน 400 เมล็ด ต่อ 1 สายพันธุ์ โดยวางเมล็ดลงบนกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จำนวน 3 แผ่นที่ชุ่มน้ำซึ่งวางอยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วางเมล็ดพันธุ์พริก 25 เมล็ดต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำจานเพาะเมล็ดไปบ่มเชื้อ (incubate) ใต้แสง near ultraviolet (NUV) สลับกับความมืด 12/12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ตรวจและจำแนกชนิดเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ เสตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope) และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope)

(2) การตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย

ในการตรวจและจำแนกชนิดแบคทีเรียดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1) แยกเชื้อสาเหตุโรค เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชสามารถติดมากับเมล็ดพันธุ์พริก ในกรณีที่เชื้อติดมาในปริมาณมากจะสามารถแยกเชื้อจากเมล็ดโดยตรงได้

สำหรับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดในปริมาณน้อย จะต้องเพาะเมล็ดให้งอกเป็นต้นกล้าแล้วแยกเชื้อจากใบพืชซึ่งแสดงอาการโรค การแยกเชื้อสามารถดำเนินการได้ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

(1) แยกเชื้อสาเหตุโรคจากเมล็ดโดยตรงด้วยวิธี Dilution plate โดยบดเมล็ดจำนวน100-200 เมล็ด หรือแล้วแต่เชื้อแบคทีเรียที่ต้องการตรวจหา และจำนวนเมล็ดพันธุ์ที่มีอยู่ ทำการแยกในแต่ละสายพันธุ์ของพริก เมื่อได้เมล็ดพันธุ์แล้วนำมาใส่ลงในสารละลายโซเดียมคลอไลด์ (0.85% NaCl) หรือบัฟเฟอร์ จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทำให้เจือจางในอาหารเหลว Nutrient broth ให้มีความเจือจางเป็น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ตามลำดับ ใช้ไปเปตต์ดูด suspension แต่ละความเข้มข้น จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) เช่นอาหาร SCM เพื่อตรวจสอบเชื้อ *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Clavibacter michiganensis* subsp .*sepidonicum* แล้วใช้แท่งแก้ว spread ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-5 วัน จึงนำมาตรวจหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรีย แยกเชื้อให้บริสุทธิ์แล้วนำไปจำแนกชนิดต่อไป

(2) แยกเชื้อจากต้นกล้าซึ่งเพาะจากเมล็ด เพาะเมล็ดในดินนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 400 เมล็ด หรือที่มีอยู่จริง โดยเพาะ 25-50 เมล็ดต่อถุง และเก็บถุงเพาะที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เมื่อต้นกล้าออกใบจริง 1-2 ใบ ให้สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนพืช หรืออาจใช้ถุงพลาสติกที่ฉีดพ่นน้ำคลุมให้ความชุ่มชื้นเป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะอาการผิดปกติบนใบพืช เก็บใบพืชที่สงสัยไปแยกเชื้อด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

(2.1) วิธี Dilution plate ตัดใบพืชที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมแล้วฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 10% clorox นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรองภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อ แล้วบดชิ้นส่วนในสารละลาย 0.85% โซเดียมคลอไรด์ จากนั้นนำมาทำให้ เจือจางเป็นลำดับจาก 10^{-1} ถึง 10^{-5} และดำเนินการเช่นเดียวกับ ขั้นตอนในข้อ (1)

(2.2) วิธี Tissue transplanting ตัดใบพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2 x2 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ ผิวด้วย 10% clorox นาน 2-3 นาที ผึ่งให้แห้งบนกระดาษกรอง ภายใต้กระแสลมตู้เขี่ยเชื้อแล้ววางพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA หรืออาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งเฉพาะเจาะจง (semiselective media) นำจานเลี้ยงเชื้อไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วันจึงนำมาตรวจสอบหาโคโลนีเชื้อแบคทีเรียเก็บจานอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจนครบ 3-5 วัน เพื่อตรวจหาโคโลนีของแบคทีเรียชนิดอื่นจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และนำไปศึกษาคุณลักษณะเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

2) การจำแนกชนิด (Identification)

(1) ศึกษาคุณลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย โดยบันทึกลักษณะและสีของโคโลนี ตรวจสอบรูปร่างของเซลล์แบคทีเรียใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

(2) ทดสอบแกรม (Gram reaction) โดยใช้โปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 3% (3%KOH) ที่เตรียมใหม่ใช้ภายใน 2 สัปดาห์ หากตรวจพบเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative) มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) และแกรมบวก (Gram positive) รูปร่างแบบ Coryneform rod ก็จะนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

(3) ทดสอบ hypersensitivity reaction บนยาสูบโดยการฉีด suspension ของเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมงซึ่งมีความเข้มข้น 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตรเข้าไปในใบยาสูบ (Nicotiana tabacum L.) บริเวณ เนื้อใบระหว่างเส้นใบ สังเกตลักษณะอาการเซลล์ตายตรงเนื้อใบหลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง หากพบอาการเซลล์ตายแสดงว่าเชื้อแบคทีเรีย isolate ดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช

(4) ทดสอบคุณสมบัติทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical characters) เช่น การใช้ยูเรีย การย่อยเจลาติน การย่อยเอสคูลิน และแป้ง reduce ไนเตรต ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นต้น

(5) ทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย Pathogenicity test) โดยเตรียม suspension ของเชื้อแบคทีเรียให้มีความเข้มข้น 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร ปลูกเชื้อตามอาการของโรคของเชื้อที่สงสัยว่าเป็นสาเหตุ เช่นปลูกเชื้อโดยฉีดเข้าในลำต้นพริกอายุ 2-3 สัปดาห์ เมื่อสงสัยว่าเป็นเชื้อ *Clavibacter michiganense* subsp. *nebraskense*, *Pseudomonas corrugata* หรือ .ใช้ฉีดพ่นเมื่อคิดว่าเป็น *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ฉีดพ่นน้ำให้ความชุ่มชื้นคลุมด้วยถุงพลาสติกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ตรวจลักษณะอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 3-5 วัน จากนั้นนำใบเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรคเป็นชนิดเดียวกับที่แยกได้ในครั้งแรกหรือไม่

(6) การตรวจสอบด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เป็นวิธีการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา ปัจจุบันใช้ชุดตรวจสอบของ Agdia โดยเมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วจะนำเชื้อแบคทีเรียมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว 523 medium และนำมาทำการตรวจสอบตามขั้นตอนที่แนะนำ

3. การตรวจสอบเชื้อไวรัสหรือไวรอยด์

ด้วยเหตุที่เชื้อไวรัสหรือไวรอยด์ ส่วนใหญ่จะติดกับเมล็ดพันธุ์ในปริมาณน้อย จึงเป็นการยากที่จะตรวจพบ หากตรวจจากเมล็ดโดยตรง จึงต้องเพาะเมล็ดให้งอกแล้วสังเกตลักษณะ

อาการโรค จากนั้นนำใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติไปจำแนกชนิดเชื้อไวรัสต่อไป ในการตรวจสอบจะดำเนินการตามขั้นตอน ดังนี้

(1) ปลูกสังเกตลักษณะอาการโรคบนต้นกล้า (Seedling symptom test) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในดินอบฆ่าเชื้อ ตัวอย่าง 50-200 เมล็ด เก็บรักษาไว้ในโรงปลูกพืชกันแมลงเมื่อต้นพืชออกใบจริง 1-2 ใบ จึงตรวจสอบลักษณะอาการโรค ต้นกล้าที่แสดงอาการผิดปกติ สงสัยว่ามีสาเหตุจากเชื้อไวรัสจะนำใบอ่อนไปตรวจสอบด้วยวิธีการอื่นเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

(2) ปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ (Infectivity test) ในการทดสอบจะทาน้ำคั้นพืช (sap) ที่สงสัยบนพืชทดสอบ (Indexing plant) ชนิดที่เหมาะสมกับเชื้อไวรัสแต่ละชนิด เตรียมน้ำคั้นพืชสำหรับทดสอบโดยบดใบพืชที่แสดงลักษณะอาการผิดปกติในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ตรวจสอบเชื้อไวรัสใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) โดยใช้ใบพืชหนัก 1 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร ในสภาพเย็น จากนั้นใช้สำลีหรือนิ้วที่สะอาดจุ่มน้ำคั้นพืชทาลงบนใบพืชทดสอบ ซึ่งโรยด้วยผงคาร์โบรันดัม (carborundum ขนาด 600 mesh) หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 5 นาที ให้ล้างใบพืชและนำพืชทดสอบไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สังเกตลักษณะอาการบนพืชทดสอบหลังปลูกเชื้อเป็นเวลา 1-4 สัปดาห์ โดยพืชทดสอบจะแสดงอาการแผลเฉพาะแห่ง (local lesion) หรืออาการแบบกระจายทั่วลำต้น (systemic infection)

(3) การตรวจสอบอนุภาคไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Electron microscopy)

โดยวิธีลอยกริดบนน้ำคั้นพืช เตรียมน้ำคั้นพืชโดยบดใบพืชที่แสดงอาการผิดปกติในฟอสเฟทบัฟเฟอร์ 0.1 M phosphate buffer pH 7.0) อัตรา 1 : 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นหยดน้ำคั้นซึ่งเตรียมได้บนแผ่นพาราฟิล์ม วางกริดด้านที่เคลือบเยื่อฟอร์มวาร์ (formvar) สัมผัสกับหยดน้ำคั้นพืชเป็นเวลา 5-15 นาที ล้างกริดด้วยน้ำกลั่น 30 หยด แล้วย้อมด้วยสารย้อมสี 2% Uranyl acetate 7 หยด ซับให้แห้งแล้วนำกริดไปตรวจสอบอนุภาคเชื้อไวรัสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนต่อไป

(4) การตรวจสอบด้วยวิธีทางเซรุ่มวิทยา (Serological techniques) การตรวจสอบด้วยวิธี Enzyme – linked Immunosorbent Assay : ELISA เป็นวิธีตรวจสอบเชื้อไวรัสที่มีความไวสูง แม้จะมีเชื้อไวรัสปริมาณต่ำหรืออนุภาคแตกหักก็สามารถตรวจได้ ให้ผลรวดเร็วแน่นอน และยังสามารถตรวจสอบตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก วิธีการที่นำมาใช้เป็นแบบ Indirect ELISA .

4. การแยกไส้เดือนฝอย สามารถแยกไส้เดือนฝอยออกจากเมล็ดโดย นำเมล็ดพันธุ์มาแช่ในน้ำทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะไชออกมาจากแผลมาว่ายน้ำ สามารถตรวจดู

ใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งไส้เดือนฝอยที่มักจะพบได้แก่ไส้เดือนฝอยสกุล *Pratylenchus* spp., *Ditylenchus* spp. ,*Anguina* spp.

5. ข้อมูลจากการสุ่มตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกพริกของเกษตรกรและแปลงวิจัยบริษัท สุ่มเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกพริกในพื้นที่ที่มีการใช้เมล็ดที่นำเข้าจากต่างประเทศ เก็บตัวอย่างที่สงสัยโดยจะเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง คือ

ครั้งที่ 1 เมื่อพริกอยู่ในระยะตอนดอกผสมเกสรหรือผสมเกสรไม่เกิน 50% ของต้น

ครั้งที่ 2 เมื่อผลพริกเจริญเติบโตเต็มที่ก่อนเก็บเกี่ยวหรือผลเปลี่ยนสีจนถึงเก็บเกี่ยวแล้วไม่เกิน 50 % ของต้น

เขียนรายละเอียดกำกับตัวอย่างแล้วนำเข้ามาตรวจวินิจฉัยขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ ตามวิธีเช่นเดียวกับในข้อ1.2.4

2. **การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช** ดำเนินตามขั้นตอนคือ

หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้ดำเนินการตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่องคำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO, 2005) และมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (FAO, 2004) โดยการดำเนินการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ ได้แก่

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

ขั้นตอนที่ 2 : การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยง (initiation) ซึ่งในขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการเริ่มขบวนการวิเคราะห์เพื่อจำแนกศัตรูพืช (pest) และเส้นทางศัตรูพืช (pest pathway) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกักกันพืช และปัจจัยที่ควรนำมาพิจารณาในการวิเคราะห์ความเสี่ยง คือ

1.1 จุดเริ่มต้นการวิเคราะห์ (initiation points) การเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช อาจเป็นผลมาจาก

1.1.1 การจำแนกเส้นทางศัตรูพืชซึ่งมีศักยภาพก่อให้เกิดความเสี่ยงศัตรูพืช

1.1.2 การจำแนกศัตรูพืชซึ่งอาจต้องการใช้มาตรการสุขอนามัยพืช

1.1.3 การทบทวนหรือการปรับปรุงนโยบายด้านสุขอนามัยพืช

1.2 การจำแนกพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต้องกำหนดพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อให้สามารถจำแนกพื้นที่ซึ่งต้องการข้อมูลในการวิเคราะห์ความเสี่ยงได้ถูกต้อง

1.3 รวบรวมข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การรวบรวมข้อมูลเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชทุกขั้นตอน โดยเฉพาะการวิเคราะห์ในระยะเริ่มต้น เพื่อให้เกิดความชัดเจนเกี่ยวกับสถานภาพการแพร่ระบาดของศัตรูพืชในปัจจุบัน ตลอดจนโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดมากับพืชอาศัยและสินค้า

1.4 ตรวจสอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีการดำเนินการแล้ว

ก่อนเริ่มขบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช จะต้องตรวจสอบว่าได้เคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาแล้วหรือไม่ ทั้งกรณีวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชโดยศัตรูพืช โดยเส้นทางศัตรูพืช หรือโดยนโยบายของรัฐ ทั้งภายในและต่างประเทศ กรณีที่มีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาแล้วจะต้องตรวจสอบว่ายังมีความเหมาะสมหรือไม่ หรือยังสามารถนำมาใช้ได้หรือไม่ เนื่องจากสภาพอาจเปลี่ยนแปลง หรือศักยภาพความเป็นไปได้ในการนำมาใช้เพียงบางส่วนหรือทั้งหมดว่าสามารถทดแทนความต้องการในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่จะดำเนินการได้หรือไม่

1.5 ข้อสรุปของขั้นตอนการเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2: **การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช** (Pest risk assessment)

เมื่อศึกษาในขั้นตอนที่ 1 จนสามารถจำแนกรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) และเส้นทางศัตรูพืช (Pest pathway)ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายและมีศักยภาพที่จะต้องทำการวิเคราะห์ความเสี่ยง รวม ทั้งสามารถจำแนกพื้นที่ๆต้องการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้แล้วจะดำเนินการในขั้นตอนที่2

ขั้นตอนนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อให้จัดลำดับความสำคัญศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงซึ่งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน มีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน คือ ขั้นตอนที่1) การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)เพื่อพิจารณาว่า ศัตรูพืชควบคุมชนิดใดจะเข้าข่ายว่าเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่เป็นศัตรูพืชกักกัน โดยพิจารณาจากข้อมูลทางชีววิทยา วงจรชีวิต ลักษณะการแพร่ระบาด ข้อมูลที่เคยปรากฏพบและอื่นๆ ทั้งหมดที่ประกอบการตัดสินใจ ขั้นตอนที่ 2) นำไปประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชชนิดนั้นจะเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry & establishment and spread)ในประเทศไทย และขั้นตอนที่ 3 ประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช (Assessment of potential consequences) ในประเทศไทย สำหรับรายละเอียดประเมินความเสี่ยงที่ใช้วิเคราะห์คือ

2.1 **การจำแนกชนิดศัตรูพืช** (Pest categorization)

ดำเนินการโดยการพิจารณาศัตรูพืชของพริกแต่ละชนิดว่า ศัตรูพืชตัวใดมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามคำนิยามว่า “ศัตรูพืชกักกัน (Quarantine Pest) หมายถึง ศัตรูพืชซึ่งมีศักยภาพสำคัญทางเศรษฐกิจต่อพื้นที่ซึ่งมีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ โดยศัตรูพืชอาจยังไม่เคยปรากฏในพื้นที่นั้น หรือปรากฏแล้วแต่ยังไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวางและอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ” โดยมีหลักในการวิเคราะห์ ดังนี้

2.1.1 การระบุชนิดศัตรูพืช (identity of the pest) ต้องระบุข้อมูลทางอนุกรมวิธาน ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ ข้อมูลทางชีววิทยาและข้อมูลอื่นๆที่ใช้ในการประเมิน โดยทั่วไปการจำแนกชนิดจะอยู่ในระดับสปีซีส์(species) ในกรณีที่ไม่สามารถระบุชนิด (species) ของศัตรูพืชได้อย่างชัดเจน เพราะยังไม่เคยมีการจำแนกโดยละเอียด หรือกรณีใดๆ ศัตรูพืชชนิดนั้นจะไม่นำมาวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป ในกรณีที่ศัตรูพืชสาเหตุนั้นมีพาหะซึ่งจำเป็นสำหรับการถ่ายทอดเชื้อของศัตรูพืชชนิดนั้น พาหะนั้นอาจได้รับการพิจารณาให้เป็นศัตรูพืชชนิดหนึ่งด้วย

2.1.2 การมีหรือไม่มีศัตรูพืชชนิดนั้นในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (present or absence in the PRA areas) พิจารณาจากศัตรูพืชที่นำมาประเมินเคยมีหรือไม่เคยมีรายงานในประเทศไทยมาก่อนหรือไม่มีรายงานว่าทำลายพริกในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง

2.1.3 สถานภาพการควบคุม (Regulatory status) กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นเคยมีรายงานพบกับพริกในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงแต่ไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวางหรือพบอยู่ในขอบเขตจำกัดและศัตรูพืชชนิดนั้นควรจะต้องอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ หรือคาดว่าจะได้รับการควบคุมอย่างเป็นทางการในอนาคตอันใกล้

2.1.4 ศักยภาพการเข้ามาเจริญพันธุ์อย่างถาวรและการแพร่ระบาดของศัตรูพืชชนิดนั้นในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (establishment and spread) การพิจารณามาจากข้อมูลสนับสนุน ได้แก่ ลักษณะพื้นที่ในประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศเหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์และแพร่ระบาดของศัตรูพืช พืชอาศัย มีพืชอาศัยสลับ และมีพาหะศัตรูพืชปรากฏในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2.1.5 ศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อม (consequence) ในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ควรมีหลักฐานที่แน่ชัดว่าศัตรูพืชมีแนวโน้มที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจหรือผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมจนถึงระดับที่ยอมรับไม่ได้ในในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง

ผลสรุปจากการพิจารณาว่าศัตรูพืชนั้นมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน กระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะดำเนินการต่อไป แต่กรณีที่ศัตรูพืชไม่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์การเป็นศัตรูพืชกักกัน กระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของศัตรูพืชชนิดนั้นจะหยุด ณ ขั้นตอนนี้

กรณีที่มีข้อมูลไม่เพียงพอจะจำแนกประเด็นที่ยังมีข้อสงสัย และกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชควรดำเนินการต่อไป

2.2 การประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry, establishment and spread)

ตามความหมายของIPPCในการนำศัตรูพืชเข้ามา (pest introduction) จะต้องวิเคราะห์เส้นทาง(pathway) ซึ่งศัตรูพืชอาจปะปนร่วมกับเส้นทางศัตรูพืชจากแหล่งกำเนิดจนเข้ามา (entry)เจริญแพร่ขยายพันธุ์ และดำรงชีพแพร่ขยายพันธุ์(Establishment)ในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้ การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินการโดย

2.2.1 การประเมินโอกาสการเข้ามา (Probability of entry) การประเมินโอกาสการเข้ามาของศัตรูพืชจะพิจารณาจาก 2 ส่วนคือ

1.เส้นทางเคลื่อนย้ายทางชีวภาพ

2.จำนวน ความถี่และปริมาณศัตรูพืชที่ปะปนร่วมมากับเส้นทางศัตรูพืช

ในการประเมินโอกาสการเข้ามาดำเนินตามขั้นตอนดังนี้

1) โอกาสที่ศัตรูพืชปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช ณ แหล่งกำเนิด โดยพิจารณาจากปัจจัยดังนี้ การแพร่ระบาดของศัตรูพืชในพื้นที่ที่ผลิต, การปรากฏของศัตรูพืชในช่วงวงจรชีวิต (life stage) ซึ่งมีโอกาส ปะปนและรอดชีวิตอยู่กับสินค้า , ปริมาณและความถี่ของการเคลื่อนย้ายไปกันเส้นทางศัตรูพืช , ฤดูกาล , การจัดการศัตรูพืช กระบวนการผลิต และการค้าซึ่งดำเนินการ ณ แหล่งผลิตรวมทั้งการคัดแยก การคัดขนาดซึ่งเป็นวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืช

2) โอกาสที่ศัตรูพืชจะมีชีวิตรอดระหว่างการขนส่ง โดยพิจารณาจากปัจจัยคือความเร็วและสภาพการขนส่ง และช่วงเวลา วงจรชีวิตของศัตรูพืชที่สัมพันธ์กับระยะเวลาในการขนส่ง,ความอ่อนแอของช่วงวงจรชีวิตศัตรูพืชระหว่างการขนส่ง และเก็บรักษา, การแพร่ระบาดของศัตรูพืชทำให้ศัตรูพืชปะปนไปกับสินค้า,กระบวนการทางการค้าซึ่งใช้กับสินค้า ณ ประเทศต้นทาง เช่น การเก็บรักษาสินค้าในสภาพอุณหภูมิต่ำ

3) โอกาสการอยู่รอดของศัตรูพืชจากกระบวนการจัดการศัตรูพืชคือกระบวนการจัดการศัตรูพืชมีประสิทธิภาพหรือไม่, โอกาสที่ศัตรูพืชจะตรวจไม่พบระหว่างการสุ่มตรวจหรือยังมีชีวิตแม้ผ่านมาตรการการออกใบรับรองปลอดศัตรูพืช

4) โอกาสการเคลื่อนย้ายศัตรูพืชไปยังพืชอาศัยที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากปัจจัยดังนี้ , กลไกการแพร่กระจายศัตรูพืชและพาหะ, การกระจายตัวของจุดหมายปลายทางของสินค้า ,จุดนำผ่านสินค้าเข้าประเทศและจุดหมายปลายทางของสินค้า กับความ

ใกล้เคียงกับพืชอาศัยที่เหมาะสม, วัตถุประสงค์ในการนำเข้าสินค้า (เพาะปลูก วัตถุดิบในอุตสาหกรรม และบริโภค),ช่วงเวลาที่มีการนำเข้าสินค้า, ความเสี่ยงจากของเสียที่เกิดและผลผลิต

2.2.2 โอกาสการเข้ามาเจริญดำรงชีพและแพร่ขยายพันธุ์ (probability of establishment)

ในการประเมินโอกาสการเข้ามาเจริญดำรงชีพและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืช จะประเมินโดยใช้ข้อมูลทางด้านชีววิทยาของศัตรูพืช (วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การอยู่รอด เป็นต้น) และปัจจัยอื่นๆจากพื้นที่ที่ศัตรูพืชปรากฏขึ้นในต่างประเทศ โดยนำมาประเมินสถานการณ์เปรียบเทียบกับสภาพในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชซึ่งจะมีส่วนสนับสนุนให้ศัตรูพืชมีชีวิตรอดและขยายแพร่พันธุ์ได้ โดยอาจใช้กรณีที่เคยเกิดมาแล้วที่คล้ายกันนำมาพิจารณาด้วยได้ ปัจจัยที่นำมาพิจารณามีดังนี้ การมีพืชอาศัยที่เหมาะสม พืชอาศัยสลับ (alternate host) และพาหะ การกระจายของพืชอาศัยในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช, ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เป็นปัจจัยสำคัญในการพัฒนาของศัตรูพืช พืชอาศัยของศัตรูพืช รวมทั้งพาหะ , ความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช การอยู่รอดในช่วงเวลาที่มีสภาพภูมิอากาศไม่เหมาะสม และความสามารถในการเจริญจนครบวงจรชีวิต, พิจารณาคุณลักษณะประการอื่นของศัตรูพืชที่เอื้อประโยชน์ต่อการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เช่น กลยุทธ์การแพร่ขยายพันธุ์และวิธีการดำรงชีวิตให้อยู่รอดของศัตรูพืช ความสามารถในการปรับเปลี่ยนพันธุกรรม ใช้ประชากรศัตรูพืชจำนวนน้อยในการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์

2.2.3 โอกาสการแพร่ระบาดของศัตรูพืช(Probability of spread)

การประเมินโอกาสการแพร่ระบาดโดยใช้ข้อมูลทางชีววิทยาจากแหล่งระบาดของศัตรูพืชที่เคยมีเปรียบเทียบกับสภาพในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยง โดยพิจารณาปัจจัยดังนี้,ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในทางธรรมชาติและการจัดการที่เกื้อหนุนต่อการแพร่ระบาด , อุปสรรคทางธรรมชาติ , การเคลื่อนย้ายสินค้าหรือพาหนะขนส่ง, การใช้ประโยชน์สินค้า, ศักยภาพของพาหะหรือศัตรูธรรมชาติของศัตรูพืชในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช, ศักยภาพของศัตรูพืชในพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช, ช่วงเวลาของวงจรชีวิต, จำนวนรุ่นต่อปี, ระยะฟักตัว และอื่นๆ

สรุปผลการประเมินโอกาสการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาดของศัตรูพืช.

2.3 **การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจ** (Assessment of potential economic consequence) การประเมินจะพิจารณาผลกระทบทางตรงและผลกระทบทางอ้อมก็ได้ โดยการนำข้อมูลต่างๆที่สัมพันธ์กับศัตรูพืชและพืชที่มีศักยภาพเป็นพืชอาศัยมารวมกัน แล้วใช้

ข้อมูลนั้นเพื่อประเมินผลกระทบทุกด้านของศัตรูพืช เช่น ศักยภาพของผลที่ตามมาทางเศรษฐกิจ, ผลกระทบต่อตลาดทั้งภายในและตลาดส่งออก, ผลที่มีต่อการเข้าสู่ตลาดส่งออก, ค่าใช้จ่ายสำหรับผู้ผลิต, ค่าใช้จ่ายในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช, ค่าใช้จ่ายในการกำจัดศัตรูพืชให้หมดสิ้นไป หรือการควบคุมไม่ให้ศัตรูพืชระบาดเพิ่มขึ้น, ความสามารถในการทำหน้าที่เป็นพาหะของศัตรูพืชอื่นๆ

ผลที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ถ้าศัตรูพืชอยู่ในข่ายตามคำจำกัดความของศัตรูพืชกักกันแล้ว จะดำเนินการต่อในขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช แต่ถ้าไม่เป็นศัตรูพืชกักกัน การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชชนิดนั้นจะยุติ ณ ขั้นตอนนี้

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยง (Risk management)

ขั้นตอนนี้เกี่ยวข้องกับการกำหนดมาตรการทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยง ทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงที่ระบุในขั้นตอนที่ 2 โดยที่ข้อสรุปจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่าจำเป็นหรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยง และมาตรการที่ใช้จัดการความเสี่ยงจะมีความเข้มแข็งเพียงพอที่จะใช้หรือไม่ หลักการจัดการความเสี่ยงนั้นจะต้องคำนึงถึงประเด็นดังนี้

3.1 ระดับความเสี่ยง (Level of risks) การจัดการความเสี่ยงจะใช้หลักการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ปลอดภัยและยอมรับได้(Appropriate Level of acceptable; ALOP) หรือระดับความเสี่ยงที่สามารถยอมรับได้ (acceptable)

3.2 ข้อมูลวิชาการประกอบการพิจารณาจัดการความเสี่ยง โดยดูจากข้อมูลที่รวบรวมได้

3.3 การยอมรับความเสี่ยง(acceptable of risk) นำผลของการประเมินความเสี่ยงนับตั้งแต่การเข้ามา การแพร่ขยายพันธุ์และผลกระทบต่อเศรษฐกิจที่แสดงความเสี่ยงว่าไม่สามารถยอมรับได้นั้นมาจัดการจำแนกมาตรการสุขอนามัยพืชเพื่อลดความเสี่ยงลงให้ถึงระดับต่ำสุดที่ยอมรับได้

3.4 จำแนกและคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมที่มีประสิทธิภาพในการลดโอกาสการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชที่เหมาะสม มีเหตุผลภายใต้ข้อจำกัดเกี่ยวกับวิธีการที่สามารถดำเนินการได้ในการจัดการความเสี่ยง

3.5 การรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary certificate) โดยการรับรองสุขอนามัยพืชว่าสินค้าปราศจากศัตรูพืชกักกันซึ่งกำหนดโดยประเทศผู้นำเข้า

3.6 บทสรุปการจัดการความเสี่ยง

3 .สรุปผลการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง เมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าเพื่อทำพันธุ์

4. ร่างประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ฯเพื่อกำหนดสถานภาพของเมล็ดพันธุ์พริก.

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2549 - กันยายน 2550

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการฝ่ายพันธุ์พืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร

2.ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช

3. แปลงปลูกพริกในประเทศ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืช ทำการรวบรวมข้อมูลของพริกจากเอกสารวิชาการหนังสือ และ ขอมูลจากเว็บไซท์ให้ผลคือ

(1) การรวบรวมข้อมูลพืช

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Capsicum* spp.

(*Capsicum frutescens* , *Capsicum annuum*)

ชื่อสามัญ Chilli, Chilli pepper

Domain: Eukaryota

Kingdom: Viridiplantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Dicotyledonae

Order: Solanales

Family : Solanaceae

ถิ่นกำเนิดและประวัติ

พริกมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกาใต้ และเริ่มรู้จักเพาะปลูกพริกเมื่อประมาณ 3,400-5,200 ปีก่อนคริสตกาล จากแหล่งกำเนิดพริกได้แพร่กระจายไปยังหมู่เกาะอินเดียตะวันตก เม็กซิโก และประเทศในกลุ่มอเมริกากลาง เนื่องจากเมล็ดพริกสามารถคงความงอกไว้นาน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

พริกเป็นพืชที่อยู่ในตระกูลโซลานาซีอี (Solanaceae) ซึ่งอยู่ในตระกูลเดียวกันกับมะเขือ มันฝรั่ง และยาสูบ พืชในตระกูลนี้มีอยู่ประมาณ 90 สกุล (Genus) หรือ 2,000 ชนิด (Species)

โดยทั่วไปเป็นได้ทั้งพืชล้มลุก ไม้พุ่มและไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ซึ่งกระจายอยู่ทั่วไปของโลก สำหรับพริกจัดอยู่ในตระกุล Capsicum ซึ่งประกอบด้วยพืชชนิดต่างๆ ประมาณ 20-30 ชนิด สำหรับลักษณะทั่วไปทางพฤกษศาสตร์ของพริกมีดังนี้

ราก: ระบบรากของพริกมีรากแก้ว รากหากินลึกมาก ต้นพริกที่โตเต็มที่รากฝอยจะแผ่ออกไปหากินด้านข้างในรัศมีเกินกว่า 1 เมตร และหยั่งลึกลงไปในดินเกินกว่า 1.20 เมตร รากฝอยหากินของพริกจะพบอยู่อย่างหนาแน่นมากในบริเวณรอบๆ ต้นใต้ผิวดินลึกประมาณ 60 เซนติเมตร

ลำต้นและกิ่ง: ลำต้นพริกตั้งตรง สูงประมาณ 1-2.5 ฟุต พริกเป็นพืชที่มีการเจริญของกิ่งเป็นแบบ dichotomous คือกิ่งจะเจริญจากลำต้นเพียง 1 กิ่ง แล้วแตกออกเป็น 2 กิ่ง และเพิ่มเป็น 4 กิ่ง 8 กิ่ง 16 กิ่ง ไปเรื่อยๆ และมักพบว่าต้นพริกที่สมบูรณ์จะมีกิ่งแตกขึ้นมาจากต้นที่ระดับดินหลายกิ่ง จนดูคล้ายกับว่ามีหลายต้นอยู่รวมที่เดียวกัน ดังนั้นจึงมักไม่พบลำต้นหลักแต่จะพบเพียงกิ่งหลักๆ เท่านั้น ทั้งลำต้นและกิ่งนั้นในระยะแรกจะเป็นไม้เนื้ออ่อนแต่เมื่อมีอายุมากขึ้นกิ่งก็จะยิ่งแข็งมากขึ้น แต่กิ่งหรือต้นพริกก็ยังคงเปราะและหักง่าย

ใบ: พริกเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ใบเป็นแบบใบเลี้ยงเดี่ยว มีลักษณะแบนเรียบเป็นมัน มีขนบ้างเล็กน้อย ใบมีรูปร่างตั้งแต่รูปไข่ไปจนกระทั่งเรียวยาว มีขนาดแตกต่างกันไป ในพริกหวานมีขนาดค่อนข้างใหญ่ ใบพริกขี้หนูทั่วไปมีขนาดเล็ก แต่ในระยะเป็นต้นกล้าและใบล่างๆ ของต้นโตเต็มที่จะมีขนาดค่อนข้างใหญ่

ดอก: ลักษณะดอกของพริกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ คือมีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ภายในดอกเดียวกัน แต่อาจพบมีหลายดอกเกิดจากจุดเดียวกัน ดอกเกิดที่ข้อตรงมุมที่เกิดใบหรือกิ่งก้านดอกอาจตรงหรือโค้ง ส่วนประกอบของดอกประกอบด้วยกลีบรองดอก 5 พู กลีบดอกสีขาว 5 กลีบ แต่บางพันธุ์อาจมีสีม่วงและอาจมีกลีบดอกตั้งแต่ 4-7 กลีบ มีเกสรตัวผู้ 5 อัน ซึ่งแตกจากตรงโคนของชั้นกลีบดอก อับเกสรตัวผู้มีสีน้ำเงินแยกตัวเป็นกระเปาะเล็กๆ ยาวๆ เกสรตัวเมียชูสงขึ้นไปเหนือเกสรตัวผู้ ปลายเกสรตัวเมียมีรูปร่างเหมือนกระบองหัวมน รังไข่มี 3 พู แต่อาจพบได้ 2-4 พู และจากการศึกษาพบว่า พริกเป็นพืชที่ตอบสนองต่อช่วงวัน โดยมักจะออกดอกและติดผลในสภาพวันสั้น ในระหว่างการเจริญเติบโตได้รับสภาพวันยาวหรือมีการใช้แสงไฟฟ้าในเวลากลางคืนเพื่อเพิ่มความยาวของช่วงแสง พริกก็จะออกดอกช้าออกไป

ผล: มีทั้งผลเดียวและผลกลม ผลพริกเป็นประเภท berry ทีมีลักษณะเป็นกระเปาะ มีฐานขั้วผลสั้นและหนา โดยปกติผลอ่อนมักชี้ขึ้น เมื่อเป็นผลแก่พันธุ์ทีมีลักษณะขั้วผลอ่อนก็จะให้ผลที่ห้อยลง แต่บางพันธุ์ทั้งผลอ่อนและผลแก่จะชี้ขึ้น ผลมีลักษณะทั้งแบๆ กลมยาว จนถึงพองอ้วนสั้น ขนาดของผลมีตั้งแต่ขนาดผลเล็กๆ ไปจนกระทั่งมีผลขนาดใหญ่ ผนังผลมีตั้งแต่บางจนถึงหนาขึ้นอยู่กับพันธุ์ ผลอ่อนมีทั้งสีเหลืองอ่อน สีเขียวอ่อน สีเขียวเข้ม และสีม่วง เมื่อผลสุกอาจเปลี่ยนเป็นสีแดง ส้ม เหลือง น้ำตาล ขาวนวลหรือสีม่วง พร้อมๆ กับการสุกแก่ของเมล็ดในผลควบคู่กันไป ผลพริกมีความเผ็ดแตกต่างกันไป บางพันธุ์เผ็ดจัด บางพันธุ์ไม่เผ็ดเลยหรือเผ็ดน้อย ฐานของผลอาจแบ่งออกเป็น 2-4 ห้อง ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนในพริกหวาน แต่พริกที่มีขนาดผลเล็กอาจสังเกตได้ยาก บางพันธุ์อาจดูเหมือนว่าภายในผลมีเพียงห้องเดียวโดยตลอดเนื่องจาก

septae ไม่เจริญตลอดถึงปลายผล เมล็ดจะเกิดเกาะรวมกันอยู่ที่รก (placenta) ซึ่งมีตั้งแต่โคนถึงปลายผล ในระหว่างการเจริญเติบโตของผลหากอุณหภูมิในเวลากลางวันสูงและความชื้นในบรรยากาศต่ำ จะทำให้ผลพริกมีกรเจริญผิดปกติ มีรูปร่างบิดเบี้ยวและมีขนาดเล็ก นอกจากนี้ยังทำให้การติดเมล็ดต่ำกว่าปกติอีกด้วย

เมล็ด: เมล็ดพริกมีขนาดค่อนข้างใหญ่กว่าเมล็ดมะเขือเทศแต่มีรูปร่างที่คล้ายกันคือ มีรูปร่างกลมแบน มีสีเหลืองไปจนถึงสีน้ำตาล ผิวเรียบ ผิวไม่ค่อยมีขนเหมือนมะเขือเทศ มีร่องลึกอยู่ทางด้านหนึ่งของเมล็ด เมล็ดจะติดอยู่กับรกโดยเฉพาะทางด้านฐานของผลพริกจะติดอยู่มากกว่าปลายผล ส่วนมากที่เปลือกของผลและเปลือกของเมล็ดมักจะมีเชื้อโรคพวกโรคใบจุดและโรคใบเหี่ยวติดมา สำหรับจำนวนของเมล็ดต่อผลพริก 1ผล จะไม่แน่นอน แต่ตามมาตรฐานของขนาดเมล็ดพริกแล้ว เมล็ดพริกหวาน 1 กรัม ควรที่จะมีเมล็ด 166 เมล็ดขึ้นไป ส่วนพริกเผ็ดที่มีขนาดผลเล็กควรมีขนาดเมล็ดเล็กลง เช่น เมล็ดพริกพันธุ์ห้วยสีทน 1 น้ำหนัก 1 กรัม มีจำนวนเมล็ดถึง 256 เมล็ด เมล็ดพริกมีชีวิตอยู่ได้นานประมาณ 2-4 ปี

สายพันธุ์พริก

1.*Capsicum annuum* ฉL. คำว่า annuum แปลว่า รายปี หรือประจำปี เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกไปทั่วโลก สามารถผสมข้ามพันธุ์ได้ง่าย ทำให้มีหลากหลายสายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์นิวเม็กซิโก พันธุ์จาลาปีโน (Jalapeno) พันธุ์เบลล์ (Bell) พันธุ์แวกซ์ (Wax) เป็นต้น ส่วนพันธุ์ที่คนไทยรู้จักกันดี คือ พริกชี้ฟ้า

2.*Capsicum baccatum* L. คำว่า baccatum หมายถึง ผลเป็นพวง (berry like) พริกชนิดนี้มีต้นกำเนิดในเปรูและโบลิเวีย ปัจจุบันแพร่กระจายอยู่ทั่วทวีปเอเมริกาใต้ ตัวอย่างของพันธุ์พริกชนิดนี้ ได้แก่ พริกอาจิ (aji)

3.*Capsicum chinensis* Jacq. คำว่า chinensis หมายถึง มาจากประเทศจีน ทำให้อาจจะเข้าใจผิดว่าพริกนี้มีต้นกำเนิดจากประเทศจีน ความจริงแล้วพริกชนิดนี้มีต้นกำเนิดในแถบแม่น้ำอเมซอน จากนั้นแพร่เข้าสู่แถบแคริบเบียน แล้วแพร่กระจายไปยังอเมริกาตอนกลางและตอนใต้ พริกสำคัญที่จัดอยู่ในชนิดนี้ก็คือ พริกฮาบาเนโร ที่ได้ชื่อว่าเผ็ดที่สุดด้วย

4.*Capsicum frutescens* L. คำว่า frutescens หมายถึง เป็นพุ่มเตี้ย (shrubby of bushy) พริกเด่นในกลุ่มนี้ ได้แก่ พริกทาบาสโก ถือเป็นวัตถุดิบในการทำซอสพริกทาบาสโกอันเลื่องชื่อ และพริกขี้หนูของไทย ที่มีเอกลักษณะความเผ็ดที่โดดเด่นไม่แพ้ใคร

5.*Capsicum pubescens* R. & P. คำว่า pubescens หมายถึง มีขน (hairy) เป็นพริกที่มีต้นกำเนิดในโบลิเวีย แต่ปัจจุบันปลูกกันทั่วทวีปอเมริกาจนถึงอเมริกากลาง พริกพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ พริกโรโคโท (rocoto)

พื้นที่และผลผลิต

จากข้อมูลขององค์การอาหารเกษตรและสหประชาชาติ พื้นที่และผลผลิตพริกทั่วโลกในระหว่างปี 2000-2004 มีพื้นที่ปลูกพริกรวม 140,910,720 เฮคตาร์ ผลผลิตโดยเฉลี่ย 19,515.1กิโลกรัม/เฮคตาร์ ผลผลิตที่ได้ .630,918,120 เมตริกตันในขณะที่ประเทศไทย มีพื้นที่ 1,165,046 เฮคตาร์ ผลผลิตโดยเฉลี่ย 3,706.42 กิโลกรัม/เฮคตาร์ ผลผลิตที่ได้ 3,424 เมตริกตัน. โดยที่ประเทศที่เป็นแหล่งผลิตพริกที่ใหญ่ของโลกได้แก่ประเทศสหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน เม็กซิโก ฝรั่งเศส อาร์เจนตินา อินเดีย อาฟริกาใต้ เป็นต้น (CPC,2005) ในประเทศไทยสามารถปลูกพริกได้ทั่วทุกภาคของประเทศ คิดเป็นพื้นที่596,952 ไร่ ให้ผลผลิต 696,985 ตัน .

สถิติการนำเข้าเมล็ดพริก

ในปี พ.ศ .2547- 2548 ประเทศไทยมีการนำเข้าพริกในลักษณะผลสดหรือแช่แข็ง 207,252กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า5,236,059.00 ล้านบาท โดยนำเข้าจากประเทศสาธารณรัฐประชาชน จีน ลาว และ มาเลเซีย ตามลำดับ ตามตารางที่1และ2(ข้อมูลกรมศุลกากร) ในลักษณะพริกแห้ง 7,000กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า1,037,172.00 ล้านบาทโดยนำเข้าจากอินโดนีเซีย สาธารณรัฐประชาชนจีน และสหภาพพม่า เรียงตามลำดับ อย่างไรก็ตามมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เพื่อใช้ปรับปรุงพันธุ์และเป็นเมล็ดพันธุ์พ่อแม่ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม ในปี2548มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พริก 4,057 กิโลกรัมคิดเป็นมูลค่าประมาณ 12ล้านบาท โดยนำเข้าจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา เกาหลีใต้ อินเดียและฮอลแลนด์(กลุ่มวิจัยการกักกันพืช)

สถิติการส่งออกเมล็ดพริก

ในปีพ.ศ. 2541-2547 ประเทศไทยมีการส่งออกพืช/ผลิตภัณฑ์พริกในตระกูลแคปซิกัม สด หรือแช่แข็งไปยังประเทศมาเลเซีย ญี่ปุ่น สิงคโปร์ ไต้หวัน เนเธอร์แลนด์ เฉพาะปี 2547 มีปริมาณส่งออกมากที่สุด 2,131,830กิโลกรัม มูลค่า 63,311,091 ล้านบาท.

สภาพการปลูกพริกในประเทศไทย

จากสภาพพื้นที่และสภาพแวดล้อมของพื้นที่ปลูกแต่ละท้องที่แตกต่างกันทำให้สภาพการปลูกพริกของเกษตรกรแตกต่างกัน ซึ่งสภาพการปลูกพริกในประเทศไทยสามารถแบ่งตามสภาพการเพาะปลูกได้ 2 ลักษณะคือ การปลูกพริกในสภาพไร่และการปลูกในสภาพสวน

การปลูกในสภาพไร่ เป็นแหล่งผลิตส่วนใหญ่ของประเทศ เหตุที่ต้องปลูกพริกในสภาพไร่ก็เพราะขาดแหล่งน้ำ การปลูกจะต้องอาศัยน้ำฝนเป็นหลัก ดังนั้นพันธุ์ที่ใช้ปลูกนิยมพันธุ์ที่ทนแล้ง เกษตรกรมักใช้ปุ๋ยและการเร่งการเจริญเติบโตในปริมาณที่จำกัด แต่ขนาดพื้นที่ที่เกษตรกรปลูกพริกนั้นจะมีขนาดใหญ่กว่าการปลูกในสภาพสวน ด้วยเหตุที่มีขีดจำกัดหลายประการที่กล่าวมาแล้วนี้ จึงส่งผลให้ผลผลิตที่ได้ไม่สามารถควบคุมปริมาณการผลิตและคุณภาพของผลผลิตให้สม่ำเสมอได้

การปลูกในสภาพสวน เป็นแหล่งที่มีการควบคุมระยะเวลาปลูก ลักษณะผลผลิตและปริมาณการผลิตได้ค่อนข้างดี ทั้งนี้เพราะว่าการปลูกในสภาพสวนสามารถควบคุมระดับน้ำและวิธีการให้น้ำได้อย่างเหมาะสม เกษตรกรใช้ปุ๋ยเคมีในปริมาณค่อนข้างสูง มีทักษะในการเขตกรรม แต่ค่าใช้จ่ายในด้านแรงงานมักจะสูงกว่าการปลูกในสภาพไร่

การเพาะกล้า

ในการปลูกพริกมีวิธีการปลูกหลายวิธีด้วยกัน เช่น การหว่าน การหยอดเมล็ดโดยตรง แต่วิธีการปลูกโดยการเพาะกล้าแล้วย้ายปลูกเป็นวิธีการที่นิยม เพราะได้ต้นกล้าที่แข็งแรง และใช้เมล็ดพันธุ์น้อยกว่าวิธีอื่น สามารถลดต้นทุนค่าเมล็ดพันธุ์และการดูแลรักษาได้มาก การเพาะเมล็ดเป็นต้นกล้าก่อนนำไปปลูกนี้ยังเป็นการกระตุ้นการงอกให้เร็วขึ้น และมีความสม่ำเสมอมากขึ้น

2) การรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช

1. เมื่อได้ศึกษาและตรวจสอบเอกสารทางวิชาการต่างๆ จากภายในประเทศและต่างประเทศ รวมทั้งข้อมูล อิเลคโทรนิค พบว่ามีศัตรูพืชของพริกทั้งหมดจำนวน 378 ชนิด นำข้อมูลจากการเก็บรวบรวมทั้งหมดจัดลงในตาราง เพื่อเริ่มเข้าสู่ขั้นตอนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชโดยจัดตามกลุ่มศัตรูพืชเป็น ไร แมลง แบคทีเรีย ไวรัส ไวรอยด์ เชื้อรา ไส้เดือนฝอย ไฟโตพลาสมา และวัชพืช

2. เมื่อนำมาจัดกลุ่มตามประเภทศัตรูพืช378ชนิด พบว่าเป็นไร 9 ชนิด แมลง 151 ชนิด แบคทีเรีย 27 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไวรัส 53 ชนิด ไวรอยด์ 10 ชนิด เชื้อรา 78 ชนิด ไส้เดือนฝอย 26 ชนิด วัชพืช 20 ชนิด และหอย/ทาก 3 ชนิด จากนั้นนำมาพิจารณาว่าศัตรูพืชชนิดใดที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน คือศัตรูพืชชนิดใดที่ไม่มีรายงานปรากฏในประเทศไทย พบว่ามีจำนวน111 ชนิด เป็นไร 3 ชนิด แมลง 43 ชนิด ไวรัส 18 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด แบคทีเรีย 11 ชนิด เชื้อรา 28 ชนิด วัชพืช 7 ชนิด. พบว่า 42 ชนิด แบ่ง เป็นไร2 ชนิด แมลง 8 ชนิด ไวรัส11 ชนิดไวรอยด์ 1 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 9 ชนิด วัชพืช 8 ชนิด ไม่มีรายงานในประเทศไทยและสามารถติดกับเมล็ดได้ ส่วนที่เหลือไม่มีข้อมูลว่าสามารถติดกับเมล็ดได้หรือไม่ ต้องหาข้อมูลต่อไป.

3. ข้อมูลการวิเคราะห์ความเสี่ยงของประเทศที่เคยวิเคราะห์ความเสี่ยงมาก่อน พบว่าประเทศไทยยังมิเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงพืชนี้มาก่อน และ ประเทศญี่ปุ่นกำลังดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงพริกหวานจากประเทศไทย

4. ข้อมูลจากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริกที่เคยนำเข้าจากต่างประเทศ ระหว่าง ตุลาคม 2546 – กันยายน 2548 จาก 8 ประเทศ คือ สหรัฐอเมริกา สเปน ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล เกาหลีใต้ ญี่ปุ่น และไต้หวัน รวม 550 ตัวอย่าง พบศัตรูพืช 12 ชนิด ข้อมูลจากการตรวจสอบศัตรูพืชกับเมล็ดพันธุ์พริกที่นำเข้าจาก

ต่างประเทศใน ระหว่างทำการศึกษา ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน2549 รวม24 ครั้งจาก 9 ประเทศ รวม 12.047 กิโลกรัม จำนวน 206 ตัวอย่าง พบศัตรูพืช 5 ชนิดได้แก่ *Alternaria tenuis, Curvularia lunata* , *C. pallescense, Cladospolium* sp. และ *Fusarium solani*

5. ข้อมูลจากการสุ่มตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกพริกของเกษตรกรและแปลงวิจัย พบว่าจากการเก็บข้อมูลศัตรูพืชในประเทศไทยจากแปลงปลูกพริกในพื้นที่ 4 จังหวัด ได้แก่ ขอนแก่น สกลนคร มุกดาหาร และมหาสารคาม พบศัตรูพืชที่สำคัญ 14 ชนิด ได้แก่ *Alternaria tenuis, Cladosporium* sp., *Cercospora capsici* , *Curvularia lunata*, *C. pallescense, Corynespora* sp., *Colletotichum dematium* , *Sclerotium rolffsii*, *Phoma sp., Oidiopsis sp., Pseudomonas solanacearum, Xanthomonas campestis* pv. *vesicatoria* , *Cucumber mosaic virus* , *Potato spotted wilt virus* และ virus กลุ่ม ทอสโพไวรัส

นำข้อมูลศัตรูพืชจากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชจากการตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พริก(ข้อ4) และ ข้อมูลจากการสุ่มตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกพริกของเกษตรกรและแปลงวิจัย(ข้อ 5) มาตรวจดู แก้ไข หรือเพิ่มเติม รายชื่อในรายชื่อศัตรูพืชของพริกทั้งหมดด้วย

หาข้อมูลของศัตรูพืชทั้ง111ชนิด และ เริ่มการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นประเภทๆ ต่อไปใน**การประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด**ซึ่งพบว่ามีปัญหาในเรื่องรายละเอียดของศัตรูพืชหลายชนิด เป็นปัญหาอย่างมาก เพราะบางชนิดไม่มีรายละเอียดของการเข้าทำลาย การรายงานการพบในประเทศไทยไม่จำแนกถึงระดับสปีชีย์ ประเทศไทยไม่มีฐานข้อมูลของศัตรูพืชในประเทศที่ดีและทันสมัย ระบบคอมพิวเตอร์มักมีปัญหา ไม่มีตัวอย่างที่เก็บยืนยัน ไม่มีการสำรวจพืช

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม.2542. พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2)พ.ศ. 2542 กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตร และสหกรณ์. 12 หน้า

พิทักษ์ เทพสมบูรณ์. 2540. การปลูกพริก. สำนักพิมพ์ อักษรสยามการพิมพ์. 71 หน้า

Anonymous. 1992. International Plant Protection Convention, 1992. FAO, Rome.

Anonymous, 1994. Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures World Trade Organization Geneva. 14 pp.

Anonymous, 1995. Principles of Plant Quarantine as related to international trade.

Anonymous, 1996. Guidelines for Pest Risk Analysis, 1996. ISPM No. 2, FAO, Rome.

Anonymous, 1997. New Revised Text of The International Plant Protection Convention, FAO .Rome26 pp

Anonymous.2004. Glossary of phytosanitary terms, 2004. ISPM No. 5, FAO, Rome.

Anonymous, 2001. Pest risk Analysis for Quarantine Pests. ISPM No. 11, FAO, Rome

Anonymous.2005. CAB *international*. 2005. **Crop Protection Compendium 2003 Edition**. (Computer Program). CAB International. Wallingford, UK.

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากต่างประเทศ

(Pest Risk Analysis, (PRA) for Importation of Oilplam Seeds)

ชลธิชา รักใคร่ อุดร อุณหวุฒิ ศรีวิเศษ เกษสังข์
สุรพล ยินอัศวพรรณ ณัฏฐพร อุทัยมงคล
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ปาล์มน้ำมันนอกจากผลิตเพื่อการบริโภคแล้วยังเป็นพืชอุตสาหกรรมให้พลังงานอีกด้วย รัฐบาลมีนโยบายให้ขยายพื้นที่ผลิตเพิ่มมากขึ้นทุกปี จึงจำเป็นต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ เช่น คอสตาริกา ปาปัวนิวกินี คอนโก เบนิน ไอโวรีโคต และอินเดีย เป็นต้น ปี 2548 มีการนำเข้า จำนวน 6.24 ล้านเมล็ด ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ปาล์มน้ำมันจากทุกแหล่งทั่วโลกจัดเป็นสิ่งกำกัดขั้นตอนการนำเข้าซึ่งสิ่งกำกัดจึงเพียงแต่ให้มีแค่ใบรับรองการปลอดศัตรูพืชโดยไม่ต้องรับรองข้อความพิเศษเข้ามาเท่านั้น ผลการศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของปาล์มน้ำมันในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) พบว่า จากการศึกษารวบรวมรายงานจากทั่วโลกมีสิ่งมีชีวิตทั้งที่เป็นศัตรู/ไม่เป็นศัตรูของปาล์มน้ำมันรวมทั้งสิ้นจำนวน 373 ชนิด สิ่งมีชีวิตดังกล่าวข้างต้นเป็นศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) ที่มีรายงานพบทำลายบนส่วนเมล็ดพันธุ์จำนวน 134 ชนิด เป็นแมลง 81 ชนิด ไร 3 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด แบคทีเรีย 1 ชนิด เชื้อรา 22 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิดและ วัชพืช 20 ชนิดและศัตรูพืชอื่นๆผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน (Risk assessment) แต่ละชนิดในเบื้องต้นพบว่า มีศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง (High risk) 6 ชนิด ความเสี่ยงปานกลาง (Medium risk) 25 ชนิด ความเสี่ยงต่ำ (Low risk) 65 ชนิด และ ความเสี่ยงต่ำมาก (Very low risk) 38 ชนิด การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน (Risk management) ที่มีความเสี่ยงสูงจะประกอบด้วยมาตรการ ดังนี้1. กำหนดให้เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากทุกแหล่งทั่วโลกเป็นสิ่งต้องห้าม (Prohibited material)2. กำหนดให้ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง 6 ชนิด ต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการกำหนด

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ปาล์มน้ำมันนับเป็นพืชอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากเกษตรกรหันมานิยมปลูกปาล์มน้ำมันเพิ่มขึ้นอีกทั้งรัฐบาลมีนโยบายที่จะขยายพื้นที่ปลูกประมาณ 2.2 ล้านไร่ ทำให้ปริมาณความต้องการเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันมีเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันพันธุ์ดีที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตรและภาคเอกชนมีจำนวนน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการจึงจำเป็นต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ โดยในปี 2548 มีการนำเข้าเมล็ดพันธ์ปาล์มน้ำมันจาก 6 ประเทศได้แก่ คอสตาริกา ปาปัวนิวกินี คอนโก เบนิน ไอโวรี่โคต และอินโดนีเซีย โดยนำเข้าเป็นปริมาณ 6.24 ล้านเมล็ด นับว่าเป็นความเสี่ยงต่อการที่เชื้อโรคและศัตรูพืชที่ร้ายแรงจากต่างประเทศจะเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทย

ผลจากการเจรจารอบอุรุกวัย (Uruguay Round) ทำให้มีการจัดตั้งองค์การค้าโลก (World Trade Organization, WTO) ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2538 ทำหน้าที่บริหารข้อตกลงทางการค้า เป็นเวทีสำหรับการเจรจาต่อรองทางการค้า ขจัดความขัดแย้ง ติดตามนโยบายการค้าของประเทศสมาชิก ให้ความช่วยเหลือทางวิชาการและการฝึกอบรมแก่ประเทศกำลังพัฒนา ให้ความร่วมมือกับองค์กรนานาชาติอื่นๆ เพื่อให้การค้าในระบบใหม่เป็นการค้าเสรี มีความเท่าเทียมกันของประเทศสมาชิก มีการแข่งขันกันมากขึ้นและเอื้อประโยชน์ให้ประเทศด้อยพัฒนามากขึ้น มีความตกลงยกเลิกการกีดกันทางการค้าโดยใช้มาตรการทางภาษี และประเทศสมาชิกต้องปฏิบัติตามข้อตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) เป็นมาตรการในการปกป้องชีวิตมนุษย์ สัตว์และพืช จากสิ่งปนเปื้อน สารพิษ หรือเชื้อโรคที่มีพืชหรือสัตว์เป็นตัวนำ เพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายอันเนื่องศัตรูพืชที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า สามารถเจริญเติบโต และแพร่กระจายออกไปได้ ดังนั้นประเทศผู้นำเข้าต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้าเกษตร โดยใช้เทคนิคและวิธีการที่เหมาะสม ที่พัฒนาโดยองค์กรระหว่างประเทศ

วิธีดำเนินการ

วิธีการ

ค้นคว้า ศึกษา รวบรวมข้อมูลงานวิจัยทั้งทั้งในและต่างประเทศจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลจากการประชุม อภิปรายจากแหล่งต่างๆที่มีรายงานศัตรูพืชในประเทศและจากต่างประเทศ และได้ปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านศัตรูพืชซึ่งเป็นข้อมูลที่มีรายงานเป็นปัจจุบันนี้และเชื่อถือได้

ขั้นตอนและวิธีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้ดำเนินการตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุข อนามัยพืช ฉบับที่ 2 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่องคำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO, 2005) และมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (FAO, 2004) โดยการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ ได้แก่

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

(Stage1: Initiation of pest risk analysis)

ขั้นตอนที่ 2 : การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest risk assessment)

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management)

ขั้นตอนที่ 1 : การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1 : Initiation of pest risk analysis)

การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินการโดย ค้นคว้า ศึกษา รวบรวม ข้อมูลงานวิจัยของศัตรูของปาล์มนำมันทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศจากฐานข้อมูล ตำราวิชา การ วารสารทางวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการเกี่ยวกับการจัดการองุ่น/ศัตรูองุ่นจากต่างประเทศ และเอกสารวิชาการที่สามารถสืบค้นข้อมูลจากแหล่งต่างๆทั่วโลก เกี่ยวกับศัตรูองุ่นที่มีรายงานพบในต่างประเทศซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุดที่มีรายงานถึงปัจจุบันนี้ ข้อมูลดังกล่าวจะนำมาจัดทำบัญชีรายชื่อและจำแนกชนิดของศัตรูองุ่นที่มีรายงานพบในต่างประเทศและเส้นทางศัตรูพืช (Pathway) ซึ่งเกี่ยวข้องกับด้านกักกันพืช และทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยพิจารณาชนิดศัตรูปาล์มนำมันกับเส้นทางศัตรูพืช และจะกำหนดศักยภาพศัตรูพืชที่สามารถติดมากับเมล็ดพันธ์ปาล์มนำมันแต่ละชนิดว่าเป็นศัตรูพืชควบคุมหรือไม่ มีโอกาสที่จะเข้ามาในประเทศไทยได้หรือไม่

การวิเคราะห์ในขั้นตอนนี้จะจำแนกศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องและศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย รวมทั้งจำแนกศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชที่จะต้องกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืช โดยอาจเป็นศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่ง หรือศัตรูพืชที่มีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2:การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน (Risk assessment)

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันโดยพิจารณาศัตรูพืชที่มีรายงานพบทำลายบนส่วนเมล็ดพันธ์และศัตรูพืชเหล่านั้นเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย การประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิดได้พิจารณาความสำคัญของศัตรูพืชกักกัน โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามลำดับความสำคัญ ดังนี้

1. **กลุ่ม 3 ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงในระดับสูง** (High risk) : ศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ศัตรูพืชกักกันซึ่งการเข้ามาของศัตรูพืชเหล่านี้ในประเทศไทยจะทำให้เกิดผลกระทบต่อการส่งออกที่รุนแรงกับสินค้าหลายหลากชนิด การเข้ามาขอศัตรูพืชในกลุ่มนี้มีผลกระทบทางเศรษฐกิจต่อการผลิตและ/หรือสภาพแวดล้อม บางประเทศห้ามการนำเข้าพืชอาศัยของศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้

ศัตรูพืชกักกันในกลุ่มนี้มีพืชอาศัยเป็นจำนวนมากหลากหลายชนิด นอกจากจะทำความเสียหายปาล์มน้ำมันย่างรุนแรงมากแล้ว ยังทำความเสียหายอย่างรุนแรงกับพืชอาศัยอื่นด้วย โดยพืชอาศัยเหล่านั้นเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ศัตรูพืชกักกันเหล่านี้มีความเสี่ยงสูงที่จะติดเข้ามากับเมล็ดปาล์มน้ำมัน ไม่สามารถที่จะทำการตรวจสอบพืชให้ปลอดจากศัตรูพืชเหล่านี้ได้ด้วยวิธีการตรวจสอบด้วยตาเปล่า (Visual inspection) หรือการจัดการภายในแปลงปลูก เว้นแต่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Quarantine treatment) ที่เฉพาะเท่านั้น จึงจะสามารถลดระดับความเสี่ยงลงอยู่ในระดับที่สามารถป้องกันได้อย่างเหมาะสมยอมรับได้ (Appropriate level of protection, ALOP)

2. **กลุ่ม 2 ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงในระดับปานกลาง** (Medium risk) :ศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ศัตรูพืชกักกันซึ่งการเข้ามาของศัตรูพืชเหล่านี้ในประเทศไทยจะทำให้เกิดผลกระทบต่อการส่งออก เนื่องจากบางประเทศมีข้อกำหนดที่เฉพาะเจาะจงให้ดำเนินการกับพืชอาศัยของศัตรูพืชกักกันเหล่านี้ก่อนส่งออก การเข้ามาของศัตรูพืชในกลุ่มนี้มีผลกระทบทางเศรษฐกิจต่อการผลิตและ/หรือสภาพแวดล้อม

ศัตรูพืชกักกันในกลุ่มนี้มีพืชอาศัยน้อยและค่อนข้างจำกัดไม่หลากหลายชนิดเช่นศัตรูพืชกักกันในกลุ่ม 3 ศัตรูพืชในกลุ่มนี้ทำความเสียหายเฉพาะปาล์มน้ำมันและพืชอื่นที่อยู่ในกลุ่มที่ใกล้เคียงกันกับปาล์มน้ำมันเท่านั้น มีความเสี่ยงในระดับปานกลางที่จะติดเข้ามากับเมล็ดปาล์นำมัน แต่อย่างไรก็ดี ด้วยระบบการจัดการที่ดีภายในแปลงปลูกและระบบการจัดการก่อนส่งออก และการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชกับสินค้าก่อนส่งออก สามารถที่จะขจัดศัตรูพืชในกลุ่มนี้ออกจากส่วนของผลอุ่นได้ สามารถทำการตรวจสอบศัตรูพืชได้ด้วยวิธีการตรวจสอบด้วยตาเปล่า

3. **กลุ่ม 1 ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงในระดับต่ำ** (Low risk) : ศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ศัตรูพืชกักกันซึ่งการเข้ามาของศัตรูพืชเหล่านี้ในประเทศไทยสามารถจะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจในการผลิตและ/หรือสภาพแวดล้อมในระดับที่ไม่สามารถยอมรับได้

ศัตรูพืชกักกันในกลุ่มนี้ทำความเสียหายรุนแรงบนพืชอาศัยชนิดอื่นมิใช่ปาล์มน้ำมัน โดยที่ปาล์มน้ำมันเป็นเพียงพืชอาศัยระดับรอง (Secondary host) เท่านั้น มีความเสี่ยงในระดับต่ำที่จะติดเข้ามากับผลของปาล์มน้ำมัน ด้วยระบบการจัดการที่ดีภายในแปลงปลูกและระบบ

การจัดการก่อนส่งออก สามารถที่จะขจัดศัตรูพืชในกลุ่มนี้ออกจากส่วนของเมล็ดพันธ์ปาล์มนำมันได้

4. **กลุ่ม 0 ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงในระดับต่ำมาก** (Very low risk) : ศัตรูพืชกักกันที่อยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่ ศัตรูพืชกักกันที่มีรายงานพบอาศัยบนส่วนเมล็ดปาล์มน้ำมัน แต่ไม่มีรายงานความเสียหายหรือมีรายงานความเสียหายแต่ทำความเสียหายน้อยมากบนปาล์มน้ำมันหรือพืชอาศัยชนิดอื่น

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันได้ทำการประเมินเบื้องต้นโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาดและประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจที่จะเกิดขึ้น โดยทำการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับความเสียหายทางเศรษฐกิจ (Economic impact) และความเสี่ยงทางสุขอนามัยพืช (Phytosanitary risk) ของศัตรูพืชกักกันแต่ละชนิด รายละเอียดปรากฏตาม จากการประเมินความสำคัญของศัตรูพืชกักกันทั้งหมด สามารถจัดแบ่งศัตรูพืชกักกันออกเป็นกลุ่มๆ โดยแต่ละกลุ่มมีศัตรูพืชดังปรากฏใน

ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยง (Risk management)

ขั้นตอนนี้เกี่ยวข้องกับการกำหนดทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยง ทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงที่ระบุในขั้นตอนที่ 2 โดยที่ข้อสรุปจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่าจำเป็นหรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยง และมาตรการที่ใช้จัดการความเสี่ยงจะมีความเข้มแข็งเพียงพอที่จะใช้หรือไม่ หลักการจัดการความเสี่ยงนั้นจะต้องจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ความปลอดภัยและยอมรับได้ซึ่งสามารถแสดงเหตุผลและมีความเป็นไปได้ภายใต้ข้อจำกัดเกี่ยวกับวิธีการที่สามารถดำเนินการได้และทรัพยากร เพื่อที่จะคัดเลือกหาทางเลือกที่เหมาะสมที่สุด โดยการประเมินประสิทธิภาพของวิธีการจัดการศัตรูพืช ฯลฯ

ผลจากการวิเคราะห์ในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช หากพบว่าศัตรูพืชบางชนิดสามารถมีการจัดการศัตรูพืชที่ประเทศต้นทางได้ดีอยู่แล้วก็ไม่จำเป็นต้องมีมาตรการด้านสุขอนามัยพืชมาควบคุมเพิ่มเติม แต่หากพบว่าเป็นศัตรูพืชกักกันและมีความเสี่ยงสูงที่จะติดมากับเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันนำเข้า จำเป็นต้องดำเนินมาตรการด้านสุขอนามัยพืช โดยการออกกฎระเบียบและข้อปฏิบัติเกี่ยวกับเงื่อนไขการนำปาล์มน้ำมันจากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น-สิ้นสุด	ตุลาคม 2548-กันยายน 2550
สถานที่ดำเนินการ	ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืชและด่านตรวจพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปาล์มน้ำมันนอกจากผลิตเพื่อการบริโภคแล้วยังเป็นพืชอุตสาหกรรมให้พลังงานอีกด้วย รัฐบาลมีนโยบายให้ขยายพื้นที่ผลิตเพิ่มมากขึ้นทุกปี จึงจำเป็นต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ เช่น คอสตาริกา ปาปัวนิวกินี คอนโก เบนิน ไอโวรีโคต และอินเดีย เป็นต้น ปี 2548 มีการนำเข้า จำนวน 6.24 ล้านเมล็ด ผลการศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของปาล์มน้ำมันในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) พบว่าจากสืบค้นข้อมูลด้านศัตรูพืชของปาล์มน้ำมันที่มีรายงานในประเทศและในต่างประเทศ พบว่าปาล์มน้ำมันทั่วโลกมีศัตรูพืชอยู่จำนวน 131 ชนิดแบ่งเป็นแมลง/ ไร/ สัตว์/ศัตรูพืช จำนวน 81 ชนิด เชื้อรา จำนวน 22 ชนิด แบคทีเรีย จำนวน 1 ชนิด ไวรัส และไวรอยด์ จำนวน 1 ชนิด ไส้เดือนฝอย จำนวน 6 ชนิดและวัชพืช จำนวน 20 ชนิด

เชื้อสาเหตุโรคพืชมีความสำคัญทางกักกันพืชของปาล์มน้ำมันที่ประเมินผลในเบื้องต้นพบศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย และมีโอกาสที่จะติดเข้ามาเมื่อติดเข้ามา และ สามารถเจริญแพร่พันธ์ ระบาดทำความเสียหายแก่เกษตรกรผู้ปลูกปาล์มนำมัน อย่างมากในประเทศไทยได้แก่ เชื้อสาเหตุโรคพืชดังกล่าวได้แก่ *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* ,*Cercospora elaeidis*, *Phytomonas Staheli*, *Rhadinaphelonchus cocophilus*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของปาล์มน้ำมันโดยเฉพาะในเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศที่มีจำนวนการนำเข้าสูงมากถึง 6.24 ล้านเมล็ดใน ปี 2548 นั้น มีการนำเข้าจากแหล่งที่มีรายงานการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่ไม่พบรายงานในประเทศไทย ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในเบื้องต้นพบว่ามี ศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกันพืชแล้วขณะนี้จำนวน 4 ชนิดได้แก่ *Fusarium oxysporum* f.sp. *elaeidis* ,*Cercospora elaeidis*, *Phytomonas Staheli* , *Rhadinaphelonchus cocophilus* ในขั้นตอนต่อไปจะได้ทำการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหลือจนครบทุกชนิดและชนิดศัตรูพืชที่ประเมินแล้วนั้น จะดำเนินการวิเคราะห์ในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงเพื่อออกเงื่อนไขในการควบคุมการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากต่างประเทศ

เอกสารอ้างอิง

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2548. สถิติการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันจากด่านตรวจพืช. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพ.

CAB *international*. 2005. **Crop Protection Compendium 2005 Edition**. (Computer Program). CAB International. Wallingford, UK.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของสควัอชและฟักทองนำเข้า

Pest Risk Analysis of Squash and Pumpkin Imported into Thailand

วันเพ็ญ ศรีชาติ ชลธิชา รักใคร่ สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ
ณัฏฐพร อุทัยมงคล วรัญญา มาลี
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ฟักทองเป็นพืชในตระกูลเดียวกับสควัอช แตง และบวบ อยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae ส่วนการติดตามสำรวจศัตรูพืชในพื้นที่แปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์นำเข้า ใน 6 จังหวัด ได้แก่ สกลนคร นครพนม อำนาจเจริญ อุบลราชธานี มุกดาหาร และขอนแก่น พบ *Sclerotium rolfsii* และ *Oidium* sp. ในการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนพืช /เมล็ดพันธุ์จากด่านนำเข้า โดยการตรวจเมล็ดพันธุ์บนกระดาษชื้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า เมล็ดพันธุ์สควัอชที่นำเข้าจากประเทศไต้หวัน พบเชื้อรา คือ *Curvularia pallescens, Cladosporium* sp., *Dreshslera dematiodes, Alternaria tenuis, Aspergillus flavus* และ *Rhizopus* sp. และจากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอิสราเอล พบเชื้อรา คือ *Rhizopus stolonifer, Chaetomium* sp., *Phoma* sp. และ *Macrophomina* sp. ส่วนเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบ *Gliocladium* sp. และ *Streptomyces* sp. และจากการตรวจเมล็ดพันธุ์ฟักทองจากประเทศเกาหลีใต้ พบเชื้อ *Cladosporium* sp. และ *Ghaphium*sp. และ *Streptomyces* sp. การศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของสควัอชและฟักทองในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) พบว่าจากการศึกษารวบรวมรายงานจากทั่วโลก มีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชของสควัอชและฟักทองรวมทั้งสิ้น 213 ชนิด เป็นแมลง 118 ชนิด ไร 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด ทาก 2 ชนิด แบคทีเรีย 11 ชนิด เชื้อรา 36 ชนิด ไวรัส 19 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด และวัชพืช 9 ชนิด ส่วนข้อมูลศัตรูพืชของฟักทองและสควัอชที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีทั้งสิ้น 71 ชนิด ได้แก่ แมลง 43 ชนิด ไร 2 ชนิด หอย 1 ชนิด เชื้อรา 7 ชนิด แบคทีเรีย 6 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด และวัชพืช 2 ชนิด ส่วนการประเมินความเสี่ยงและการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันอยู่ในขั้นดำเนินการต่อไป

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ประเทศไทยมีนโยบายเปิดการค้าเสรีกับหลายประเทศ มีผลทำให้สินค้าพืชที่เคยมีการนำเข้าในปริมาณเพิ่มมากขึ้น และเปิดโอกาสให้มีการนำเข้าสินค้าชนิดใหม่จากต่างประเทศเพิ่มขึ้น หากประเทศไทยไม่มีมาตรการป้องกันสุขอนามัยพืชที่เข้มงวดเพียงพอ นอกจากจะเสียเปรียบต่อประเทศคู่ค้าแล้วยังเป็นโอกาสที่ศัตรูพืช ร้ายแรงเข้ามาในประเทศได้ การจัดทำเขตการค้าเสรียังคงใช้กฎระเบียบภายใต้หลักเกณฑ์ขององค์การการค้าโลก (World Trade Organization: WTO) ซึ่งในด้านสินค้าพืชมีความตกลงว่าด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures: SPS Agreement) ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชจากต่างประเทศจากแหล่งต่างๆ ในโลก ซึ่งมีรายงานการทำลายของศัตรูพืชร้ายแรงที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย ดังนั้น จึงมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชร้ายแรงอาจจะติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์เหล่านั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อโรคพืช ทั้งที่เป็นเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัสและไวรอยด์ หากศัตรูพืชเหล่านี้เล็ดลอดเข้ามาได้อาจจะระบาดทำความเสียหายแก่ผลผลิตในประเทศ และอาจจะสามารถดำรงชีวิตอยู่อย่างถาวรซึ่งส่งผลให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจได้ มาตรการกักกันพืชที่ใช้ควบคุมการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พืชผักและผลไม้ในปัจจุบันได้อาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 เมล็ดพันธุ์พืชผักและผลไม้ที่นำเข้าเหล่านี้ไม่ใช่สิ่งต้องห้าม (Prohibited materials) ตามพระราชบัญญัติกักพืชที่มีมาตรการควบคุมเคร่งครัดกว่า แต่จัดอยู่ในประเภทสิ่งกำกัด (Restricted materials) ซึ่งต้องการเพียงใบรับรองปลอดศัตรูพืชจากต้นทางกำกับมาด้วยซึ่งปัจจุบันไม่มีเงื่อนไขพิเศษเพิ่มเติมหากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่มีประสิทธิภาพดีพอแล้ว นอกจากจะเสียเปรียบต่อประเทศคู่ค้าแล้ว ยังเป็นโอกาสที่ศัตรูพืชกักกันจะสามารถเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศได้ ดังนั้น เพื่อให้มาตรการกักกันพืชมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องปรับปรุงเปลี่ยนแปลงสถานภาพและกำหนดเงื่อนไขทางกักกันพืชในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์เพื่อเป็นการควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญที่อาจมาแพร่ระบาดในประเทศจึงต้อง มีการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของฟักทองและสควัอช เพื่อควบคุมการนำเข้า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องคอมพิวเตอร์
2. ข้อมูลทางด้านโรคพืช แมลง สัตว์ศัตรูพืช และวัชพืช
3. ถุงพลาสติก

4. หนังยาง
5. มีดคัตเตอร์
6. กล้องจุลทรรศน์
7. จานเลี้ยงเชื้อ
8. กระดาษกรองเบอร์ 1

วิธีการ

1. การสืบค้นข้อมูลพืช/ผลผลิต/เมล็ดพันธุ์ที่จะวิเคราะห์

ทำการค้นคว้า ศึกษา รวบรวมข้อมูลงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศจากฐานข้อมูล ตำรา วิชาการ วารสารวิชาการ เอกสารเผยแพร่ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลกเกี่ยวกับฟักทองและสควัอชที่มีรายงาน ซึ่งเอกสารต่างๆ เป็นข้อมูลทันสมัยเป็นปัจจุบัน มีการตีพิมพ์แพร่หลาย และต้องเป็นที่น่าเชื่อถือ

2. การติดตามสำรวจศัตรูพืชในพื้นที่ /แปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์นำเข้า

การติดตามสำรวจศัตรูพืชในพื้นที่/แปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชนำเข้า ในเขต อ. พรรณานิคม จ. สกลนคร, อ. นาหว้า จ. นครพนม, อ. ปทุมราษฎ์วงศา อ. ชานุมาน จ. อำนาจเจริญ, อ. เขมราฎ จ. อุบลราชธานี, อ. ดอนตาล จ. มุกดาหาร และ อ. สีชมพู จ. ขอนแก่น ทำการเก็บตัวอย่างที่ได้จากพื้นที่แปลงปลูกนำมาตรวจวินิจฉัยอย่างละเอียดในห้องปฏิบัติการ โดยตัวอย่างที่อาการแผลที่มีลักษณะแผลเกิดจากเชื้อรา นำมาใส่ในกล่องชื้น หรือนำมาแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อและทำการบันทึกผล

3. การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนพืช /เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากด่านตรวจพืช

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนพืช/เมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยนำเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชมาแยกเชื้อราโดยวิธี Blotter Method โดยการนำกระดาษกรองเบอร์ 1 จำนวน 1 แผ่น และกระดาษชื้น 3 แผ่น แช่ในน้ำกลั่นจนเปียก แล้ววางลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากนั้นวางเมล็ดพันธุ์จำนวน 10 เมล็ดต่อจานอาหาร ทั้งหมด 20 จาน นำไปบ่มเชื้อในอุณหภูมิห้องใต้แสง blacklight นาน 7 วัน และนำเมล็ดพันธุ์มาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอและทำการบันทึกผล

4. การจัดลำดับศัตรูพืชของพืช/ผลผลิต/เมล็ดพันธุ์ (Pest categorization)

หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้ดำเนินการตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุข อนามัยพืช ฉบับที่ 2 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่องคำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO, 2005) และมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทาง

สภาพแวดล้อม (FAO, 2004) โดยการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ ได้แก่

ขั้นตอนที่ 1 : การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

(Stage1: Initiation of pest risk analysis)

ขั้นตอนที่ 2 : การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest risk assessment)

ขั้นตอนที่ 3 : การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management)

ขั้นตอนที่ 1 : การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1 : Initiation of pest risk analysis)

ขั้นตอนนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อกำหนดศัตรูพืช และเส้นทางศัตรูพืช ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกันพืช และทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับพื้นที่ในประเทศไทย โดยพื้นที่บางแห่งมีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืชปรากฏอยู่ และมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามาพร้อมกับการนำเข้าของฟักทองและสควัอชเพื่อบริโภค การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินการโดย ค้นคว้า ศึกษา รวบรวม ข้อมูล งานวิจัยของศัตรูฟักทองและสควัอชทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ จากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการเกี่ยวกับการจัดการฟักทองและสควัอช/ศัตรูฟักทองและสควัอชจากต่างประเทศ และเอกสารวิชาการที่สามารถสืบค้นข้อมูลจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลก เกี่ยวกับศัตรูฟักทองและสควัอชที่มีรายงานพบในต่างประเทศ ซึ่งเป็นข้อมูลใหม่ล่าสุดที่มีรายงานถึงปัจจุบันนี้ ข้อมูลดังกล่าวจะนำมาจัดทำบัญชีรายชื่อและจำแนกชนิดของศัตรูฟักทองและสควัอช (Pest list and Pest Identification) ที่มีรายงานพบในต่างประเทศ และเส้นทางศัตรูพืช (Pathway) ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกัน และทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยใช้หลักความสัมพันธ์ของชนิดศัตรูฟักทองและสควัอชกับเส้นทางศัตรูพืช ในกรณีนี้คือติดมาพร้อมกับเมล็ดพันธุ์และเมล็ดพันธุ์และผลของฟักทองและสควัอช และจะกำหนดศักยภาพศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และผลของฟักทองและสควัอชแต่ละชนิดว่าเป็นศัตรูพืชควบคุมหรือไม่ โดยจะแสดงออกมาในรูปของความเป็นไปที่ศัตรูพืชจะเข้ามาในประเทศไทย

ผลการวิเคราะห์ในขั้นตอนนี้นำมาดำเนินการจำแนกศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องและศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย และเก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ รวมทั้งจำแนกและคัดเลือกศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชที่จะต้องดำเนินมาตรการสุขอนามัยพืช หรือ ชนิดศัตรูพืชที่เป็นตัวแทนของศัตรูพืชที่จำเป็นต้องใช้มาตรการสุขอนามัยพืช โดยอาจเป็นศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งที่เฉพาะเจาะจง หรือศัตรูพืชที่มีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2: การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment)

ขั้นตอนนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อให้จัดลำดับความสำคัญศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยง โดยยึดหลักจากเหตุผลทางวิชาการ/วิทยาศาสตร์ในส่วนที่เกี่ยวกับความจำเป็น, ให้มีผลกระทบน้อยที่สุด, มีความโปร่งใส, ความเท่าเทียม กัน, การวิเคราะห์ความเสี่ยง, การจัดการความเสี่ยง และไม่เลือกปฏิบัติ การประเมินความเสี่ยง แบ่งออกเป็น 3 ขั้น ตอนซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน ได้แก่ การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) เพื่อตัดสินว่ามีศัตรูพืชควบคุมชนิดใดอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์ที่จะเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ การพิจารณาว่าศัตรูพืชชนิดใดเข้าข่ายเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่จะพิจารณาข้อมูลทุกๆ ด้านของศัตรูพืชแต่ละชนิด และโดยเฉพาะข้อมูลการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ ชีววิทยา และความสำคัญทางเศรษฐกิจ และนำไปประเมินศักยภาพของศัตรูพืชชนิดนั้นในการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry, establishment and spread) และการประเมินศักยภาพของผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช (Assessment of potential consequences) ในประเทศไทย

2.1 **การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization)** ดำเนินการโดยการตรวจสอบศัตรูพืชแต่ละชนิดว่าศัตรูพืชชนิดนั้นมีคุณสมบัติอยู่ในภายใต้หลักเกณฑ์ที่กำหนดของคำนิยามสำหรับศัตรูพืชกักกันหรือไม่ นั่นคือ บัญชีรายชื่อศัตรูพืชแต่ละชนิดที่เป็นศัตรูพืชซึ่งปรากฏในขั้นตอนที่ 1 นั้น เป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ โดยมีหลักในการวิเคราะห์ ดังนี้

2.1.1 **จำแนกชนิดศัตรูพืช** ระบุข้อมูลทางอนุกรมวิธาน ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ ในกรณีที่ไม่สามารถระบุชนิด (specie) ของศัตรูพืชได้อย่างชัดเจน เนื่องจากยังไม่เคยมีการจำแนกโดยละเอียด หรือกรณีใดๆ ศัตรูพืชชนิดนั้นจะไม่นำมาวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป ในกรณีที่ศัตรูพืชมีพาหะเข้ามาเกี่ยวข้อง พาหะอาจได้รับการพิจารณาครอบคลุมไปเป็นศัตรูพืชชนิดหนึ่ง ซึ่งมันมีส่วนเกี่ยวข้องกับศัตรูพืชสาเหตุ และจำเป็นสำหรับการถ่ายทอดเชื้อของศัตรูพืชชนิดนั้น

2.1.2 **มีหรือไม่มีศัตรูพืชนั้นในประเทศไทย** ศัตรูพืชที่นำมาประเมินไม่เคยมีรายงานในประเทศไทย หรือไม่มีรายงานว่าทำลายฟักทองและสควอชในประเทศไทย

2.1.3 **สถานภาพการควบคุม** กรณีที่ศัตรูพืชชนิดนั้นเคยมีรายงานพบในประเทศไทยแต่ไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวาง ศัตรูพืชชนิดนั้นควรจะต้องอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ หรือคาดว่าจะได้รับการควบคุมอย่างเป็นทางการในอนาคตอันใกล้

2.1.4 **ศักยภาพการเข้ามาเจริญแพร่พันธ์อย่างถาวร และการแพร่ระบาดของศัตรูพืชชนิดนั้นในประเทศไทย** การพิจารณามาจากหลักฐานสนับสนุน ได้แก่ พื้นที่ในประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมและสภาพภูมิอากาศเหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์และแพร่ระบาดของศัตรูพืช และมีพืชอาศัย (รวมทั้งพืชที่มีความใกล้เคียงกับพืชอาศัย) มีพืชอาศัยสลับ และมีพาหะศัตรูพืชปรากฏในประเทศไทย

2.1.5 **ศักยภาพในการก่อให้เกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจ (รวมทั้งผลที่ติดตามมาด้านสิ่งแวดล้อม) ในประเทศไทย** การพิจารณาเกิดจากหลักฐานที่แน่ชัดว่าศัตรูพืชมีความเป็นไปได้สูงที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจจนถึงระดับที่ยอมรับไม่ได้ (รวมทั้งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม) ในประเทศไทย

ผลสรุปจากพิจารณาว่าศัตรูพืชนั้นมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน กระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะดำเนินการต่อไป กรณีที่ศัตรูพืชนั้นไม่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์การเป็นศัตรูพืชกักกัน กระบวน การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของศัตรูพืชชนิดนั้นจะหยุด ณ ขั้นตอนนี้ กรณีที่มีข้อมูลไม่เพียงพอ จะจำแนกประเด็นที่มียังมีข้อสงสัย และกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชควรดำเนินการต่อไป

2.2 **การประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด** (Assessment for probability of entry, establishment and spread)

2.2.1 **การประเมินโอกาสการเข้ามา** (Probability of Entry) ดำเนินการประเมินเชิงปริมาณโดยใช้ข้อมูลสนับสนุนบนพื้นฐานทางด้านชีววิทยาและวิทยาศาสตร์ที่เชื่อถือได้ เริ่มต้นจากเส้น ทางของศัตรูพืชอาจปะปนร่วมมากับฟักทองและสคว๊อชที่ขนส่งมาจากต่างประเทศจนเข้าประเทศไทย, การรอดชีวิตของศัตรูพืชภายใต้เงื่อนไขสภาวะแวดล้อมขณะขนส่ง, ความยากง่ายในการตรวจพบศัตรูพืชที่จุดตรวจนำเข้า, การระบาดของศัตรูพืชอย่างรุนแรงในแหล่งผลิต, การเกิดระบาดของศัตรูพืชในช่วงวงจรชีวิตซึ่งมีโอกาสปะปนมากับสินค้า ภาชนะบรรจุ หรือยานพาหนะขนส่ง, ปริมาณและความถี่ของการเคลื่อนย้ายไปกับเส้นทางศัตรูพืช, ช่วงฤดูกาลที่เหมาะสม, การจัดการศัตรูพืช และกระบวนการผลิตและการค้าซึ่งดำเนินการจากประเทศต้นทาง (การใช้วิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชกับผลิตผล การคัดแยก การคัดขนาด) การประเมินโอกาสความเป็นไปได้ของการแพร่ระบาดและความเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะเข้ามากับศัตรูพืชอื่นๆ (พาหะ)รวมทั้งหลักฐานข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชของฟักทองและสคว๊อชนำเข้าของต่างประเทศ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชชนิดนั้นๆจะเล็ดลอดผ่านการตรวจสอบหรือรอดจากกระบวนการสุขอนามัยพืชอื่นๆที่มีอยู่ จนติดปะปนมาและมีชีวิตรอดในขณะขนส่งและเก็บรักษา

2.2.2 **โอกาสการเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์** (Probability of establishmen and spreading) ดำเนินการประเมินเชิงปริมาณ โดยใช้ข้อมูลสนับสนุนบนพื้นฐานทางด้านชีววิทยาและวิทยาศาสตร์ที่เชื่อถือได้ (วงจรชีวิต พืชอาศัย การแพร่ระบาด การอยู่รอด เป็นต้น) จากพื้นที่ซึ่งศัตรูพืชนั้นปรากฏอยู่ในต่างประเทศ ณ ปัจจุบัน ประเมินสถานการณ์ในพื้นที่ของประเทศไทยเปรียบเทียบกับสภาพในพื้นที่ที่ศัตรูพืชนั้นปรากฏอยู่ในปัจจุบัน และประเมินโอกาสการเข้ามาเจริญและแพร่ขยาย พันธุ์ของศัตรูพืช กรณีที่เคยเกิดมาแล้วในอดีตที่เกี่ยวข้องกันศัตรูพืชที่คล้ายคลึงกันสามารถนำมาพิจารณาด้วย ปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่ จำนวนพืชอาศัยที่

เหมาะสม พืชอาศัยสลับ การแพร่กระจายของพืชอาศัยและพาหะในพื้นที่ของประเทศไทย, ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อม, ศักยภาพความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช, วิธีการมีชีวิตรอดของศัตรูพืช, การปฏิบัติทางการเกษตรและมาตรการป้องกันกำจัด, ศัตรูพืชบางชนิดอาจปรากฏอยู่ชั่วขณะหนึ่งแต่อาจจะไม่สามารถเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในประเทศไทยได้ (เช่น เนื่องจากสภาพอากาศไม่เหมาะสม) แต่ยังคงมีผลกระทบทางเศรษฐกิจในระดับที่ยอมรับไม่ได้ในภายหลังได้, คุณสมบัติของการขยายพันธุ์โดยไม่ต้องผสมพันธุ์, การผสมตัวเอง/ผสมข้าม, ช่วงเวลาของวงจรชีวิต, จำนวนรุ่นต่อปี, ระยะฟักตัว และอื่นๆ, การเปลี่ยนแปลงทางด้านพันธุกรรมหรือสายพันธุ์ซึ่งดัดแปลงให้สามารถมีถิ่นที่อยู่กว้างขวางหรือพืชอาศัยชนิดใหม่ และประเมินโอกาสเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ (อย่างถาวร) ในประเทศไทย

2.2.3 **การประเมินผลทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น** (Assessment of potential economic consequence) ดำเนินการโดยนำข้อมูลต่างๆที่สัมพันธ์กับศัตรูพืชและพืชที่มีศักยภาพเป็นพืชอาศัยมารวมกัน และใช้ข้อมูลนั้นเพื่อประเมินผลกระทบทุกด้านของศัตรูพืช เช่น ศักยภาพของผลที่ตามมาทางเศรษฐกิจ, ผลกระทบต่อตลาดทั้งภายในและตลาดส่งออก, ผลที่มีต่อการเข้าสู่ตลาดส่งออก, ค่าใช้จ่ายสำหรับผู้ผลิต, ค่าใช้จ่ายในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช, ค่าใช้จ่ายในการกำจัดศัตรูพืชให้หมดสิ้นไป หรือการควบคุมไม่ให้ศัตรูพืชระบาดเพิ่มขึ้น, ความสามารถในการทำหน้าที่เป็นพาหะของศัตรูพืชอื่นๆ

ผลที่ได้จากการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ถ้าศัตรูพืชอยู่ในข่ายตามคำจำกัดความของศัตรูพืชกักกันแล้ว (ศัตรูพืชมีศักยภาพเพียงพอที่จะมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และศักยภาพที่จะเข้ามาในประเทศไทยโดยเข้ามาในพื้นที่ที่มีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชจนทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจที่สำคัญ) จะดำเนินการต่อในขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช แต่ถ้าไม่เป็นศัตรูพืชกักกัน การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชชนิดนั้นจะยุติ ณ ขั้นตอนนี้

ขั้นตอนที่ 3: **การจัดการความเสี่ยง** (Risk management)

ขั้นตอนนี้เกี่ยวข้องกับการกำหนดทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยง ทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงที่ระบุในขั้นตอนที่ 2 โดยที่ข้อสรุปจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่าจำเป็นหรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยง และมาตรการที่ใช้จัดการความเสี่ยงจะมีความเข้มแข็งเพียงพอที่จะใช้หรือไม่ หลักการจัดการความเสี่ยงนั้นจะต้องจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ความปลอดภัยและยอมรับได้ซึ่งสามารถแสดงเหตุผลและมีความเป็นไปได้ภายใต้ข้อจำกัดเกี่ยวกับวิธีการที่สามารถดำเนินการได้และทรัพยากร เพื่อที่จะคัดเลือกหาทางเลือกที่เหมาะสมที่สุด โดยการประเมินประสิทธิภาพของวิธีการจัดการศัตรูพืช ฯลฯ

ผลจากการวิเคราะห์ในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช หากพบว่าศัตรูพืชบางชนิดสามารถมีการจัดการศัตรูพืชที่ประเทศต้นทางได้ดีอยู่แล้วก็ไม่จำเป็นต้องมีมาตรการด้านสุขอนามัยพืชมาควบคุมเพิ่มเติม แต่หากพบว่าเป็นศัตรูพืชกักกันและมีความเสี่ยงสูงที่จะติดมากับฟักทองและสควัอชนำเข้า จำเป็นต้องดำเนินมาตรการด้านสุขอนามัยพืช โดยการออกกฎระเบียบและข้อปฏิบัติเกี่ยวกับเงื่อนไขการนำฟักทองและสควัอชจากต่างประเทศเข้ามาในราชอาณาจักร

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น กันยายน 2548 **สิ้นสุด** ตุลาคม 2550 **รวม** 2 **ปี**

สถานที่ทำการทดลอง

1. พื้นที่แปลงปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ จ. เชียงใหม่
2. ด่านตรวจพืช
3. ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสืบค้นข้อมูลพืช/ผลผลิต/เมล็ดพันธุ์ที่จะวิเคราะห์จากเอกสารภายในและต่างประเทศ

ฟักทองและสควัอช

การจำแนกพืช

Domain: Eukaryota

Kingdom: Viridiplantae

Phylum: Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class: Dicotyledonae

Order: Violales

Family: Cucurbitaceae

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cucurbita* sp.

ชื่ออื่น ๆ

Cushaw, Musky Gourd, Pumpkin, Winter Squash, น้ำเต้า (ภาคใต้) มะฟักแก้ว (ภาคเหนือ) มะน้ำแก้ว (เลย) หมักอื้อ (เลย, ปราจีนบุรี) หมากอึ (อีสาน)

แหล่งปลูก

มีหลายจังหวัด แต่ที่ปลูกมากคือ ศรีษะเกษ, สกลนคร, ขอนแก่น, กาญจนบุรี, ชุมพร และฉะเชิงเทรา ซึ่งจะทยอยกันให้ผลิตออกมาสู่ท้องตลาด ทำให้มีฟักทองขายตลอดทั้งปี

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ฟักทองเป็นพืชในตระกูลเดียวกับสควัอช แตง และบวบ ฟักทองอยู่ใน 3 สปีชี่ส์ด้วยกัน คือ *Cucurbita moschata, Cucurbita pepo และ Cucurbita maxima* ฟักทองมีชื่อในภาษาอังกฤษว่า pumpkin รากคำมาจากภาษากรีกว่า pepon ซึ่งหมายถึงแตงสุก จาก pepon ของกรีก ละตินเรียกเพี้ยนเป็น pepo ซึ่งเป็นพื้นฐานให้ฝรั่งเศสเรียก pompon อังกฤษเรียกตามอย่างจนกระทั่ง ในศตวรรษที่ 17 จึงเพี้ยนไปเป็น pompion หรือ pumpion และเป็น pumpkin

ลักษณะของพืช

เป็นพืชล้มลุกมีหลายพันธุ์ทั้งแบบพุ่มเตี้ย และต้นเลื้อยที่มีลำต้นเลื้อยไปตามพื้นดิน เป็นไม้เถาอ่อน และมีหนวดยาวที่ข้อ สำหรับเกี่ยวพันทอดไปตามพื้นดิน มีขนสากมือ ปลายหนวดแยก 3–4 แฉก ลำต้นเมื่ออ่อนมักเป็น 5 เหลี่ยม ใบมีขนคายมืออยู่ทั่วไป เนื้อใบนิ่ม ใบรูปร่างคล้ายรูป 5–7 เหลี่ยม หรือรูปร่างเกือบกลมที่มีริมหยักเว้าลึก 5–7 หยัก ขนาดใบกว้าง 10–20 ซม. ยาว 15–30 ซม. ดอกมีทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย สีเหลือง แยกกันแต่อยู่ในต้นเดียวกัน ในการผสมเกสรใช้วิธีธรรมชาติ เช่น ลมพัด หรือมีแมลงผสมเกสร หรือผู้ปลูกช่วยผสมเกสรเพื่อการติดผล ผลรูปร่างและขนาดแตกต่างกันตามพันธุ์ อาจมีรูปร่างตั้งแต่กลมจนถึงค่อนข้างแป้น ผิวมักเป็นตุ่มนูน เป็นสันและเป็นร่อง เนื้อในผลสีเหลืองจนถึงเหลืองอมส้มและเหลืองอมเขียว เมล็ดมีจำนวนมาก รูปร่างคล้ายรูปไข่แบน

การขยายพันธุ์ ใช้เมล็ด

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

ดิน ปลูกได้ในดินแทบทุกชนิดที่มีการปลูกผัก ชอบดินร่วนปนทรายที่มีความอุดมสมบูรณ์ดีและมีการระบายน้ำดี มีค่าความเป็นกรด-ด่างของดินระหว่าง 5.5-6.8 (ชอบดินเป็นกรดเล็กน้อย) ชอบอากาศแห้ง ดินไม่ชื้นแฉะ และน้ำไม่ขัง และมีอินทรียวัตถุสูงรองกันหลุม ด้วยปุ๋ยหมักที่สลายตัวแล้ว การปลูกในนาไม่มีปัญหาเรื่องปุ๋ย เพราะฟางข้าวที่เหลือเป็นปุ๋ยชั้นดี และมีประโยชน์ในการคลุมดินด้วย

ฤดูปลูก ส่วนมากจะเริ่มปลูกในช่วงเดือนกุมภาพันธุ์-มีนาคม หรือหลังฤดูทำนา แต่สามารถได้ดีในปลายฤดูฝน และต้นฤดูหนาวคือช่วงเดือนกันยายน-ตุลาคม และปลูกได้ดีที่สุดคือช่วงเดือนพฤศจิกายน-กุมภาพันธุ์

การปลูก

ปรับดินให้เรียบกำจัดวัชพืชออกให้หมด ขุดหลุมลึก 7–10 ซม. กว้าง 30–50 ซม. ใส่ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมักรองก้นหลุม เอาเมล็ด 2–3 เมล็ด วางเรียงในหลุม กลบด้วยดินบาง ๆ และฟางเล็กน้อยคลุมไว้ แล้วจึงเอาดินกลบให้เต็ม รดน้ำให้ชุ่ม

การปลูกฟักทองคล้ายๆ กับแตงโม ควรขุดไถดินลึกประมาณ 25-30 ซม. เพราะเป็นพืชที่มีระบบรากลึก ควรตากดินทิ้งไว้ 5-7 วัน เพื่อฆ่าเชื้อโรคและวัชพืชได้บ้าง ควรใส่ปุ๋ยคอกหรือปุ๋ยหมัก เพื่อปรับปรุงสภาพดินให้ร่วนซุย และเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้ดิน แล้วจึงย่อยพรวนดินให้ร่วนซุยเก็บเศษวัชพืชต่างๆ ออกจากแปลงให้หมด

การปลูก พันธุ์ที่มีลำต้นเลื้อยและให้ผลใหญ่ ใช้เนื้อที่ปลูกมาก โดยใช้ระยะปลูก 3x3 เมตร พันธุ์ที่มีทรงต้นพุ่ม ให้ผลขนาดเล็ก ใช้ระยะปลูก 75x150 ซม. (พันธุ์เบา) ใช้วิธีหยอดหลุมปลูก หลุมละ 3-5 เมล็ด ลึกประมาณ 3-5 ซม. แล้วกลบหลุม ถ้ามีฟางข้าวแห้ง ให้นำมาคลุมแปลงปลูกเพื่อรักษาความชุ่มชื้นให้แก่ผิวหน้าดิน และเมล็ดพันธุ์จะงอกเป็นต้นกล้า ตั้งตัวได้เร็วการหยอดหลุมปลูกในแปลง จะได้ต้นกล้าที่แข็งแรง และโตเร็วกว่า การย้ายกล้าจากถุงมาปลูก หากหลุมใดไม่งอก แม้จะนำมาปลูกซ่อม ก็จะเจริญไม่ทัน แต่หากว่างไว้ จะกินเนื้อที่ว่างมาก ควรปลูกซ่อม แต่จะเก็บผลได้ช้ามาก

เทคนิคการช่วยผสมเกสร

เมื่อดอกฟักทองกำลังบานให้เลือกดอกตัวผู้ เด็ดมาแล้วปลิดกลีบดอกออกให้หมด นำไปเคาะละอองเกสรตัวผู้ให้ตกลงบนดอกตัวเมีย ถ้าติดผลจะให้ผลอ่อน ถ้าไม่ติดผลดอกตัวเมียจะฝ่อไป วิธีนี้เรียกว่า "การต่อดอก" อีกวิธีหนึ่งที่เกษตรกรผู้ปลูกฟักทอง จ.สกลนคร แนะนำเทคนิคง่ายๆ คือ เอานมผงที่ใช้เลี้ยงทารกผสมน้ำพอประมาณ พ่นใส่ดอกฟักทองในระยะที่ดอกกำลังบาน เพื่อล่อแมลงมาช่วยผสมเกสร วิธีนี้ช่วยให้ฟักทองติดผลทุกเถา โดยไม่ต้องต่อดอก

การเก็บเกี่ยว

ฟักทองเป็นพืชผักที่แมลงไม่ค่อยชอบทำลายเมื่อผลแก่เก็บเกี่ยวไว้เลยโดยสังเกตสีเปลือกสีจะกลมกลืนเป็นสีเดียวกัน ไม่แตกต่างกันมากนักดูนวลขึ้นเต็มทั้งผล คือมีนวลขึ้นตั้งแต่ขั้วไปจนตลอดก้นผล แสดงว่าแก่จัดการเก็บควรเหลือขั้วติดไว้ด้วยสักพอประมาณเพื่อช่วยให้เก็บรักษาได้นานขึ้นสามารถเก็บผลไว้รอขาย หรือบริโภคได้นานๆ โดยไม่ต้องใส่ตู้เย็น

การให้ผลผลิต

จะทยอยเก็บผลได้ 5-6 ครั้ง เก็บได้เรื่อยๆ ถ้าปลูกเดือนกุมภาพันธ์จะเก็บผลได้ในเดือนมิถุนายน (พันธุ์หนัก) ทยอยเก็บไปได้เรื่อยๆ จนเดือนกรกฎาคม ต้นหนึ่งถึง 5-7 ผล 1 ไร่ ให้ผลผลิตประมาณ 1-1.5 ตัน ถ้าดูแลรักษาใส่ปุ๋ยดีจะให้ถึง 2 ตัน (น้ำหนักสด) ถ้าพันธุ์เบา ปลูกได้ 50-60 วัน ก็เก็บผลได้

ฟักทองของไทย

ฟักทองมีหลากหลายพันธุ์ กล่าวกันว่าฟักทองคือ ปลาวาฬในอาณาจักรผัก เพราะบางพันธุ์อาจมีขนาดใหญ่มาก แต่ฟักทองผลใหญ่ๆ เนื้อจะกินไม่ได้ เหมาะสำหรับเป็นอาหารสัตว์หรือไม่ก็นำมาคว้านเนื้อ และสลักเป็นตะเกียงหน้าผี ที่เรียกว่า jack o' lantern เท่านั้น ฟักทองที่นำ

เนื้อมากิน ส่วนใหญ่มีขนาดผลไม่เกินลูกฟุตบอล ในเมืองไทยฟักทองที่ปลูก ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ลูกเล็ก ที่ให้เนื้อหวานมัน เหมาะสำหรับการทำอาหาร

ฟักทองปลูกทุกภาคของประเทศไทย พันธุ์ที่ปลูกมีทั้งพันธุ์พื้นเมืองผิวขรุขระ ที่เรียกว่าพันธุ์คางคก พันธุ์ลูกผสมที่บริษัทเอกชนจัดจำหน่าย เช่น พันธุ์ศรีเมือง บึกกาฬ โสภา บิ๊กโกลด์ เป็นต้น รวมถึงพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ทั้งฟักทองสีส้มและพันธุ์ญี่ปุ่น

พันธุ์คางคก หรือ พันธุ์ดำ แบ่งเป็นคางคกพันธุ์ดำ เปลือกสีเขียวเข้มอมดำ จึงถึงแดงออกน้ำตาล ขรุขระเป็นปุ่มปม คล้ายผิวคางคก ส่วนก้นยุบเข้าไปในผล ทำให้ปอกเปลือกยาก แต่เป็นพันธุ์หนักผลโต มีทั้งลูกเล็ก ลูกใหญ่ ตั้งแต่ 2-15 กิโลกรัม และคางคกพันธุ์ลาย หรือข้าวตอก ผิวขรุขระเหมือนกันแต่มีลายสีขาว สีเขียว หรือเหลืองแซม

เมื่อแก่เปลือกจะมีสีเขียวเข้มอมดำ เปลือกจะขรุขระเป็นปุ่มปม คล้ายผิวคางคก (บางทีก็เรียกพันธุ์คางคก) ก้นของผลยุบเข้าไปในผล

พันธุ์ศรีเมือง ผิวคางคก ผลเป็นพูเนื้อหนาเหนียวแน่น สีเหลืองสด รสหวาน มัน

พันธุ์ญี่ปุ่น เป็นพันธุ์ที่ปลูกทางภาคเหนือทั้งที่ราบและที่สูง โดยเฉพาะมูลนิธิโครงการหลวงส่งเสริมให้ชาวเขาปลูกกัน ลักษณะผิวเรียบ ผลเล็ก น้ำหนักตั้งแต่ 800 กรัม - 2 กิโลกรัม ผลสีเขียวเข้ม เมื่อแก่จัดสีจะเหลืองเข้ม เมล็ดน้อย เนื้อสีเหลืองเหนียว นำมานึ่งรสหวาน มัน ผลขนาดเล็ก เหมาะสำหรับทำสังขยาฟักทอง

พันธุ์สีส้ม เป็นอีกพันธุ์ที่นิยมปลูกทางเหนือ ผิวเรียบ ผลเล็ก ทรงกลมแบน ผลแก่จัดเป็นสีส้มเสมอกันทั้งผล เนื้อแน่น เหนียว รสหวาน มัน แต่พันธุ์ญี่ปุ่นกินอร่อยกว่า

พันธุ์อัศนี เป็นพันธุ์ลูกผสมที่เกษตรกรเริ่มนิยมปลูก เพราะเนื้อเหนียว แน่น เป็นผิวคางคก แต่ไม่เป็นพูเหมือนศรีเมือง ผิวเป็นปุ่มและนูน ยิ่งแก่ยิ่งมีปุ่มนูนเป็นจำนวนมาก เนื้อยิ่งอร่อย รสหวาน มันมาก ผลอ่อนสีเขียวเข้มแต่ไม่เลื่อม ผลแก่สีเขียวเข้มปนเหลือง ส่วนผลแก่จัดเป็นสีเขียวแกมส้มขึ้นนวลขาว ปลูกกันมากทางภาคใต้

พันธุ์ฟักทองนี้ จะมีชื่อเรียกแต่ละท้องถิ่นไม่เหมือนกัน มีขนาดรูปร่างสีเปลือก ผล และเนื้อก็แตกต่างกันไป พันธุ์ฟักทองที่รับซื้อกันในตลาดไทย กรุงเทพมหานคร ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์คางคก ทั้งพันธุ์ดำ และพันธุ์ลาย และพันธุ์ลูกผสมคือ พันธุ์ศรีเมือง พันธุ์ลูกผสมอื่น เช่น บึงกาฬ โสภา บิ๊กโกลด์ เวียงทอง ไม่เป็นที่นิยม เพราะเนื้อบาง กินไม่อร่อย ผู้บริโภคนิยมพันธุ์ศรีเมือง เพราะเนื้อเหนียว แน่น มัน ผัดแล้วไม่เละ ทำอาหารอร่อย ส่วนพันธุ์คางคก เนื้อแน่นมันเหมือนกัน แต่คุณภาพไม่สม่ำเสมอ

2. การติดตามสำรวจศัตรูพืชในพื้นที่ /แปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากด่านนำเข้า

การติดตามสำรวจศัตรูพืชในพื้นที่/แปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์นำเข้า อ. พรรณานิคม จ. สกลนคร, อ. นาหว้า จ. นครพนม, อ. ปทุมราชวงศา อ. ชานุมาน จ. อำนาจเจริญ, อ.

เขมราฏ จ. อุบลราชธานี, อ. ดอนตาล จ. มุกดาหาร และ อ. สีชมพู จ. ขอนแก่น พบ *Sclerotium rolfsii* และ *Oidium* sp.

3. การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนพืช /เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากด่านตรวจพืช

การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนพืช/เมล็ดพันธุ์สควॅอชที่นำเข้าจากประเทศไต้หวัน น้ำหนัก 4,240 กรัม ตรวจเมล็ดพันธุ์บนกระดาษชื้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบเชื้อรา 5 ชนิด คือ *Curvularia pallescens, Cladosporium* sp., *Dreshslera dematiodes, Alternaria tenuis, Aspergillus flavus* และ *Rhizopus* sp. และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากประเทศอิสราเอล น้ำหนัก 21,600 กรัม พบเชื้อรา 4 ชนิด คือ *Rhizopus stolonifer, Chaetomium* sp., *Phoma* sp. และ *Macrophomina* sp. ส่วนเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา น้ำหนัก 15,402 กรัม พบเชื้อรา 1 ชนิด คือ *Gliocladium* sp. และยีสต์ 1 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. และจากการตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนพืช/เมล็ดพันธุ์ฟักทอง นำเข้าจากประเทศเกาหลีใต้ น้ำหนัก 750 กรัม พบเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Cladosporium* sp. และ *Ghaphium*sp. และยีสต์ 1 ชนิด คือ *Streptomyces* sp.

4. การจัดลำดับศัตรูพืชของพืช/ผลผลิต/เมล็ดพันธุ์(Pest categorization)

การดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ ได้แก่

ขั้นตอนที่ 1: การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

จากการสืบค้นข้อมูลพืช/ผลผลิต/เมล็ดพันธุ์ของฟักทองและสควॅอช ที่วิเคราะห์จากเอกสารภายในและต่างประเทศ พบจากการศึกษารวบรวมรายงานจากทั่วโลก มีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชของของสควॅอชและฟักทองรวมทั้งสิ้น 213 ชนิด เป็นแมลง 118 ชนิด ไร 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด ทาก 2 ชนิด แบคทีเรีย 11 ชนิด เชื้อรา 36 ชนิด ไวรัส 19 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด และวัชพืช 9 ชนิด ส่วนข้อมูลศัตรูพืชของฟักทองและสควॅอชที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีทั้งสิ้น 71 ชนิด ได้แก่ แมลง 43 ชนิด ไร 2 ชนิด หอย 1 ชนิด เชื้อรา 7 ชนิด แบคทีเรีย 6 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด และวัชพืช 2 ชนิด

ส่วนขั้นตอนที่ 2 : การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช และ ขั้นตอนที่ 3: การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อออกมาตรการทางวิชาการ/ กฎหมาย ในการควบคุมการนำเข้ากำลังอยู่ในขั้นดำเนินการต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในการติดตามสำรวจศัตรูพืชในพื้นที่แปลงปลูกที่ใช้เมล็ดพันธุ์นำเข้า ใน 6 จังหวัด ได้แก่ สกลนคร นครพนม อำนาจเจริญ อุบลราชธานี มุกดาหาร และขอนแก่น พบ *Sclerotium rolfsii* และ *Oidium* sp. การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนพืช /เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากด่านตรวจพืช พบว่า การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชขั้นละเอียดบนพืช/เมล็ดพันธุ์สควॅอชที่นำเข้าจากประเทศไต้หวันบน

กระดาษชื้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบเชื้อรา คือ *Curvularia pallescens, Cladosporium* sp., *Dreshslera dematiodes, Alternaria tenuis, Aspergillus flavus* และ *Rhizopus* sp. และเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากอิสราเอล พบเชื้อรา คือ *Rhizopus stolonifer, Chaetomium* sp., *Phoma* sp. และ *Macrophomina* sp. ส่วนเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา พบ *Gliocladium* sp. และ *Streptomyces* sp. และจากการตรวจเมล็ดพันธุ์ฟักทองจากประเทศเกาหลีใต้ พบเชื้อ *Cladosporium* sp. และ *Ghaphium* sp. และ *Streptomyces* sp. ซึ่งจากการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ฟักทองและสควัอชที่นำเข้าจากประเทศต่างๆ พบว่าเมล็ดพันธุ์อยู่ในสภาพที่สะอาด และคลุกสารเคมีมาเป็นอย่างดีทำให้พบเชื้อราปนเปื้อนมากับเมล็ดพันธุ์น้อย ส่วนการศึกษาเบื้องต้นในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของสควัอชและฟักทองในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) พบว่าจากการศึกษารวบรวมรายงานจากทั่วโลก พบสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูพืชของสควัอชและฟักทองรวมทั้งสิ้น 213 ชนิด เป็นแมลง 118 ชนิด ไร 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด ทาก 2 ชนิด แบคทีเรีย 11 ชนิด เชื้อรา 36 ชนิด ไวรัส 19 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด และวัชพืช 9 ชนิด ส่วนข้อมูลศัตรูพืชของฟักทองและสควัอชที่มีรายงานพบในประเทศไทยมีทั้งสิ้น 71 ชนิด ได้แก่ แมลง 43 ชนิด ไร 2 ชนิด หอย 1 ชนิด เชื้อรา 7 ชนิด แบคทีเรีย 6 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด และวัชพืช 2 ชนิด ส่วนการประเมินความเสี่ยงและการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันอยู่ในขั้นดำเนินการต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Blancard, D., Lecoq, H. and Pitrat, M. 1994. A colour Atlas of Cucurbit Diseases Observation, Identification and Control.Manson publishing. Limoges, France. 299 pp.

Conijn, C.G.M. and Groen, N.P.A.. ISPI databases of literature on thrips (Thysanoptera.

PHYSICAL, BIOLOGICAL AND CHEMICAL CONTROL OF *TAENIOTHRIPS SIMPLEX* IN GLADIOLUS . ISHS Acta Horticulturae 266: V International Symposium on Flower Buds. International Society for Horticultural Science http://www.actahort.org/members/showpdf?booknrarnr=266_71

CABI (CAB International). 2005 Crop Protection Compendium 2005 edition. Wallingford, UK: CAB International [CD-ROM].

EPPO/CABI. 1997. Quarantine Pests for Europe. 2nd edition. (Ed. By Smith, I.M., Mc Namara, D.G., Scott, P.R. and Holdermem, M.) Cambridge, Uk. 1425 pp.

pp.

Isobel A.P. and Judith H.M., 2000. Population Dynamics of Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) in Nectarine Orchads in British Columbia. Journal of Economic Entomology. V. 93,issue 2 (http://www.bioone.org/perlserv/?request=get-document&doi=10.1603%2F0022-0493(2000)093%5B0264%3APDOWFT%5D2.0. CO%3B2)

Zitter, T.A., Hopkins, D.L. and Thomas, C.E. 1996. Compendium of Cucurbit Diseases. The America Phytopatholigical Society. Minnesota, USA. 87 pp.

Isobel A.P. and Judith H.M., 2000. Population Dynamics of Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) in Nectarine Orchads in British Columbia. Journal of Economic Entomology. V. 93,issue 2 (http://www.bioone.org/perlserv/?request=get-document&doi= 10.1603% 2F0022-493(2000)093 % B0264%3APDOWFT%5D2.0.CO%3B2)

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผักกาดหัว ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Pest Risk Analysis for the Importation of Chinese Radish

นงพร มาอยู่ดี ชลธิชา รักใคร่ เพ็ญศรี นันทสมสราญ
ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ทัศนีย์ ศรีสม พิชัย สมบูรณ์วงศ์
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผักกาดหัวที่นำเข้าจากต่างประเทศ ที่กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผักกาดหัว (Chinese radish : *Raphanus sativus* L.) เป็นพืชผักจัดอยู่ในวงศ์ Brassicaceae มีอายุสั้นฤดูเดียว อายุเก็บเกี่ยว ประมาณ 42-60 วัน มีส่วนรากขยายเป็นหัวสีขาวเจริญเติบโตเหนือดิน รูปทรงกลม รูปกรวยยาว รูปทรงกระบอก และอื่นๆ และได้รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชที่พบกับผักกาดหัวและจัดแบ่งกลุ่มได้ 8 กลุ่ม ได้แก่ (1) แมลง 56 ชนิด (2) หอยทาก 1 ชนิด (3) รา 20 ชนิด (4) แบคทีเรีย 42 ชนิด (5) ไวรัสและไวรอยด์ 6 ชนิด (6) ไปรโตซัว 1 ชนิด (7) ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด (8) วัชพืช 5 ชนิด ได้ศึกษาขั้นตอนการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผักกาดหัว ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis) การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment) และการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

คำนำ

การนำเข้าเมล็ดพันธุ์พืชจากต่างประเทศเพื่อทำการเพาะปลูกในประเทศไทยมีปริมาณมาก ซึ่งในการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวมีศัตรูพืชได้แก่ โรค แมลง วัชพืช อื่นๆ ติดเข้ามาด้วย จากการที่อนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention : IPPC) (FAO, 1992) เป็นอนุสัญญา ซึ่งเกิดขึ้นจากการที่ประเทศภาคีลงนามให้สัตยาบันร่วมกัน ซึ่งอยู่ภายใต้ความรับผิดชอบขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) อนุสัญญาดังกล่าวมีข้อตกลงว่าด้วยภาษีศุลกากรและสินค้า ภายใต้ความตกลงนี้มีความตกลงที่เกี่ยวข้องกับสินค้าเกษตร คือ ความตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and

รหัสโครงการ 07-01-49-07

Phytosanitary Measure) เป็นมาตรการที่สร้างความร่วมมือระหว่างประเทศในการควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดของศัตรูพืชจากต่างประเทศมิให้แพร่ระบาดเข้ามาในราชอาณาจักรโดย IPPC ได้กำหนดมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards Phytodanitary Measure : ISPMs) เป็นมาตรฐานให้ประเทศสมาชิกใช้เป็นแนวทางในการปฏิบัติต่อสินค้าเกษตร ประเทศไทยในฐานะเป็นสมาชิก จึงจำเป็นต้องทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชให้เหมาะสม โดยอาศัยโครงการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชที่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อกำหนดมาตรการสุขอานามัยพืช โดยกำหนดชนิดศัตรูพืชควบคุมด้วยการปรับปรุงกฎระเบียบต่างๆ ให้รัดกุมไม่ขัดแย้งกับข้อตกลงระหว่างประเทศ ที่ออกภายใต้พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ผักกาดหัวที่นำเข้าจากต่างประเทศ
กล้องจุลทรรศน์ ถาดนับเมล็ด จานแก้ว ปากคีบ

วิธีการ

ศึกษา ค้นคว้า รวบรวมข้อมูลทั่วไปงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศ วารสารวิชาการ ตำราวิชาการ รายงานการประชุมสัมมนาและการอภิปรายทางวิชาการจากแหล่งต่างทั่วโลกเกี่ยวกับศัตรูของผักกาดหัว

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2549- กันยายน 2550
สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ข้อมูลทั่วไปของผักกาดหัว (Chinese radish : *Raphanus sativus L.*) เป็นพืชผักจัดอยู่ในวงศ์ Brassicaceae มีอายุสั้นฤดูเดียว อายุตั้งแต่ปลูกจนถึงเก็บเกี่ยวประมาณ 42-60 วันโดยส่วนของรากขยายเป็นหัวสีขาวเจริญเติบโตเหนือดินเล็กน้อย ส่วนที่เหลือเจริญอยู่ในดิน ลักษณะของหัวแตกต่างกัน เป็นรูปทรงกลม รูปกรวยยาว รูปทรงกระบอกและอื่นๆ และได้รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของผักกาดหัวที่มีรายงานในต่างประเทศเปรียบเทียบกับข้อมูลในประเทศและได้จัดกลุ่มศัตรูพืชที่พบกับผักกาดหัว โดยจัดแบ่งออกทั้งหมดได้ 8 กลุ่ม เรียงตามลำดับดังนี้ (1) แมลง 56 ชนิด (2) หอยทาก 1 ชนิด (3) รา 20 ชนิด (4) แบคทีเรีย 42 ชนิด (5) ไวรัสและไวรอยด์ 6 ชนิด (6) ไปรโตซัว 1 ชนิด (7) ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด (8) วัชพืช 5 ชนิด แล้วได้ศึกษาข้อมูลขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 2 แก้ไข

ครั้งที่ 1 เรื่องคำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO,2005) และมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่องการวิเคราะห์ความเสี่ยงสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม(FAO; 2004) หลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 3 ขั้นตอน ได้แก่ การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis) การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment) และการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้ข้อมูลศัตรูพืชของผักกาดหัว ซึ่งจัดแบ่งออกได้ทั้งหมด 8 กลุ่ม เรียงลำดับดังนี้ (1) แมลง 56 ชนิด (2) หอยทาก 1 ชนิด (3) รา 20 ชนิด (4) แบคทีเรีย 42 ชนิด (5) ไวรัสและไวรอยด์ 6 ชนิด (6) ไปรโตซัว 1 ชนิด (7) ไส้เดือนฝอย 8 ชนิด (8) วัชพืช 5 ชนิด และได้ข้อมูลขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานนานาชาติ 3 ขั้นตอน ได้แก่ การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis) การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment) และการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management)

เอกสารอ้างอิง

มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2545 กะหล่ำ. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 208 หน้า

CAB *international*. 2005. **Crop Protection Compendium 2005 Edition**. (Computer Program). CAB International. Wallingford, UK.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของบร็อคโคลี่

Pest Risk Analysis of Broccoli Imported into Thailand

สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ ณัฏฐพร อุทัยมงคล วรัญญา มาลี วันเพ็ญ ศรีชาติ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การนำเข้าบร็อคโคลี่จากต่างประเทศทุกแหล่งทั่วโลกเข้ามาในราชอาณาจักร โดยการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของบร็อคโคลี่ทั้งในประเทศและต่างประเทศทั่วโลก ในขั้นตอนเริ่มต้น (Initiation) ของการจำแนกสิ่งมีชีวิต (organisms) ที่อาศัยอยู่ร่วมกันกับบร็อคโคลี่ ทั้งที่เป็นศัตรูพืชและไม่เป็นศัตรูพืช พบว่ามีจำนวน 106 ชนิด และในขั้นตอนการจำแนกประเภทศัตรูพืช (pests categorization) พบเป็นศัตรูพืชของบร็อคโคลี่ที่มีรายงานในประเทศไทย 44 ชนิด เป็น ไร 1 ชนิด แมลง 21 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด เชื้อรา 11 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด ไฟโตรพลาสมา 1 ชนิด โปรโตรซัว 1 ชนิด วัชพืช 2 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด และศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศไทย 62 ชนิด เป็น แมลง 35 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 3 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด วัชพืช 11 ชนิด

จากผลการตรวจสอบศัตรูพืชจากเมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศจำนวน 7 ตัวอย่าง 3 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น 5 ตัวอย่าง พบเชื้อรา 9 ชนิด คือ *Alternaria brassicicola, A. tenuissima, A. alternata, Phoma sp., Drechslera tetramera, Fusarium moniliforme, F. solani, Cladosporium sp., Periconia sp.* และยีสต์ 1 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. ไต้หวัน 1 ตัวอย่าง พบยีสต์ 1 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. และประเทศเนเธอแลนด์ 1 ตัวอย่าง ซึ่งเมล็ดเคลือบสารป้องกันกำจัดรา ผลการตรวจไม่พบศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ และทำการตรวจสอบศัตรูพืชกับบร็อคโคลี่สดนำเข้า ณ ด่านตรวจพืชเชียงแสน จังหวัดเชียงราย พบศัตรูพืช 2 ชนิด คือ *Myzus persicae* และ *Lipaphis erysimi* จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกของมูลนิธิโครงการหลวง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้เมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่นำเข้าจากเนเธอแลนด์ พบอาการของโรคใบจุด โรคเน่าเละ โรคราน้ำค้าง และโรคเน่าดำ และแมลงศัตรูพืชเพลี้ยอ่อน และหนอนใยผัก

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

จากการที่ประเทศไทยเข้าเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (World Trade organization, WTO) ทำให้ประเทศสมาชิกต้องปฏิบัติตามข้อตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการปกป้องชีวิตมนุษย์ สัตว์และพืช จากสิ่งปนเปื้อน สารพิษ หรือเชื้อโรคที่มีพืชหรือสัตว์เป็นตัวนำ เพื่อป้องกันหรือจำกัดความเสียหายอันเนื่องศัตรูพืชที่อาจติดมากับสินค้าเกษตรนำเข้า สามารถเจริญเติบโต และแพร่กระจายออกไปได้ ดังนั้นประเทศผู้นำเข้าจึงจำเป็นต้องมีการใช้เทคนิคและวิธีการที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับตามสากลประเทศ โดยต้องมีการทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อป้องกันหรือกำจัดความเสียหายที่อาจเกิดขึ้น ต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของสินค้าเกษตร โดยใช้เทคนิคและวิธีการที่เหมาะสม ที่พัฒนาโดยองค์กรระหว่างประเทศ

ปัจจุบันประเทศไทยนำเข้าบร็อคโคลี่จากต่างประเทศเป็นปริมาณมากโดยเฉพาะบร็อคโคลี่สดหรือแช่แข็ง และเมล็ดพันธุ์ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2548) จากการศึกษารวบรวมข้อมูลศัตรูพืชในเบื้องต้นปรากฏว่า มีศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้มีโอกาสที่จะติดเข้ามากับบร็อคโคลี่ได้ อีกทั้งการที่ประเทศไทยมีนโนบายเปิดเขตการค้าเสรี (Free Trade Area, FTA) กับประเทศต่างๆ เพิ่มขึ้น สินค้าที่เคยมีการนำเข้าแล้วจะมีปริมาณนำเข้าเพิ่มขึ้น และเปิดโอกาสให้มีการนำเข้าสินค้าชนิดใหม่จากต่างประเทศ มาตรการกักกันพืชที่ใช้ควบคุมการนำเข้าบร็อคโคลี่ ปัจจุบันได้อาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 บร็อคโคลี่ที่นำเข้าเหล่านี้จัดอยู่ในประเภทสิ่งไม่ต้องห้าม ซึ่งการนำเข้าสิ่งไม่ต้องห้ามไม่จำเป็นต้องต้องมีใบรับรองปลอดศัตรูพืช แต่ต้องแจ้งพนักงานเจ้าหน้าที่ ณ ด่านตรวจพืช เมื่อมีการนำเข้า หากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เข้มงวด นอกจากจะเสียเปรียบต่อประเทศคู่ค้าแล้วอาจก่อให้ เกิดปัญหาของศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศติดมากับสินค้าที่นำเข้า เกิดการแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดผลเสียต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างใหญ่หลวง ดังนั้น วัตถุประสงค์หลักของการศึกษานี้ เพื่อศึกษาในเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของบร็อคโคลี่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนในการประกาศทบทวนมาตรการทางสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าบร็อคโคลี่จากต่างประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์สำนักงาน

1. เอกสารงานวิจัยทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลก
2. เครื่องคอมพิวเตอร์และเครื่องพิมพ์
3. แผ่น Diskette และ CD-R
4. กระดาษ A4
5. หมึกสีและขาวดำ

อุปกรณ์ห้องปฏิบัติการ

1. หลอดเก็บตัวอย่างแมลง
2. ถุงพลาสติกใส
3. กรรไกร
4. ปากกา (marker)
5. ถาดเพาะกล้า
6. จานอาหารเลี้ยงเชื้อ
7. กระดาษกรอง เบอร์ 1
8. ปากคีบ (forceps)
9. ดินเพาะกล้า (media)

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืชบร็อคโคลี่ ที่จะดำเนินการวิเคราะห์

ค้นคว้า ศึกษา รวบรวมข้อมูลทั่วไปของบร็อคโคลี่ ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ การจำแนกชีววิทยา ข้อมูลการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว โรคและแมลงศัตรูพืช การป้องกันกำจัด และข้อมูลสถิติการนำเข้าบร็อคโคลี่จากต่างประเทศ ได้แก่ปริมาณและมูลค่าการนำเข้า ทั้งบร็อคโคลี่สด และเมล็ดพันธุ์ จากฐานข้อมูล เอกสารและรายงานทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลก

2. การเก็บตัวอย่างและตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับพืชบร็อคโคลี่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืช

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างบร็อคโคลี่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืชเชียงแสน จังหวัดเชียงราย เพื่อตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับพืช และวินิจฉัยศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อตรวจสอบวินิจฉัยขั้นละเอียดในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี Blotter

3. การติดตามสำรวจศัตรูพืชในพื้นที่/แปลงปลูก

ทำการเก็บตัวอย่างอาการของโรคและแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกบร็อคโคลี่ของมูลนิธิโครงการหลวงในเขตอำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งใช้เมล็ดพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อสำรวจหาศัตรูพืชชนิดใหม่ที่อาจจะติดปะปนเข้ามากับเมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่จากต่างประเทศ รวมทั้งศึกษารวบรวมชนิดของศัตรูพืชทั้งหมดที่พบในแปลงปลูก และวินิจฉัยศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ

4. วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืช/ ผลผลิต/เมล็ดพันธุ์

ค้นคว้า ศึกษา รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของบร็อคโคลี่ ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ข้อมูลทางชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืช ความสำคัญของศัตรูพืชและความเสียหายทางเศรษฐกิจ วิธีควบคุมและการป้องกันกำจัดจากฐานข้อมูล เอกสารและรายงานจากทั่วโลก ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆทั่วโลก เกี่ยวกับศัตรูบร็อคโคลี่ที่มีรายงานพบในต่างประเทศ ซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุดที่มีรายงานจนถึงปัจจุบันนี้และเชื่อถือได้

ขั้นตอนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน

ทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis, PRA) ตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standard for Phytosanitary Measures, ISPM) ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks) (FAO, 2003) โดยการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ ได้แก่

- ขั้นตอนที่ 1 : การเริ่มต้น(Initiation)
- ขั้นตอนที่ 2 : การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment)
- ขั้นตอนที่ 3 : การจัดการความเสี่ยง (Risk management)

ขั้นตอนที่ 1 : การเริ่มต้นการ(Initiation) การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเกี่ยวข้องกับการระบุชนิดของศัตรูพืช (Identification of the pests) และเส้นทาง (Pathway) ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกัน และทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับพื้นที่หนึ่งที่กำหนดซึ่งจะต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ขั้นตอนที่ 2 : การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) ประกอบด้วยการจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) เพื่อตัดสินว่ามีศัตรูพืชชนิดใดอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์ที่จะเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ การประเมินความเสี่ยงที่

จะต้องดำเนินการต่อไปหลังจากนั้นคือ การประเมินโอกาสเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะแพร่เข้ามา (Introduction) การเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวร (Establishment) การแพร่ระบาด (Spread) และศักยภาพที่จะก่อให้เกิดความสำคัญทางเศรษฐกิจหลังจากนั้น และ ขั้นตอนที่ 3 : การจัดการความเสี่ยง (Risk management) เกี่ยวข้องกับการกำหนดทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยง ทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงที่ระบุในขั้นตอนที่ 2 ทางเลือกเหล่านี้จะถูกประเมินถึงประสิทธิภาพ ความเป็นไปได้ และผลกระทบ เพื่อที่จะคัดเลือกหาทางเลือกที่เหมาะสมที่สุด

5. **กำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยง** ทั้งทางกฎหมายและวิชาการภายใต้บทบัญญัติของพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 สำหรับพืชบร็อคโคลี่) โดยเสนอปรับปรุงสถานภาพของประเภทของพืชภายใต้พระราชบัญญัติ เพื่อกำหนดเป็นสิ่งกำกัดหรือสิ่งต้องห้ามพร้อมทั้งข้อกำหนดเงื่อนไขทางกักกันพืชใหม่ประกอบการอนุญาตนำเข้า

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา: ตั้งแต่ ตุลาคม 2548 ถึงกันยายน 2550 รวม 2 ปี

สถานที่วิจัย : 1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
3. ด่านตรวจพืชเชียงแสน จังหวัดเชียงราย
4. มูลนิธิโครงการหลวง จังหวัดเชียงใหม่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืชบร็อคโคลี่ ที่จะดำเนินการวิเคราะห์

บร็อคโคลี่ (Broccoli) เป็นพืชเมืองหนาวอยู่ในตระกูล Brassicaceae (Cruciferae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleracea* var. *botrytis* subvar. *cymosa*. มีถิ่นกำเนิดในยุโรป แถบทะเลเมดิเตอเรเนียน จากนั้นมีการปลูกแพร่หลายกระจายพันธุ์ไปทั่วโลก บร็อคโคลี่เป็นพืชที่มีความต้องการของตลาดค่อนข้างสูง เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง เหมาะสำหรับการประกอบอาหารและการแปรรูป เช่น แช่แข็ง นอกจากนี้สมาคมโรคมะเร็งแห่งสหรัฐอเมริกา ยอมรับว่าเป็นพืชที่ต่อต้านโรคมะเร็ง บร็อคโคลี่พันธุ์ปลูก ได้แก่ Green comet (45-50 วัน) Green Valiant (83 วัน) Pack man (45-50 วัน) Baccus (50-65 วัน) สำหรับประเทศไทยส่วนใหญ่ปลูกมากในจังหวัดเชียงใหม่ สงขลา เพชรบูรณ์ พิษณุโลก กรุงเทพฯ และขอนแก่น เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามความต้องการบริโภคภายในประเทศมีเพิ่มขึ้น ปัจจุบันมีการนำเข้าบร็อคโคลี่สดจากหลายต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ได้แก่ ออสเตรเลีย เนเธอแลนด์ ฝรั่งเศส สาธารณรัฐประชาชนจีน ฮ่องกง ญี่ปุ่น และสิงค์โปร์ โดยเฉพาะการนำเข้าบร็อคโคลี่สดจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ในปี 2547-

2548 มีปริมาณรวม 6,853 ตัน คิดเป็นมูลค่า 100 ล้านบาท นอกจากนี้ยังมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่จากหลายประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ไต้หวัน ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และเนเธอแลนด์ เป็นต้น ซึ่งในปี 2547 -2548 มีปริมาณรวม 1,485 กิโลกรัม ตามลำดับ คิดเป็นมูลค่ารวม 8.6 ล้านบาท ตามลำดับ

2. การเก็บตัวอย่างและตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับพืชบร็อคโคลี่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืช

ผลการตรวจศัตรูพืชที่ติดมากับบร็อคโคลี่นำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ในช่วงเดือนพฤษภาคม 2549 ณ ด่านตรวจพืชเชียงแสน จ. เชียงราย พบศัตรูพืช 2 ชนิด คือ *Myzus persicae* และ *Lipaphis erysimi*

ผลการตรวจสอบศัตรูพืชขั้นละเอียดบนเมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่ ระหว่างตุลาคม 2548-กันยายน 2549 รวม 7 ตัวอย่าง 3 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น 5 ตัวอย่าง คือ Broccoli F1 Hybrid (Shigamori) 2 ตัวอย่าง, Broccoli F1 Hybrid (No.151) 1 ตัวอย่าง, Baby broccoli create 2 ตัวอย่าง พบเชื้อรา 9 ชนิด คือ *Alternaria brassicicola, A. tenuissima, A. alternata, Phoma sp., Drechslera tetramera, Fusarium moniliforme, F. solani, Cladosporium sp., Periconia sp.* และยีสต์ 1 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. จากประเทศไต้หวัน 1 ตัวอย่าง คือ Broccoli Green King พบยีสต์ 1 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. และประเทศเนเธอแลนด์ 1 ตัวอย่าง คือ Broccoli F1 Hybrid (Montop) ซึ่งเมล็ดเคลือบสารป้องกันกำจัดรา ผลการตรวจไม่พบศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์

3. การติดตามสำรวจศัตรูพืชในพื้นที่/แปลงปลูก

ศัตรูพืชจากการตรวจสอบในแปลงปลูกบร็อคโคลี่ของมูลนิธิโครงการหลวง อำเภอ แม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้เมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่นำเข้าจากเนเธอแลนด์ พบโรคใบจุด โรคเน่าเละ โรคราน้ำค้าง โรคเน่าดำ และเพลี้ยอ่อน หนอนใยผัก (อยู่ระหว่างจำแนกชนิด)

4. วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืช/ ผลผลิต/เมล็ดพันธุ์

ขั้นตอนที่ 1 : การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

จุดมุ่งหมายของขั้นตอนการเริ่มการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อกำหนดศัตรูพืช และเส้นทางศัตรูพืช ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกันพืช และทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับพื้นที่หนึ่งที่กำหนดซึ่งจะต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

จุดเริ่มต้น (Initiation point)

จุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำบร็อคโคลี่จากต่างประเทศเข้ามาในประเทศไทย เกิดขึ้นจากการทบทวนด้านนโยบายเพื่อปรับปรุงมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าบร็อคโคลี่จากต่างประเทศให้รัดกุมยิ่งขึ้น (PRA initiated by the review or revision of a policy)

การกำหนดพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area)

พื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่กำหนดในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าบร็อคโคลี่ คือ "**ประเทศไทย**"

พื้นที่ที่อยู่ในอันตราย (Endangered area)

พื้นที่ที่อยู่ในอันตราย ได้แก่ พื้นที่หนึ่งพื้นที่ใดในประเทศไทย ซึ่งมีปรากฏอยู่ของพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืช และมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามาพร้อมกับการนำเข้าบร็อคโคลี่

เส้นทาง (Pathway)

เส้นทางที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา คือ บร็อคโคลี่ที่ปลูกเป็นการค้านำเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อการบริโภค และการเพาะปลูก

บทสรุปในขั้นตอนการเริ่มต้น (Conclusion of initiation)

เมื่อสิ้นสุดในขั้นตอนที่ 1 ต้องระบุรายละเอียดในหัวข้อต่างๆ เหล่านี้ ได้แก่ จุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ศัตรูพืช และเส้นทางที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา และพื้นที่ที่จะทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช จะต้องมีการเก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้อง และจะต้องมีการจำแนกชนิดศัตรูพืชซึ่งอาจจะเป็นตัวแทนของศัตรูพืชที่จำเป็นต้องใช้มาตรการสุขอนามัยพืช

ขั้นตอนที่ 2 : **การประเมินความเสี่ยง**

กระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช สามารถแบ่งออกได้อย่างกว้างเป็น 3 ขั้นตอนซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน ได้แก่

- การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization)
- การประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry, establishment and spread)
- การประเมินศักยภาพของผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช (Assessment of potential consequences)

การจัดกลุ่มศัตรูพืช

การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) ที่พบบนดอก ลำต้น และเมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่ ได้ดำเนินการโดยการค้นคว้ารวบรวมรายชื่อของสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานพบบนดอก ลำต้น และเมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่ โดยจัดแบ่งออกเป็นทั้งหมด 10 กลุ่ม เรียงตามลำดับดังนี้ (1). แมลง (Insect) (2). ไร (Mite) (3). ไวรัส (Virus) (4). ไวรอยด์ (Viroid) (5). แบคทีเรีย (Bacteria) (6). รา (Fungus) (7). ไส้เดือนฝอย (Nematode) (8). ไฟโตรพลาสมา (Phytoplasma) (9). วัชพืช (Weed) และ (10). ไม่ทราบสาเหตุ (Unknown Etiology)

สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่มีรายงานพบบนดอก ลำต้น และเมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่ จะถูกบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับ (1). ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) (2). ชื่อพ้อง (Synonym) (3). ชื่อสามัญ (Common name) (4). แหล่งแพร่กระจาย (Geographical distribution) (5). ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย (Plant part affected) (6). พบในประเทศไทยหรือไม่ : พบ/ไม่พบ (Present in Thailand: Yes/No) (7). เป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ : เป็น/ไม่เป็น (Quarantine pest : Yes/No) และ เอกสารอ้างอิง (Reference)

จากผลการศึกษาโดยการสำรวจในประเทศไทยและการรวบรวมเอกสารพบว่า มีสิ่งมีชีวิตทั้งที่รายงานเป็นศัตรู และไม่เป็นศัตรูของบร็อคโคลี่ รวมทั้งสิ้นจำนวน 106 ชนิด เป็น แมลง 56 ชนิด ไร 1 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด รา 17 ชนิด ไส้เดือนฝอย 4 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด โปรโตรซัว 1 ชนิด วัชพืช 13 ชนิด และหอย 1 ชนิด โดยเป็นศัตรูที่พบในประเทศไทย 44 ชนิด เป็น ไร 1 ชนิด แมลง 21 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด เชื้อรา 11 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด ไฟโตรพลาสมา 1 ชนิด โปรโตรซัว 1 ชนิด วัชพืช 2 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด และศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศไทย 62 ชนิด เป็น แมลง 35 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 3 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด วัชพืช 11 ชนิด

สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันในขั้นตอนการประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry, establishment and spread) และการประเมินศักยภาพของผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช (Assessment of potential consequences) อยู่ในระหว่างการดำเนินการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

บร็อคโคลี่ (Boccoli) เป็นพืชผักเมืองหนาวปลูกมากในพื้นที่มีอากาศหนาวเย็น สถิติการนำเข้าบร็อคโคลี่สดในปริมาณมากมีแนวโน้มจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ส่วนเมล็ดพันธุ์นำเข้าในปริมาณมากมีแนวโน้มจากประเทศญี่ปุ่น สหรัฐเอมริกา และเนเธอแลนด์ เป็นต้น ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 บร็อคโคลี่สดจากทุกแหล่งทั่วโลกจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม ขั้นตอนการนำเข้าซึ่งสิ่งไม่ต้องห้ามจึงเพียงแต่ให้แจ้งการนำเข้าต่อพนักงานเจ้าหน้าที่ ณ ด่านตรวจพืชที่นำเข้าเท่านั้น ผลการศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของบร็อคโคลี่ในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) พบว่า จากการศึกษารวบรวมรายงานจากทั่วโลกมีสิ่งมีชีวิตทั้งที่เป็นศัตรู/ไม่เป็นศัตรูของบร็อคโคลี่รวมทั้งสิ้นจำนวน 106 ชนิด เป็น แมลง 56 ชนิด ไร 1 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด แบคทีเรีย 7 ชนิด รา 17 ชนิด ไส้เดือนฝอย 4 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด โปรโตรซัว 1 ชนิด วัชพืช 13 ชนิด และหอย 1 ชนิด โดยเป็นศัตรูพืชที่พบในประเทศไทย 44 ชนิด เป็น ไร 1 ชนิด

แมลง 21 ชนิด แบคทีเรีย 4 ชนิด เชื้อรา 11 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด ไฟโตรพลาสมา 1 ชนิด โปรโตรซัว 1 ชนิด วัชพืช 2 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด และศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศไทย 62 ชนิด เป็น แมลง 35 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 3 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด วัชพืช 11 ชนิด

ผลการตรวจสอบศัตรูพืชจากเมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 7 ตัวอย่าง 3 ประเทศ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น 5 ตัวอย่าง พบเชื้อรา 9 ชนิด คือ *Alternaria brassicicola, A. tenuissima, A. alternata, Phoma sp., Drechslera tetramera, Fusarium moniliforme, F. solani, Cladosporium sp., Periconia sp*. และยีสต์ 1 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. ไต้หวัน 1 ตัวอย่าง พบยีสต์ 1 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. และประเทศเนเธอแลนด์ 1 ตัวอย่าง ซึ่งเมล็ดเคลือบสารป้องกันกำจัดรา ผลการตรวจไม่พบศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ และทำการตรวจสอบศัตรูพืชกับบร็อคโคลี่สดนำเข้า ณ ด่านตรวจพืชเชียงแสน จังหวัดเชียงราย พบศัตรูพืช 2 ชนิด คือ *Myzus persicae* และ *Lipaphis erysimi* จากการติดตามตรวจสอบศัตรูพืชในแปลงปลูกของมูลนิธิโครงการหลวง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้เมล็ดพันธุ์บร็อคโคลี่นำเข้าจากเนเธอแลนด์ พบอาการของโรคใบจุด โรคเน่าเละ โรคราน้ำค้าง และโรคเน่าดำ และแมลงศัตรูพืชเพลี้ยอ่อน และหนอนใยผัก

คำขอบคุณ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ขอขอบคุณ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณ ให้ทำการศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าบร็อคโคลี่จากต่างประเทศ ขอขอบคุณมูลนิธิโครงการหลวง ให้ทำการสำรวจศัตรูพืชในแปลงปลูกบร็อคโคลี่ จังหวัดเชียงใหม่ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชเชียงแสน ให้ดูงานตรวจสอบศัตรูพืชบร็อคโคลี่ พร้อมเก็บตัวอย่างศัตรูพืช ณ จุดนำเข้า สุดท้ายขอขอบคุณนักกีฏวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชในการวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชของบร็อคโคลี่

เอกสารอ้างอิง

สำนักควบคุมพืช และวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตร และสหกรณ์. 2548. สถิติการนำเข้าบร็อคโคลี่จากต่างประเทศ. สำนักควบคุมพืช และวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

สุวัฒน์ รวยอารีย์, กนกพร อุ่นใจชน, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, พรทิพย์ วิสารทานนท์, ชลิดา อุณหวุฒิ, พรรณเพ็ญ ชโยภาส, จีรนุช เอกอำนวย, วัชรา ชุณหวงศ์, ศรีสมร พิทักษ์, ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ, มานิตา คงชื่นสิน, วนิดา จรุงจิตต์, วัททนา เทวภูชม. 2535. เอกสารวิชาการ

เกษตร. แมลงและสัตว์ศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร.ห้างหุ้นสวน จำกัด ไอเดีย สแควร์.กรุงเทพฯ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.400 หน้า.

Alford, D.V. 2000. Pest and Disease Management Handbook. The British Crop Pretection Councill. Blackwell Science.615 p.

Anonymous. 1992. International Plant Protection Convention, 1992. FAO, Rome.

Anonymous. 1994. Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, 1994. World Trade Organization, Geneva.

Anonymous.1996. Guidelines for pest risk analysis, 1996. ISPM No. 2, FAO, Rome.

Anonymous.2004. Pest risk analysis for quarantine pests, including analysis of environmental risks and living modified organisms, 2004. ISPM No. 11, FAO, Rome.

Capinera, J. L. 2005. *Estigmene acrea* (Drury) (Insecta: Lepidoptera: Arctiidae). http://creatures.ifas.ufl.edu/veg/leaf/saltmarsh_caterpillar.htm

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2006. Data sheets on quarantine pests: *Epitrix cucumeris*. www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Epitrix_cucumeris/DSEPIXCU.pdf

Koike, S.T., Cintas, N.A. 2000. Bacterial blight, a new disease of broccoli caused by *Pseudomonas syringae* in Califlornia. Plant Disease, 84 (3), p 370.

Lancaster, R. 2006. Diseases of vegetable brassicas. Farmnote. Note: 147, Repleaces farmnote 39/90. Department of Agriculture. The State of Western Australia.

Lighton, J.R.B and G.A. Bartholomew. 1988. Standard energy metabodism of desert harvester ant Pogonomyrnex rugosus: Effects of temperature, body mass, group size, and humidity. Proc. Natl. Acad. Sci: 85. pp. 4765-4769.

Mark A. Mossler . 2005. Florida Crop/Pest Management Profile: Specialty Brassicas (Arrugula, Bok Choy, Chinese Broccoli, Chinese Mustard, Napa).

the Pesticide Information Office, Agronomy Department, Florida Cooperative

Martin, J. L.and Ronald F.L. Mau .1992. *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas). http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/Crop/Type/macrosip.htm

Miguel Nebreda, Gloria Nombela and Mariano Muniz. 2004. Comparative Host Suitability of Some Brassica Cultivars for the Whitefly, Aleyrodes proletella (Homoptera:

Aleyrodidae). Environmental Entomology. 34: 1, pp. 205-209.

Singh, D. and S.B. Mathur.2004. Histopathology of Seed- Borne Infections. CRC Preess. 282 p.

Tim, M., R. Raid and T. Kucharek. 2006. Management Gide: Crucifers. Florida Plant Disease. http//edis.ifas.ufl.edu/PG045

Vanstone, V. 2006. Beet cyst nematode on vegetables. Note: 153.Replaces Farmnote 80/88. Department of Agriculture and Food Western Australia

Wongsiri, N. 1991. List of insect, mite and other zoologicals pests of economic plants in Thailand. Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand.

การสำรวจและศึกษาสายพันธุ์ของ *Potato virus Y* กับมันฝรั่งในประเทศไทย

Survey and Study on Strain of *Potato virus Y* in Potato Field in Thailand

ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

Potato virus Y (PVY) เป็นเชื้อสาเหตุโรคที่สำคัญของมันฝรั่งซึ่งมีรายงานทำความเสียหายต่อผลผลิตสูงถึง 10-80% ในปัจจุบันนี้มีรายงานพบสายพันธุ์ของ PVY ถึง 3 สายพันธุ์(strain) คือ common strain (PVY^0) stipple-streak strain (PVY^C) และ tobacco veinal necrosis strain (PVY^N) โรคนี้ถึงแม้จะพบว่ามีรายงานการระบาดแล้วในประเทศไทย แต่เนื่องจากจากยังไม่เคยมีการศึกษาสายพันธุ์ของ PVY ในประเทศไทยมาก่อน และเชื้อสาเหตุสามารถติดมากับหัวมันฝรั่ง จึงได้ทำการสุ่มตรวจหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อศึกษาสายพันธุ์ของ PVY ที่ติดมากับหัวพันธุ์จากแหล่งต่างๆ และทำการสำรวจและศึกษาสายพันธุ์ของ PVY ในแปลงผลิตมันฝรั่งในประเทศไทย

จากการศึกษาสายพันธุ์ของ PVY ที่ติดมากับหัวพันธุ์ที่นำเข้าในปี 2547 จำนวน 64 รายการ พบ PVY^N ในหัวมันที่นำเข้าจากออสเตรเลีย 9 รายการ น้ำหนัก 986 ตัน และพบ PVY^0 ในหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา 1 รายการน้ำหนัก 44 ตัน ในปี 2548 ตรวจหัวพันธุ์ทั้งหมด 46 รายการ พบ PVY^N ในหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากสก็อตแลนด์ 1 รายการน้ำหนัก 75 ตันและอิสราเอล 1 รายการน้ำหนัก 50 ตัน

การสำรวจและศึกษาสายพันธุ์ของ PVY ในแปลงผลิตมันฝรั่งในฤดูการผลิตปี 2547/48ในท้องที่จังหวัดเชียงใหม่ ตาก และสกลนคร ทั้งหมดจำนวน 31 แปลง พื้นที่ปลูก 490 ไร่ พบ PVY^N 15 แปลง ในทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจ โดยพื้นที่ที่พบทั้งหมด 283 ไร่ ส่วน PVY^0 พบ 5 แปลง พื้นที่ปลูก 81 ไร่ ในท้องที่จังหวัดเชียงใหม่ และตาก และ PVY^N + PVY^0 2 แปลง พื้นที่ 10 ไร่ ฤดูการผลิตปี 2548/49 สำรวจแปลงมันฝรั่งในจังหวัดเชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำพูน และหนองคาย จำนวน 38 แปลง พื้นที่ปลูก 2,050 ไร่ พบ PVY^N 7 แปลง ในพื้นที่ 1,617 ไร่ ซึ่งพบในทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจ ส่วน PVY^0 พบที่จังหวัดเชียงใหม่เพียง 1 แปลง ในพื้นที่ 2 ไร่ และ PVY^N + PVY^0 8 แปลงพื้นที่ 72ไร่ ที่จังหวัดตาก โดยผลการสำรวจและศึกษาไม่พบ PVY^Cในแปลงมันฝรั่งในประเทศไทย

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

Potato virus Y (PVY) เป็นไวรัสสาเหตุโรคของมันฝรั่ง พริก ยาสูบ และมะเขือเทศ ซึ่งพบระบาดทุกแหล่งทั่วโลก ในประเทศไทยพบระบาดทั่วไปในแหล่งปลูกมันฝรั่ง ไวรัสชนิดนี้สามารถถ่ายทอดโดยวิธีสัมผัส โดยแมลงพาหะ และโดยผ่านทางหัวพันธุ์ จากผลการตรวจศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศพบ PVY ปนเปื้อนมากับหัวพันธุ์ในเปอร์เซ็นต์สูง เมื่อเกษตรนำหัวพันธุ์ไปปลูกทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคอย่างรวดเร็ว เนื่องจากสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยเหมาะต่อการเจริญของเพลี้ยอ่อนซึ่งเป็นพาหะของไวรัส มีรายงานว่า เชื้อไวรัสนี้ทำให้ผลผลิตลดลงสูงถึง 80% (ธีระ, 2532 ; CPC, 2005) แต่เนื่องจาก PVY เป็นไวรัสที่มีรายงานพบในประเทศไทยแล้วจึงไม่สามารถกำหนดให้เป็นศัตรูพืชกักกันได้ เว้นแต่ว่าจะมีข้อมูลทางด้านวิชาการที่เป็นหลักฐานว่ามีความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของ PVY ในประเทศไทยและ PVY ในแหล่งผลิตหัวพันธุ์ ณ ประเทศส่งออก

ปัจจุบันนี้มีรายงานพบสายพันธุ์ของ PVY ถึง 3 สายพันธุ์ คือ common strain (PVY^{0}) พบแพร่ระบาดทุกแห่งทั่วโลก stipple-streak strain (PVY^{C}) พบที่ออสเตรเลีย เอควาดอร์ ยุโรป อเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ และนิวซีแลนด์ tobacco veinal necrosis strain (PVY^{N}) พบระบาดในแอฟริกา ยุโรป นิวซีแลนด์ และอเมริกาใต้ นอกจากนี้ยังมีรายงาน subgroup ใหม่คือ PVY^{NTN} ซึ่งเป็น subgroup ของ PVY^{N} พบในประเทศแถบทวีปยุโรป อิสราเอลและเลบานอน PVY^{NTN}ทำให้เกิดลักษณะอาการที่แตกต่างจาก PVY^{N} คือเกิดอาการ แผลเซลล์ตาย (necrosis) ที่หัวมันฝรั่ง (CPC, 2005) ในประเทศไทยมีรายงานพบ PVY ทั้งในมันฝรั่ง มะเขือเทศ พริกและยาสูบ แต่ยังไม่มีรายงานการศึกษาว่าเป็นสายพันธุ์ใด

ด้วยเหตุที่ประเทศไทยไม่สามารถผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งได้เพียงพอกับความต้องการสำหรับใช้ทำพันธุ์ปลูก จำเป็นต้องนำเข้าหัวพันธุ์จากต่างประเทศเป็นจำนวนนับพันตันเป็นประจำทุกปี จึงนับว่ามีความเสี่ยงเป็นอย่างมากต่อการนำเข้าหัวพันธุ์ที่อาจมีเชื้อ PVY สายพันธุ์ใหม่ๆติดเข้ามา งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาสายพันธุ์ของ PVY ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ และสายพันธุ์ของ PVY จากแปลงผลิตมันฝรั่งในประเทศเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการกำหนดศัตรูพืชกักกัน และกำหนดมาตรการทางด้านสุขอนามัยพืชเพื่อการควบคุมการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งให้มีประสิทธิภาพสามารถป้องกัน PVY สายพันธุ์อื่นจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาระบาดในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ชุดตรวจสอบ (PathoScreen Kit) PVY, PVY^{N}, PVY^{C} และ PVY^{0+C} ของบริษัท Agdia Incorperated
2. โรงเรือนปลูกพืชที่มีตาข่ายป้องกันแมลง
3. วัสดุอุปกรณ์ในการปลูกพืช
4. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างพืช

วิธีการ

1. **สืบค้นข้อมูลของสายพันธุ์ของ** PVY

สืบค้นข้อมูลของสายพันธุ์ของ PVY เช่น ลักษณะอาการ แหล่งแพร่ระบาด พืชอาศัยและวิธีการจัดจำแนกสายพันธุ์เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการวิเคราะห์ผลการวิจัย

2. **ศึกษาสายพันธุ์** PVY **ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้า**

2.1 สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ดำเนินการสุ่ม 2 ครั้ง ครั้งที่ 1สุ่ม ณ ด่านที่นำเข้าโดยเจ้าหน้าที่จากกลุ่มวิจัยการกักกันพืชร่วมกับเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชที่นำเข้าเพื่อใช้เป็นตัวอย่างสำหรับตรวจสอบ (working sample) ครั้งที่ 2 สุ่มที่ห้องเย็นของผู้นำเข้าซึ่งกักหัวมันฝรั่งไว้โดยเจ้าหน้าที่ด่านตรวจพืชที่อยู่ในท้องที่ เพื่อเก็บไว้เป็น reference sample วิธีการสุ่มตัวอย่างขึ้นกับลักษณะการบรรจุหัวมันฝรั่งดังนี้

: บรรจุกระสอบๆละ 25 กิโลกรัม สุ่ม 10 กระสอบๆละ 20 หัว รวม 200 หัว

: bulk/bulk bag สุ่ม 40-50 หัว ต่อ 1 bulk/bulk bag รวม 200 หัว

ศึกษาและจำแนกสายพันธุ์ของ PVY

2.2.1 เพาะหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 200 หัวให้งอกต้นอ่อน(sprout) ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร กำหนดเลขที่ตัวอย่างกำกับหัวพันธุ์มันฝรั่งแต่ละหัว เตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการศึกษา โดยใช้มีดที่ผ่านการกำจัดเชื้อด้วย แอลกอฮอล์ 70% ตัดต้นอ่อน โดยตัด 1 ต้น ต่อหัว และจุ่มมีดในแอลกอฮอล์ 70% เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ PVY ทุกครั้งก่อนตัดต้นอ่อนจากหัวใหม่ จากนั้นรวมต้นอ่อน10 ต้นเป็น 1 ตัวอย่าง

2.2.2 นำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจหาเชื้อ PVY ด้วยวิธี ELISA โดยใช้ชุดตรวจสอบ (PathoScreen Kit) ของบริษัท Agdia Incorperated ตามวิธีการดังนี้

1) บดตัวอย่างใน extraction buffer อัตรา 1:10 (น้ำหนัก / ปริมาตร)

2) ดูดน้ำคั้นตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในแต่ละหลุมของจานทดสอบ (microtiter plate) โดยให้มีพืชปกติและพืชเป็นโรคเป็นหลุมเปรียบเทียบ

3) บ่มจานทดสอบในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หรืออุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนานข้ามคืน

4) เทน้ำคั้นที่บ่มไว้ทิ้ง จากนั้นล้างหลุมให้สะอาดด้วย PBS-T 5-7 ครั้ง

5) เตรียม antirabbit IgG alkaline phosphate conjugate ตามอัตราที่กำหนด นำไปหยอดลงในหลุมที่ล้างแล้ว หลุมละ 100 ไมโครลิตร

6) บ่มจานทดสอบในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

7) ล้างจานทดสอบตามขั้นตอนข้างต้น

8) เตรียม p – nitrophynyl phosphate ใน substrate buffer ในอัตรา 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาหยอดลงในหลุมที่ล้างแล้วหลุมละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในที่มืด

9) เมื่อหลุมพืชเป็นโรค (positive control) มีสีเหลืองปรากฏเห็นชัดด้วยตาเปล่า ให้หยุดปฏิกิริยาด้วย 3N NaOH หลุมละ 25 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวัดความเข้มของสีที่เกิดขึ้น โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 405 นาโนเมตร (A_{405}) ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงกว่าพืชปกติ (negative control) 2 เท่าขึ้นไป ถือว่าปฏิกิริยาเป็นบวก

2.2.3 นำตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ PVY มาจำแนกสายพันธุ์โดยชุดตรวจสอบ (PathoScreen Kit) PVY^{N}, PVY^{c} และ PVY^{0+C} โดยตัดต้นอ่อน ตามวิธีการข้างต้น จากนั้นแยกต้นอ่อนแต่ละหัวเป็น 1 ตัวอย่าง

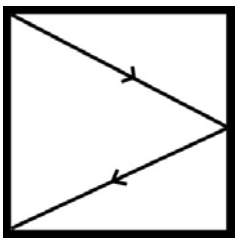
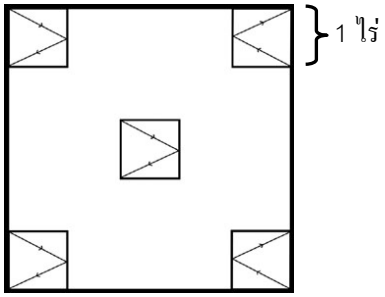
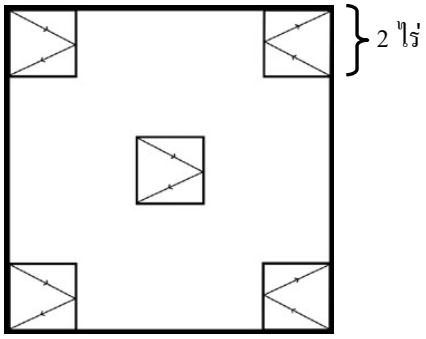
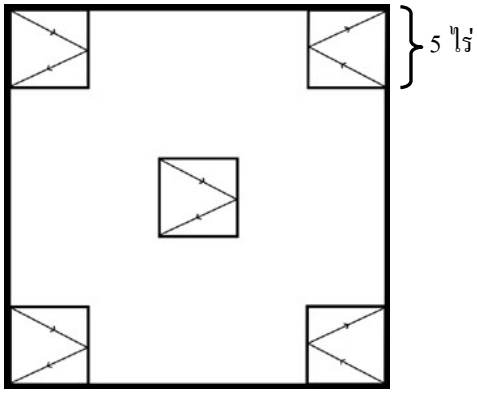
3. สำรวจและศึกษาสายพันธุ์ PVY ในแปลงผลิตมันฝรั่งในประเทศไทย

3.1 วิธีการสำรวจและเก็บตัวอย่าง

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งที่แสดงลักษณะอาการด่างจากแปลงผลิตมันฝรั่งในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำพูน สกลนคร และหนองคาย โดยช่วงการผลิตในฤดูฝนทำการสำรวจระหว่างเดือน กรกฎาคม- กันยายน สำหรับช่วงการผลิตในฤดูหนาวสำรวจระหว่างเดือนธันวาคม- กุมภาพันธ์ โดยเก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งที่อายุ 60 วันขึ้นไป ตามแผนการสำรวจตามภาพที่ 1

3.2 ศึกษาสายพันธุ์ของ PVY

จำแนกสายพันธุ์ PVY โดยใช้ชุดตรวจสอบ (PathoScreen Kit) PVY^{N} , PVY^{C} , PVY^{0+C} ตามวิธีการในข้อ 1.2.2

ขนาดแปลง	วิธีการสำรวจ
1-10 ไร่ 	เดินสำรวจ โดยเริ่มจากหัวแปลงด้านหนึ่งไปจนสุดอีกด้าน แล้วเดินย้อนกลับออกมาเป็นรูปตัว V
11-50 ไร่ 	สุ่มพื้นที่ 5 แปลงย่อย แปลงละ 1 ไร่ ที่บริเวณมุมทั้ง 4 ด้าน และบริเวณกลางแปลง โดยเดินสำรวจแต่ละแปลงย่อยเป็นรูปตัว V
51-100 ไร่ 	สุ่มพื้นที่ 5 แปลงย่อย แปลงละ 2 ไร่ ที่บริเวณมุมทั้ง 4 ด้าน และบริเวณกลางแปลง โดยเดินสำรวจแต่ละแปลงย่อยเป็นรูปตัว V
> 100 ไร่ 	สุ่มพื้นที่ 5 แปลงย่อย แปลงละ 5 ไร่ ที่บริเวณมุมทั้ง 4 ด้าน และบริเวณกลางแปลง โดยเดินสำรวจแต่ละแปลงย่อยเป็นรูปตัว V

ภาพที่ 1 แผนการสำรวจและเก็บตัวอย่าง PVY ในแปลงผลิตมันฝรั่ง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2546 ถึง เมษายน 2549

สถานที่ทดลอง : กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. **สืบค้นข้อมูลของสายพันธุ์ของ** PVY

Potato virus Y (PVY) จัดอยู่ในสกุล *Potyvirus* วงศ์ Potyviridae (Pringle,1999) ซึ่งเป็นกลุ่มของไวรัสพืชที่มีสมาชิกมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มากที่สุดและ เป็นเชื้อไวรัสที่มีลักษณะอนุภาคเป็นท่อนยาวคด (flexuous rod) ขนาดประมาณ 11 x 730 นาโนเมตร

ลักษณะอาการ ลักษณะอาการที่เกิดกับมันฝรั่งโดยทั่วไปคือใบบิดเบี้ยว ปลายใบม้วนตกลง ต้นแคระแกรน เส้นใบแห้งตาย (vein necrosis) ถ้าอาการรุนแรงใบจะแห้งตายห้อยติดกับต้น (leaf - drop streak) ในพันธุ์ที่ทนทานจะแสดงอาการด่างไม่ชัดเจน (mild mosaic) ความรุนแรงของอาการขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อ พันธุ์ของมันฝรั่ง และสภาพแวดล้อม de Bokx and Huttinga (1981) จัดจำแนกสายพันธุ์ของ PVY ที่พบในมันฝรั่งจากอาการที่เกิดขึ้นบนพืชทดสอบได้ 3 สายพันธุ์ คือ

PVY^0 strain (common stain) อาการที่เกิดขึ้นกับมันฝรั่งนั้นเกิดได้หลายลักษณะขึ้นกับพันธุ์มันฝรั่ง ได้แก่ อาการเส้นใบแห้งตาย ใบด่างปะ หรือใบเหลือง (yellowing) ใบแห้งและเหี่ยวห้อยลง (leaf-dropping) บางครั้งมันฝรั่งอาจตายได้ เมื่อนำหัวพันธุ์ที่เป็นโรคไปปลูกในปีถัดไปพบว่าลำต้นมันฝรั่งแคระแกรน (dwarf) และผิวแตกง่าย (brittle) ผิวใบย่น (crinkle) บางครั้งพบแผลแห้งตายตามใบและลำต้น นอกจากนี้ PVY สามารถเข้าทำลายร่วมกับ *potato virus X* (PVX) ทำให้เกิดความเสียหายมาก ในประเทศสหรัฐอเมริกาเรียกโรคนี้ว่า rugose mosaic เชื้อไวรัสนี้หากเข้าทำลายยาสูบ *Nicotiana tabacum* พบเพียงลักษณะอาการด่างประเพียงเล็กน้อย (mild mottle)

PVY^N strain (tobacco veinal necrosis strain) เป็นสายพันธุ์ที่เมื่อเข้าทำลายยาสูบ *N. tabacum* แล้วทำให้ยาสูบแสดงอาการเส้นใบแห้งตาย สำหรับอาการที่พบในมันฝรั่งนั้น จะเกิดอาการด่างประเพียงเล็กน้อยจนถึงรุนแรง พบได้ในช่วงปลายฤดูปลูก สำหรับมันฝรั่งบางสายพันธุ์

เกิดอาการจุดหรือวงแผลเซลตายที่ใบซึ่งพบได้ยาก เมื่อนำหัวพันธุ์ที่เป็นโรคไปปลูกต่ออาการด่างจะชัดเจนยิ่งขึ้น พบได้ในช่วงต้นฤดูปลูกขึ้นกับสภาพอากาศ สายพันธุ์นี้สามารถถ่ายทอดโรคได้โดยเพลี้ยอ่อน

PVY^{C} strain (stripple streak strain หรือ *potato virus C* (PVC)) ลักษณะอาการบนมันฝรั่งพบได้หลากหลายขึ้นกับพันธุ์มันฝรั่ง เมื่อเชื้อเข้าทำลายในช่วงฤดูปลูกปีแรกจะเกิดอาการใบด่าง ใบย่น และอาการแผลหรือขีดแห้งตายบนใบ รวมทั้งก้านใบและลำต้น (stripple streak) เมื่อนำหัวพันธุ์ที่เป็นโรคปลูกในปีถัดไปพบอาการใบด่างและผิวใบไม่เรียบ อาจพบอาการ necrosis ในหัวมันฝรั่ง ซึ่งลักษณะอาการที่เกิดขึ้นบนมันฝรั่งและยาสูบ *N. tabacum* คล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อ PVY^{0} เข้าทำลาย PVY^{C} ไม่สามารถถ่ายทอดโดยเพลี้ยอ่อน *Myzus persicae* ต่อมามีรายงานว่า พบ subgroup ของเชื้อ PVY อีก 3 subgroup ได้แก่

PVY^{NTN} พบครั้งแรกในประเทศฮังการีในปี 1980 (Beczner et al., 1984) ปัจจุบันพบเชื้อแพร่กระจายทั่วทวีปยุโรป (LeRomancer et al., 1994) จัดอยู่ใน subgroup ของ PVY^{N} โดยที่เชื้อ PVY^{NTN} สามารถทำให้ยาสูบ *N. tabacum* แสดงอาการเส้นใบแห้งตายได้เช่นเดียวกับสายพันธุ์ PVY^{N} และยังทำให้เกิดอาการแผลเซลล์ตายลักษณะเป็นวง (necrotic ringspot) บนหัวพันธุ์มันฝรั่ง โดยอาการจะชัดเจนยิ่งขึ้นในโรงเก็บ ซึ่งเรียกอาการนี้ว่า potato tuber necrotic ringspot disease

PVY^{N} -W (มาจากคำว่า Wilga) มีรายงานครั้งแรกเมื่อปี 1984 ที่ประเทศโปแลนด์ สายพันธุ์นี้เป็นไอโซเลท ของ PVY^{N} สามารถชักนำให้มันฝรั่งและยาสูบแสดงอาการโรคได้เหมือนกับ PVY^{N} มีความสามารถในการเข้าทำลายพืชได้อย่างกว้างขวาง ความรุนแรงของอาการโรคที่เกิดขึ้นน้อยกว่าสายพันธุ์ PVY^{N} แต่ลักษณะปฏิกิริยาทางเซรุ่มวิทยาเหมือนกับ PVY^{0} (Chrzanowska,1991)

PVY^{Z} เป็นไอโซเลทของ PVY^{0} ปัจจุบันยังมีรายงานไม่มากนัก PVY^{Z} เป็นสายพันธุ์ที่เมื่อเข้าทำลายแล้วทำให้มันฝรั่งเกิดความต้านทานอย่างเฉียบพลัน (hypersensitive resistance) ต่อการเข้าทำลายของเชื้อ (Jone,1990)

<u>พืชอาศัยของ PVY</u>

PVY สามารถเข้าทำลายมันฝรั่งและพืชส่วนใหญ่ในวงศ์ Solanaceae ได้แก่ *Capsicum annuum, C. frutescens, Lycium sp., Lycopersicon esculentum, Nicotina glutinosa, N. tabacum, N. tabacum cv. 'Samsun', N. tabacum cv. 'White Burley', Physaris floridana, Solanum chacoense, S. demissum, S. demissum x S. tuberosum, S. tuberosum, S. chocclo, S. leptostigma* นอกจากนี้ยังสามารถเข้าทำลายพืชในวงศ์

Chenopodiaceae ได้แก่ *Chenopodium amaranticolor* และ *C. quinoa* และวงศ์ Commelinaceae ได้แก่ *Tinantia erecta*

ลักษณะอาการบนพืชทดสอบของ PVY

Capsicum spp. ภายหลังปลูกเชื้อจะปรากฏอาการด่างประเพียงเล็กน้อย แต่หาก PVY เข้าทำลายร่วมกับเชื้อไวรัสอื่นจะแสดงอาการด่างประอย่างรุนแรง

Chenopodium amaranticolor และ *C. quinoa* แสดงอาการจุดแผลตายเฉพาะแห่ง ภายหลังปลูกเชื้อแล้ว 5-7 วัน (de Bokx and Huttinga,1981)

Datura metel แสดงอาการด่างอย่างรุนแรง ภายหลังปลูกเชื้อแล้ว 7-10 วัน

D. stramonium ใช้จำแนก PVY ออกจากเชื้อไวรัสอื่นโดยไม่สามารถตรวจพบอาการหากทดสอบด้วย PVY ทุกสายพันธุ์ ขณะที่จะแสดงอาการด่างเมื่อทดสอบด้วย *potato virus X* (PVX)

Gomphrena globosa ใช้จำแนก PVY ออกจากเชื้อไวรัสอื่นโดยไม่สามารถตรวจพบอาการหลังจากปลูก PVY ขณะที่แสดงอาการแผลจุดเมื่อทดสอบด้วยเชื้อ PVX

Lycopersicon esculentum ปรากฏอาการด่างประเพียงเล็กน้อย แต่จะแสดงอาการด่างประอย่างรุนแรงเมื่อเข้าทำลายร่วมกับเชื้อไวรัสชนิดอื่น (Buchen-Osmond,1987)

Nicotiana glutinosa แสดงอาการใบด่างภายหลังปลูกเชื้อ 7-14 วัน โดยพบอาการด่างเพียงเล็กน้อยจนถึงขั้นรุนแรง อาการด่างเริ่มปรากฏที่ยอดและใบยอดเริ่มหงิก หลังจากนั้น 2-3 วัน อาการด่างจะปรากฏที่ใบล่างถัดจากใบยอด ต่อมาอีก 1 สัปดาห์ อาการจะแพร่กระจายทั่วต้น (นันทนา , 2527)

N. tabacum แสดงอาการหลังจากปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ ลักษณะอาการแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อ ซึ่งสามารถนำไปใช้แยกความแตกต่างระหว่าง PVY^0 และ PVY^C กับ PVY^N โดยที่ PVY^0 และ PVY^C ปรากฏอาการใบด่างในยาสูบพันธุ์ Samsun NN และ White Burley ขณะที่ PVY^N ทำให้เกิดอาการเส้นใบใส (vein clearing) ใบโค้งลงเล็กน้อย ตามด้วยอาการจุดแผลแห้งตายสีน้ำตาลหรือขาว บริเวณที่เกิดอาการแห้งตายอยู่ที่เส้นกลางใบซึ่งจะพัฒนาเป็นสีน้ำตาล ใบล่างจะเหี่ยวแห้งและห้อยลงเหลือแต่ใบยอด ส่วนลำต้นแสดงอาการแผลแห้งตายเช่นกัน (de Bokx and Huttinga,1981)

Physalis floridana สามารถใช้แยกความแตกต่างสายพันธุ์ของเชื้อได้เช่นกัน โดยสายพันธุ์ PVY^0 และ PVY^C แสดงอาการใบแห้งตายขณะที่ PVY^N พบอาการด่างประเพียงเล็กน้อย (de Bokx and Huttinga,1981)

Solanum demissum 'A' ใช้จำแนกเชื้อ PVY จากไวรัสชนิดอื่นโดยจะแสดงอาการด่างประ เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ PVY แต่จะแสดงอาการจุดแผลแห้งตายหากทดสอบกับ *potato virus A* (PVA) ภายหลังปลูกเชื้อแล้ว 3-5 วัน (de Bokx and Huttinga,1981)

S. tuberosum หากทดสอบด้วย PVY^{C} กับหัวมันฝรั่งพันธุ์ Duke of York จะปรากฏอาการจุดแผลแห้งตาย ขณะที่ PVY^{N} และ PVY^{0} ทำให้เกิดอาการด่างประ นอกจากนี้สามารถใช้มันฝรั่งพันธุ์ Saco ในการแยกเชื้อความแตกต่างระหว่าง PVX และ PVY เนื่องจากมันฝรั่งสายพันธุ์นี้มีความต้านทานสูงต่อเชื้อ PVX ทำให้เกิดอาการแผลจุด ขณะที่ PVY จะทำให้เกิดอาการด่างประ (Buchen-Osmond,1987)

Tinantia erecta เป็นพืชที่ใช้จำแนกเชื้อ PVY ออกจากเชื้อไวรัสอื่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ PVY จะแสดงอาการอย่างรุนแรง ขณะที่ทดสอบด้วย *Potato aucuba mosaic virus, potato virus* M (PVM) และ *potato virus s*(PVS) ไม่พบอาการ (immune) (de Bokx and Huttinga,1981)

<u>การแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส *Potato virus Y*</u>

PVY สามารถถ่ายทอดได้โดยวิธีกล (mechanical technique) จากการปลูกเชื้อโดยใช้น้ำคั้นพืชที่แสดงอาการโรค การขยายพันธุ์ โดยการทาบกิ่งหรือการปลูกด้วยหัวพันธุ์ และโดยแมลงพาหะในกลุ่มของเพลี้ยอ่อนอย่างน้อย 25 ชนิด ในแบบ non-persistent *Myzus persicae* เป็นเพลี้ยอ่อนที่มีประสิทธิภาพในการถ่ายทอดได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังมี *Aphid fabae, Macrosiphum euphorbiae, M. certus, Phorodon humuli* และ *Rhopalosiphum insertum* (Kennedy et al.,1962) ระยะเวลาที่เหมาะสมในการรับเชื้อคือ 15-60 วินาที จากนั้นเพลี้ยอ่อนจะสามารถถ่ายทอดเชื้อ ได้ภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากได้รับเชื้อ โดยใช้เวลาในการดูดกินพืชเพื่อถ่ายทอดเชื้อ 30-60 วินาที ความสามารถในการถ่ายทอดโรคสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโรคไวรัสในพืช (Bagnall and Bradley,1958) สำหรับความสามารถในการถ่ายทอดทางเมล็ดพันธุ์ยังไม่มีรายงาน

<u>แหล่งแพร่ระบาด</u>

PVY สามารถแพร่ระบาดได้กว้างขวางทั่วโลกในทุกพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง และพื้นที่ที่มีการปลูกพริก ยาสูบ และมะเขือเทศ มีรายงานแหล่งแพร่ระบาดของ PVY สายพันธุ์ต่างๆ คือ (CPC, 2005)

PVY^{0} พบแพร่ระบาดทุกแห่งทั่วโลก

PVY^{C} พบที่ออสเตรเลีย เอควาดอร์ ยุโรป อเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ และนิวซีแลนด์

PVY^{N} พบที่แอฟริกา ยุโรป นิวซีแลนด์ และอเมริกาใต้ (อาร์เจนตินา ชิลี โคลัมเบีย เปรู)

PVY^{NTN} พบที่ประเทศแถบทวีปยุโรป (ออสเตรีย เบลเยียม สาธารณรัฐเชค เดนมาร์ค ฝรั่งเศส ฮังการี อิตาลี เนเธอร์แลนด์) อิสราเอลและเลบานอน

<u>วิธีการจำแนกสายพันธุ์ของ PVY</u>

Rose et al. (1987) ตรวจสอบไวรัส PVY^N มันฝรั่งจากแปลงปลูก Scottish Seed Potato Classication Scheme ด้วยวิธี ELISA โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี พบว่า สามารถตรวจสอบ PVY^N ได้ ขณะที่การใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีไม่สามารถแยก PVY^0 ออกจาก PVY^N ได้ จึงได้นำวิธี ELISA โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีไปใช้ในการตรวจสอบเชื้อ PVY^N ในแปลงปลูกทั่วไป

Baulcombe and Fernandez-Northcote (1988) ตรวจวินิจฉัยสายพันธุ์ของ PYX และ PVY ด้วยเทคนิค nucleic acid spot hybridization

Weidemann and Maiss 1996 Glais *et al.*, 1996 ศึกษาวิธีการจำแนก PVY^N และ PVY^{NTN} โดยเทคนิค reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) และ immonocapture polymerase chain reaction(IC- PCR)

Gray et al. (2003) ได้ทำการสำรวจและประเมินความรุนแรงของโรคใบด่างจาก PVY ในหัวมันฝรั่งใน Maine and New Yoke. โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างจากต้นมันฝรั่งจำนวน 1,330 ต้น จาก 90 ฟาร์ม 300 ตัวอย่าง เก็บจากต้นที่มีอาการด่างอย่างชัดเจน 1,030 ตัวอย่าง พบว่าเป็นเชื้อ PVY 212 ตัวอย่าง ได้นำมาตรวจสอบจำแนกสายพันธุ์ โดยใช้ monoclonal antibody ที่เฉพาะเจาะจงกับ PVY^N และตรวจสอบผลด้วยการปลูกเชื้อลงบนต้นยาสูบ พบว่านอกจากจะเป็น PVY^N แล้วยังพบว่ามี PVY^0 และมี $PVY^{N:O}$ รวมกันอยู่ด้วย $PVY^{N:O}$ เป็น สายพันธุ์ ที่มีองค์ประกอบของทั้ง gene PVY^N และ PVY^0 ไม่เกิดปฏิกิกริยากับ monoclonal antibody ต่อ PVY^N แต่ทำให้เกิดอาการเส้นใบไหม้เป็นสีน้ำตาลกับใบยาสูบคล้ายกับ PVY^N

<u>การกำหนดให้ PVY เป็นศัตรูพืชกักกัน</u>

ถึงแม้ว่า PVY จะเป็นเชื้อที่มีรายงานการระบาดทั่วโลกแต่ประเทศผู้ผลิตมันฝรั่งหลายประเทศได้กำหนดให้ PVY เฉพาะบางสายพันธุ์เป็นศัตรูพืชกักกัน ยกตัวอย่างเช่น PVY^{NTN} เป็นศัตรูพืชกักกัน(quarantine pest) ของประเทศอิสราเอล PVY^N เป็นศัตรูพืชควบคุม (regulated pest) ของ สหรัฐอเมริกา และ PVY^C PVY^N และ PVY^{NTN} เป็นศัตรูพืชควบคุมของประเทศแคนาดา ถึงแม้ว่าจะมีรายงานพบ PVY^N ในบางพื้นที่ของทั้งประเทศแคนาดาและสหรัฐอเมริกาแต่มีการควบคุมอย่างเป็นทางการภายใต้ Canada/USA PVY^N Management Plan (Anonymous, 2006 a;b)

2. ศึกษาสายพันธุ์ PVY ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้า

การศึกษาสายพันธุ์ของ PVY ที่ติดมากับหัวพันธุ์ที่นำเข้าในปี 2547 จำนวน 64 รายการ พบ PVY^N ในหัวมันที่นำเข้าจากออสเตรเลีย 9 รายการ น้ำหนักรวม 986 ตัน โดยมีอัตราการปนเปื้อน ตั้งแต่ 2%-80% (ตารางที่ 1) และตรวจพบ PVY^0 ในหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา 1 รายการน้ำหนัก 44 ตัน อัตราปนเปื้อน 4.7% สำหรับการนำข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งในปี 2548 จากการ

ตรวจหัวพันธุ์ทั้งหมด 46 รายการ พบ PVY^N ในหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากสก็อตแลนด์ 1 รายการ น้ำหนัก 75 ตัน อัตราปนเปื้อน 2.5% และอิสราเอล 1 รายการ น้ำหนัก 50 ตัน อัตราปนเปื้อน 4% (ตารางที่ 2)

การตรวจหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ พบว่ามีการปนเปื้อน PVY^N ในหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากออสเตรเลีย สก็อตแลนด์ และอิสราเอล โดยเฉพาะอย่างยิ่งหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากออสเตรเลียในปี 2547 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ปนเปื้อนสูงมาก ทั้งๆที่ออสเตรเลียไม่มีเคยมีรายงานพบ PVY^N และตั้งแต่มีการนำเข้าหัวพันธุ์จากออสเตรเลียมา ก็ไม่เคยมีการตรวจพบ PVY ปนเปื้อนสูงเช่นนี้มาก่อน จึงสันนิษฐานได้ว่าออสเตรเลียน่าจะได้รับเชื้อมาจากแหล่งอื่น แล้วจึงเกิดการแพร่ระบาดเข้าไปในระบบการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าจากข้อมูลสายพันธุ์ของ PVY ที่มีรายงานพบในออสเตรเลียคือ PVY^O และ PVY^C เป็นข้อมูลที่ไม่ตรงกับสถานการณ์การระบาดของโรคในปัจจุบัน ดังนั้นจึงควรแจ้งให้ออสเตรเลียรู้ว่าประเทศไทยตรวจพบ PVY^N ปนเปื้อน มากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากออสเตรเลีย และขอให้ออสเตรเลียจัดทำข้อมูลของสายพันธุ์ของ PVY ที่พบให้ถูกต้องและเป็นปัจจุบันเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศไทยต่อไป

ส่วนหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสก็อตแลนด์และอิสราเอล ถึงแม้ว่าจะมีการตรวจพบ PVY^N แต่เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนไม่เกินเงื่อนไขที่กำหนด แต่ก็มีความจำเป็นต้องสุ่มตรวจหัวพันธุ์ที่นำเข้าเป็นครั้งคราวเพื่อเป็นการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของเชื้อ PVY ที่อาจติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งได้

ผลจากการที่มีการตรวจพบศัตรูพืชติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศในปี 2547กรมวิชาการเกษตรจึงได้กำหนดให้มีระบบการตรวจประเมินระบบการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง (Seed Certification Scheme) ณ ประเทศส่งออก เพื่อความเชื่อมั่นว่ามีกระบวนการผลิตที่ได้มาตรฐาน จากการตรวจประเมิน พบว่าในระบบการผลิตและตรวจรับรองการปลอดโรคของหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศต่างๆ เช่นออสเตรเลีย สก็อตแลนด์ อเมริกา จะเริ่มจากต้นปลอดโรคซึ่งได้มาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการจากนั้นก็จะนำต้นปลอดโรคไปขยายในโรงเรือนที่มีระบบป้องกันโรคและแมลง จากนั้นจึงนำไปขยายในแปลงผลิตหัวพันธุ์ต่อไป ซึ่งในขั้นตอนการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ จะมีกระบวนการตรวจสอบเชื้อไวรัสอย่างละเอียด เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคที่จะนำไปขยายเพิ่มปริมาณต่อไป แต่ในขั้นตอนการผลิตในระดับแปลงจะมีเจ้าหน้าที่จากหน่วยงานที่ทำหน้าที่ตรวจและรับรองการปลอดโรคไปทำการตรวจแปลงผลิตให้ได้มาตรฐานตามที่กำหนดไว้ ซึ่งการตรวจศัตรูพืชจะใช้วิธีสังเกตลักษณะอาการโดยไม่ได้มีการเก็บตัวอย่างไปตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการ ทำให้ผลการตรวจและออกใบรับรองการปลอดโรคอาจเกิดข้อผิดพลาดได้ ดังนั้นในปี 2548 กรมวิชาการเกษตรได้ปรับปรุงเงื่อนไขการการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากต่างประเทศโดยกำหนดให้มีการปนเปื้อน ของ PVY และ PLRV ระดับที่ยอมรับได้ ที่ 4%

โดยที่จะต้องมีการสุ่มตัวอย่างไปตรวจ ในห้องปฏิบัติการ และแนบผลการตรวจมาด้วยทุกครั้ง ซึ่งมีผลทำให้การนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งในปี 2548 มีการตรวจพบ PVY ปนเปื้อนเพียง 2 รายการ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนไม่เกินเงื่อนไขการนำเข้าที่กำหนดไว้

3. สำรวจและศึกษาสายพันธุ์ PVY ในแปลงมันฝรั่งในประเทศไทย

การสำรวจแปลงผลิตมันฝรั่งในฤดูการผลิตปี 2547/48ในท้องที่จังหวัดเชียงใหม่ ตาก และสกลนคร ทั้งหมดจำนวน 31 แปลง พื้นที่ปลูก 490 ไร่ พบ PVY^N 15 รายพื้นที่ 283 ไร่โดยพบ ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ตากและสกลนคร ส่วน PVY^0 พบ5 แปลง พื้นที่ปลูก 81 ไร่ ที่จังหวัดเชียงใหม่ และตาก PVY^N + PVY^0 2 แปลงพื้ที่ 10 ไร่ ที่จังหวัดเชียงใหม่ และตาก (ตารางที่ 3) ฤดูการผลิตปี 2548/49 สำรวจแปลงมันฝรั่งในจังหวัดเชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำพูน และหนองคาย จำนวน 38 แปลง พื้นที่ปลูก 2,050 ไร่ พบ PVY^N 7 แปลง ในพื้นที่ 1,617 ไร่ ซึ่งพบในทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจ ส่วน PVY^0 พบ 1 แปลง พื้นที่ 2 ไร่ที่จังหวัดเชียงใหม่ และ PVY^N + PVY^0 พบที่จังหวัดตาก 8 แปลง ในพื้นที่ 72 ไร่ (ตารางที่ 4)

จากการผลสำรวจแปลงผลิตมันฝรั่งในประเทศไทยสายพันธุ์ของ PVY ที่พบคือ PVY^0 และ PVY^N โดยส่วนใหญ่สายพันธุ์ของ PVY ที่ตรวจพบเป็น PVY^N ซึ่งพบทั่วไปในทุกจังหวัดที่ทำการสำรวจทั้งในแปลงที่ใช้หัวพันธุ์จากต่างประเทศและหัวพันธุ์ในประเทศ ส่วน PVY^0 พบเฉพาะในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และตาก ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการปลูกมันฝรั่งติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน และเกษตรกรมักจะปลูกโดยใช้หัวพันธุ์จากต่างประเทศและหัวพันธุ์ในประเทศในพื้นที่ใกล้เคียงกัน แปลงที่พบ PVY^0 ส่วนใหญ่เป็นแปลงที่ใช้หัวพันธุ์ในประเทศและแปลงที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียง นอกจากนี้ยังตรวจพบในสถานีทดลองของกรมวิชาการเกษตรทั้งที่อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่และอำเภอพบพระ จังหวัดตาก ซึ่งใช้หัวพันธุ์ที่เก็บต่อเนื่องกันมานานหลายปี

จากข้อมูลการสำรวจในเบื้องต้นนี้รวมกับผลการตรวจหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าว่ามีการตรวจพบ PVY^N ปนเปื้อนมากับหัวพันธุ์จากหลายประเทศซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาสายพันธุ์ ของ PVY ที่พบในประเทศไทยส่วนใหญ่จะพบ PVY^N มากกว่า PVY^0 ซึ่งมักจะพบในพื้นที่ที่มีการปลูกและเก็บหัวพันธุ์ไว้ใช้เองอย่างต่อเนื่องกันมาเป็นเวลานาน จึงสันนิษฐานได้ว่า PVY^O นั้นพบอยู่ในประเทศไทยมาก่อนเป็นเวลานานแล้ว ส่วน PVY^N ที่พบในแปลงผลิตมันฝรั่งนั้นติดมาจากหัวพันธุ์ที่นำเข้า

จากการติดตามตรวจสอบในแปลงผลิตพบว่าเมื่อเกษตรกรนำหัวพันธุ์ที่ปนเปื้อน PVY ในระดับที่ต่ำกว่า 4% ไปปลูก เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคในแปลงจะเพิ่มขึ้นเป็น 20-80% เนื่องจากเกษตรกรปลูกโดยผ่าแบ่งหัวพันธุ์เพื่อให้ได้ต้นจำนวนมากขึ้นโดยไม่มีการฆ่าเชื้อ ทำให้ไวรัสแพร่กระจายจากหัวที่เป็นโรคไปสู่หัวอื่นๆ และหากมีการเก็บหัวไว้ใช้ทำพันธุ์ในปีต่อไปอัตราการเป็นโรคในแปลงจะเพิ่มสูงถึง 100 % ชี้ให้เห็นว่า PVY สามารถแพร่กระจายได้ดีในสภาพแวดล้อม

ของประเทศไทย เนื่องจากมีพืชอาศัยและแมลงพาหะหลากหลายชนิด ดังนั้นแม้ว่า PVY เป็นสาเหตุโรคพืชที่มีรายงานพบในประเทศไทยแล้ว แต่ก็ควรมีการกำหนดมาตรการการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งให้มีการปนเปื้อนของเชื้อที่ยอมรับได้ในระดับที่จะไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ ซึ่งในปัจจุบันยังไม่สามารถประเมินความเสียหายของผลผลิตที่เกิดจากเชื้อ PVY ในสภาพพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของประเทศไทย เนื่องจากขาดข้อมูลด้านวิชาการมาสนับสนุน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาอย่างเร่งด่วน เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้เป็นข้อตกลงกับประเทศผู้ส่งออกหัวพันธุ์มันฝรั่งในการกำหนดเปอร์เซ็นต์การติดโรคของ PVY กับหัวพันธุ์ที่นำเข้า เพื่อป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับเกษตรกร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากศึกษาสายพันธุ์ของ PVY ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศและในแปลงผลิตในประเทศไทยระหว่างปี 2547 และ 2548 พบว่า

1. PVY^{N} ตรวจพบติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากออสเตรเลีย สก็อตแลนด์และอิสราเอลโดยมีเปอร์เซ็นต์ปนเปื้อน 2%-80%, 4% และ 2.5% ตามลำดับ

2. PVY^{0} ตรวจพบติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาโดยมีเปอร์เซ็นต์ปนเปื้อน 4.5%

3. สายพันธุ์ของ PVY ที่ตรวจพบในแปลงผลิตมันฝรั่ง คือ PVY^{N} และ PVY^{0} โดยยังไม่มีการตรวจพบ PVY^{C} ในพื้นที่ที่สำรวจ

ผลจากงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าที่ผ่านมามีการปนเปื้อนของเชื้อ PVY สายพันธุ์ common strain PVY^{O} และสายพันธุ์ tobacco veinal necrosis strain PVY^{N} มากับหัวพันธุ์มันฝรั่งเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย โดยยังไม่มีการตรวจพบ PVY^{C} ในประเทศไทย ดังนั้น **PVY^{C} จึงมีศักยภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย** ซึ่งมาตรการการจัดการขึ้นอยู่กับผลการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงของเชื้อต่อไป ส่วน PVY^{N} ที่พบทั้งในหัวพันธุ์ที่นำเข้าและในแปลงผลิตมันฝรั่งนั้น ในงานวิจัยนี้ยังไม่สามารถจำแนกได้ถึงระดับ subgroup ซึ่งจะต้องใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเทคนิคในการจัดจำแนก PVY^{NTN} ซึ่งเป็น subgroup ของ PVY^{N} เพื่อนำมาใช้ศึกษาและจัดจำแนก PVY^{N} ในประเทศไทยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นันทนา เกตุตรีกรณ์. 2527. วิธีการทางเซรุ่มวิทยาในการตรวจหา *Potato virus Y* (PVY) จากพืชที่ได้จากการ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและหัวพันธุ์มันฝรั่ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ. 84น.

ธีระ สูตะบุตร. 2532. โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของพืชสำคัญในประเทศไทย ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟันนี่พับบลิชชิ่ง กรุงเทพมหานคร. 310 น.

Anonymous, 2006 a. Pest Regulated by Canada. Canadian Food Inspection Agency. www.inspection.gc.ca/english/plaveg/protect/listpespare.shtml

Anonymous, 2006 b. Regulated Plant Pest List. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service. www.invasivespecies.org/RegulatedPest

Bagnall, R.H. and R.H.E. Bradley. 1958. Resistance to virus Y in the potato.Phytopathol. 48:121-125.

Baulcombe, DC. and EN. Fernandez-Northcote, 1988. Detection of strains of potato virus X and of a board spectrum of Potato virus Y isolate.

Beczner, L., H. Horvath, I. Romhanji and H. Forster. 1984. Studies on the etiology of tuber necrotic ringspot disease in potato. Potato Res. 27:339-352.

Buchen-Osmond, C. 1987. Potato virus Y *Potyvirus.* Plant Viruses Online; Descriptions and Lists from the VIDE Database. Available source:http://image.fs.uidaho.edu/vide/descr652.htm , May 15, 2003.

Chrzanowska, M. 1991. New isolates of the necrotic strain of *Potato virus Y* (PVY^N) found recently in Poland. Potato Res. 34:179-182.

Crop Protection Compendium. 2005. Crop Protection Compendium 2005 Edition. CABI International

de Bokx J.A. and H. Huttinga. 1981. *Potato virus Y.* CMI/AAB. Descriptions of Plant virus No. 242.

Glais L, C Kerlan, M Tribodet, S Astier-Manifacier, C Robaglia, 1996. Molecular characterization of Potato virus Y N isolates by PCR_RFLP. European Journal of Plant Pathology, 106:655-662.

Gray, S., K. Perry and P. Baldauf. 2003. Report of 2003 Research activities funded by the Maine Potato Board.

Jones, R.A.C. 1990. Strain group specific and virus specific hypersensitive reaction to infection with characterization of PVY^N isolates by PCR-RFLP. Eur. J. Plant Pathol. 102:655-662.

Kennedy, J.S., M.F. Day and V.F. Eastop. 1962. A Conspectus of Aphids as Vector of Plant Viruses, 114 pp. Comm. Inst.Ent., London.

LeRomancer, M., C. Kerlan and M. Nedellec. 1994. Biological characterization of various geographical isolates of *Potato virus Y* inducing superficial necrosis on potato tubers. Plant pathol. 43:138-144.

Pringle, R.C. 1999. Virus Taxonomy -1999. Arch. Virol. 144(2) : 421-429.

Rose D. G., S. McCarra and D. H. Mitchell. 1987. Diagnosis of potato virus Y^N : A comparison between polyclonal and monoclonal antibodies and biological assay. Plant Pathol. 36:95-99.

Weideman HL, E Maiss,1996. Detrection of the potato necrotic ringspot strain of Potato virus Y (PVYNTN) by reverse transcription and immunocapture polymerase chain reaction. Journal of Plant Disease Protection, 103: 337-345.

ตารางที่1 ผลการศึกษาสายพันธุ์ PVY ในหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ ในปี 2547

ประเทศ	จำนวนครั้ง/น้ำหนัก (ตัน)	สายพันธุ์ PVY ที่ตรวจพบ	จำนวนครั้งที่พบ/ น้ำหนัก (ตัน)
สก็อตแลนด์	33/3,453	-	-
ออสเตรเลีย	24/1,990	PVY^N	9/986
เนเธอร์แลนด์	3/187	-	-
สหรัฐอเมริกา	4/139	PVY^0	1/44
รวม	**64/5,769**	**PVY^N + PVY^0**	**10/1,030**

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาสายพันธุ์ PVY ในหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ ในปี 2548

ประเทศ	จำนวนครั้ง/น้ำหนัก (ตัน)	สายพันธุ์ PVY ที่ตรวจพบ	จำนวนครั้งที่พบ/ น้ำหนัก (ตัน)
สก็อตแลนด์	30/3,372	PVY^N	1/75
ออสเตรเลีย	12/1,174	-	-
เนเธอร์แลนด์	3/150	-	-
อิสราเอล	1/50	PVY^N	1/50
รวม	**46/4,746**	**PVY^N**	**2/125**

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาสายพันธุ์ PVY ในแปลงมันฝรั่งฤดูการผลิตปี 2547/48

จังหวัด	**พื้นที่ปลูก (ไร่)**	**พื้นที่สำรวจแปลง/พื้นที่ (ไร่)**	**จำนวนแปลง/พื้นที่ที่ตรวจพบ PVY (ไร่)**		
			PVY^N	PVY^O	$PVY^N + PVY^O$
เชียงใหม่	21,833	11/65	4/49	2/11	1/5
ตาก	13,192	16/405	10/230	3/70	1/5
สกลนคร	967	4/20	1/4	-	-
รวม	**35,992**	**31/490**	**15/283**	**5/81**	**2/10**

ตารางที่ 4 ผลการศึกษาสายพันธุ์ PVY ในแปลงมันฝรั่งฤดูการผลิตปี 2548/49

จังหวัด	**พื้นที่ปลูก (ไร่)**	**พื้นที่สำรวจแปลง/พื้นที่ (ไร่)**	**จำนวนแปลง/พื้นที่ที่ตรวจพบ PVY (ไร่)**		
			PVY^N	PVY^O	$PVY^N + PVY^O$
เชียงใหม่	21,080	15/164	2/27	1/2	-
ตาก	13,042	15/237	2/65	-	8/72
เชียงราย	2,818	1/1,000	1/1,000	-	-
ลำพูน	1,688	6/149	1/25	-	-
หนองคาย	695	1/500	1/500	-	-
รวม	**39,323**	**38/2,050**	**7/1,617**	**1/2**	**8/72**

การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงของเชื้อ *Spongospora subterranean* ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง

Pest Risk Analysis on *Spongospora subterranea* in Seed Potatoes

ปรียพรรณ พงศาพิชญ์[1] วานิช คำพานิช[1]
ศรีวิเศษ เกษสังข์[1] วิวัฒน์ ภาณุอำไพ[2]
[1] กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2]ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่(ฝาง)

บทคัดย่อ

ประเทศไทยนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งในปี 2548 ปริมาณทั้งสิ้น 5,564 ตัน โดยนำเข้าจากสก็อตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์และอิสราเอล จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าทั้งหมด 46 รายการ ตรวจพบเชื้อ *Spongospora subterranea* กับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากสก็อตแลนด์ 12 รายการ น้ำหนัก 1621 ตัน และจากออสเตรเลีย 1 รายการน้ำหนัก 70.5 ตัน การศึกษาความมีชีวิตของเชื้อราที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง 2 วิธีการคือ ตรวจการสร้าง zoospore โดยใส่ cystosori ลงในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน และตรวจการสร้าง zoospore ในรากมะเขือเทศที่ปลูกในดินที่มี cystosori ผลการทดลองทั้ง 2 วิธีการไม่สามารถทดสอบความมีชีวิตของเชื้อได้ การทดสอบการเกิดโรคในสภาพทดลองและการสำรวจโรคในแปลงเกษตรกรพบว่า เชื้อราที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งไม่สามารถทำให้เกิดโรคได้ในสภาพแวดล้อมที่ทำการทดลองและไม่พบโรคในแปลงเกษตรกรทุกพื้นที่ที่สำรวจ

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการนำเข้ามันฝรั่งในปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากการขยายตัวอย่างรวดเร็วของอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่งทอดกรอบ (potato chips) ในปี พ.ศ. 2546 ประเทศไทยนำเข้ามันฝรั่งเพื่อใช้ทำพันธุ์เป็นปริมาณสูงถึง 15,523 ตัน โดยนำเข้าจากสหราชอาณาจักรมากที่สุด รองลงมาคือออสเตรเลียและสหรัฐอเมริกา การนำเข้าหัวพันธุ์ในปริมาณมากเช่นนี้เสี่ยงต่อการนำเข้าเชื้อโรคร้ายแรง จากต่างประเทศติดเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย โรค powdery

---

รหัสโครงการ 07-01-49-07

scab สาเหตุจากเชื้อรา *Spongospora subterranea* เป็นโรคสำคัญชนิดหนึ่งของมันฝรั่งที่ระบาดอยู่ในแหล่งปลูกมันฝรั่งทั่วโลก ทั้งในทวีปยุโรป อเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ เอเชีย ออสเตรเลีย และแอฟริกา (Stevenson et al., 2001) เชื้อนี้แพร่ระบาดโดย resting spore หรือ cystosori ซึ่งเป็นสปอร์ที่อยู่ในระยะพักตัว สามารถติดมากับดินหรือหัวพันธุ์ มีลักษณะเป็นสปอร์ผนังหนา สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถพักตัวอยู่ในดิน ได้เป็นระยะเวลานานถึง 6 ปี (Kole, 1954) จนกระทั่งสภาพแวดล้อมเหมาะสมจึงเข้าทำลายพืช สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรค powdery scab คืออุณหภูมิประมาณ 12°C -17°C ดินมีความชื้นสูง pH ในดินประมาณ 4.7-7.6 ระยะที่พืชอ่อนแอต่อโรคคือประมาณ 7 วัน ก่อนเริ่มสร้างหัวและ 21-28 วันหลังจากเริ่มสร้างหัว (de Bore, 2000) นอกจากนี้เชื้อ *Spongospora subterranea* ยังเป็นพาหะนำโรค potato mop-top virus โดยเชื้อไวรัสจะติดมากับ cystosori และเข้าทำลายพืชผ่านทาง zoospore

ไวรัสชนิดนี้จัดเป็นศัตรูที่สำคัญของมันฝรั่งที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย และในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการกำจัดสปอร์ของเชื้อที่ติดมากับหัวมันฝรั่งหรือเชื้อที่อยู่ในดินที่ได้ผลดี ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงของเชื้อ เพื่อหามาตรการควบคุมการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่ง โดยไม่ให้มีความเสี่ยงต่อการการที่โรคนี้จะเข้ามาระบาดในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.กล้องจุลทรรศน์

2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ

3. บ่อซีเมนต์สำหรับปลูกพืช

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาเชื้อ *Spongospora subterranea* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

1. สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ รายการ ละ 600 หัว เพื่อตรวจหาเชื้อ *Spongospora subterranean* ที่ติดมากับหัวมัน

2. เก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่งที่แสดงลักษณะผิดปกติมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจดูสปอร์ของเชื้อและทำการเก็บตัวอย่างไว้ใช้ในการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 2 ศึกษาความมีชีวิตของเชื้อ *Spongospora subterranea* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ใช้ใบ มีดตัดเนื้อเยื่อบริเวณแผลซึ่งมี cystosori ของเชื้อรา ผึ่งลมไว้ให้แห้ง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้ทดสอบความมีชีวิตด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

1. ตรวจการสร้าง zoospore โดยนำ cystosori ใส่น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 12-14 °C ในที่มืดเป็นเวลา 4-5 วัน แล้วมาตรวจสอบการสร้าง zoospore ใต้กล้องจุลทรรศน์

2. ตรวจสอบการเข้าทำลายพืช และการสร้าง zoospore โดยใส่ cystosori ลงในกระถาง แล้วนำต้นกล้ามะเขือเทศมาปลูกในกระถาง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 °C เป็นเวลา 3 สัปดาห์จึงตัดรากมาตรวจการสร้าง zoospore ใน root hair ด้วยกล้องจุลทรรศน์

การทดลองที่ 3 ศึกษาศักยภาพการเกิดโรค powdery scab ในสภาพแหล่งปลูกมันฝรั่งของประเทศไทย

3.1 ศึกษาการเกิดโรค powdery scab ในสภาพแวดล้อมแหล่งปลูกมันฝรั่งของประเทศไทย

1 นำหัวพันธุ์ที่ตรวจพบเชื้อ *Spongospora subterranea* ไปปลูกในบ่อซีเมนต์ที่ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่(ฝาง) โดยแบ่งเป็น 6 วิธีการดังนี้

T1 หัวเป็นโรคจากออสเตรเลียคลุกแมนโคเซ็บ

T2 หัวเป็นโรคจากออสเตรเลียไม่คลุกแมนโคเซ็บ

T3 หัวเป็นโรคจากสก็อตแลนด์คลุกแมนโคเซ็บ

T4 หัวเป็นโรคจากสก็อตแลนด์ไม่คลุกแมนโคเซ็บ

T5 หัวปกติคลุกแมนโคเซ็บ

T6 หัวปกติไม่คลุกแมนโคเซ็บ

2. สังเกตการณ์เกิดโรค powdery scab กับหัวมันฝรั่งที่เก็บได้โดยเปรียบเทียบระหว่างมันฝรั่งที่ปลูกจากหัวเป็นโรคและมันฝรั่งที่ปลูกจากหัวปกติ

3.2 ติดตามตรวจสอบการเกิดโรค powdery scab ในแหล่งปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย

1. ติดตามตรวจสอบโรค powdery scab ในแปลงมันฝรั่งของเกษตรกรที่ปลูกจากหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ในระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต

2. เก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่งที่มีอาการผิดปกติมาตรวจในห้องปฏิบัติการต่อไป

เวลาและสถานที่ทดลอง

ระยะเวลา : ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550

สถานที่ทดลอง : กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่(ฝาง)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาเชื้อ *Spongospora subterranea* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก สก็อตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอรแลนด์และอิสราเอล ในปี 2548 ปริมาณทั้งหมด 5,564 ตัน จำนวน 46 รายการ ตรวจพบเชื้อ *Spongospora subterranea* กับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก สก็อตแลนด์ 12 รายการน้ำหนัก 1621 ตัน และจากออสเตรเลีย 1 รายการน้ำหนัก 70.5 ตัน

การทดลองที่ 2 ศึกษาความมีชีวิตของเชื้อ *Spongospora subterranea* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

1. ตรวจการสร้าง zoospore โดยนำ cystosori ใส่น้ำกลั่นพบว่าหลังจากบ่มไว้ที่ 4 วันตรวจพบโปรโตซัวและแบคทีเรียแต่ไม่พบว่ามีการสร้าง zoospore ของเชื้อรา
2. ตรวจการสร้าง zoospore ใน root hair ของมะเขือเทศที่ปลูกในดินที่มี cystosori จำนวน 10 ต้น ผลการตรวจไม่พบ zoospore ของเชื้อ *Spongospora subterranea* ในรากของมะเขือเทศ

การทดลองที่ 3 ศึกษาศักยภาพการเกิดโรค powdery scab ในสภาพแหล่งปลูกมันฝรั่งของประเทศไทย

1. ผลปรากฏว่าเชื้อราไม่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในสภาพแวดล้อมที่ทำการทดลอง โดยไม่พบอาการโรคในหัวมันฝรั่งที่เก็บเกี่ยวได้ทั้ง 6 การทดลอง
2. ผลการติดตามตรวจสอบแปลงมันฝรั่งของเกษตรกรและจุดรับซื้อหัวมันฝรั่งของบริษัทในจังหวัดเชียงใหม่และตาก ไม่พบโรค powdery scab ในทุกพื้นที่ที่สำรวจ

สรุปผลการทดลอง

1. ตรวจพบเชื้อ *Spongospora subterranean* ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากสก็อตแลนด์ ออสเตรเลีย
2. ไม่สามารถหาเทคนิคที่ใช้ในการทดสอบความมีชีวิตของเชื้อราได้
3. จากการทดสอบการเกิดโรคในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยพบว่า เชื้อราไม่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในสภาพแวดล้อมที่ทำการทดลอง
4. ผลการสำรวจแปลงมันฝรั่งของเกษตรกรและจุดรับซื้อหัวมันฝรั่งของบริษัทในจังหวัดเชียงใหม่และตาก ไม่พบโรค powdery scab

เอกสารอ้างอิง

De Boer, R. 2000. Research into the biological and control of powdery scab of potato in Australia. pp. 79 – 83. In Proceeding of the First European Powdery Scab Workshop. 20 - 22 July 2000 . Aberdeen, Scotland

Kole A.P., 1954. Contribution to the knowledge of *Spongospora subterranea* the couse of potatoes. Tijdschrift over Plantenziekten 60;1-65.

Stevenson, W.R., Loria, R., Franc, G.D. and Weingartner, D.P. 2001. Compendium of Potato Diseases. The American Phytopathologal Society. St. Paul, Minnesota. USA.

การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Plant Parasitic Nematodes Associated with Imported Potato

วานิช คำพานิช มนตรี เอี่ยมวิมังสา
ปรียพรรณ พงศาพิชญ์ วันเพ็ญ ศรีชาติ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ในการสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ มีรายงานไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งในประเทศไทยอยู่ประมาณ 14 ชนิด และจากต่างประเทศประมาณ 27 ชนิด แต่เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชทางกักกันพืชประมาณ 8 ชนิด ส่วนการศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืช จำนวน 16 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 3 ชนิด และ ในการสำรวจ ติดตาม และสุ่มตัวอย่างดินและหัวพันธุ์มันฝรั่ง เพื่อตรวจสอบหาชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 12 แปลง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 6 ชนิด

คำนำ

มันฝรั่ง (Potato, *Solanum tuberosum*) เป็นพืชที่จัดว่าเป็นสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และเป็นพืชที่ประเทศไทยได้มีการนำเข้ามาปริมาณมากเพื่อใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมเช่นแปรรูปเป็นมันฝรั่งทอดกรอบ ในประเทศไทยมีการนำเข้ามันฝรั่งจากหลายประเทศด้วยกันได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย สหราชอาณาจักร (สก็อตแลนด์ และอังกฤษ) สหรัฐอเมริกา แคนาดา นิวซีแลนด์ เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล ลาว เป็นต้น และการจะนำเข้าพืชมายังประเทศไทยนั้นประเทศไทยจำเป็นจะต้องเปิดเสรีทางการค้า ซึ่งประเทศไทยในฐานะประเทศสมาชิกองค์การค้าโลก ต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร ภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on

รหัสโครงการ 07-01-49-07

Application of Sanitary and Phytosanitary Measure หรือ SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้เข้าไปเป็นอันตรายหรือเกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช โดยทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis : PRA) ซึ่งอาจจะเป็นโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และวัชพืช ชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจจะติดมากับสินค้าเกษตรหรือแม้แต่หัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

ปัญหาของการนำเข้ามันฝรั่งในปีที่ผ่านมา นอกจากจะมีดินติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งแล้วยังมีเชื้อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา ไวรัส รวมทั้งอาจจะมีศัตรูพืชชนิดอื่นติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งเช่นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชบางชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย ซึ่งอยู่ในข้อตกลงระหว่างประเทศและเงื่อนไขการนำเข้าเช่น *Ditylenchus destructor*, *D. dipsaci*, *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, *Heterodera glycines*, *H. oryzae*, *H. zeae*, *Nacobbus aberans* (Evans และคณะ,1993) และอาจจะมีไส้เดือนฝอยชนิดอื่นอีก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการตรวจสอบและศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ รวมทั้งมีการสำรวจและติดตามไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศเพื่อกำหนดมาตรการในการควบคุมการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งและลดความเสี่ยงศัตรูพืชอันเนื่องมาจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งและอาจจะเข้ามาระบาดในประเทศไทยได้

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์ และวิธีการ

1. **สืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ**
2. **การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ**

2.1 การตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณตู้บรรจุสินค้า และตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าที่มีดินติดมาด้วย ณ ด่านตรวจพืช มาทำการแยกไส้เดือนฝอยตรวจสอบ และจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชด้วยวิธีดังนี้ ทำการล้างตัวอย่างดินที่เก็บได้ และดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งออกมา และนำตัวอย่างหัวพันธุ์ที่ล้างดินออกส่วนหนึ่งไปปลอกเปลือกออกนำไปหั่นให้เปลือกให้เป็นชิ้นเล็กๆด้วยมีด แล้วนำตัวอย่างทั้งหมดไปแยกไส้เดือนฝอยตามวิธีของ Cobb's sieving &

Baermann funnel (Zuckerma และคณะ,1990 ; นุชนารถ,2546) หลังจากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดไปตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอและแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ

3. **การสำรวจและติดตามไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ**

ทำการสำรวจ ติดตาม และเก็บตัวอย่างพืชที่พบลักษณะอาการผิดปกติหรืออาการที่สงสัยว่าจะมีไส้เดือนฝอยศัตรูพืชระบาดอยู่ในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดตาก ลำปาง และจังหวัดเชียงใหม่ โดยจะทำการเก็บตัวอย่างดิน และหัวพันธุ์มันฝรั่งบริเวณที่สำรวจมาทำการตรวจสอบและแยกไส้เดือนฝอยตามวิธีของ Cobb's sieving & Baermann funnel และนำตัวอย่างที่ได้ไปจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอและแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ ทำการบันทึกผลการสำรวจและติดตามไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแปลงปลูกมันฝรั่งเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืช

เวลาและสถานที่

เวลา : เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2550 รวม 2 ปี

สถานที่ทดลอง : 1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืชลาดกระบัง และ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
3. แปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดตาก ลำปาง และจังหวัดเชียงใหม่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ

จากการสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งพบว่ามีรายงานในประเทศไทยอยู่ประมาณ 14 ชนิดด้วยกันได้แก่ *Criconemella ornata, Helicotylenchus dihystera, Hirschmanniella oryzae, Hoplolaimus seinhorsti, Trichodorus christiei, Tylenchorhynchus martini, Meloidogyne chitwoodi, M. graminicola, M. hapla, M. incognita, M. javanica, M. microcephala, Rotylenchulus reniformis* และ *Pratylenchus* spp. (มนตรี,2541; สืบศักดิ์, 2538)

จากการสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจากรายงานต่างประเทศพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชประมาณ 26 ชนิดได้แก่ *Belonolaimus longicaudatus, Ditylenchus destructor*, *D. dipsaci, Helicotylenchus* spp., *Globodera pallida, G. rostochiensis, Hexatylus vigissi, Longidorus maximus, Meloidogyne incognita, M. javanica, M. arenaria, M. hapla, M. chitwoodi, Meloinema* sp., *Neotylenchus abulbosus, Nacobbus aberrans, Paratylenchus* spp., *Pratylenchus* spp., *Rotylenchulus* spp., *Trichodorus* spp., *Paratrichodorus* spp., *Tylenchorhynchus* spp., *Xiphinema* spp., *Radopholus similis, Heterodera glycines, H. oryzae* และ *H. zeae* (Hooker,1981) แต่มีไส้เดือนฝอยศัตรูพืชทางกักกันพืชและอยู่ในข้อตกลงระหว่างประเทศและเงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากต่างประเทศประมาณ 8 ชนิดได้แก่ *D. destructor, D. dipsaci, Globodera pallida, G. rostochiensis, Heterodera glycines, H. oryzae, H. zeae* และ *Nacobbus aberrans*

2. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

สุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณตู้บรรจุสินค้า และตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าที่มีดินติดมา ณ ด่านตรวจพืชเพื่อตรวจสอบ และจำแนกชนิดทั้งหมด 16 ตัวอย่าง ได้แก่หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศสก็อตแลนด์ 12 ตัวอย่าง ประเทศอิสราเอล 1 ตัวอย่าง ประเทศลาว 1 ตัวอย่าง ประเทศเนเธอร์แลนด์ 1 ตัวอย่าง และหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศแคนาดาอีก 1 ตัวอย่าง ผลการตรวจไส้เดือนฝอยศัตรูพืช พบว่าในหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากประเทศสก็อตแลนด์ เนเธอร์แลนด์ และประเทศลาวตรวจแล้วไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ส่วนตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศอิสราเอลพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 2 ชนิดคือ *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhynchus martini* และหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ตรวจพบอีก 1 ชนิดคือ *Hoplolaimus* sp.

3. การสำรวจและติดตามไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ

การสำรวจและติดตามโดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดิน และหัวพันธุ์มันฝรั่งในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย จังหวัดตาก ลำปาง และจังหวัดเชียงใหม่ นำมาตรวจสอบหาชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ผลการตรวจสอบ พบว่าในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้า ในพื้นที่จังหวัดตากจำนวน 5 แปลง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 5 ชนิดคือ *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhynchus martini Hoplolaimus seinhorsti Trichodorus christei* และ *Hoplolaimus seinhorsti* และ *Meloidogyne incognita* (สืบศักดิ์,

2541) จังหวัดลำปางจำนวน 2 แปลง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 3 ชนิดคือ *Hoplolaimus seinhorsti* *Tylenchorhynchus martini* และ *Tylenchulus* sp. และจังหวัดเชียงใหม่ ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 4 ชนิดคือ *Helicotylenchus* spp. *Tylenchorhynchus martini* *Meloidogyne incognita* ซึ่งสอดคล้องกับนุชนารถ และคณะ, 2534 และ *Hoplolaimus seinhorsti* การทดลองยังไม่เสร็จสิ้นสุดยังอยู่ในช่วงดำเนินการทดลอง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จากการสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศมีรายงานพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งในประเทศไทยอยู่ประมาณ 14 ชนิด และจากต่างประเทศประมาณ 27 ชนิด แต่เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูพืชทางกักกันพืชประมาณ 8 ชนิด

2. การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืช จำนวน 16 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอยที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 3 ชนิด

3. ในการสำรวจ ติดตาม และสุ่มตัวอย่างดินและหัวพันธุ์มันฝรั่ง เพื่อตรวจสอบหาชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 12 แปลง พบไส้เดือนฝอยที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 6 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2546. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช.กลุ่มงานไส้เดือนฝอย. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 39 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด สมควร คีรีวัลย์ และจรัส ชื่นราม. 2534. การศึกษาการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมันฝรั่งในประเทศไทย. น. 23-33. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2534. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา. 2541. โรคของมันฝรั่งที่เกิดจากไส้เดือนฝอย. น. 71-79. *ใน* เอกสารวิชาการฉบับที่ 22 มันฝรั่งและศัตรูพืชที่สำคัญ. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2538. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์รั้วเขียว, กรุงเทพฯ. 275 น.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2541. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช : โรคและการจัดการ. วี.บี. บุ๊คเซ็นเตอร์, กรุงเทพฯ. 204 หน้า.

Evans, K., D. L. Trudgill and J. M. Webster. 1993. Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. CAB INTERNATIONAL. Wallingford, UK. 648 pp.

Hooker, W. J. 1981. Compendium of Potato Disease. American Phytopathological Society. Michigan, U.S.A.. 125 pp.

Zuckerman, B. M., W. F. Mai and L R. Krusberg. 1990. Plant Nematode Laboratory Manual.The University of Massachusetts Agricultural Experiment Station Amherts. Massachusetts, U.S.A.. 252 pp.

แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สาเหตุโรค bacterial speck ของมะเขือเทศ และการพัฒนาเทคนิคพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ

Pseudomonas syringae pv. *tomato* , the Causal Agent of Bacterial Speck on Tomato and Developing for PCR Detection Technique

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[1/] ชลธิชา รักใคร่[2/] ศรีวิเศษ เกษสังข์[2/]
[1]กลุ่มวิจัยโรคพืช [2]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* (Pst.) สาเหตุโรค Bacterial speck มะเขือเทศ (ได้รับความอนุเคราะห์จาก Dr. Norman Schaad, FDWSRU, ARS, USDA) จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ FC59, PT007, PT008, PT116 และ PT117 เจริญบนอาหาร King's Bมีลักษณะโคโลนีสีขาวใสถึงเขียวอมเหลือง สร้างสารเรืองแสงสีเขียว สายพันธุ์ FC59, PT007 และ PT008 ให้ผลบวกต่อปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ สายพันธุ์ PT117 และ PT008 ให้ผลบวกสร้าง enzyme pectolytic ย่อยเนื้อเยื่อมันฝรั่งในขณะที่เชื้อสายพันธุ์อื่นๆ ทำให้เนื้อเยื่อบุ๋มลงไปเพียงเล็กน้อย การทดสอบการเกิดโรคบนใบมะเขือเทศ เชื้อสายพันธุ์ FC59, PT007 และ PT008 แสดงอาการเป็นแผลจุดช้ำเล็กๆ เมื่ออาการรุนแรงมากใบจะช้ำและเหี่ยว การทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยไพรเมอร์ 2 คู่ ได้แก่ D21/D22 ที่จำเพาะสำหรับเชื้อ *P.syringae* pathovars และ Primer1/Primer2 (Pcof/Pcor) สังเคราะห์จาก coronatine toxin gene จำเพาะสำหรับ pathovars *tomato*, *atropurpurea* และ *glycinea* พบว่า D21/D22 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากเชื้อ Pst. ทั้ง 5 สายพันธุ์ขนาด 558 bp ส่วนไพรเมอร์ Pcof/Pcor สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างกัน คือ สายพันธุ์ FC59 ได้ขนาดแถบดีเอ็นเอ 650 bp ซึ่งเป็นขนาดเดียวกับในเอกสารอ้างอิง ส่วนสายพันธุ์ PT007 และ PT008 ได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1400 bp และ PT116 และ PT117 ได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 900 bp ทั้งนี้จะต้องทำการปรับ conditions ของปฏิกิริยาพีซีอาร์ และทดสอบความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ของปฏิกิริยาในการตรวจเชื้อต่อไป

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ประเทศไทยมีนโยบายเปิดการค้าเสรีกับหลายประเทศ ทำให้มีการนำเข้าส่งออกสินค้าเกษตรมากขึ้นทุกปี ปัญหาสุขอนามัยพืช จึงเป็นปัญหาที่ต้องป้องกันอย่างเข้มงวด มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง นอกจากการผลิตผลสดเพื่อการบริโภคและแปรรูปเป็นซอสมะเขือเทศและน้ำมะเขือเทศแล้ว ประเทศไทยยังเป็นฐานการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม เพื่อส่งขายไปยังตลาดต่างประเทศ คิดเป็นมูลค่าปีละกว่า 50 ล้านบาท ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวต้องมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์พ่อแม่จากต่างประเทศ ทำให้มีปัจจัยเสี่ยงสูงต่อการนำเข้าเชื้อสาเหตุโรคชนิดใหม่ หรือสายพันธุ์ใหม่ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า แต่หากติดเข้ามาแล้วอาจระบาดทำความเสียหายทำให้ประเทศสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างสูง และอาจส่งผลกระทบต่อการส่งออกสินค้าเกษตรอื่นๆ ปัญหาโรคมะเขือเทศที่เกิดจากแบคทีเรียที่สำคัญและต้องเฝ้าระวังชนิดหนึ่ง คือ โรค Bacterial speck ที่เกิดจากเชื้อ *Psedomonas syringae* pv. *tomato* พบรายงานครั้งแรกในสหรัฐอเมริกาและไต้หวัน (Jones, et al., 1991) ลักษณะอาการคล้ายกับโรคใบจุดแบคทีเรียที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv.*vesicatoria* ระบาดทำความเสียหายกับพืชมากในฤดูฝน ช่วงที่อากาศมีความชื้นสูง ปัจจุบันมีความสำคัญเพิ่มขึ้นมาก โดยพบการระบาดมากขึ้นในแคนาดา อิตาลี กรีก อิสราเอล ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ ถ้าโรคเข้าทำลายพืชในระยะกล้าอาจทำให้ผลผลิตลดลงถึง 75% ประเทศไทยมีรายงานการพบเชื้อในแปลงปลูกมะเขือเทศภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่ยังไม่ระบาดทำความเสียหายมากนัก (ศุภลักษณ์,2536) ทั้งนี้อาจเนื่องจากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีสภาพอากาศที่ร้อนชื้น แต่เชื้อจะระบาดทำความเสียหายต่อพืชอย่างรุนแรงเมื่ออากาศเย็น อย่างไรก็ตามเกษตรกรผู้ปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยจะต้องเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคดังกล่าว

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาการเกิดโรค ลักษณะอาการ เชื้อสาเหตุ ทดสอบและพัฒนาเทคนิคการตรวจเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เพื่อการเฝ้าระวังและติดตามการเกิดโรคในประเทศไทย และเพื่อประโยชน์ในการตรวจสอบเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า หรือตรวจรับรองเมล็ดพันธุ์ส่งออกในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. **การเลี้ยงแบคทีเรีย** *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* **บนอาหารสังเคราะห์และการเก็บรักษาเชื้อ**

ติดต่อขอนำเข้าแบคทีเรีย *P. syringae* pv.*tomato* (Pst.) จาก Dr. Norman Schaad จาก Foreign Disease Weed-Science Research Unit, Agriculture Research Service, USDA จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ FC59, PT007, PT008, PT116 และ PT117 (ตารางที่ 1) นำมาเลี้ยงบนอาหาร King's B ศึกษาลักษณะโคโลนี และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป โดยเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหารเอียง หรือน้ำนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ในการศึกษาระยะสั้น หรือเก็บเชื้อในกลีเซอรอล ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาระยะยาว

สายพันธุ์แบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก Dr. Norman Schaad

สายพันธุ์	**แหล่งที่มา**
FC-59	From California, USA
PT007 (ATCC10862)	Hagborg 1253, Isolated by W.A.F. Hagborg, Winnipeg, Manitoba, Canada, 1941
PT 008 (NRRL B-883)	Hagborg 1253, Isolated by W.A.F. Hagborg, Winnipeg, Manitoba, Canada, 1941
PT116 (NCPPB1108)	From UK, Isolated by Lelliot T77 in 1960 from tomato on the island of Jersey
PT117	From Canada, Hagborg 4513, Isolated in 1956 from tomato

2. การทดสอบการก่อให้เกิดโรคของแบคทีเรีย *Pseudomonas syrinage* pv.*tomato*

เตรียมเชื้อแบคทีเรีย *P. syrinage* pv.*tomato* ทั้ง 5 สายพันธุ์ บนอาหาร King's B และแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv.*vesicatoria* จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ PA 009 และ PA 036 บนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง เตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อโดยใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้มีความเข้มข้นของเชื้อ ประมาณ 0.1 OD ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยมีปริมาณเชื้อประมาณ 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร

2.1 ปลูกเชื้อทดสอบการเกิดโรคบนผลมะเขือเทศ โดยเตรียมผลมะเขือเทศ 2 สายพันธุ์ คือ มะเขือเทศพันธุ์สีดาผลเล็ก และมะเขือเทศผลใหญ่ ปลูกเชื้อโดยใช้ไม้จิ้มฟัน จุ่มลงในเซลล์แขวนลอยเชื้อแต่ละสายพันธุ์ แล้วแทงทะลุผลมะเขือเทศ บ่มเก็บผลมะเขือเทศที่ปลูกเชื้อไว้ในกล่องพลาสติก พ่นน้ำให้ความชื้น

2.2 ปลูกเชื้อทดสอบการเกิดโรคบนใบมะเขือเทศ โดยเพาะเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ แล้วย้ายกล้าลงดินนึ่งฆ่าเชื้อในถุงพลาสติกดำ ดูแลรดน้ำ จนพืชมีอายุ 1 เดือนครึ่ง หรือมีใบจริงประมาณ 4-

5 ใบ ทำการปลูกเชื้อโดยโรยผงคาร์บอแรนดัม ขนาด 600 mesh บนใบพืช แล้วใช้นิ้วมือจุ่มเซลล์แขวนลอยเชื้อทาบนใบพืชให้ทั่ว ใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อทาใบเป็นการทดลองเปรียบเทียบ

บันทึกลักษณะอาการ การเกิดโรค และการพัฒนาอาการ อุณหภูมิและความชื้นในโรงเรือนขณะทำการทดลอง

3. **ศึกษาคุณสมบัติชีวเคมีบางประการของแบคทีเรีย *Pseudomonas syrinage* pv.*tomato***

เตรียมแบคทีเรียเพื่อใช้ในการศึกษาเช่นเดียวกับในข้อ 2

3.1 ทดสอบปฏิกิริยา Pectolytic activity บนหัวมันฝรั่ง

เตรียมหัวมันฝรั่งที่สะอาด พ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% ให้ทั่วหัวมันฝรั่ง แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง วางลงในจานเลี้ยงเชื้อที่รองด้วยกระดาษกรองชื้น ใช้ไม้จิ้มฟันนึ่งฆ่าเชื้อ แตะเชื้อแบคทีเรียจิ้มลงในหัวมันฝรั่งลึกเข้าไปในผลประมาณ 1 เซนติเมตร วางจานเลี้ยงเชื้อในกล่องพลาสติก ปิดฝา บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการสร้างเอ็นไซม์ย่อยเนื้อเยื่อมันฝรั่ง

3.2 ทดสอบปฏิกิริยาการตายเฉียบพลัน (Hypersensitive Reaction) บนใบยาสูบ

ใช้หลอดฉีดยาพลาสติก โดยไม่ใช้เข็มฉีดยา ฉีดอัดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าทางด้านใต้ใบยาสูบใบใหญ่ (*Nicotina tabacum*) อย่างช้าๆ โดยไม่ให้เซลล์พืชถูกทำลาย จากนั้นทำการเก็บต้นพืชที่ฉีดเชื้อไว้ที่ความชื้น 100 เปอร์เซ็นต์ ข้ามคืน โดยเก็บไว้ในถุงพลาสติกพ่นน้ำ บันทึกอาการแผลไหม้บริเวณที่ฉีดเชื้อเข้าใต้ใบ หลังการฉีดเชื้อ 24-48 ชั่วโมง

4. **การสกัดดีเอ็นเอ** (DNA extraction)

เตรียมเชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* บนอาหาร King's B 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 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ดูดเซลล์แขวนลอยของเชื้อในอาหารเหลว ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองพลาสติก (eppendorf tube) ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นตกตะกอนเซลล์ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich (Universal 32, Germany) ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ทิ้งส่วนใส ล้างตะกอนเซลล์ เพื่อกำจัด โพลีแซคคาไรด์ ด้วยน้ำเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85 เปอร์เซ็นต์ 3 ครั้ง เก็บตะกอนเซลล์ นำไปสกัด ดีเอ็นเอ ด้วยชุดสกัด Puregene kit (Invitrogen Inc., Minneapolis, MN) ตามกรรมวิธีของชุดสกัด โดยปรับวิธีการสกัดบางขั้นตอน ดังนี้ เติมสารละลายเซลล์ (cell lysis solution) ในหลอดตะกอนเซลล์ ปริมาณ 300 ไมโครลิตร ดูดขึ้นลงด้วยไปเปตให้ตะกอนเซลล์กระจาย บ่มหลอดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียสลาย ทิ้งให้เย็น แล้วเติม 1.5 ไมโครลิตร RNase A เพื่อกำจัด RNA บ่มหลอดไว้ในน้ำอุ่น

37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ทิ้งให้เย็นลง ตกตะกอนโปรตีน โดยเติมสารละลายตกตะกอนโปรตีน (protein precipitation) 100 ไมโครลิตร ปั่นอย่างแรงด้วยเครื่องผสมสาร นาน 20 วินาที แล้วหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที ตกตะกอนดีเอ็นเอ โดยดูดสารส่วนใส ใส่หลอดใหม่ที่บรรจุ isopropanol 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการพลิกหลอดกลับไปมา จากนั้นหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนดีเอ็นเอที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70 % เอทธานอล 3 ครั้ง นำไประเหยแอลกอฮอล์ในตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอ ด้วยบัฟเฟอร์ (TE 0.1 M pH 7.0) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร วัดปริมาณความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอ ที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA) เจือจางดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ให้มีความเข้มข้น 50 นาโนกรัม/ไมโครลิตร เพื่อนำไปทดสอบปฏิกิริยา PCR

5. ปฏิกิริยา PCR และความจำเพาะของไพรเมอร์ ในการตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato*

สังเคราะห์ไพรเมอร์จากบริษัท QIAGEN Operon (QIAGEN, Cologne, Germany) ดังนี้

ชื่อไพรเมอร์	ลำดับเบส	ขนาด (bp)	อ้างอิง
Pcof (Primer 1)	5'-GGCGCTCCCTCGCACTT-3'	650	Bereswill และ
Pcor (Primer 2)	5'-GGTATTGGCGGGGGTGC-3'		คณะ, 1994
D21	5'-AGCCGTAGGGGAACCTGCGG -3'	558	Manceau และ
D22	5'-TGACTGCCAAGGCATCCACC-3'		คณะ, 1997

เตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบปฏิกิริยา PCR ในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอ โดยปริมาตรรวมของปฏิกิริยา 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

สารประกอบในปฏิกิริยา PCR	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 ชนิดที่1 25 pM	1	25 pM
ไพรเมอร์ ชนิดที่ 2 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	-

สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ PE 2400 thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA) โดยใช้อุณหภูมิและเวลา ในการทำปฏิกิริยา ดังนี้

ปฏิกิริยา	อุณหภูมิและเวลาในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอโดยคู่ไพรเมอร์	
	Pcof / Pcor	D21 / D22
1.เริ่มต้นแยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (initial denaturation)	94°C 1 นาที	94°C 1 นาที
2.แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturation)	94°C 30 วินาที	94°C 30 วินาที
3.ไพรเมอร์จับดีเอ็นเอแม่แบบ (annealing)	57°C 1 นาที	53°C 1 นาที
4.สังเคราะห์สายดีเอ็นเอ (extension)	72°C 1 นาที	72°C 1 นาที
5.สังเคราะห์สายดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension)	72°C 6 นาที	72°C 6 นาที

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

เวลาและสถานที่

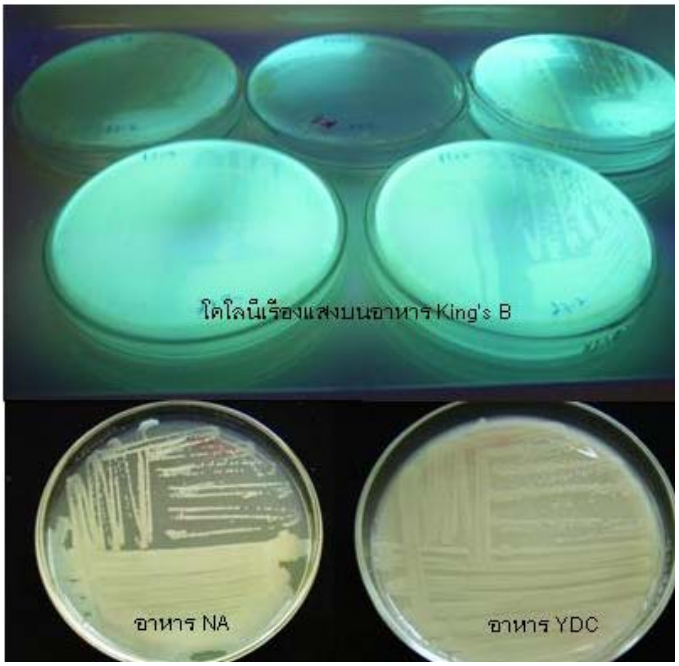
ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลองควบคุม กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเลี้ยงแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* บนอาหารสังเคราะห์และการเก็บรักษาเชื้อ

ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* บนอาหาร King's B อายุ 24-48 ชั่วโมง มีรูปร่างกลม ขนาดประมาณ 1-3 มิลลิเมตร สีขาวอมเขียวเหลือง เมื่อตรวจดูใต้แสงอุลตร้าไวโอเล็ต โคโลนีจะเรืองแสงสีเขียวอมเหลือง (ภาพที่ 1) ทั้งนี้ แบคทีเรีย *P. syringae* จัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Fluorescent Pseudomonas ที่สามารถสร้างเม็ดสีเรืองแสงสีเขียวอ่อน เมื่อเชื้อมีอายุมากขึ้น จะสร้างสีเขียวเข้มขึ้น กระจายทั่วบนอาหารที่เลี้ยง จากการเปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของเชื้อทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ FC 59 มีลักษณะโคโลนีเล็กขนาดประมาณ 0.5-1 มม. สีขาวอมเขียวจางๆ ในขณะที่สายพันธุ์ PT007 PT008 PT116 และ PT117 มีลักษณะโคโลนีใหญ่กว่า ขนาดประมาณ 1-3 มม. และสร้างสารเรืองแสงสีเขียวเข้ม

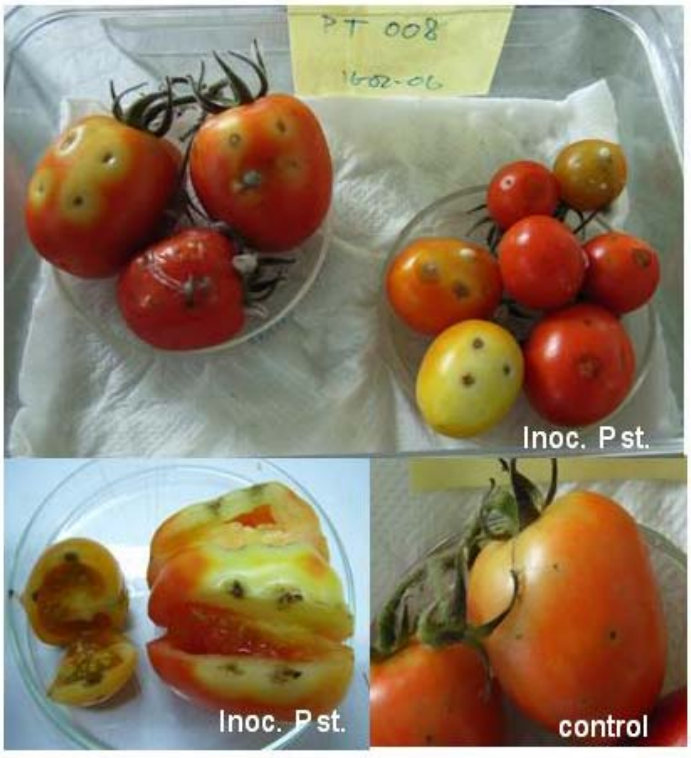


ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* บนอาหาร King's B ภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเล็ต โคโลนีจะเรืองแสงสีเขียวอมเหลือง และลักษณะโคโลนีบนอาหาร Nutrient agar และ Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$

2. การทดสอบการก่อให้เกิดโรคของแบคทีเรีย *Pseudomonas syrinage* pv.*tomato*

การทดสอบอาการแผลจุดบนผลมะเขือเทศ พบว่าการเกิดโรคบนผลมะเขือเทศพันธุ์ผลใหญ่ และมะเขือเทศสีดา พบว่าสายพันธุ์ PT007 PT008 PT116 และ PT117 ทำให้ผลมะเขือเทศผลใหญ่แสดงอาการแผลจุดดำขอบแผลมีสีซีด สายพันธุ์ PT008 PT116 และ PT117 ทำให้มะเขือเทศสีดาแสดงอาการผลจุด (ภาพที่ 2) เมื่อทำการแยกเชื้อจากผลมะเขือเทศที่แสดงอาการจุดแผลขอบสีซีดขาว ได้เชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีเหมือนเดิม

การก่อให้เกิดโรคบนใบมะเขือเทศ จากการเปรียบเทียบอาการใบจุดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *P. syringae* pv.*tomato* และ *Xanthomonas campestris* pv.*vesicatoria* พบว่าอาการใบจุดของมะเขือเทศ จากเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* แสดงอาการจุดช้ำเล็กๆ หลังการปลูกเชื้อเพียง 3 วัน ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้นเล็กน้อย เมื่อแผลลุกลามใบจะช้ำและเหี่ยว (ภาพที่ 3) ในขณะที่อาการใบจุดจากเชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* แสดงอาการหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน อาการคล้ายกันแต่จุดช้ำขนาดใหญ่กว่าต่อมาแผลเป็นสีน้ำตาล ทั้งนี้อาการจุดจากแบคทีเรียทั้งสองชนิดมีความคล้ายกันมาก เมื่อทำการแยกเชื้อจากอาการใบจุดของมะเขือเทศ ได้เชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะเหมือนเดิม



ภาพที่ 2 ลักษณะการเกิดโรคผลจุดจากแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ขอบแผลมีอาการสีซีด โดยการทดลองเปรียบเทียบไม่มีแผลการเข้าทำลาย

ภาพที่ 3 แสดงอาการแผลจุด ของโรค bacterial speck จากแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สายพันธุ์ FC59 และ PT007 โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ PT116 และการทดลองเปรียบเทียบไม่เกิดโรค

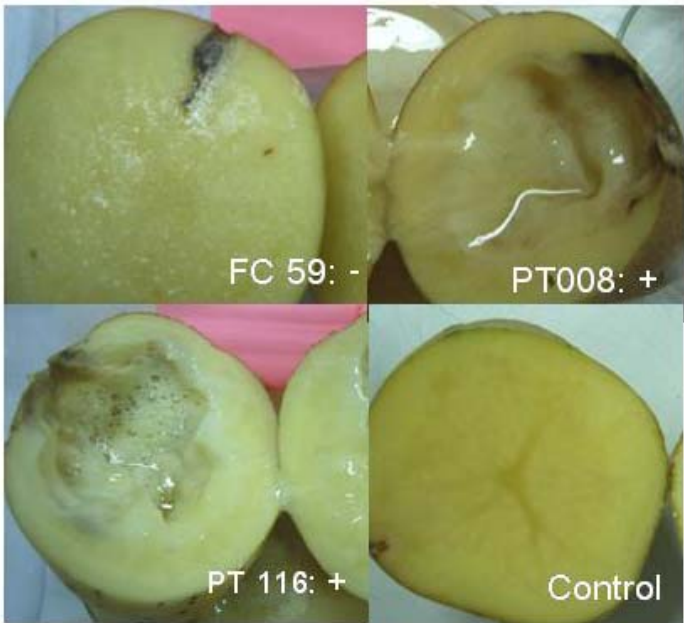
3. **ศึกษาคุณสมบัติชีวเคมีบางประการ ของแบคทีเรีย** ***Pseudomonas syrinage*** **pv.*tomato***

3.1 ทดสอบปฏิกิริยา Pectolytic activity บนหัวมันฝรั่ง

P. syrinage pv.*tomato* สายพันธุ์ PT117 และ PT008 ให้ผลบวกในการสร้าง enzyme pectolytic ย่อยเนื้อเยื่อมันฝรั่งในขณะที่เชื้อสายพันธุ์อื่นๆ ทำให้เนื้อเยื่อบุ๋มลงไปเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 4) ทั้งนี้คุณสมบัติของแบคทีเรีย สายพันธุ์ PT116 และ PT117 จะไม่สร้างเอ็นไซม์ดังกล่าว กลุ่มแบคทีเรียที่สร้างส่วนใหญ่เป็น Fluorescent Pseudomonad ที่เป็นซาโปรไฟท์

3.2 ทดสอบปฏิกิริยาการตายเฉียบพลัน (Hypersensitive Reaction) บนใบยาสูบ

P. syrinage pv.*tomato* สายพันธุ์ FC59, PT007 และ PT008 ให้ผลบวกต่อปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ หลังการฉีดเชื้อเข้าใต้ใบยาสูบ 36-48 ชั่วโมง เนื้อใบบริเวณที่ฉีดเชื้อจะแสดงอาการไหม้เป็นสีน้ำตาล และยุบตัวแห้ง (ภาพที่ 5) โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ PT116 และ PT117 ให้ผลเป็นลบ ทั้งนี้ปฏิกิริยาการตายเฉียบพลัน เป็นการทดสอบการเป็นเชื้อสาเหตุโรค โดยการเข้ากันได้ (compatible) ของเชื้อสาเหตุโรคและพืชที่ไม่เป็นพืชอาศัย จากการทดสอบแสดงว่าแบคทีเรีย สายพันธุ์ PT116 และ PT117 ไม่น่าจะเป็นสาเหตุโรค

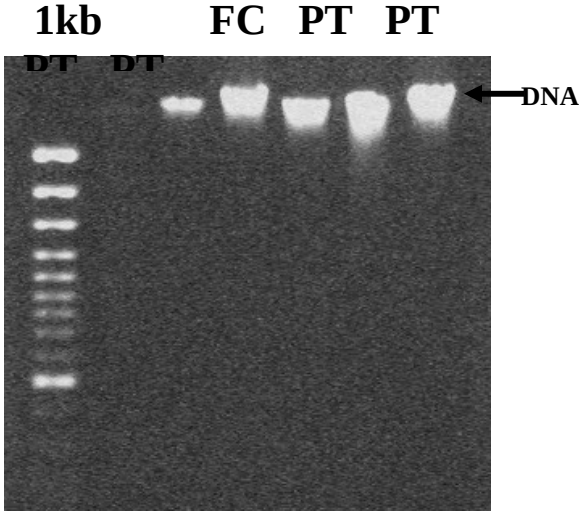


ภาพที่ 4 แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* สายพันธุ์ FC 59 ไม่สร้าง Pectolytic enzyme แต่สายพันธุ์ PT 116 และ PT008 สร้าง pectolytic enzyme ย่อยเนื้อเยื่อมันฝรั่ง และการทดลองเปรียบเทียบไม่เกิดปฏิกิริยา

ภาพที่ 5 ผลการฉีดแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* สายพันธุ์ FC59, PT007, PT008, PT116 และ PT117 เข้าใต้ใบยาสูบเพื่อทดสอบอาการตายเฉียบพลัน Hypersensitive Response

4. **การสกัดดีเอ็นเอ** (DNA extraction)

ดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดมีปริมาณความเข้มข้น โดยเฉลี่ยตั้งแต่ 0.2-0.5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร (ภาพที่ 6) ปริมาตร 50 ไมโครลิตรต่อตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณมากพอสำหรับใช้ในการทดสอบปฏิกิริยา PCR สำหรับคุณภาพของดีเอ็นเอ จากคำนวณด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ A260/A280 โดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.6-1.7 ซึ่งมีคุณภาพดีเพียงพอสำหรับใช้ทดสอบปฏิกิริยา PCR



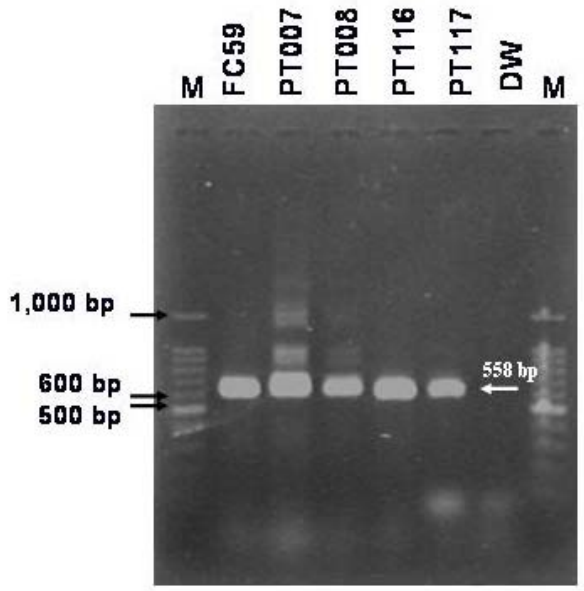
ภาพที่ 6 แสดง Genomic DNA ของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* เลนที่ 1 Marker 1 kb, เลนที่ 2 DNA FC59, เลนที่ 3 DNA PT007, เลนที่ 4 DNA PT008, เลนที่ 5 DNA PT116, เลนที่ 6 DNA PT117

5. ปฏิกิริยา PCR และความจำเพาะของไพรเมอร์ ในการตรวจเชื้อ

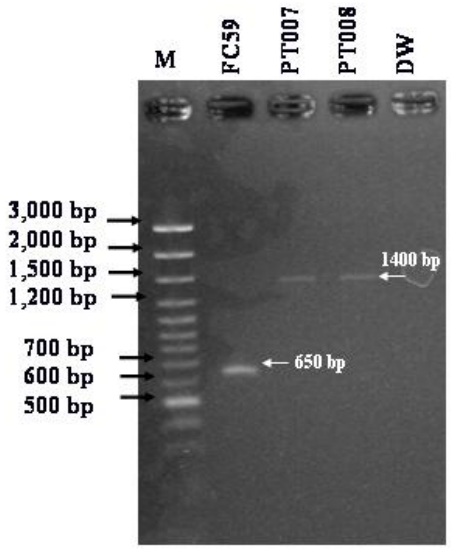
ปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยไพรเมอร์ D21/D22 (Manceau et al., 1997) จำเพาะสำหรับเชื้อ *P.syringae* pathovars สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* ทั้ง 5 สายพันธุ์ ขนาด 558 bp ซึ่งเป็นขนาดเดียวกันกับอ้างอิงโดย Manceau et al. (1997) แต่ยังพบการเกิดแถบ multiple DNA สำหรับแบคทีเรียสายพันธุ์ PT007 ทั้งนี้อาจจะต้องปรับ condition ที่เหมาะสม และทดสอบความจำเพาะของคู่ไพรเมอร์ต่อไป

สำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยคู่ไพรเมอร์ Primer1/Primer2 (Pcof/Pcor) ซึ่งออกแบบให้สังเคราะห์ดีเอ็นเอในส่วน coronatine toxin gene จำเพาะสูงสำหรับแบคทีเรียที่มีการสร้าง toxin ได้แก่ *Pseudomonas* syringae pathovars *tomato*, *atropurpurea* และ *glycinea* (Bereswill, S et al. 1994) พบว่าไพรเมอร์ Pcof/Pcor สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย *P. syringae* pv.*tomato* ทั้ง 5 สายพันธุ์ (FC59, PT007, PT008, PT116 และ PT117) ที่มีขนาดต่างกัน คือ สาย

พันธุ์ FC59 ได้ขนาดแถบดีเอ็นเอ 650 bp ซึ่งเป็นขนาดเดียวกับในเอกสารอ้างอิง (Bereswill, S et al. 1994) ส่วนสายพันธุ์ PT007 และ PT008 สังเคราะห์ได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1400 bp และการสังเคราะห์จากดีเอ็นเอของแบคทีเรียสายพันธุ์ PT116 และ PT117 ได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 900 bp ทั้งนี้ขนาดของแถบดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้ มีความแตกต่างกัน อาจเนื่องจากความแตกต่างทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย แต่จากข้อมูลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และการก่อให้เกิดโรค ในเบื้องต้นสันนิษฐานว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ PT116 และ PT117 ที่ได้รับความอนุเคราะห์มา ไม่ใช่สาเหตุโรค แต่เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Fluorescent Pseudomonad



ภาพที่ 7 ปฏิกิริยา PCR ในการตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* (Pst.) โดยไพรเมอร์ D21 และ D22, เลนที่ 1 ดีเอ็นเอเปรียบเทียบ (100 bp ladder) เลนที่ 2 Pst. สายพันธุ์ FC59, เลนที่ 3 Pst. สายพันธุ์ PT007, เลนที่ 4 Pst. สายพันธุ์ PT008, เลนที่ 5 Pst. สายพันธุ์ PT116, เลนที่ 6 Pst. สายพันธุ์ PT117, เลนที่ 8 น้ำ (negative control) และเลนที่ 9 ดีเอ็นเอเปรียบเทียบ (100 bp ladder)



ภาพที่ 8 ปฏิกิริยา PCR ในการตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* (Pst.) โดยไพรเมอร์ Pcof และ Pcor, เลนที่ 1 ดีเอ็นเอเปรียบเทียบ (100 bp ladder) เลนที่ 2 Pst. สายพันธุ์ FC59, เลนที่ 3 Pst. สายพันธุ์ PT007, เลนที่ 4 Pst. สายพันธุ์ PT008, เลนที่ 5 น้ำ (negative control)

สรุปผลการทดลอง

1. แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* สาเหตุโรค Bacterial speck มะเขือเทศ บนอาหาร King's Bมีลักษณะโคโลนีสีขาวใสถึงเขียวอมเหลือง สร้างสารเรืองแสงสีเขียวเมื่อตรวจดูภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต

2. แบคทีเรีย *P. syringae* pv.*tomato* สายพันธุ์ FC59, PT007 และ PT008 ให้ผลบวกต่อปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ และสามารถก่อให้เกิดโรคได้ โดยเชื้อสายพันธุ์ FC59, PT007 และ PT008 แสดงอาการเป็นแผลจุดช้ำเล็กๆ เมื่ออาการรุนแรงมากใบจะช้ำและเหี่ยว

3. แบคทีเรียสายพันธุ์ PT117 และ PT008 ให้ผลบวกสร้าง enzyme pectolytic ย่อยเนื้อเยื่อมันฝรั่งในขณะที่เชื้อสายพันธุ์อื่นๆ ทำให้เนื้อเยื่อบุ๋มลงไปเพียงเล็กน้อย และให้ผลลบต่อปฏิกิริยาการตายเฉียบพลัน แสดงว่าแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ เป็นซาโปรไฟท์ และไม่เป็นสาเหตุโรค

4. ปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยไพรเมอร์ D21/D22 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* ทั้ง 5 สายพันธุ์ ขนาด 558 bp โดยไพรเมอร์ Pcof/Pcor สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างกัน คือ สายพันธุ์ FC59 ได้ขนาดแถบดีเอ็นเอ 650 bp ส่วนสายพันธุ์ PT007 และ PT008 ได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 900 bp และ PT116 และ PT117 ได้แถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1400 bp

เอกสารอ้างอิง

ศุภลักษณ์ ฮอกะวัต. 2536. โรคผักตระกูลพริกและมะเขือเทศ. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 249 หน้า.

Bereswill, S., P. Bugert, B. Volksch, M. Ullrich, C.L. Bender, and K. Geider. 1994. Identification and relatedness of coronatine-producing *Pseudomonas syringae* pathovars by PCR analysis and sequence determination of the amplification products. App. Environ. Microbiol.. 60:2924-2930.

Braun, K. and D.C. Sands. 2001. *Pseudomonas*. Pp. 84-120. *In* Schaad, N.W., J.B. Jones, and W. Chun. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria, The American Phytopathological Society.

Crop Protection Compendium. 2003. Data sheet of Clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis. 2003. Wallingford, UK: CAB International.

Cupples, D. A. And J. Elmhirst. 1999. Disease development and changes in the natural *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* populations on field tomato plants. Plant Dis. 83: 759- 764.

Jones, J. B., R. E. Stall, and T. A. Zitter. (eds) 1991. Compendium of tomato diseases. APS Press. Minnesota. 73 p.

Manceau, C. and A. Horvais. 1997. Assessment of genetic diversity among strains of *Pseudomonas syringae* by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of rRNA operons with special emphasis on *P. syringae* pv.*tomato*. Appl. Environ. Microbiol. 63:498-505.

การพัฒนาการตรวจสอบเชื้อ PVY บนหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า

Development 0f PVY Detection on Imported Potato Seed

สุรภี กีรติยะอังกูร สิทธิศักดิ์ แสไพศาล ปรียพรรณ พงศาพิชณ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อ Potato virus Y (PVY) ในหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนแตกหน่อ โดยนำวิธีการผลิตชุด GLIFT ตรวจสอบไวรัสของกล้วยไม้มาใช้ผลิตเป็นชุดตรวจสอบเชื้อ PVY ในมันฝรั่ง โดยสกัด IgG จากแอนติซีรัมของ PVY แล้วปรับความเข้มข้นให้มีปริมาณโปรตีนของ IgG เป็น 1 mg/ml ภายหลังการทดสอบคุณภาพของ IgG ในการตรวจเชื้อ PVY ด้วยวิธี NCM-ELISA แล้ว นำ IgG ไปต่อเชื่อมกับอนุภาคของทองผลิตเป็นชุด GLIFT ตรวจเชื้อ PVY ในหน่ออ่อน ใบมันฝรั่งสด ที่เตรียมเป็นน้ำคั้นพืชด้วยบัฟเฟอร์ Na_2BO_3 ที่มี 0.4% Na_2SO_3 ได้ผลดี ในการตรวจเชื้อ PVY ในน้ำคั้นที่เจือจางตั้งแต่ 1:10 ถึง 1:1.000 เมื่อหยดน้ำคั้นพืชปริมาณ 3 หยดอ่านผลได้ใน 3-5 นาที เมื่อนำ GLIFT kit นี้มาทดลองตรวจหาเชื้อ PVY จากส่วนต่างๆของหัวมันฝรั่งเป็นโรคเปรียบเทียบกัน ได้แก่ หน่ออ่อนอายุ 1 ½ เดือน ส่วนผิวเปลือก ส่วนเปลือกปนเนื้อไม่มีตา ส่วนเปลือกปนเนื้อรอบตา ส่วนเนื้อใต้ผิวเปลือก ส่วนเนื้อลึกถึงวงท่ออาหาร ส่วนเนื้อท้ายหัวมันฝรั่ง ส่วนเนื้อด้านบนหัวมันฝรั่ง ส่วนเนื้อกลางหัวมันฝรั่ง โดยเตรียมน้ำคั้นในบัฟเฟอร์ในอัตรา 1:5 แล้วหยดน้ำคั้นลงในตลับจำนวน 5 หยด สามารถตรวจพบเชื้อ PVY ได้ทุกส่วนที่นำมาตรวจ ยกเว้น ส่วนผิวเปลือก ส่วนเนื้อท้ายหัวมันฝรั่ง ส่วนเนื้อกลางหัวมันฝรั่ง และการเกิดปฏิกิริยาที่ชัดเจนใช้เวลา 20-30 นาที ปฏิกิริยาในการตรวจใบและหน่ออ่อนมีความชัดเจนมากกว่าการตรวจส่วนของเนื้อมันฝรั่ง ชุด GLIFT ตรวจสอบเชื้อ PVY ที่พัฒนาผลิตขึ้นนี้สามารถผลิตเป็นเชิงพาณิชย์ทดแทนการนำเข้าเพื่อใช้ในการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดโรค

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

มันฝรั่งเป็นพืชทำรายได้ให้เกษตรกรได้ดีอีกชนิดหนึ่ง เพราะได้มีการลงทุนจากต่างประเทศในประเทศไทยด้านอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร เป็น potato ship Frence fried และอื่นๆ ที่ใช้มันฝรั่งเป็นวัตถุดิบจำนวนมากตลอดทั้งปี แต่การปลูกมันฝรั่งในประเทศไทยสามารถปลูกได้ดีในฤดูหนาว และฤดูฝนในบางท้องที่ที่มีอากาศเย็นทางภาคเหนือ ได้แก่จังหวัดเชียงใหม่ ตาก เลย เป็นต้น ดังนั้นการผลิตมันฝรั่งภายในประเทศจึงไม่เพียงพอที่จะป้อนให้กับโรงงาน และเกษตรกรไม่สามารถเก็บหัวพันธุ์ไว้ทำพันธุ์ เพราะมีปัญหาทั้งด้านโรคไวรัส โรคแบคทีเรีย โรงเรือนและห้องเย็นในการเก็บหัวพันธุ์ ทางบริษัทผู้ผลิตต่างๆจึงใช้วิธีการสั่งเข้าหัวพันธุ์จากประเทศใหญ่ๆ 2-3 ประเทศเข้ามา ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย อังกฤษ เป็นต้น สั่งนำเข้าวนเวียนไปตามฤดูกาลที่ต้องการหัวพันธุ์ที่เข้ามาพอดีกับฤดูปลูกในประเทศไทย แต่ละปีมีการนำหัวพันธุ์เข้ามาทำพันธุ์ ประมาณ 10,000 ตัน ฝ่ายวิชาการกักพืชทำหน้าที่กักตรวจศัตรูพืชที่ เป็นศัตรูพืชกักกัน ชนิดพืชที่ไม่ได้เป็นศัตรูพืชกักกันแต่มีผลกระทบต่อคุณภาพและปริมาณของผลผลิตที่ติดเข้ามาด้วย ได้แก่ เชื้อไวรัส PVY PLRV หรือ strain ของไวรัสที่ไม่เคยพบว่ามีรายงานในประเทศไทยมาก่อน เป็นต้น จากที่มีการสั่งหัวพันธุ์เข้ามาเป็นจำนวนมากทำให้งานการตรวจมีปริมาณมาก ทำให้มีปัญหา ล่าช้า ซึ่งเกิดจากปริมาณตัวอย่างมีมาก และความล่าช้าจากการที่หัวพันธุ์มันฝรั่งพักตัวนานจึงไม่มีหน่ออ่อนให้ตรวจ ต้องรอจนหัวแตกยอดอ่อนก่อนจึงสามารถทำการตรวจยอดอ่อน ด้วยวิธี ELISA ซึ่งมีการใช้ตรวจสอบกันมาได้ผลดีในใบและหน่ออ่อน (กิตติศักดิ์และคณะ, 2532; กิตติศักดิ์และนวลจันทร์, 2532; กิตติศักดิ์และคณะ, 2535; Banttarri *et.al*. 1985; Hsu,Y.H. 1984.) แต่ใช้ไม่ได้ดีในการตรวจเนื้อของมันฝรั่ง

ชุด GLIFT kit ตรวจสอบไวรัสของกล้วยไม้ได้ถูกพัฒนาเป็นชุดตรวจสอบที่สามารถใช้ได้อย่างสะดวกรวดเร็วและแม่นยำ โดยอาศัยหลักการทางเซรุ่มวิทยา และ lateral flow test (สุรภีและคณะ , 2547; ทิพวรรณ.2547; สุดาและคณะ, 2547.) ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวชุด GLIFT ตรวจสอบไวรัสของกล้วยไม้จึงเป็นที่นิยมและยอมรับจากผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ส่งออกในการใช้ตรวจต้นพันธุ์กล้วยไม้เพื่อผลิตกล้วยไม้ปลอดโรคเพื่อการส่งออกอย่างกว้างขวาง ในการตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อ PVY ในหัวพันธุ์นำเข้าที่ต้องตรวจสอบเป็นปริมาณมาก ดังนั้นจึงควรพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัสบนเนื้อของหัวพันธุ์มันฝรั่ง ที่ใช้ง่าย รวดเร็ว และแม่นยำ จึงควรทดลองปรับใช้วิธีการตรวจแบบ GLIFT ของกล้วยไม้ มาผลิตเป็นชุด GLIFT ตรวจสอบไวรัสของมันฝรั่ง และหรือหาวิธีการสกัด RNA ให้สะอาดและมีคุณภาพดีสำหรับวิเคราะห์ตรวจสอบด้วยวิธี RT-PCR อีกวิธีเป็นวิธีสอบทวนในบางครั้งที่จำเป็น (Singh *et.al*. 2003.) เพื่อให้ได้วิธีการตรวจสอบไวรัส (PVY) บนหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนงอกที่รวดเร็วขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน,
- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง
- spectrophotometer
- Thermal cycler
- ตู้แช่แข็ง –80° C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้าน PCR
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้าน GLIFT
- หัวพันธุ์มันฝรั่งเป็นโรคไวรัส (PVY)
- เครื่องมือใช้ในการ spray IgG , IgG-conjugate ควบคุมปริมาณได้

วิธีการ

แบ่งการดำเนินงานออกเป็น 4 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1. การทดลองปรับใช้เทคโนโลยีการผลิต GLIFT kit มาผลิตเป็นชุดตรวจสอบเชื้อ PVY

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบหาสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำคั้นจากหัวพันธุ์มันฝรั่งและการตรวจสอบหัวพันธุ์มันฝรั่ง

ขั้นตอนที่ 3 หาสารสกัด RNA ของ PVY หัวมันฝรั่งที่เหมาะสมในการตรวจสอบด้วยวิธี RT-PCR

ขั้นตอนที่ 4 ทดลองเปรียบเทียบตรวจเชื้อ PVY ด้วยวิธี NCM-ELISA GLIFT kit และ RT-PCR จากหัวพันธุ์มันฝรั่งเป็นโรคก่อนงอก

ขั้นตอนที่ 1. การทดลองปรับใช้เทคโนโลยีการผลิต GLIFT kit มาผลิตเป็นชุดตรวจสอบเชื้อ PVYในมันฝรั่ง

1.1 สกัด IgG จากแอนติซีรัมของเชื้อ PVY

นำแอนติซีรัม PVY จำนวน 1 ml มาสกัด IgG โดยผสมกับ น้ำกลั่น 9 ml แล้วผสมกับ ammonium sulfate ที่อิ่มตัว 10 ml ผสมให้เข้ากันดี นำไปตกตะกอนด้วยการหมุนเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิ 25°C ละลายตะกอนด้วย 4 ml ของ ½ เท่า PBS แล้วใส่ถุง dialysis tubing เพื่อละลาย ammonium sulfate ออกให้หมดโดยแช่ใน ½ PBS 1 ลิตร นาน 3 ชั่วโมง 3 ครั้ง วัดความเข้มข้นของ IgG ที่ได้ด้วย spectrophotometer เพื่อปรับให้ IgG มีความเข้มข้นที่ OD_{280} = 1.4 มีความเข้มข้นของโปรตีน = 1 mg/ml ทดสอบคุณภาพ IgG ด้วยวิธี NCM-ELISA โดยเจือจาง IgG เป็น 1:500

1.2. เตรียมอนุภาคของทองให้มีขนาดของอนุภาคประมาณ 40 nm

เตรียมอนุภาคของทองจากการต้ม $HAuCl_4$ ผสมกับ sodium citrate เพื่อให้ได้อนุภาคของทองที่บริสุทธิ์ และมีขนาดตามต้องการ (Hampton *et al*.,1990) แล้วนำสารละลายของ Colloidal Gold ไปใช้ในการ conjugate กับ IgG ของไวรัส PVY ที่เข้มข้น

1.3 การเตรียม Gold labeling IgG

การต่อเชื่อม IgG ของ PVY เข้ากับ Colloidal Gold ได้เป็น Colloidal Gold conjugated IgG หรือ Gold labeling IgG โดยผสม IgG ของ PVY ที่มีความเข้มข้นของโปรตีนประมาณ 1mg/ml กับ Colloidal Gold ในอัตรา 1:100 เติม 10% bovine serum albumin ในอัตรา 1:50 แล้วจึงนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 9,000 rpm นาน 40 นาที เพื่อตกตะกอน Colloidal Gold conjugated IgG หรือ Gold labeling IgG แล้วละลายตะกอนที่ได้ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Passive Gold Diluent ควรเตรียมแล้วใช้ทันที แล้วนำไปหยอดหรือพ่น ลงบนแผ่น วัสดุใยแก้ว (fiber glass) โดยทดลองหยอด Gold labeling IgG ในปริมาณ 2 μl /cm

1.4 การเตรียม เส้น Test line control line และ ประกอบเป็น GLIFT kit

ทำเส้น test line ด้วยการหยอด หรือพ่น IgG ลงบนแผ่น NCM โดยทดลอง ใช้ ประมาณ 1, 1.5 และ 2 μl /cm แยกกันคนละเส้น ทดลองใช้ GAR ในการทำเส้น control line ในปริมาณ 1 μl /cm ซึ่งได้ผลดีอยู่แล้วจากการทดลองใช้กับ GLIFT kit ของกล้วยไม้ แล้วนำไปอบแห้งใน ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ37^{O}C นาน 2 ชั่วโมง ก่อนนำมาประกอบกันแล้วตัดเป็น strip บรรจุลงในตลับพลาสติกเป็นชุดนำไปทดสอบตรวจตัวอย่างใบมันฝรั่งเป็นโรคจากเชื้อ PVY และทดลองตรวจน้ำคั้นของพืชที่เจือจางเป็น 1:100, 1:200, 1:500 และ 1:1000 เพื่อดูความไวในการตรวจของ GLIFT kit

1.5 การเปรียบเทียบสารละลายบัฟเฟอร์ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช

นำตัวอย่างใบมันฝรั่งเป็นโรคไวรัสจากเชื้อ PVY มาบดละเอียดใน sample pad buffer-Na_2BO_3 แล้วดูดน้ำคั้นหยอดลงในตลับ GLIFT kit แล้วตรวจผลของการเกิดปฏิกิริยา เปรียบเทียบกับการใช้ extraction buffer ซึ่งเป็นบัฟเฟอร์ ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างพืชในการตรวจสอบโรคไวรัสของพืช ด้วยวิธี NCM-ELISA แล้วหยอดลงในตลับ GLIFT kit เปรียบเทียบปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบหาสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำคั้นจากหัวพันธุ์มันฝรั่งและการตรวจสอบเชื้อ PVY ในหัวพันธุ์มันฝรั่ง

2.1 การทดสอบหาสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำคั้นจากหัวพันธุ์มันฝรั่ง

ในการตรวจเชื้อ PVY ในเนื้อมันฝรั่งทดลองใช้ sample pad buffer-Na_2BO_3 ในการเตรียมตัวอย่างมีปัญหาจากการออกซิไดซ์ของน้ำคั้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ทำให้รบกวนการเกิดปฏิกิริยา

จึงทดลองนำ sample pad buffer-Na_2BO_3 มาเติมสาร Na_2SO_3 เปรียบเทียบกันในปริมาณ 0.4, 0.6 และ 0.8 % นำมาบดตัวอย่างเนื้อมันฝรั่งเป็นน้ำคั้นหยอดลงในตลับ GLIFT kit แล้วตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยา

2.2 การตรวจสอบเชื้อ PVY ในหัวพันธุ์มันฝรั่ง

ทดลองตรวจสอบเชื้อ PVY จากส่วนต่างๆของหัวมันฝรั่งเป็นโรค ได้แก่ ส่วนผิวเปลือก ส่วนเปลือกปนเนื้อไม่มีตา ส่วนเปลือกปนเนื้อรอบตา ส่วนเนื้อใต้ผิวเปลือก ส่วนเนื้อลึกถึงท่ออาหารส่วนเนื้อท้ายหัวมันฝรั่ง ส่วนเนื้อด้านบนหัวมันฝรั่ง ส่วนเนื้อกลางหัวมันฝรั่ง โดยเตรียมตัวอย่างในบัฟเฟอร์ sample pad buffer-Na_2BO_3 ที่มี 0.8 % Na_2SO_3 อัตรา 1:5 เปรียบเทียบกับ หน่ออ่อนอายุ 1 ½ เดือน ใบมันฝรั่งเป็นโรค และใบมันฝรั่งไม่เป็นโรค

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการทดลอง 2 ปี เริ่ม กันยายน 2548 ถึง ตุลาคม 2550

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1. การทดลองปรับใช้เทคโนโลยีการผลิต GLIFT kit มาผลิตเป็นชุดตรวจสอบเชื้อ PVYในมันฝรั่ง

1.1 ผลการสกัด IgG จากแอนติซีรัมของเชื้อ PVY

ด้วยการเจือจาง IgG ที่ปรับค่าความเข้มข้นแล้วเจือจาง เป็น 1:500 ใช้ตรวจสอบเชื้อ PVY

จากน้ำคั้นใบมันฝรั่งด้วยวิธี NCM-ELISA ได้ผลของปฏิกิริยาดี

1.2. ผลเตรียมอนุภาคของทองให้มีขนาดของอนุภาคประมาณ 40 nm เมื่อนำไปวัด Spectrophotometer ที่ OD_{540} มีค่าเป็น 0.5 จึงได้ colloidal gold ที่มีขนาด 40 nm ที่เหมาะสมในการต่อเชื่อมกับ IgG ตามต้องการ

1.3 และ 1.4 ผลการเตรียม colloidal gold conjugate IgG Test line และ control line

จากการต่อเชื่อม IgG กับ colloidal gold สีและสารละลายที่ได้อยู่ในสภาพใสสีแดงเข้ม เมื่อนำมาประกอบเป็นชุด ตลับ GLIFT กับ test line และ control line แล้วทดสอบตรวจสอบกับตัวอย่างใบมันฝรั่งเป็นโรคเปรียบเทียบกับใบมันฝรั่งปกติ แล้วพบว่า ปริมาณของ IgG ที่เหมาะสมในการสร้างเส้น test line เป็นปริมาณ 1.5 μl /cm และปริมาณ GAR ที่เจือจางเพียง 1:3 ที่ใช้ในการทำเส้น control line 1 μl /cm เป็น ปริมาณที่เหมาะสมได้ผลของเส้น control line ที่สีแดงเข้มชัดเจนดี ชุด GLIFT kit ยังตรวจพบเชื้อ

PVY ในน้ำคั้นพืชที่เจือจางเป็น 1:100 , 1:200 1:500 และ 1:1,000 ยังสามารถตรวจสอบพบเชื้อไวรัส ได้ดี โดยเส้น Test line ให้ปฏิกิริยาเป็นสีแดง

1.5 การเปรียบเทียบสารละลายบัฟเฟอร์ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นพืช

ในการบดใบมันฝรั่งด้วยบัฟเฟอร์ 2 ชนิด พบว่าสารละลายบัฟเฟอร์ sample pad - Na_2BO_3 เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำคั้นพืชในลักษณะการออกซิไดซ์น้อยกว่าการใช้ extraction buffer ของ NCM-ELISA ทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีความชัดเจน ดีกว่า extraction buffer ของ NCM-ELISA

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบหาสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำคั้นจากหัวพันธุ์มันฝรั่งและการตรวจสอบเชื้อ PVY ในหัวพันธุ์มันฝรั่ง

2.1 ผลการทดสอบหาสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำคั้นจากหัวพันธุ์มันฝรั่ง

จากการเปรียบเทียบใช้บัฟเฟอร์ sample pad buffer-Na_2BO_3 ที่เติมสารNa_2SO_3 ที่ต่างกัน 3 อัตราคือ 0.4, 0.6 และ 0.8 % ในการเตรียมตัวอย่างน้ำคั้นเนื้อมันฝรั่ง พบว่าน้ำคั้นที่เตรียมด้วยบัฟเฟอร์ที่มี 0.8 % Na_2SO_3 ไม่มีการออกซิไดซ์ น้ำคั้นยังคงสภาพสีใส ไม่มีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเมื่อหยดลงในตลับ GLIFT ไม่มีสีน้ำตาลรบกวนการเกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถใช้ตรวจสอบ PVY ในเนื้อหัวมันฝรั่งได้ดี ในขณะที่บัฟเฟอร์ที่มี Na_2SO_3 ปริมาณ 0.4, 0.6 % น้ำคั้นยังเกิดการออกซิไดซ์รบกวนการเกิดปฏิกิริยา

2.2 ผลการตรวจเชื้อ PVY ในส่วนต่างๆของหัวพันธุ์มันฝรั่ง

จากการทดลองตรวจเชื้อ PVY ด้วย GLIFT Kit ที่ผลิตด้วยแอนติซีรัมของเชื้อ PVY ในส่วนต่างๆของหัวมันฝรั่งเป็นโรคจากเชื้อ PVY บนหัวมันฝรั่งจากต้นเป็นโรคที่เก็บมาใหม่ เปรียบเทียบกับหน่ออ่อนที่มีอายุ 1 ½ เดือนจากหัวมันฝรั่งที่เก็บไว้นาน 3 เดือน ใบมันฝรั่งที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ได้ผลตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจสอบเชื้อ PVY บนส่วนต่างๆของหัวพันธุ์มันฝรั่ง

ส่วนที่นำมาตรวจ	อัตราน้ำคั้นเนื้อต่อบัฟเฟอร์	จำนวนหยด	ปฏิกิริยา
2.1 หน่ออ่อนอายุ 1 ½ เดือน	1:5	3	++++
2.2 ใบมันฝรั่งเป็นโรค	1:5	3	++++
2.3 ใบมันฝรั่งไม่เป็นโรค	1:5	3	-
2.4 ส่วนผิวเปลือก	1:5	5	-
2.5 ส่วนเปลือกปนเนื้อไม่มีตา	1:5	5	++
2.6 ส่วนเปลือกปนเนื้อรอบตา	1:5	5	+++
2.7 ส่วนเนื้อใต้ผิวเปลือก	1:5	5	++
2.8 ส่วนเนื้อลึกถึงท่ออาหาร	1:5	5	+++
2.9 ส่วนเนื้อท้ายหัวมันฝรั่ง	1:5	5	-
2.10 ส่วนเนื้อด้านบนหัวมันฝรั่ง	1:5	5	+++
ส่วนเนื้อกลางหัวมันฝรั่ง	1:5	5	-

ในการตรวจหน่ออ่อนและใบมันฝรั่งเป็นโรค มีปฏิกิริยาสีแดงเข้มข้นชัดเจนที่เส้น test line มากกว่าตัวอย่างจากส่วนอื่นๆ สำหรับส่วนเปลือกปนเนื้อรอบตา ส่วนเนื้อลึกถึงท่ออาหาร และส่วนเนื้อด้านบนหัวมันฝรั่ง มีสีของปฏิกิริยาอ่อนกว่าเล็กน้อย ส่วนเปลือกปนเนื้อไม่มีตา และ ส่วนเนื้อใต้ผิวเปลือกสามารถตรวจปฏิกิริยาของสีที่เกิดขึ้นได้ แต่ ส่วนของเปลือก ส่วนเนื้อท้ายหัวมันฝรั่ง และส่วนเนื้อกลางหัวมันฝรั่ง ไม่เกิดปฏิกิริยาเช่นเดียวกับใบมันฝรั่งไม่เป็นโรค ส่วนที่เกิดปฏิกิริยาเข้มมากเช่นใบเป็นโรค หน่ออ่อน เนื้อรอบตา เป็นเพราะเป็นส่วนที่มีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อสูง ส่วนที่มีปฏิกิริยาน้อยเพราะเป็นส่วนที่มีเชื้อน้อยและไม่มีเชื้อเช่นที่ เปลือก เนื้อกลางหัวซึ่งอยู่ห่างจากบริเวณตาและวงท่อน้ำอาหารรอบหัว

สรุปผลการทดลองและแนะนำ

จากการทดลองนี้สามารถพัฒนาปรับใช้วิธีการตรวจสอบแบบ GLIFT มาผลิตชุด GLIFT kit ตรวจสอบเชื้อ PVY บนมันฝรั่งที่สามารถตรวจสอบเชื้อ PVY ได้อย่างรวดเร็วและสะดวกในการใช้ตรวจสอบใบและยอดอ่อน ได้เช่นเดียวกับกล้วยไม้ แต่การตรวจสอบหัวมันฝรั่งจะต้องมีรายละเอียดเพิ่มเติมคือ

1. ต้องใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างเนื้อมันเพื่อตรวจสอบ PVY ในหัวพันธุ์ก่อนงอกได้ ด้วยการใช้ sample pad buffer-Na_2BO_3ที่มี 0.8 % Na_2SO_3 ป้องกันการออกซิไดซ์

2. ในการตรวจหาเชื้อ PVY ในหัวพันธุ์มันฝรั่งควรเลือกตัดเนื้อบริเวณรอบตาด้านบนหัวหรือเนื้อบริเวณที่อยู่ลึกไปถึงระดับท่ออาหารรอบหัวจะให้ปฏิกิริยาชัดเจนรองจากใบและหน่ออ่อน
3. การเกิดปฏิกิริยาในการตรวจเนื้อมันเกิดช้าต้องรอผลนาน 20-40 นาที ช้ากว่าการตรวจใบและหน่ออ่อน ที่ใช้เวลาเพียง 3-5 นาที
4. ในการหยดตัวอย่างน้ำคั้นจะต้องหยอดจำนวนมากขึ้นคือ 5-6 หยด ดังนั้นในการประกอบชุด GLIFT จำเป็นต้องเพิ่มส่วนของกระดาษซับด้านบนของ strip ให้ยาวขึ้นหรือหนามากขึ้นที่จะดูดซับน้ำคั้นได้มากขึ้น

ถึงแม้จะมีความซับซ้อนในการตรวจอย่างมีเทคนิคแต่การตรวจสอบด้วยชุด GLIFT ก็ยังให้ความสะดวกในการตรวจสอบมากกว่า วิธี NCM-ELISA มาก และไม่ต้องรอจนหัวมันงอกสามารถตรวจเชื้อ PVY จากเนื้อมันฝรั่งจากหัวพันธุ์ได้เลย ในปี 2550 ดำเนินการทดลองหาวิธีสกัด RNA ของ PVY จากเนื้อมันฝรั่ง เพื่อตรวจสอบเชื้อ PVY ในหัวมันฝรั่งด้วยวิธี RT-PCR และการทดลองใช้ชุดตรวจสอบ GLIFT ในการตรวจสอบหัวพันธุ์เปรียบเทียบกับวิธี RT-PCR

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรภี กีรติยะอังกูร และ นวลจันทร์ ดีมา 2532. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจสอบเชื้อ PVX, PVY ด้วยวิธี EM, IEM และ ELISA. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2532. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา 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; ข่าวสารเพื่อสมาชิกในกลุ่มบริษัทเบรีย. ปีที่ 15 : เมษายน-มิถุนายน 2547. ISSN 0858-0251.

สุดา ลุยศิริโรจนกุล สนทนา ศริรตันติกร และ ระวิวรรณ ขันหยก. 2547. การตรวจวินิจฉัยไข้หวัดนกของห้องปฏิบัติการ. Thai : Medical Technologist Letter; ข่าวสารเพื่อสมาชิกในกลุ่ม บริษัทเบรีย. ปีที่15 :กรกฎาคม-กันยายน 2547. ISSN 0858-0251.

สุรภี กีรติยะอังกูร ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ และ กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร. 2547. ชุดตรวจสอบโรคไวรัสในกล้วยไม้.วารสารโรคพืช. ISSN-0125-5878.ปีที่ 18 เล่มที่ 1-2 : หน้า 1-14.

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 , X and Y by Enzyme-linked Immunosorbent Assay on Nitrocellulose Membrane (Dot-ELISA). Plant Disease. 69:202-205.

Singh, R.P., D.L. McLaren , X. Nie and M. Singh. 2003. Possible Escape of a Recombinant Isolate of Potato virus Y by Serological Indexing and Method of its Detection. Plant Disease .Vol. 87 No.6 : 679-685.

การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเชื้อไวรอยด์กับเมล็ดมะเขือเทศที่เหมาะสม ในงานกักกันพืช

ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์
วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ไวรอยด์ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคในมะเขือเทศมีหลายชนิดได้แก่ *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd) *Citrus exocortis viroid* (CEVd) *Columnea latent viroid* (CLVd) *Cucumber pale fruit viroid* (CPFVd) *Hop stunt viroid* (HSVd) *Indian bunchy top viroid* (IBTVd) *Mexican papita viroid* (MPVd) *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) *Tomato apical stunt viroid* (TASVd) *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd) และ *Tomato planta macho viroid* (TPMVd) ซึ่งตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประกาศเชื้อไวรอยด์เหล่านี้เป็นศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) จำเป็นต้องมีการตรวจวินิจฉัยกับส่วนขยายพันธุ์พืชที่นำเข้าในขั้น แต่เนื่องจากไวรอยด์เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีขนาดเล็กที่สุด เป็นวงอาร์เอ็นเอเส้นเดี่ยวที่ไม่มีโปรตีนห่อหุ้มเหมือนไวรัส จึงไม่สามารถใช้วิธีการตรวจสอบที่นิยมใช้เช่น ELISA ได้ การนำเอาเทคนิค RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) และ nucleic hybridization มาใช้ จึงเป็นวิธีการตรวจวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสม เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบไวรอยด์ที่อาจมีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าได้

คำนำ

มะเขือเทศเป็นพืชสกุล Solanacearum ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับ มะเขือ พริก ยาสูบ และมันฝรั่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lycopersicon esculentum* Mill มะเขือเทศเป็นพืชที่นิยมปลูกทั่วโลก เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา ตุรกี รัสเซีย และอิตาลี มะเขือเทศเป็นพืชที่มีสำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีการเพาะปลูกกันหลายชนิดหลายพันธุ์ตามลักษณะการใช้งานทั้งการทานผลสด และอุตสาหกรรมแปรรูปทำรายได้ให้กับประเทศไทยในด้านการส่งออก ทั้งผลสดมะเขือเทศ แปรรูป และการผลิตเมล็ดพันธุ์ โดยมีแนวโน้มการผลิต และการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกๆปี แต่เนื่องจากมะเขือเทศเป็นพืชที่มีศัตรูพืชรบกวนหลากหลายชนิดทั้งแมลง ไส้เดือนฝอย เชื้อรา

รหัสโครงการ 07-01-49-07

แบคทีเรีย ไฟโตพลาสมา ไวรัส และไวรอยด์ซึ่งส่งผลต่อปริมาณ และการผลิตของมะเขือเทศโดยตรงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยที่มีความชื้น และอุณหภูมิที่สูง ทำให้เกิดโรค และศัตรูพืชต่างๆเข้าทำลายมะเขือเทศได้ง่าย

ไวรอยด์เป็นเชื้อสาเหตุโรคที่มีขนาดเล็กมาก ประกอบด้วยเส้นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว ที่ไม่มีโปรตีนห่อหุ้ม ไม่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ (Diener, 1987) เป็นเชื้อโรคศัตรูพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งที่ทำความเสียหายให้กับการผลิตมะเขือเทศเป็นอย่างมาก มีรายงานการพบไวรอยด์หลายชนิดในมะเขือเทศ เช่น *Citrus exocortis viroid* (CEVd), *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd), *Tomato apical stunt viroid* (TASVd), *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd), *Hop stunt viroid* (HSVd), *Cucumber pale fruit viroid* (CPFVd), *Columnea latent viroid* (CLVd), *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd), *Tomato bushy top viroid* (TBTVd), *Mexican papita viroid* (MPVd) และ *Tomato planta macho viroid* (TPMVd) (Warrilow and Symons, 1999; Benson and Singh, 1964; Antignus *et al*., 2002; Kryczynski *et al*., 1988; Sano and Shikata, 1988; Sanger *et al*., 1976; Singh *et al*., 1999; Diener, 1987; Galindo *et al*., 1982; Owens, R.A *et al*., 2003) นอกจากนี้มีรายงานว่า PSTVd สามารถถ่ายทอดโรคโดยติดไปกับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศได้ (Raymer and O' Brien, 1962) อีกทั้งไวรอยด์ยังสามารถที่จะแพร่เชื้อระบาดไปยังพืชชนิดอื่นที่สำคัญทางเศรษฐกิจได้ เช่นมันฝรั่ง พริก และยาสูบ เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Thermal cycler (PCR)
2. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge)
3. ตู้แช่แข็ง -30°C
4. ตู้แช่ 4°C
5. Spectrophotometer
6. Gel Documentation UV-transilluminator
7. Gel electrophoresis
8. เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 3 ตำแหน่ง
9. สารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการสกัดอาร์เอ็นเอ
10. เอ็นไซม์ reverse transcriptase
11. เอ็นไซม์ Taq DNA polymerase
12. วัสดุอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการปฏิบัติการทางโมเลกุล

13. วัสดุวิทยาศาสตร์ ต่าง ๆ

วิธีการ

1. สำรวจโรคในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อการส่งออกในพื้นที่จังหวัดสกลนคร ขอนแก่น อุดรธานี มุกดาหาร กาฬสินธุ์ และมหาสารคาม เก็บตัวอย่างมะเขือเทศที่แสดงอาการโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อไวรอยด์
2. นำตัวอย่างที่ได้ปลูกถ่ายเชื้อบนพืชทดสอบมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค สังเกตลักษณะอาการ
3. สืบค้นข้อมูลเชื้อไวรอยด์ในมะเขือเทศจากฐานข้อมูล NCBI เพื่อออกแบบไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศทั้ง 9 ชนิด จำนวนทั้งสิ้น 15 เส้น
4. สกัดอาร์เอ็นเอด้วยวิธี CTAB ตามวิธีการของ Scottish Agricultural Science Agency โดยบดตัวอย่างพืช 100 มิลลิกรัม เติม CTAB extraction buffer ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 65°C นาน 30 นาที ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นดูดของเหลวใสส่วนบนใส่หลอดใหม่ เติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดของเหลวใสส่วนบนปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่ เติม chloroform:isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดของเหลวใสส่วนบน เติม 5 M NaCl ปริมาตร 0.5 เท่าของปริมาตรสารละลาย และ isopropanol แช่เย็น ปริมาตรเท่ากับของปริมาตรสารละลาย ผสมให้เข้ากันและบ่มที่ -20°C ข้ามคืน จากนั้นปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เก็บตะกอนกรดนิวคลีอิก ละลายตะกอนด้วย TE Buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 5 M NaCl ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ isopropanol แช่เย็น 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที จากนั้นล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 4 นาที และตากตะกอนกรดนิวคลีอิกให้แห้ง ละลายตะกอนด้วยน้ำบริสุทธิ์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20°C (Jeffries and Tina, n.d.)
5. ตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค Trascription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) และหาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยา
6. นำ PCR product ที่ได้ไป clone เพื่อเพิ่มปริมาณด้วย pGEM-T easy vector

7. หาและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์
8. นำ PCR product ของเชื้อไวรอยด์ไปสังเคราะห์ cDNA probe
9. ทดสอบประสิทธิภาพ cDNA probeที่ผลิตได้
10. นำไปทดสอบกับตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ
11. ทดสอบสอบการถ่ายทอดโรคกับพืชชนิดต่าง ๆ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2548 - มีนาคม 51

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศเพื่อการส่งออกในพื้นที่จังหวัดสกลนคร ขอนแก่น อุดรธานี มุกดาหาร กาฬสินธุ์ และมหาสารคาม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

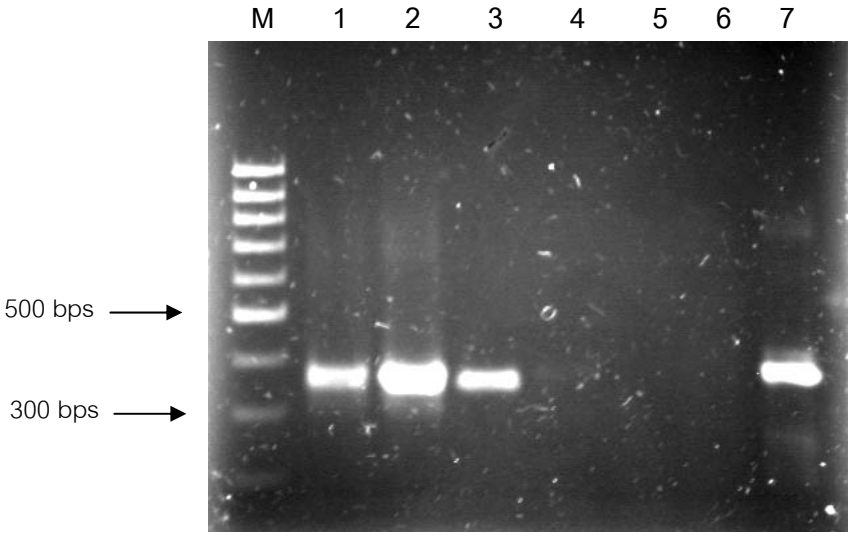
จากการสำรวจโรคและเก็บตัวอย่างอาการในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และนำมาปลูกถ่ายเชื้อบนพืชทดสอบมะเขือเทศพันธุ์ Rutgers ด้วยวิธีกล พบว่า พืชทดสอบแสดงอาการใบหดลดรูป ก้านใบและยอดหดสั้นอย่างรุนแรง ใบบิดม้วนเสียรูปทรง ลำต้นแคระแกร็น ยอดใหม่มีขนาดเล็กผิดปกติ มีลักษณะอาการเซลล์ตายที่บริเวณเส้นใบ สำหรับบริเวณกิ่ง

จากนั้นนำมาตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่าเกิดปฏิกิริยาได้แถบดีเอ็นเอกับคู่ไพรเมอร์ CLVd มีขนาดประมาณ 370 bps (ภาพที่1) เมื่อนำไปตรวจสอบและวิเคราะห์ลำดับเบสแล้วพบว่าเป็นเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) โดยจำแนกได้ทั้งสิ้น 5 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองพบว่าคู่ไพรเมอร์ CLVd มีประสิทธิภาพในการตรวจจำแนกเชื้อไวรอยด์ได้เป็นอย่างดี โดยเชื้อไวรอยด์ที่สำรวจพบในแปลง ส่วนใหญ่เป็นเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) ที่มีความแตก

จากนั้นนำมาตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค RT-PCR พบว่าเกิดปฏิกิริยาได้แถบดีเอ็นเอกับคู่ไพรเมอร์ CLVd มีขนาดประมาณ 370 bps เมื่อนำไปตรวจสอบและวิเคราะห์ลำดับเบสแล้วพบว่าเป็นเชื้อ *Columnea latent viroid* (CLVd) โดยจำแนกได้ทั้งสิ้น 5 ตัวอย่าง ซึ่งลำดับนิวคลีโอไทด์มีความผันแปรจาก isolate อื่น ๆ ที่เคยมีการรายงานมาก่อน



ภาพที่ 1 ผลการตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ CLVd
M = 100 bps DNA Ladder
1, 2, 3, 4 และ 7 = มะเขือเทศที่เป็นโรค
5 = มะเขือเทศปกติ
6 = มะเขือเทศที่เป็นโรค (แต่แสดงลักษณะอาการบนพืชทดสอบที่แตกต่างจาก 1, 2, 3, 4 และ 7)

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คนึงนิตย์ เหรียญวรากร ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ขอบคุณพี่ปรียพรรณ พงศาพิชญ์ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำ และขอขอบคุณ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ ที่ช่วยปลูกและดูแลพืชทดสอบเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

CAB *international*. 2003. **Crop Protection Compendium 2003 Edition**. (Computer Program). CAB International. Wallingford, UK.

Diener, T.O. 1987. **The Viroids**. Plenum Press, Inc., New York. 344 p.

Fristch, E.F., J. Sambrook and T. Maniatis. 2001. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor Laboratory, New York. 186 p.

Grasmick, M.E. and S.A. Slack. 1987. Detection of *Potato spindle tuber viroid* in true potato seed by bioassay on Rutgers tomato. **Am. Potato J.** 64: 235-244.

Hammond, R., D.R. Smith and T.O. Diener. 1989. Nucleotide sequence and proposed secondary structure of *Columnea latent viroid*: a natural mosaic of viroid sequences. **Nucleic Acids Res.** 17: 10083-10094.

Jeffries, C. and J. Tina. n.d. **Protocol for the Diagnosis of Quarantine Organism: *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd).** Scottish Agricultural Science Agency, East Craigs, Edinburgh, EH 12 8NJ, United Kingdom. Available Source: http://www.csl.gov.uk/science/organ/ph/diagpro/PSTVd.pdf, August 20, 2004.

Kryczynski, S., E. Paduch-Cichal and L.J. Skrzeczkowski. 1988. Transmission of three viroids through seed and pollen of tomato plants. **J. Phytopathol.** 121(1): 51-57.

Owens, R.A., T. Sano, P.A. Feldstein, Y. Hu and G. Steger. 2003. Identification of a novel structural interaction in *Columnea latent viroid*. **Virology** 313: 604-14.

การพัฒนาการตรวจสอบเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์แตงโม

Development of Detection Technique for *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* on Watermelon Seeds

ศรีวิเศษ เกษสังข์ ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ วันเพ็ญ ศรีชาติ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac.) สาเหตุโรคผลเน่าแบคทีเรีย (Bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง ซึ่งแยกได้จากส่วนผลและใบของแตงโม โดยการเก็บตัวอย่างใบที่แสดงอาการใบจุดขนาดเล็กสีน้ำตาลแดงหรือจุดสีน้ำตาลดำมีวงสีเหลืองล้อมรอบและใบพืชที่มีแผลขยายออกตามเส้นกลางใบ ส่วนที่ผลจะแสดงอาการเป็นจุดฉ่ำน้ำขยายเป็นปื้นสีเขียวเข้มขนาดใหญ่และผลที่มีแผลสีน้ำตาลมีรอยแตกตามบริเวณแผล จากแปลงเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์แตงโมเพื่อการส่งออกในท้องที่จังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ มหาสารคาม มุกดาหารและอุบลราชธานี รวม 125 แปลง ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ได้จำนวน 9 ไอโซเลท ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและตรวจสอบด้วยวิธี ELISA ผลปรากฏว่าเชื้อทั้ง 9 ไอโซเลทให้ผลไม่แตกต่างกันและเมื่อนำเชื้อ Aac. จำนวน 4 ไอโซเลท มาทำการสกัดดีเอ็นเอและดำเนินการทดสอบและปรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ให้เหมาะสมในการตรวจเชื้อ Aac. โดยใช้ไพรเมอร์ 1 คู่ และได้ทำการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์แตงโมจากแปลงที่เป็นโรคผลเน่า จำนวน 5 ตัวอย่าง เพื่อใช้ในการดำเนินการทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจสอบเชื้อ Aac. กับเมล็ดพันธุ์แตงโมดังกล่าวต่อไป

คำนำ

โรคผลเน่า (Bacterial fruit blotch) ของแตงโมนี้พบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2508 โดยทำให้เกิดอาการต้นกล้าแห้งตาย (Webb and Goth, 1965) ต่อมาในปี พ.ศ. 2510 มีรายงานพบโรคผลเน่าในแปลงแตงโมในรัฐฟลอริด้า โดยพบอาการแผลฉ่ำน้ำสีเขียวเข้มบนผลแตงโมในระยะแรกและต่อมาเกิดอาการผลเน่าจากการจำแนกเชื้อสาเหตุ พบว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (Crall and Schenck, 1969) ปี พ.ศ. 2530 พบโรคนี้ในเกาะกวมและติเนียน (Wall, 1989) ในปี 2532 โรคผลเน่านี้ทำลายผลแตงโมที่ปลูกเป็นการค้าโดยเฉพาะแตงโมผลสดในรัฐฟลอริด้าทำความเสียหายถึง

รหัสโครงการ 07-01-49-07

90% (Somodi *et al*., 1991) ในประเทศไทยมีรายงานพบโรคนี้ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2534 ในพื้นที่ปลูกแตงโมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและในปีต่อมาพบว่าโรคนี้ระบาดทำความเสียหายต่อผลผลิตแตงโมผลสด และแตงโมสำหรับผลิตเมล็ดพันธุ์ซึ่งได้รับความเสียหายมากกว่า 50% (Pinyapong, 1994) ลักษณะอาการของโรคผลเน่าของแตงโมบนต้นกล้า ใบ และผล พบว่าต้นกล้าแตงโมแสดงอาการแผลจุดฉ่ำน้ำที่ใบเลี้ยงโดยทำให้ลำต้นล้มตาย ส่วนใบของพืชที่เป็นโรคแสดงอาการจุดสีน้ำตาลแดง และจะแผ่ไปตามเส้นกลางใบ ซึ่งส่งผลต่อการเข้าทำลายผลต่อไป ลักษณะอาการบนผลเริ่มด้วยจุดฉ่ำน้ำขนาดเล็ก และแพร่กระจายปกคลุมพื้นที่ผิวด้านบนของผล (พยอม, 2537 ; Frankle *et al*., 1993) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac.) (เดิมชื่อ *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli*) (Schaad *et al*., 1978) การศึกษาการถ่ายทอดโรคทางเมล็ดพันธุ์ พบว่า เชื้อโรคผลเน่าของแตงโมสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดโดยเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนที่ผิวภายนอกและเข้าสู่ภายในเมล็ดทางแผลหรือช่องเปิดบริเวณ hilum แต่เชื้อไม่เข้าสู่ภายในเมล็ดทางท่อน้ำและท่ออาหาร (Rane และ Latin, 1992) ต่อมา Hopkins และคณะ (1996) ศึกษาเปอร์เซ็นต์การถ่ายทอดโรคทางเมล็ดของแตงโมในแปลงปลูก พบว่าเมล็ดที่ได้จากผลที่แสดงอาการโรคผลเน่ามีการถ่ายทอดโรค 45-80% เมล็ดที่ได้จากผลที่เกิดอาการแผลไหม้ขนาด 1-3 มิลลิเมตร แต่ไม่มีอาการผลเน่า มีการถ่ายทอดโรค 0.3-2.3% และผลที่ไม่พบอาการผิดปกติแต่อยู่ติดกับผลที่แสดงอาการเน่ามีการถ่ายทอดโรคทางเมล็ดได้ 0.2-0.8% และมีรายงานที่สอดคล้องกัน โดย Rane และ Latin (1992) รวบรวมเมล็ดจากผลแตงโมที่เกิดการเน่าในธรรมชาติ พบว่ามีการถ่ายทอดโรค 7-10% เมล็ดที่ได้จากผลที่ปลูกเชื้อสามารถถ่ายทอดโรคได้ 40-96% ส่วนเมล็ดที่แช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียโดยตรงนาน 5 นาที และผึ่งให้แห้งก่อนนำไปปลูกมีเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าเป็นโรคถึง 75% (Pinyapong, 1994) พบว่าต้นกล้าที่เพาะจากเมล็ดที่แช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียจะแสดงอาการโรคหลังงอก 7-10 วัน และมีเปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรค 10-83%

การศึกษาความมีชีวิตของเชื้อแบคทีเรียบนเมล็ด พบว่าอัตราการถ่ายทอดโรคไม่ลดลงหลังจากการเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ 12° C เป็นเวลา 1 ปี (Hopkins และคณะ, 1996 และ Sowell และ Schaad, 1979) การศึกษาเกี่ยวกับการตรวจสอบเชื้อ พบว่า Minsapage และคณะ (1995) ได้ศึกษาวิธีการตรวจสอบเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ด้วยวิธี PCR. โดยการสกัด DNA จากโคโลนีของเชื้อและใช้ primer ที่เหมาะสมในการตรวจสอบเชื้อ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Nutrient Agar (NA)
2. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

3. ชุดตรวจสอบ Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA Kit) ของ Agdia สำหรับการตรวจสอบเชื้อ Aac.
4. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ สำหรับการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชและเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. โรงเรือนปลูกพืชมีตาข่ายกันแมลง
6. วัสดุและอุปกรณ์ในการปลูกพืช
7. วัสดุและอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืช
8. เครื่อง Thermal cycler (PCR)
9. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge)
10. ตู้แช่แข็ง -30°C
11. ตู้แช่ 4°C
12. Spectrophotometer
13. Gel Documentation UV-transilluminator
14. Gel electrophoresis
15. เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 3 ตำแหน่ง
16. สารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลของเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* และวางแผนการดำเนินงาน

2. สำรวจโรคผลเน่า (Bacterial fruit blotch) ในแปลงปลูกแตงโมที่ผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออกในท้องที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ มหาสารคาม มุกดาหาร และอุบลราชธานีจำนวน 125 แปลง มาทำการแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

3. นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาล้างด้วยน้ำสะอาดและทำความสะอาดที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ตัดเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นโรคมาบดให้ละเอียด โดยใส่เนื้อเยื่อพืชที่บดแล้วลงในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อที่บรรจุในหลอดทดสอบคนให้เข้ากันและใช้ Loop แตะ suspension มาทำการ streak ลงใน Nutrient Agar (NA) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่มีสีขาวใส รูปร่างกลมนูน ขอบเรียบ ขนาดเล็ก นำมาเพิ่มปริมาณบน NA โดยบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง และทำการตรวจสอบเชื้อด้วยการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและด้วยเทคนิค Indirect ELISA

4. สืบค้นข้อมูลจาก Gene Bank ออกแบบและสังเคราะห์ไพรเมอร์สำหรับการตรวจสอบเชื้อ

5. ทำการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ Aac.

6. ทดสอบไพรเมอร์และปรับปฏิกิริยา PCR. ที่เหมาะสมในการตรวจสอบเชื้อ

7. เก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์แตงที่ได้จากแปลงที่เป็นโรคผลเน่าเพื่อใช้ในการทดสอบปฏิกิริยา PCR ในการตรวจสอบเชื้อ Aac. กับเมล็ดพันธุ์แตงโมต่อไป

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2548 - กุมภาพันธ์ 2551

สถานที่ 1.ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สอพ.

2. โรงเรือนปลูกพืชของกลุ่มวิจัยการกักกันพืช

3.แปลงปลูกแตงโมของเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออกในท้องที่จังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ มหาสารคาม มุกดาหาร และอุบลราชธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจโรคผลเน่าของแตงโม (Bacterial fruit blotch) และเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรคผลเน่าจากแปลงผลิตเม็ดพันธุ์แตงโมเพื่อการส่งออกในท้องที่จังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ มหาสารคาม มุกดาหาร และอุบลราชธานี จำนวน 125 แปลง นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ได้เชื้อบริสุทธิ์รวม 9 ไอโซเลท และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และตรวจสอบด้วยวิธี ELISA ให้ผลไม่แตกต่างกันและเมื่อนำเชื้อ Aac. จำนวน 4 ไอโซเลท มาทำการสกัดดีเอ็นเอและดำเนินการทดสอบและปรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ได้เหมาะสมในการตรวจสอบเชื้อ Aac. โดยใช้ไพเมอร์ 1 คู่ และได้ทำการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์แตงโมจากแปลงที่เป็นโรคผลเน่าจำนวน 5 ตัวอย่าง เพื่อใช้ในการดำเนินการทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจสอบเชื้อ Aac. กับเมล็ดพันธุ์แตงโมดังกล่าวต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บรวบรวมเชื้อ Aac. จากแปลงปลูกแตงโมของเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์แตงโมเพื่อการส่งออกในท้องที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 5 จังหวัด จาก ขอนแก่น กาฬสินธุ์ มหาสารคาม มุกดาหารและอุบลราชธานี รวม 125 แปลง ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์จำนวน 9 ไอโซเลท และเชื้อทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและตรวจสอบด้วยเทคนิค ELISA ผลปรากฏว่าได้ผลไม่แตกต่างกันทั้ง 9 ไอโซเลท และเมื่อนำเชื้อ Aac. จำนวน 4 ไอโซเลท มาทำการสกัดดีเอ็นเอและนำการทดสอบและปรับปฏิกิริยาพีซีอาร์ ให้เหมาะสมสำหรับการตรวจเชื้อ Aac. โดยใช้ไพเมอร์ 1 คู่ และให้ทำการรวบรวมเมล็ดพันธุ์แตงโมจากแปลงที่เป็นโรคผลเน่าจำนวน 5 ตัวอย่าง เพื่อจะใช้ในการทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อ Aac. กับเมล็ดพันธุ์แตงโมต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณบริษัท ซีนเมล็ดพันธุ์ จำกัด และบริษัท เจียไต๋ เมล็ดพันธุ์จำกัด ที่กรุณาเอื้อเฟื้อเมล็ดพันธุ์แตงโมที่ใช้ในการทดลองและข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่องานทดลอง

เอกสารอ้างอิง

พยอม พินยพงค์. 2537. รายงานครั้งแรกของโรคผลเน่า (Bacterial fruit blotch) ของแตงโมในประเทศไทย. แก่นเกษตร 22 : 55-57.

Crall, J.M. and N.C. Schenck. 1969. Bacterial fruit rot of watermelon in Florida. Plant Dis. Rep. 53:74-75.

CAB *international*. 2003. Crop Protection Compendium 2003 Edition. (Computer Program). CAB International. Wallingford, UK.

Frankle, W.G., D.L. Hopkins and R.E. Stall. 1993. Ingress of the watermelon fruit blotch bacterium into fruit. Plant Dis. 77: 1090-1092.

Hopkins, D.L., J.D. Cucuzza and J.C. Watterson. 1996. Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of watermelon. Plant Dis. 80: 529-532.

Minsapage, G.V., R.J. Hoover, T.A. Kucharcle and R.E. Stall. 1995. Detection of the watermelon fruit blotch on the seeds with the polymerase chain reaction,Phytopathology 85:116.

Pinyapong, P.S. 1994. Etiology and factors affecting the development of fruit blotch of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum&Nakai) in Northeastern Thailand. M.S. Thesis. Universtiy of the Philippines at Los Banos. 99.

Rane, K.K. and R.X. Latin 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon : association of the pathogen with seed. Plant Dis. 76: 509-512.

Schaad, N.W., Sowell, G,Jr Goth, R.E., Colwell, R.R., and Webb,R.E.1978. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov. Int. J. Syst. Bacterial. 28:117-125.

Somodi, G.C., J.B. Jones, D.L. Hopkins, R.E. Stall, T.A. Kucharek, N.C. Hodge and J.C. Watterson.1991. Occurrence of bacterial watermelon fruit blotch in Florida. Plant Dis. 75: 1053-1056.

Sowell, G., Jr. and Schaad, N. W. 1979. *Pseudomonas pseudoalcaligens* subsp. *citrulli* on watermelon seed transmission and resistance of plant interactions. Plant Dis. Rep. 63: 437-441.

Wall, G.C. 1989. Control of watermelon fruit blotch by seed heat treatment. Phytopathology. 79: 1191.

Webb, R.E., and Goth, R.W. 1965. A seed-borne bacterium isolated from watermelon. Plant Dis. Rep. 49:818-821.

การสำรวจวัชพืชต่างถิ่นในประเทศไทย (ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)

(Survey of Invasive Alien Plants in Thailand: North and North East)

ศิริพร ซึงสนธิพร[1] วินัย สมประสงค์[2] ปราโมทย์ ไตรบุญ[2]

[1]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2]กลุ่มวิจัยเพื่อการคุ้มครองพันธุ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช

บทคัดย่อ

การสำรวจพืชต่างถิ่นในภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งรวมถึงกรุงเทพมหานคร และปริมณฑล พบวัชพืชที่มิได้มีรายงานมาก่อนในประเทศไทยหลายชนิด บางชนิดมีตัวอย่างพืชให้เทียบแต่เป็นตัวอย่างที่มาจากต่างประเทศ พืชที่พบหากมีลักษณะเป็นพืชรุกราน หรือมีศักยภาพที่จะเป็นวัชพืชในประเทศไทย จะทำการศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม เพื่อประเมินศักยภาพการเป็นวัชพืชในประเทศไทย พืชต่อไป ซึ่งในรายงานครั้งนี้ มีพืช 4 ชนิดที่พบในสภาพธรรมชาติ 3 ชนิดมีศักยภาพที่เป็นวัชพืชร้ายแรง ได้แก่ *Alternanthera sp*. หญ้าอีหนาว (*Digera muricata* (L.) Mart.) *Chenopodium ambrosoides* L. ส่วนงวงช้างดอกขาว (*Heliotropium lasiocarpum* Fischer & C. A. Meyer.) ยังไม่สามารถประเมินได้ นอกจากนี้ ยังมีวัชพืชอีกกลุ่มหนึ่งที่ควรเฝ้าระวัง ซึ่งรวมถึงวัชพืช 1 ชนิดที่ระบาดทั่วไปแล้วแต่ยังไม่สามารถตรวจหาชื่อที่ถูกต้องได้ เป็นพืชในกลุ่มผักขมหิน (*Boerhavia* sp.) ส่วนหญ้าสาบ (*Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M.King & H.Rob) นั้นเป็นวัชพืชที่ระบาดทั่วไปแล้ว เป็นการศึกษาเพื่อตรวจสอบชนิดที่ถูกต้อง ที่เหลือเป็นไม้ประดับที่กลายมาเป็นวัชพืช หรือไม้ประดับที่มีรายงานการเป็นวัชพืชในประเทศอื่น ได้แก่ *Asystasia gangetica* (L.) T. Anders., บอลลูน (*Gomphocarpus physocarpus* E.Meyer), ผักบุ้ง (*Gymnocoromis spilanthoides* DC.) และผักแว่นขน หรือผักแว่นกำมะหยี่ (*Marsilea drummondii* A. Braun)

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

พื้นที่การเกษตรเป็นพื้นที่ที่มีกิจกรรมของมนุษย์เข้าไปเกี่ยวข้อง เปลี่ยนแปลงสภาพเพื่อการใช้ประโยชน์ที่ดิน และการใช้สารเคมีเพื่อการกำจัดพืชอื่นที่ไม่ต้องการ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความหลากหลายในพื้นที่เหล่านี้มาก พืชบางชนิดอาจหายไปจากพื้นที่นั้น ขณะเดียวกันพืชที่ไม่เคยเป็นพืชเด่น เช่น การทำนาอย่างต่อเนื่องในทีลุ่มภาคกลาง โดยมีระยะเวลาการพักนาสั้นและการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชอย่างต่อเนื่อง ทำให้กระชับ (*Xanthium indicum* Koenig) ไม่สามารถเจริญจนครบวงจรชีวิตได้ วัชพืชชนิดนี้จึงไม่ค่อยพบในนาที่ลุ่มภาคกลาง แต่ขณะเดียวกันก็มีวัชพืชอื่นเด่นขึ้นมาแทนที่ ซึ่งวัชพืชที่เด่นขึ้นมานี้ อาจเป็นวัชพืชเดิมในถิ่นนั้น แต่มิได้เป็นวัชพืชเด่น จึงไม่เป็นที่สังเกต หรือไม่มีผู้ใดสนใจ หรืออาจเป็นพืชที่มีมาจากแหล่งอื่น ซึ่งอาจมีผู้นำเข้ามาโดยความตั้งใจ เช่นนำเข้ามาเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างใดอย่างหนึ่ง หรือไม่ตั้งใจ เช่น การปนเปื้อนมากับท่อนพันธุ์ หรือติดสัมภาระของผู้เดินทางเข้ามา ซึ่งอาจมีทั้งการเดินทางท่องเที่ยว หรือการอพยพโยกย้ายของแรงงาน Weber (2003) กล่าวว่าการชักนำพืชที่รุกรานเข้าไปในแต่ละประเทศ สาเหตุสำคัญที่สุดคือการนำเข้าเพื่อใช้เป็นไม้ประดับ ซึ่งพืชที่รุกรานเหล่านี้หลายชนิดได้หลุดออกมาสู่สิ่งแวดล้อม และกลายเป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาในที่สุด

การจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืช ที่ถูกต้องและเป็นจริง หรือเป็นปัจจุบัน มีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับการค้าระหว่างประเทศในปัจจุบัน การจัดวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อป้องกันมิให้เป็นศัตรูพืชชนิดใหม่ที่อาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อเศรษฐกิจของประเทศ ตลอดจนกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพของแต่ละประเทศ

การสำรวจ ตรวจสอบ เพื่อค้นหาพืชรุกรานที่ไม่เคยพบหรือมีรายงานมาก่อน นอกจากจะเกิดประโยชน์ต่อการจัดทำฐานข้อมูลศัตรูพืช (วัชพืช) แล้ว การตรวจพบพืชรุกรานได้ก่อนที่พืชนั้นจะกลายเป็นวัชพืชร้ายแรง เป็นสิ่งที่มีความสำคัญมากในการแก้ปัญหาวัชพืชร้ายแรง คือสามารถหาแนวทางการจัดการได้ทัน ก่อนที่พืชนั้นจะเปลี่ยนสภาพเป็นวัชพืชร้ายแรง

การสำรวจพืชต่างถิ่นนี้ จึงมีจุดประสงค์ที่สำคัญคือ การหาพืชรุกรานที่อาจเปลี่ยนสภาพเป็นวัชพืชร้ายแรงในอนาคต เพื่อหาทางป้องกันและจัดการต่อไป และเพื่อให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับวัชพืชที่เป็นจริงในปัจจุบันมากที่สุด โดยเฉพาะการรวบรวมตัวอย่างแห้งของวัชพืชที่พบในประเทศไทยในปัจจุบัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การสำรวจในพื้นที่ต่างๆ ทำการสำรวจในพื้นที่มีถนนรถยนต์ผ่านได้ พื้นที่การเกษตรที่สูง และแหล่งท่องเที่ยวเกษตรเชิงนิเวศน์ และตลาดขายพันธุ์ไม้ประดับ โดยการเดินสำรวจ หากเป็นพื้นที่กว้างใช้รถยนต์และลงเดินสำรวจเป็นระยะๆ หรือพื้นที่ใดที่พบพืชที่มีลักษณะแตกต่างจากพืชอื่นที่พบเห็นทั่วไป ศึกษาสภาพแวดล้อมพื้นที่นั้น และเก็บตัวอย่าง เพื่อทำตัวอย่างแห้ง และนำตัวอย่างพืชสด และหรือเมล็ดมาศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม ในกรณีที่ไม่ทราบชื่อวิทยาศาสตร์ และศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืชของพืชนั้นๆ เพื่อประเมินการเป็นวัชพืช หรือพืชรุกราน

การทำตัวอย่างแห้ง ตัดพืชให้มีส่วนของใบ ดอก ผล และหากเป็นพืชที่มีขนาดเล็ก ความสูงน้อยกว่า 50 ซม. ควรเก็บทั้งต้น อัดและตากแห้งในแผงไม้ เมื่อแห้งดีแล้ว นำไปชุบน้ำยากันเชื้อรา ติดตัวอย่างพืชบนกระดาษติดตัวอย่าง พร้อมติดป้ายชื่อ วันเดือนปีที่เก็บและสถานที่พบ เก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช

การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ ตรวจสอบกับเอกสารต่างๆ กับตัวอย่างพืชที่มีในพิพิธภัณฑ์พืช สิรินธร (หรือพืชกรุงเทพเดิม) อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กลุ่มวิจัยเพื่อการคุ้มครองพันธุ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร และกับหอพรรณไม้ สำนักหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช หรือติดต่อสอบถามผู้รู้ จากหน่วยงานต่างๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ

การศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืช นำพืชที่พบเจริญเติบโตได้ดี ไม่พบศัตรูพืชในพื้นที่นั้นๆ มาปลูกขยายพันธุ์ เพื่อทำการศึกษาการเจริญเติบโต และลักษณะอื่นๆ เพื่อประโยชน์ในการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ จดบันทึกการเจริญเติบโตของพืช การสร้างหน่วยขยายพันธุ์ ผลต่อการเจริญเติบโตของพืชอื่น (allelopathic effect) ในห้องปฏิบัติการ เช่นหาผลต่อการเจริญเติบโตของต้นไมยราบยักษ์ โดยใช้ใบแห้งของพืชอัตราต่างๆ อยู่ระหว่างกลางของวุ้น (0.5%) ที่บรรจุในหลอดแก้วก้นตัดเส้นผ่าศูนย์กลาง 39 มิลลิเมตร สูง 130 มิลลิเมตร แล้วนำต้นอ่อนไมยราบยักษ์มาปลูก 6 ต้นต่อหลอด อัตราละ 3 ซ้ำ สำหรับชุดควบคุม ปฏิบัติเหมือนกันทุกประการ แต่ไม่ต้องใส่ใบพืช ปิดหลอดแก้วด้วยพลาสติกใส นำไปวางไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส แสง 24 ชั่วโมง เป็นเวลานาน 7 วัน ตรวจวัดความยาวรากและต้นของไมยราบยักษ์ คำนวณเปรียบเทียบกับไมยราบยักษ์ที่ปลูกพร้อมกันในหลอดบรรจุวุ้นโดยไม่มีส่วนของพืชที่นำมาศึกษา

ผลการศึกษา

การสำรวจในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือตั้งแต่ปี 2544 -2549 และตลาดพรรณไม้ประดับ ในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล พบพืชหลายชนิดที่มิได้เคยพบมาก่อน หรือไม่เคยมีรายงานการพบในประเทศไทย ซึ่งบางชนิดสามารถตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องได้ แต่หลายชนิดยังไม่สามารถตรวจสอบได้ แต่ทุกชนิดที่พบได้จัดทำตัวอย่างแห้ง เพื่อเก็บไว้เป็นตัวอย่างสำหรับการตรวจสอบ และรวบรวมส่งพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ ต่อไป พืชชนิดที่คาดว่าจะมีศักยภาพการเป็นวัชพืช ได้นำมาศึกษารายละเอียด และศักยภาพการเป็นวัชพืชแล้ว ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. **ผักเป็ด** (*Alternanthera* sp.) พบขึ้นข้างทางหลวงหมายเลข 1021 เขตอำเภอดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา เป็นพื้นที่ประมาณ 10 ตารางเมตร โดยมีไม่มีพืชอื่นๆ ปะปน นอกจากต้นอ่อนไมยราบยักษ์ 2-3 ต้น เมื่อ 25 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2546 และต่อมาได้พบขึ้นเป็นพื้นที่กว้าง ที่ไหล่ทางและข้างทางในพื้นที่(ภาพที่ 1) สอบถามประชาชนในพื้นที่ไม่มีใครทราบว่ามีมาแต่เมื่อใด รู้เมื่อพืชนี้ขึ้นเต็มพื้นที่แล้ว

1.1 **ลักษณะพืช** เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ อายุฤดูเดียว ลำต้นแตกแขนงมาก มีขนปกคลุมตลอด ใบเดี่ยว ออกตรงข้าม รูปไข่-รี ปลายแหลม ขอบใบเรียบ ฐานใบสอบ ดอกออกเป็นกลุ่มกระจุก ไม่มีก้านช่อดอก สีขาว ออกตามซอกใบ หนึ่งกลุ่มมีดอกย่อย 5-9 ดอก เมื่อออกดอกเต็ม ใบเดิมมักร่วงหลุดไป เหลือแต่ใบขนาดเล็ก ทำให้เห็นแต่ดอกสีขาว เมล็ดสีน้ำตาล เมื่อแก่มีสีดำเงา (ภาพที่ 2 และภาพที่ 3) ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดและส่วนของกิ่ง

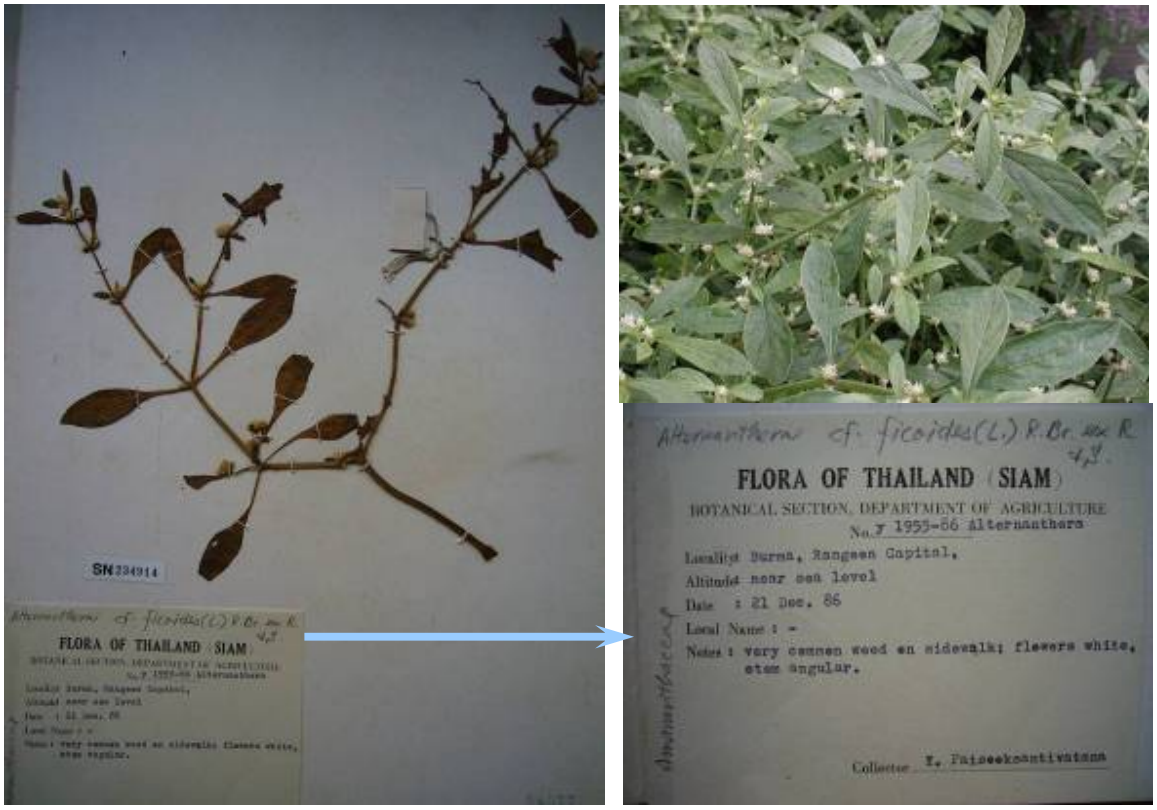
ภาพที่ 1 ผักเป็ดที่พบระบาดในพื้นที่ อ.ดอกคำใต้ จ. พะเยา และ อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง

ภาพที่ 2 ลักษณะดอกและเมล็ดของผักเป็ด

ภาพที่ 3 ลักษณะใบเมื่อเริ่มออกดอกและเมื่อออกดอกเต็มที่ของผักเป็ด

1.2 **การตรวจสอบชนิดพืช** เมื่อนำตัวอย่างศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์พืช สิรินธร กลุ่มวิจัยเพื่อการคุ้มครองพันธุ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช ไม่ปรากฏตัวอย่างพืชนี้ที่เก็บในประเทศไทยแต่อย่างใด พบเพียงตัวอย่างหมายเลข 234914 ซึ่งนายยิ่งยง ไพสุขศานติวัฒนา เก็บจากเมืองร่างกุ้ง สาธารณรัฐเมียนม่าร์ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1986 (พ.ศ. 2529) ซึ่งระบุว่ามีลักษณะคล้าย *Alternanthera ficoides* ซึ่งจากหนังสือชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ระบุว่า *Alternanthera ficoides* R. Br. ex Griseb. var. bettzickiana Back. คือ ผักเป็ดแดง แต่พืชดังกล่าวนี้มีลักษณะต่างจากผักเป็ดแดง คือมีใบและลำต้นที่มีขนปกคลุมตลอด ลำต้นอาจยาวมากกว่า 1 เมตร อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบลักษณะพืชที่พบนี้กับคำบรรยายลักษณะพืช พบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับ *Alternanthera pubiflora*

(Benth.) Kuntze ซึ่งมีถิ่นกำเนิดใน Chile, Colombia, Ecuador and Peru และเป็นพืชที่รุกรานในหมู่เกาะกาลาปากอส สาธารณรัฐเอกวาดอร์ (PIER, 2006) แต่ไม่มีตัวอย่างพืช จึงไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่าเป็นชนิดใด ยังคงต้องทำการพิสูจน์ต่อไป



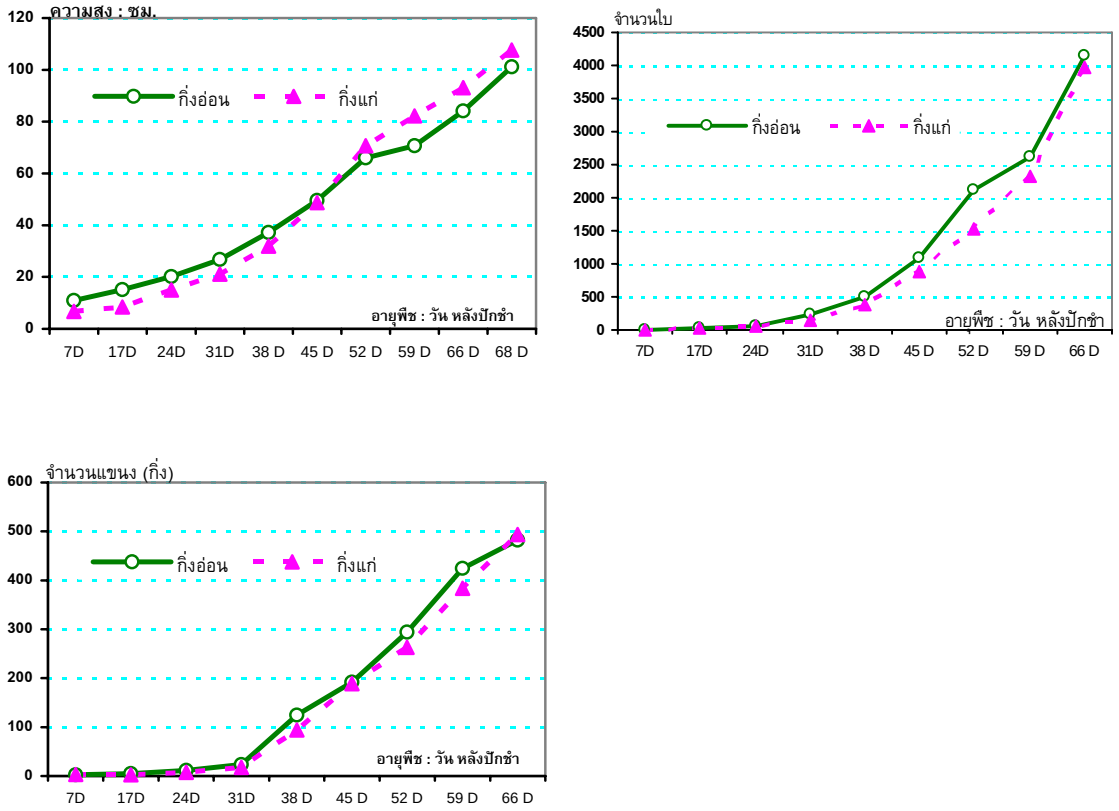
ภาพที่ 4 เปรียบเทียบลักษณะผักเป็ดกับตัวอย่างแห้งจากพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ ที่เก็บจากประเทศพม่าเมื่อปี ค.ศ. 1986

1.3 **การเจริญเติบโต** เมื่อนำกิ่งอ่อน (มียอดที่ปลาย) และกิ่งแก่ (ไม่มียอดตรงปลาย แต่มีข้อติดอยู่) ยาว 10 ซม. มาปักชำอย่างละ 6 กิ่ง จดบันทึกการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูง จำนวนใบ และจำนวนแขนง ของพืชทุกๆ 7 วัน เป็นระยะเวลา 2 เดือน หรือ 60 วัน โดยเริ่มวัดหลังจากปักชำ 17 วัน ปรากฏว่าผักเป็ดทั้งจากกิ่งอ่อนและกิ่งแก่ สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ได้เช่นเดียวกัน และการเจริญเติบโตใกล้เคียงกันตลอดระยะเวลาการศึกษาสองเดือน (ภาพที่ 6) ผักเป็ดทั้งจากกิ่งอ่อนและกิ่งแก่มีความสูงเพิ่มขึ้นตั้งแต่หลังปักดำ 17 วันอย่างต่อเนื่องและสม่ำเสมอ โดยผักเป็ดจากกิ่งอ่อนมีความสูงเฉลี่ยมากกว่าผักเป็ดจากกิ่งแก่ในช่วง 45 วันแรก แต่หลังจากนั้นผักเป็ดจากกิ่งแก่มีความสูงมากกว่า

จนสิ้นสุดการทดลอง แต่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยผักเป็ดจากกิ่งอ่อนมีความสูงเฉลี่ย 15, 20, 27, 37, 50, 66, 71, 84 และ 101 ซม. และผักเป็ดจากกิ่งแก่ มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 8, 15, 21, 32, 49, 71, 82, 93 และ 108 ซม. เมื่อ 17, 24, 31, 38, 45, 52, 59, 66 และ 68 วันหลังปักชำตามลำดับ เมื่อคำนวณอัตราการเจริญเติบโตความสูงต่อวันโดยเฉลี่ยของผักเป็ดจากกิ่งอ่อน และกิ่งแก่ตลอดระยะการทดลองจะเท่ากับ 1.49 และ 1.51 ซม.ต่อวันตามลำดับ

จำนวนใบของผักเป็ด มีแนวโน้มไปในทางเดียวกับความสูง คือผักเป็ดจากกิ่งอ่อนและกิ่งแก่มีจำนวนใบเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกัน แต่ต้นจากกิ่งอ่อนมีจำนวนใบมากกว่าต้นจากกิ่งแก่ทุกระยะการทดลอง โดยผักเป็ดจากกิ่งอ่อนมีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 9, 26, 48.8, 228, 514, 1084.3, 2123, 2604 และ 4134 ใบ และต้นจากกิ่งแก่มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 6, 17, 52, 157, 379, 879, 1538, 2309 และ 3970 เมื่อ 17, 24, 31, 38, 45, 52, 59 และ 66 วันหลังปักชำตามลำดับ เมื่อคำนวณอัตราการเพิ่มจำนวนใบต่อวันของต้นจากกิ่งอ่อนจะเท่ากับ 1.7, 3.2, 25.6, 40.9, 81.4, 148.4, 68.7, 218.6 และ 73.6 ใบ และจากกิ่งแก่เท่ากับ 1.1, 5.0, 15.0, 31.7, 71.4, 94.1, 110.2, 237.4 และ 70.7 ใบต่อวัน เมื่อ 17, 24, 31, 38, 45, 52, 59 และ 66 วันหลังปักชำตาม ลำดับ หรือมีค่าเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลองของต้นจากกิ่งอ่อนและกิ่งแก่เท่ากับ 73.6 และ 71.7 ตามลำดับ จะเห็นว่าระยะเวลาหลังจากปักชำประมาณ 1 เดือนมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนใบสูงเป็นอย่างน้อย 2 เท่าในระยะเวลา 7 วัน

ภาพที่ 5 การเจริญเติบโตของผักเป็ด โดยใช้กิ่งปักชำ

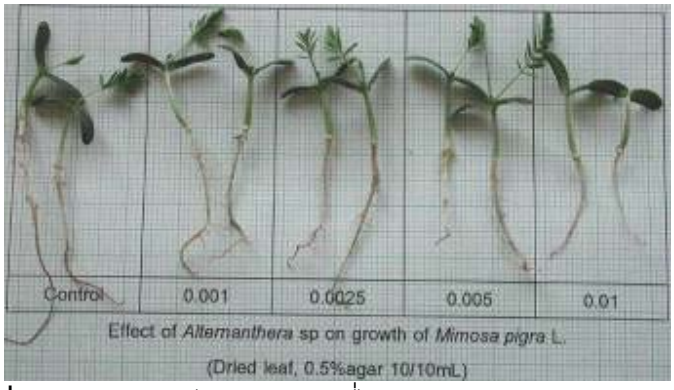


ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตของผักเป็ด (*Alternanthera* sp.) : ความสูง จำนวนใบและจำนวนแขนง (กิ่ง)

จำนวนแขนง มีแนวโน้มใกล้เคียงกับการเพิ่มของจำนวนใบ คือมีการเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในช่วง 30 วันแรก และหลังจากนั้นมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยต้นจากกิ่งอ่อนมีจำนวนแขนงเฉลี่ยเท่ากับ 3, 5, 11, 24, 125, 192, 294, 425 และ 483 และต้นจากกิ่ง-แก่มีจำนวนแขนงเฉลี่ยเท่ากับ 3, 3, 8, 18, 94, 189, 263, 384 และ 494 เมื่อ 7, 17, 24, 31, 38, 45, 52, 59 และ 66 วันหลังปักชำตามลำดับ หรือมีอัตราการเพิ่มจำนวนกิ่งของผักเป็ดจากกิ่งอ่อนเท่ากับ 0.9, 1.7, 14.5, 9.6, 14.6, 18.6 และ 8.3 กิ่งต่อวัน และเท่ากับ 0.7, 1.4, 10.9, 13.6, 10.6, 17.2 และ 15.7 กิ่งต่อวันสำหรับต้นจากกิ่งแก่ เมื่อ 7, 17, 24, 31, 38, 45, 52, 59 และ 66 วันหลังปักชำตามลำดับ หรือมีอัตราเพิ่มเฉลี่ยตลอดการทดลองเท่ากับ 8.6 และ 8.8 กิ่งต่อวันตามลำดับ

1.4 **คุณสมบัติทางอัลลิโลพาธิ**ของผักเป็ด โดยวิธีแซนด์วิช คือใช้ใบแห้งของผักเป็ด น้ำหนัก 0.001, 0.0025, 0.005 และ 0.01 กรัม ปรากฏว่าการเจริญของรากและของต้นไมยราบยักษ์ ที่ปลูกในวุ้นบรรจุใบผักเป็ดทุกอัตรา น้อยกว่าต้นอ่อนไมยราบยักษ์ในชุดควบคุม (ภาพที่ 7 และตารางที่ 1) โดยรากของไมยราบยักษ์ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตมากกว่าต้นที่ได้รับสารในอัตราเดียวกัน รากไมยราบ

ยักษ์ถูกยับยั้งการเจริญเท่ากับ 36.6, 2.8, 53.7 และ 49.2% ต้นถูกยับยั้งการเจริญเท่ากับ 23.1, 12.8, 30.9 และ 16.1% เมื่อได้รับสารจากใบผักเป็ดแห้ง 0.001, 0.0025, 0.005 และ 0.01 กรัม ตามลำดับ



ภาพที่ 7 การเจริญของไมยราบยักษ์ที่ได้รับสารจากใบผักเป็ดอัตราต่างๆ

อัตรา (น้ำหนักแห้งใบผักเป็ด : กรัม)	ความยาวราก			ความสูงต้น		
	เฉลี่ย	% ชุดควบคุม	การยับยั้ง	ยาวเฉลี่ย	% ชุดควบคุม	การยับยั้ง
0 (ควบคุม)	31.63	100.00	0	10.97	100.00	0
0.001	20.01	63.44	36.56	8.4	76.90	23.10
0.0025	24.43	77.24	22.76	9.57	87.26	12.76
0.005	14.63	46.26	53.74	7.67	69.91	30.91
0.01	16.07	50.79	49.21	9.17	83.59	16.13

ตารางที่ 1. ผลของสารจากใบของผักเป็ดต่อการเจริญเติบโตของไมยราบยักษ์

1.5 **ความสามารถในการผลิตหน่วยสืบพันธุ์** หรือการขยายพันธุ์ของผักเป็ด สามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งจากกิ่ง และเมล็ด ซึ่งดอกจะออกที่ซอกใบทุกใบ มี 1-4 กลุ่ม และแต่ละกลุ่มดอกมีดอกย่อย 5-9 ดอก และจะพบเมล็ด 2-4 เมล็ดต่อหนึ่งกลุ่มหรือกระจุกดอก และจากการศึกษาการเจริญของผักเป็ด นับจำนวนใบเมื่อพืชอายุได้ ประมาณ 2 เดือน มีใบประมาณ 4,000 ใบ ดังนั้นหากคำนวณโดยใช้จำนวนเมล็ดต่อช่อดอกเท่ากับ 3 เมล็ด และแต่ละใบมีจำนวนกลุ่มดอก 2.5 กระจุก จะได้เมล็ด 3x2.5x4,000 เท่ากับ 30,000 เมล็ดต่อต้น ซึ่งในสภาพธรรมชาติพืชนี้อายุยาวกว่า 2 เดือน และเมื่อโตเต็มที่แล้วจะมีการสร้างดอกเป็นจำนวนมาก ดังนั้นจำนวนเมล็ด 30,000 เมล็ดนี้จึงเป็นจำนวนเมล็ดที่

พืชจะสร้างอย่างต่ำ แต่ยังไม่ทราบสภาพที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดผักเป็ด ตลอดจนอายุของเมล็ดผักเป็ดก็เช่นกัน

สภาพที่ผักเป็ดชนิดนี้ขึ้นในจังหวัดพะเยาและลำปาง ในเดือนกุมภาพันธุ์ ซึ่งสภาพดินค่อนข้างแห้ง พืชนี้ออกดอกเต็มต้น ใบมีขนาดเล็ก ปกคลุมพื้นที่โดยไม่มีมีต้นขนาดเล็กขึ้นปน ยกเว้นไมยราบยักษ์ ในเดือนมิถุนายน - กรกฎาคม ซึ่งมีฝนตกแล้ว ผักเป็ดเจริญเติบโตมีใบเต็มต้น มีดอกตามซอกใบแต่ยังไม่เต็มที่ในเดือนสิงหาคม - ธันวาคม มีลักษณะคล้ายกับที่พบในเดือนกุมภาพันธุ์ คือมีดอกเต็มต้นแล้ว ดังนั้นจะเห็นว่าพืชนี้ทนแล้งได้พอสมควร และสามารถพบเห็นได้ตลอดปี ซึ่งในสภาพธรรมชาติพืชอาจมีการงอกใหม่หลังจากฝนตก หรือประมาณเดือนมิถุนายน

ดังนั้นจากข้อมูลที่ได้ทั้งหมดนี้ จะเห็นว่าผักเป็ดชนิดนี้ เป็นพืชมิได้มีการรายงานมาก่อน และยังไม่มีการเก็บตัวอย่างมาก่อน แต่ตัวอย่างที่พบเป็นการเก็บจากประเทศเพื่อนบ้าน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าพืชดังกล่าวอาจมีการชักนำมาจากประเทศเพื่อนบ้าน แต่จะมีเส้นทางอย่างไรคงพิสูจน์ได้ยาก และพืชชนิดนี้ที่พบในปัจจุบันเป็นพืชที่ขึ้นข้างทาง มีคุณสมบัติการเป็นวัชพืชที่อาจรุนแรงได้ เนื่องจากมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว สามารถขยายพันธุ์ได้มากกว่า 1 วิธี สร้างเมล็ดขนาดเล็กจำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีสารบางชนิดในตัวพืชเองที่สามารถยับยั้งการเจริญของพืชอื่นได้พอประมาณ และจากที่พบในสภาพธรรมชาติ ไม่พบพืชอื่นปะปน แสดงว่าพืชนี้ สามารถแข่งขันกับพืชอื่นได้ดี และยังไม่พบศัตรูธรรมชาติในพื้นที่ที่พบด้วย

2. **หญ้าอีหนาว** (*Digera muricata* (L.) Mart.) พบระบาดในแปลงทานตะวัน มันแกว ข้าวโพด และถั่วลิสง ในเขตอำเภอบ้านหมอ จังหวัดสระบุรี (ภาพที่ 1) และพบบนไหล่ถนนในเขตอำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี อำเภอพัฒนานิคม จังหวัดลพบุรี เมื่อเดือนมีนาคม พ.ศ.2549 และยังเคยพบที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในปี 2548 แต่พบเพียงต้นเดียวเท่านั้น และไม่สมบูรณ์

2.1 **ลักษณะพืช** พืชใบเลี้ยงคู่ อายุฤดูเดียว ต้นตรงอาจสูงถึง 85 ซม. แตกแขนงตามซอกใบ แขนงที่ใกล้โคนต้นอาจยาวกว่าความสูงของต้น และแตกแขนงย่อยตามซอกใบ มีขนประปราย ใบเป็นใบเดี่ยว แบบสลับ ขอบใบเรียบ รูปไข่ – กลม ปลายใบแหลม ฐานใบป้าน อาจกว้างถึง 4 ซม. และยาวถึง 6 ซม. เส้นใบชัดเจน ก้านใบยาวประมาณ 2 ใน 3 ของความยาวใบ มีขนปกคลุม ดอกขนาดเล็กสีชมพู-ขาว กว้าง 3-5 มิลลิเมตร ยาว 3-6 มิลลิเมตร เกสรเพศผู้ 5 เพศเมีย 1 ปลายแตกเป็น 2 เมื่อดอกบานเต็มที่ กลีบดอกชั้นนอก 2 อัน รูปคล้ายเรือ สีเขียว-ขาว-ชมพู กลีบดอกชั้นใน 2-3 อัน สีขาว ปลายเป็นสีชมพูเข้ม ผลเมื่อแก่เป็นสีน้ำตาลมีกลีบดอกและกลีบเลี้ยงติด ขนาด กว้าง 2-3 มิลลิเมตร ยาว 3-5 มิลลิเมตร เมล็ดสีน้ำตาล ทรงกลม ปลายมีรยางค์ยื่นคล้ายเขา ผิวขรุขระ (ภาพที่ 9)

ภาพที่ 8 การระบาดของหญ้าอีหนาวในแปลงมันแกว ที่อำเภอบ้านหมอ

ภาพที่ 9 ลักษณะต้น ช่อดอก ดอก ผลที่มีกลีบดอกหุ้ม และเมล็ดของหญ้าอีหนาว

2.2 **การตรวจสอบชนิดพืช** จากการตรวจสอบเอกสารต่างๆ และเทียบตัวอย่างพืชที่มีในพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร และหอพรรณไม้ พิพิธภัณฑ์พืชของกรมอุทยาน พรรณพืช ไม่พบรายงานเกี่ยวกับพืชสกุลนี้ในประเทศไทย แต่อย่างใด ซึ่ง *Digera* Forssk. นี้เป็นพืชในวงศ์ผักโขม คือ Amaranthaceae ซึ่ง Larsen (1992) รายงานใน Flora of Thailand ว่าในประเทศไทยมีพืชในวงศ์นี้ 14 สกุล ได้แก่ Deeringia, Celosia, Amaranthus, Almania, Aerva, Cyathula, Achyranthes, Centrostachys, Trichurus, Psilotricopiss, Psilotrichum, Alternanthera, Gomphrena และ Siamosia เป็นสกุลใหม่ และทั้งหมดมี 28 ชนิดด้วยกัน ไม่มีสกุล *Digera* Townsend (1985) จัดทำคู่มือการแยกพืชเป็นสกุลต่างๆ ในวงศ์นี้ โดยสกุล Digera นี้ใบเรียงแบบสลับ และดอกรองรับด้วยกาบที่เกิดจากดอกหมันที่

เปลี่ยนรูปไป ซึ่งในที่นี้ก็คือกลีบดอกชั้นนอกที่คล้ายเรือนั่นเอง และในสกุลนี้มีพืชเพียงชนิดเดียวคือ *Digera muricata* (L.) Mart.

2.3 **การเจริญเติบโต** ไม่สามารถดำเนินการศึกษาได้ เนื่องจากเมล็ดที่เก็บมาไม่งอก แต่อย่างไรก็ตามจากการนำพืชมาปลูกเพื่อศึกษารายละเอียดต่างๆ สำหรับการตรวจสอบและประเมินความรุนแรงของการระบาดนั้น พบว่าหลังจากผ่านไปประมาณ 1 ปี มีต้นอ่อนของพืชนี้ขึ้นมาในกระถางที่เคยปลูกหญ้าอีหนาว จึงอาจเป็นไปได้ว่าเมล็ดมีการพักตัว และเมื่อเก็บตัวอย่างพืชมาศึกษา พบว่าหญ้าอีหนาวมีการแตกแขนงมาก โดยแขนงล่างๆ จะมีความยาวมาก และอาจมากกว่าความสูงของต้น ซึ่งบนแขนง (ข1) นี้ มีการแตกแขนงย่อย (ข1-1) และแขนงย่อยนี้มีแขนงย่อยลงไปอีกเป็นแขนงของแขนงย่อย (ข1-1-1) โดยเฉพาะแขนงที่อยู่ในระดับ 1-6 จากโคนต้นขึ้นมา มักมีการแตกแขนงย่อยมาก (ภาพที่ 10) โดยแขนงจะแตกออกจากซอกใบ และที่ซอกใบทุกใบจะเกิดช่อดอกด้วย ซึ่งการเกิดแขนงของผักอีหนาวมีรายละเอียดดังนี้

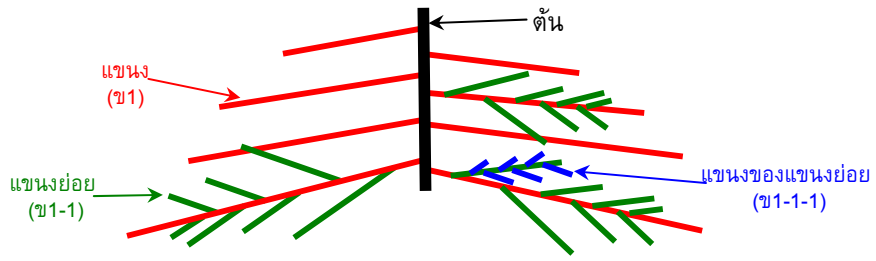
- ความสูงของต้น ซึ่งเป็นแกนกลาง 86.5 ซม.

- จำนวนสาขาหลักที่แตกจากลำต้นที่เป็นแกนกลาง (ข1) 26 กิ่ง โดยแขนงด้านล่างมีความยาวมากกว่ากิ่งที่อยู่ด้านบน แขนงที่ยาวที่สุดมีความยาวเท่ากับ 175.5 ซม

- จำนวนแขนงย่อย (ข1-1) ของทั้งต้นมีมากถึง 150 กิ่ง ความยาวสูงสุดถึง 115 ซม.

-จำนวนแขนงของแขนงย่อย (ข1-1-1) 234 กิ่ง ความยาวสูงสุด 68 ซม. ซึ่งในกิ่งที่ยาวมากก็สามารถแตกแขนงออกไปได้อีก

เมื่อนำความยาวแขนงทั้งหมดมารวมกันจะได้ความยาวถึง 5194 ซม. นั่นคือหากนำแขนงของพืชทั้งหมดมาวางเรียงกัน จะได้ความยาวถึงเกือบ 5.2 กม.

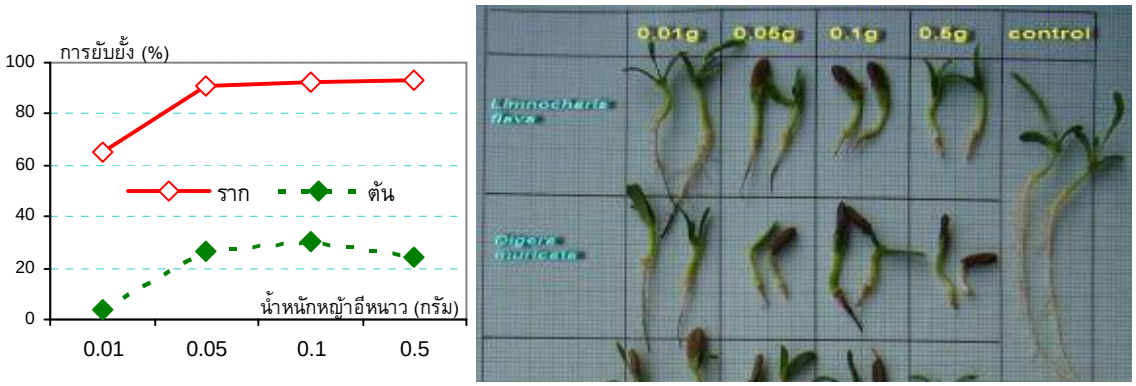


ภาพที่ 10 การแตกแขนงของหญ้าอีหนาว

2.4 **ความสามารถในการผลิตเมล็ด** เมื่อนำต้นหญ้าอีหนาวที่พบในแปลงมันแกว และแปลงข้าวโพด มาศึกษาการแตกแขนง นับจำนวนแขนง ความยาวก้าน จำนวนช่อดอกและจำนวนดอกในแต่ละช่อดอก ใน 1 ผลจะมีเมล็ดเพียง 1 เมล็ดเท่านั้น ดังนั้นจำนวนดอกและจำนวนเมล็ดจึงเท่ากัน พบว่าในหนึ่งต้น ซึ่งหากปล่อยไว้จะสามารถเจริญเติบโตได้อีกมีจำนวนช่อดอกมากถึง 1,424 ช่อดอก โดยช่อดอกยาวสุด 24 ซม. และมีจำนวนดอกและ/หรือผล มากสุด 64 ผล และเมื่อรวมทั้งต้น ซึ่งสามารถเจริญต่อไปได้อีกนี้ มีเมล็ดมากถึง 20,302 เมล็ด โดยที่เมล็ดที่โคนช่อดอกจะแก่และหลุดร่วงไปก่อน

ภาพที่ 11 ลักษณะต้นหญ้าอีหนาวที่นำมาศึกษา (1) และช่อดอกที่พบใน 1 แขนง (2)

2.5 **คุณสมบัติทางอัลลิโลพาธิ** การทดสอบคุณสมบัติทางอัลลิโลพาธิของหญ้าอีหนาว ในวุ้น 20 มิลลิลิตร โดยให้ใบแห้ง 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 กรัม อยู่ระหว่างกลาง แล้วนำต้นอ่อนไมยราบยักษ์ที่เพิ่งงอก โดยมีรากโผล่ออกมา 1-2 มิลลิเมตร วัดความยาวรากและต้นของพืชทดสอบเปรียบเทียบกับไมยราบยักษ์ที่ปลูกในวุ้นอย่างเดียวไม่มีใบหญ้าอีหนาว (control) ที่ปลูกพร้อมกัน ปรากฏว่าไมยราบยักษ์ที่ได้รับสารจากใบหญ้าอีหนาว มีการเจริญเติบโตน้อยกว่าไมยราบยักษ์ โดยรากของไมยราบยักษ์ถูกยับยั้งการเจริญเท่ากับ 64.98, 91.13, 92.71 และ 93.5% และการเจริญของต้นถูกยับยั้งเท่ากับ 3.7 26.32 30.6 และ 24.37% เมื่อได้รับสารจากหญ้าอีหนาว 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 ผลของหญ้าอีหนาวที่น้ำหนักต่างๆ กัน ต่อการเจริญเติบโตของไมยราบยักษ์

2.6 การแพร่กระจาย Jansen (2004) รายงานไว้ว่าพืชชนิดนี้แพร่กระจายทั่วไปในด้านตะวันออกของเขตร้อนของทวีปแอฟริกา จากประเทศซูดานถึง เอธิโอเปีย ลงไปถึงแทนซาเนียที่อยู่ทางใต้ มาดากาสกา และในบางประเทศในเขตร้อนและใกล้เขตร้อนของทวีปเอเชีย จากเยเมนถึง อัฟกานิสถาน ปากีสถาน อินเดีย มาเลเซีย และอินโดเนเซีย ในทวีปอาฟริกาพืชนี้มักขึ้นในที่รกร้างว่างเปล่า ในเขตซาวานาที่แห้งแล้ว กึ่งทะเลทราย จนถึงที่ที่มีความชื้นในดินเหนียว หรือดินโคลน ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงความสูง 1,500 เมตรเหนือค่าเฉลี่ยน้ำทะเล ใบและต้นอ่อนเป็นผักพื้นเมืองในแอฟริกา เช่น เอธิโอเปีย เคนยา และอินเดีย ซึ่งในเคนยาพืชนี้เป็นที่นิยมของชนพื้นเมืองหลายเผ่าที่อยู่ใกล้ทะเล บางครั้งพืชนี้นับเป็นอาหารในยามขาดแคลนได้ พืชทั้งต้นใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยเฉพาะสำหรับแพะและแกะ และในบางแห่งใช้พืชนี้เป็นสมุนไพรรักษาโรคเกี่ยวกับระบบการย่อยอาหารและการขับถ่ายปัสสาวะ อย่างไรก็ตามพืชนี้เป็นวัชพืชที่ก่อให้เกิดความเดือดร้อนในหลายพื้นที่ เช่นกัน

สำหรับในประเทศไทยนั้น พบกระจายในเขตจังหวัดสระบุรี และลพบุรี และพบเล็กน้อยที่จังหวัดกาญจนบุรี ในจังหวัดสระบุรีนั้นระบาดในแปลงมันแกว ทานตะวัน และข้าวโพด เกษตรกรที่ปลูกมันแกวกล่าวว่า แปลงมันแกวอีกครึ่งที่ทิ้งไม่ทำแล้ว เพราะหากไม่สามารถกำจัดหญ้าอีหนาวได้ภายใน 1 เดือน ก็ไม่ต้องกำจัด เพราะจะไม่ได้ผลผลิตของมันแกวเลย ซึ่งจะเกิดจากการที่พืชสามารถเจริญเติบโต สร้างกิ่งก้านสาขาได้มาก และกิ่งสาขาแผ่ออกไปปกคลุมพืชอื่น เป็นความสามารถในการแก่งแย่งที่ว่างและแสง กับพืชอื่น ถึงแม้พืชนี้จะอายุสั้นฤดูเดียว แต่การที่เมล็ดมีระยะพักตัวและแก่ไม่พร้อมกัน จะทำให้ยากต่อการกำจัด

ไม่เป็นที่ชัดเจนว่าพืชนี้มีถิ่นกำเนิดที่ใดแน่นอน อาจเป็นเขตร้อนของทวีปแอฟริกาหรือเอเชีย แต่ไม่ปรากฏว่ามีรายงานเกี่ยวกับพืชนี้ในประเทศไทยมาก่อน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะยังไม่ได้สำรวจ หรือมี

การนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งจะโดยตั้งใจหรือไม่ตั้งใจก็ได้ พืชนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย และเป็นวัชพืชก่อความเสียหายแล้วในบางท้องที่ของจังหวัดสระบุรี

3. **หญ้างวงช้างดอกขาว** (*Heliotropium* sp.)

เป็นพืชในวงศ์ Boraginaceae พบในแปลงถั่วเขียว ที่ปลูกหลังเก็บเกี่ยวข้าว ในจังหวัดเพชรบูรณ์เมื่อเดือนมีนาคม 2549 ซึ่งมีลักษณะดอกคล้ายหญ้างวงช้าง (*H. indicum* L.) (ภาพที่ 13)

3.1 **ลักษณะพืช** เป็นพืชใบกว้าง อายุฤดูเดียว ลำต้นตรงหรือทอดนอน อาจสูงถึง 40 ซม. แตกแขนงค่อนข้างมาก มีขนแข็งปกคลุมแนบติดต้น ใบเดี่ยว เรียงแบบสลับ ข้อสั้น ใบขอบขนาน ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ ฐานใบรูปลิ่ม ใบอาจกว้างถึง 1.5 ซม. ยาว 4.5 ซม. ก้านใบยาวถึง 2 ซม. ช่อดอกเกิดที่ปลายกิ่ง หรือซอกใบใกล้ยอด แยกเป็น 2-4 แฉก ปลายโค้งงอ ดอกติดที่ด้านบนของก้านช่อดอก บานจากโคนไปหาปลาย และช่อดอกจะค่อยยืดยาวและยาวถึง 17 ซม. ก้านช่อดอกอาจยาวถึง 2 ซม. กลีบดอกมีสีขาว ตรงกลางสีเหลือง ก้านช่อดอกและใบประดับมีขนปกคลุมแน่น ผลเกิดในฐานรองดอก ที่มีใบประดับติดอยู่ ซึ่งเมื่อแก่แล้วแตก แยกเป็น 4 ซีก สีน้ำตาล มีขนแข็งปกคลุม ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดพันธุ์ด้วยเมล็ด (ภาพที่ 14 และภาพที่ 15)

ภาพที่ 13. ลักษณะต้นและช่อดอกหญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.)

ภาพที่ 14. ลักษณะต้นและช่อดอกหญ้างวงช้างดอกขาว (*Heliotropium sp.*)

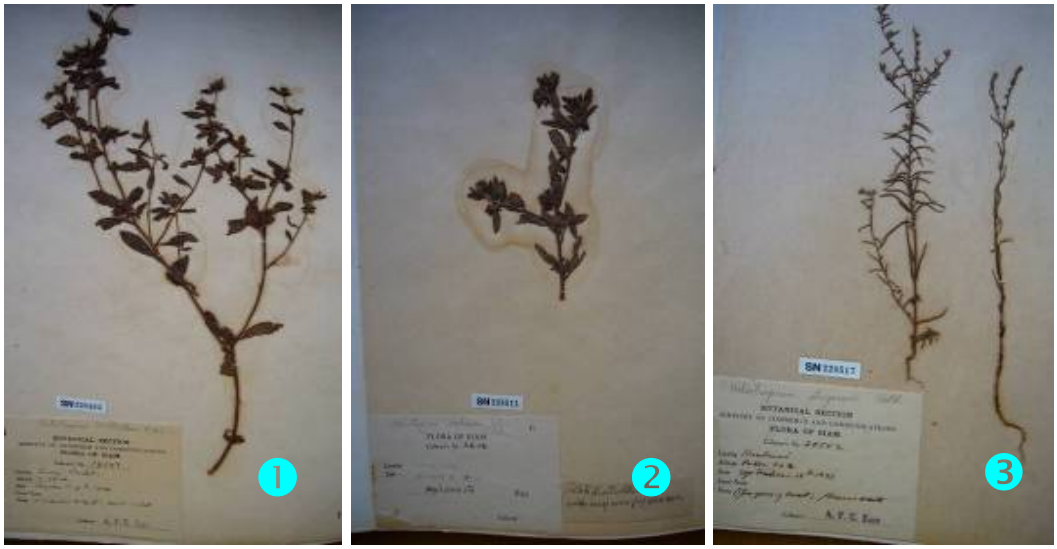
ภาพที่ 15 ลักษณะช่อดอก-ใบ และเมล็ดหญ้างวงช้างดอกขาว (*Heliotropium sp.*)

3.2 **การตรวจสอบชนิดพืช** นำพืชมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างพืชที่พิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ ตึกสิรินธร กรมวิชาการเกษตร พบตัวอย่างพืชในสกุลนี้ นอกเหนือจากหญ้างวงช้าง อีก 3 ชนิด ได้แก่

- *Heliotropium bracteatum* R.Br. ตัวอย่างหมายเลข 228493 ซึ่งเก็บโดย Dr.Kerr ผู้ก่อตั้งพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ เป็นแห่งแรกในประเทศไทย โดยเก็บจากอรัญประเทศ เมื่อเดือนเมษายน ปี ค.ศ.1936 (ภาพที่ 16)

- หญ้าดอกรัก (*Heliotropium scabrum* Retz.) ตัวอย่างหมายเลข 228511 ซึ่งเก็บโดยนายพุฒ จากเมืองสิงห์ เมื่อวันที่ 5 มกราคม ปี ค.ศ.1880 (ภาพที่ 16) และ

- *Heliotropium strigosum* Willd. ตัวอย่างหมายเลข 228517 ซึ่งเก็บโดย Dr.Kerr เมื่อ 13 กันยายน ค.ศ. 1931 และตัวอย่างของพืชชนิดเดียวกันนี้เก็บจากสระบุรีด้วย (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 ตัวอย่างพืชแห้งจากพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ กรมวิชาการเกษตร

1 = *Heliotropium bracteatum* Br. 2 = *Heliotropium scabrum* Retz
3 = *Heliotropium strigosum* Willd.

การเทียบตัวอย่างพืช ปรากฏว่างวงช้างดอกขาวนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับ *H. scabrum* Retz. มากที่สุดในจำนวน 3 ชนิดที่มีตัวอย่างอยู่ แต่ลักษณะช่อดอกและใบสั้นกว่างวงช้างดอกขาวมาก ซึ่ง (Chuakul *et al.* 1999) เป็นพืชอายุหลายปี ทอดนอนหรือตั้งตรง สูง 5-30 ซม. มีขนแข็งสีขาวปกคลุม ใบเป็นรูปแถบ-รูปหอก –ขอบขนาน 0.5-2 x0.1-0.5 ซม. ฐานใบรูปลิ่ม หรือมน ปลายใบแหลม ขอบม้วนลง มีขนแข็ง หันขึ้น แนบชิดกับใบ ก้านใบ 0-0.3 ซม.ดอกเกิดที่ปลายกิ่ง มีกลีบเลี้ยงคล้ายใบ ก้านช่อดอกยาว 0-0.3 ซม. ใบประดับคงอยู่จนเป็นผล เมื่อผลแยกเป็น 4 มักพบในดินทราย หรือข้างถนนที่แห้ง สนาม หรือในที่ร่มเงา โดยทั่วไปมักพบใกล้ทะเล แต่ในศรีลังกามีรายงานว่าพบตามเชิงเขาและที่สูงถึง 1,500 เมตรเหนือค่าเฉลี่ยระดับน้ำทะเล และจากฐานข้อมูลของ Sahyadri : Western Ghats Ecology and Biodiversity Environmental Information System ของอินเดีย ระบุว่าใบของพืชนี้สั้นกว่า 2 ซม. ช่อดอกสั้น ดอกสีเหลือง ซึ่งจะเห็นว่าพืชนี้มีขนาดใบ ก้านใบ และช่อดอกสั้นกว่างวงช้างดอกขาวทั้งสิ้น งวงช้างดอกขาวที่พบนี้จึงมิน่าจะใช่ *H. scabrum* แต่อย่างใด

เมื่อตรวจสอบกับเอกสารเกี่ยวกับชนิดของพืชในสกุล Heliotropium ที่พบในทวีปเอเชีย พบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับ *Heliotropium lasiocarpum* Fischer & C. A. Meyer. ซึ่งพบตามทะเลทรายที่อยู่ในที่ไม่สูงจากระดับน้ำทะเลมากนัก หนองน้ำที่เป็นกรวด ทุ่งหญ้า ในมณฑลเฮอนาน ชานซี และซินเจียง ในสาธารณรัฐประชาชนจีน นอกจากนี้พบในเอเชียตะวันตกเฉียงใต้ ได้แก่ อินเดีย คาซาคสถาน เคอจิสถาน รัสเซีย ทาจิกิสถาน อุสเบกิสถาน (Zhu *et al.*) กรีซ โอมาน ตุรกี สหรัฐอาหรับเอมิเรทส์ (GBIF) อาฟกานิสถาน อิหร่าน อิรัก เลบานอน ซีเรีย อาร์มีเนีย ปากีสถาน (GRIN-USDA, 2007) ซึ่งพืชนี้มีถิ่นกำเนิดในเอเชีย และมีการกระจายตัวในแถบตะวันตกของทวีปเอเชีย เป็นพืชที่อยู่ในรายชื่อของ non-permitted species ของออสเตรเลียด้วย (www.daffa.gov.au)

พืชชนิดนี้ ยังไม่พบในที่อื่น จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าเมล็ดที่ร่วงสู่ดินนั้นยังไม่งอกทันที แต่จะงอกในปีถัดไป และพบออกดอกแล้วตั้งแต่เดือนมีนาคม – พฤษภาคม พืชนี้ถึงแม้จะมีรายงานการเป็นวัชพืชในหลายประเทศ แต่ไม่ปรากฏว่าเป็นวัชพืชที่ก่อให้เกิดความเสียหายรุนแรง แต่เมล็ดพืชนี้มีสารก่อมะเร็งในหนู (U.S. Department of Health, Education, and Welfare, 1978)

4. *Chenopodium ambrosoides* L. พบขึ้นตามจังหวัดชายแดนทางภาคเหนือที่ติดกับประเทศเมียนม่าร์ เช่น อำเภอแม่สะเรียง จังหวัดแม่ฮ่องสอน และ อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ในแปลงพืชไร่และตามที่ว่างข้างถนน และบริเวณหมู่บ้านของชนกลุ่มน้อย

4.1 ลักษณะพืช เป็นพืชอายุสั้นฤดูเดียว ต้นอาจสูงถึง 50 ซม. ใบเดี่ยว ขอบใบหยัก ปลายใบป้าน-แหลม ฐานใบรูปลิ่ม ดอกไม่มีกลีบดอก มีเกสรเพศผู้ 5 เมล็ดสีดำ ผิวเรียบ เมื่อพืชอยู่ในระยะที่มี

ดอกเต็มต้น จะเห็นเฉพาะใบที่เป็นรูปแถบ ขอบใบเรียบเป็นส่วนมาก และจะเห็นช่อดอกสีเขียวมากกว่าใบ (ภาพที่ 17)

4.2 **การตรวจสอบชนิด** เทียบกับตัวอย่างพืชในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ มีตัวอย่างแห้งของพืชชนิดนี้ 3 ชิ้น ซึ่งเป็นตัวอย่างพืชจากมณฑลฮกเกี้ยน สาธารณรัฐประชาชนจีน สาธารณรัฐฟิลิปปินส์ และนักวิชาการไทยเก็บจากสหภาพพม่าเมื่อปี ค.ศ.1986 หรือ พ.ศ.2529 โดยไม่มีตัวอย่างพืชที่พบในประเทศไทยแต่อย่างใด (ภาพที่ 18)

4.3 **ผลทางอัลลิโลพาธิ** พืชชนิดนี้พบกระจัดกระจาย ในหลายท้องที่ของจังหวัดเชียงใหม่ และแม่ฮ่องสอนแล้ว พืชมีกลิ่นเหม็นเฉพาะตัว และไม่พบศัตรูธรรมชาติ เมื่อนำมาศึกษาผลทางอัลลิโลพาธิเบื้องต้น ในสารละลายวุ้น โดยวิธีแซนด์วิช พบว่าสารจากส่วนเหนือดิน (ต้น กิ่ง ใบ ผลและเมล็ด) สามารถยับยั้งการเจริญรากของไมยราบยักษ์ได้มากถึง 7, 72.8, 84 และ 94.2% และต้นถูกยับยั้งเท่ากับ 23, 30.6, 53.4 และ 83.2% เมื่อได้ปลูกในหลอดบรรจุพืชนี้ 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 19)

ภาพที่ 17. ลักษณะต้นอ่อน ใบ ต้น ผล และเมล็ดของ *C. ambrosioides* L.

ภาพที่ 18. ตัวอย่างแห้ง *C. ambrosioides* L. ที่เก็บจากประเทศพม่า เมื่อปี ค.ศ.1986

4.4 **การแพร่กระจาย** *C. ambrosioides* เป็นพืชในวงศ์ Chenopodiaceae มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า Mexican Tea มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา มีการกระจายตัวในทุกทวีป มากกว่า 55 ประเทศทั่วโลก รวมถึง เวียดนาม ไต้หวัน และจีน (GBIF, 2007)

ภาพที่ 19. ผลของ *C. ambrosioides* ต่อการเจริญของไมยราบยักษ์ (% การยับยั้ง)

5. *Boerhavia* sp. เป็นวัชพืชในพืชไร่หลายชนิด เช่น ข้าวโพด อ้อย และที่ว่างข้างถนน พบทั่วไปในกรุงเทพมหานคร พระนครศรีอยุธยา สระบุรี ลพบุรี เพชรบูรณ์ ขอนแก่น อุดรธานี ราชบุรี และกาญจนบุรี

5.1 **ลักษณะพืช** ไม้เนื้ออ่อน อายุปีเดียว ลำต้นกลม แตกแขนงตามซอกใบจำนวนมาก สีแดง-ม่วงหรือเขียว-ม่วง เลื้อยทอดไปตามพื้น อาจยาวถึง 2-3 เมตร ใบเดี่ยว ออกตรงข้าม มีหลายแบบ ต้นอ่อนใบรูปแถบ ขอบขนาน ขอบใบเรียบ หรือเป็นลอนเล็กน้อย ปลายใบมน ฐานใบมน แต่เมื่อแห้งแล้งหรือต้นแก่ ใบจะเป็นรูปหอกแกมรูปไข่ – รูปแถบ ปลายแหลม ดอกออกที่ยอดหรือปลายกิ่ง กลีบดอกสี

ชมพูอ่อน กลีบดอก 5 กลีบ ติดกันเป็นหลอด เกสรเพศผู้ 1-2 อัน เกสรเพศเมีย 1 อัน ผลยาว เป็นสัน 5 สัน กว้าง 1-1.5 มม. ยาว 3-4 มม. มีขนที่ปลายเป็นต่อมทั่วทั้งผล ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

ภาพที่ 20 ลักษณะต้นและการแตกแขนงของ *Boerhavia* sp.

5.2 **การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์** Larsen (1991) รายงานไว้ใน Flora of Thailand ว่าพืชสกุลนี้ในประเทศไทยมี 3 ชนิด คือ ขี้อ้นเครือ (*Boerhavia chinensis* L.) ผักขมหิน หรือนังกู่แซ หรือปังแป หรือผักเบี้ยหิน หรือ ผักขมฟ้า หรือผักปั๋งดิน (*Boerhavia diffusa* L.) และ ผักขมหิน หรือหญ้าหนวดแมว (*Boerhavia erecta* L.) ซึ่งทั้งสามชนิดมีลักษณะแตกต่างจาก *Boerhavia* sp นี้ ลักษณะเมล็ดคล้ายกับ ขี้อ้นเครือ คือกลมเป็นสัน ตามยาว แต่ขี้อ้นเครือมีสัน 10 อัน ส่วนพืชนี้มีเพียง 5 สันเท่านั้น แต่ดอกของขี้อ้นเครือนั้น เกสรทั้งเพศผู้มากกว่า และยาวพ้นหลอดดอก (ภาพที่ 21) แต่ยังไม่สามารถตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ได้ เนื่องจากไม่มีเอกสารในการตรวจสอบ

ภาพที่ 21. ลักษณะต้นและใบ ดอก และผลของวัชพืชสกุล Boerhavia ที่พบทั่วไป

(1) = ขี้อ้นเครือ (*B. chinensis* (L.) Asxh.& Schweinf.)

(2) = ผักขมหิน (*B. diffusa* L.)

(3) = ผักขมหิน (*B. erecta* L.)

(4) = *Boerhavia* sp.

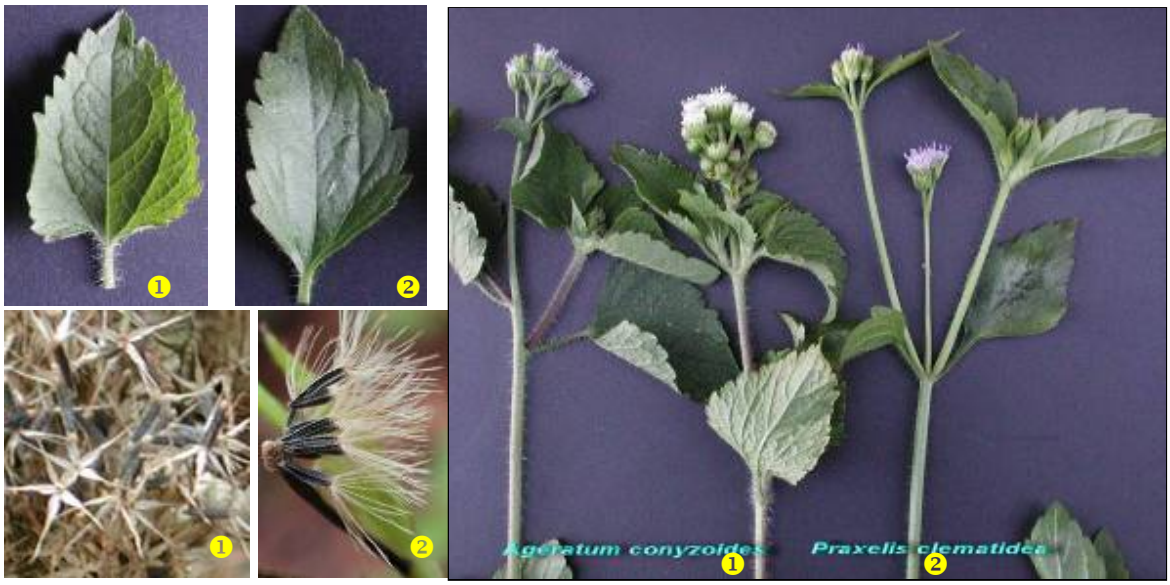
6. **หญ้าสาบ** (*Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M.King & H.Rob) เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ต้นกลมมีขนปกคลุมตลอด แตกแขนงตามซอกใบ อาจสูงถึง 50 ซม. ใบเป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้าม ใบรูปไข่ปลายแหลม ขอบหยัก 5-9 หยักในแต่ละด้าน ฐานใบรูปลิ่ม สีเขียว-เหลือง ดอกเป็นดอกช่อแบบกระจุกแน่น ประกอบด้วยดอกย่อย 30-50 ดอก สีม่วง-คราม บนฐานรองดอกรูปนูนขึ้น กลีบประดับสีเขียวซึ่งยาวไม่เท่ากัน ประมาณ 20 กลีบ เมล็ดเป็นสัน สีน้ำตาลเมื่อแก่สีดำ เป็นสัน มีขนแข็งที่ปลายจำนวนมาก ช่วยทำให้ปลิวตามลมได้ไกลๆ (ภาพที่ 22) พืชมีกลิ่นคล้ายฉี่แมวเมื่อขยี้

ภาพที่ 22 ลักษณะต้น ช่อดอก และเมล็ดของหญ้าสาบ

หญ้าสาบ เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกา แถบประเทศ อาร์เยนติน่า บราซิล ปารากวัย โบลิเวีย และเปรู (Weeds Australia, 2007; Corlett and Shaw, 1995) ไม่ทราบสาเหตุการนำเข้ามาในประเทศไทย แต่เป็นวัชพืชที่พบมามากกว่า 10 ปีแล้ว เนื่องจากพืชชนิดนี้ขนาดต้นใกล้เคียงกับสาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) (ภาพที่ 23) แต่ลักษณะใบและการแตกของใบคล้ายกับสาบเสือ จึงเกิดความสับสน จนพืชนี้กระจายไปเกือบทั่วประเทศ ซึ่งในภาคตะวันออก คือ ระยอง จันทบุรี ตราดนั้นพบระบาดทั่วไป ในพืชปลูกทุกชนิด และสามารถเจริญเติบโตได้แม้ใต้ร่มเงาของไม้ยืนต้น เช่น ยางพารา (ภาพที่ 24) ทุเรียน เงาะ อ้อย มันสำปะหลัง นอกนั้นพบในจังหวัดปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา ขอนแก่น อุดรธานี อุบลราชธานี และภาคใต้ของประเทศไทย

ความสับสนในเรื่องของชนิดพันธุ์ในลักษณะเดียวกันนี้ เคยเกิดมาแล้วในฮ่องกงและหลายรัฐของออสเตรเลีย ซึ่งได้มีความพยายามมิให้พืชนี้เข้าไปในรัฐที่ยังไม่มี หรือพยายามตรวจสอบและจัดการก่อนที่พืชนี้จะระบาดต่อไป เพราะพืชนี้สามารถทนความแห้งแล้งได้ดี และมักพบขึ้นเป็นกลุ่มใหญ่ โดยไม่มีพืชอื่นขึ้นปะปนด้วย เมื่อนำใบพืชมาทดสอบฤทธิ์ทางอัลลิโลพาธิด้วยวิธีแซนด์วิช ปรากฏ

ว่าสามารถยับยั้งการเจริญทางรากของต้นอ่อนของไมยราบยักษ์ได้ถึง 48.5, 95.9, 95.3 และ 92.7% ของชุดควบคุม เมื่อปลูกในสารละลายวุ้น 0.5% ที่มีใบหญ้าสาบ 0.01, 0.05, 0.1 และ 0.5 กรัม ตามลำดับ



ภาพที่ 23 เปรียบเทียบลักษณะใบ ผล (เมล็ด) และช่อดอกของสาบแร้งสาบกา (1) และหญ้าสาบ (2)

ภาพที่ 24 การระบาดของหญ้าสาบในสวนยางพารา ในจังหวัดจันทบุรี

7. **พืชอื่น ๆ** นอกจากพืชที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังพบพืช อีกหลายชนิดทั้งที่สามารถระบุชื่อวิทยาศาสตร์ได้และไม่ได้ มีทั้งที่เป็นพืชที่มีการนำเข้ามาเพื่อประโยชน์เป็นไม้ประดับ แต่มีรายงานการเป็นวัชพืชในบางประเทศ หรือพืชที่ไม่พบรายงานมาก่อน และอยู่ระหว่างการศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม เช่น

7.1 ***Asystasia gangetica*** **(L.) T. Anders.** เป็นใบกว้าง อายุหลายฤดู ในวงศ์เดียวกับต้อยติ่ง คือ Acanthaceae มี 2 ชนิดย่อย ได้แก่ *Asystasia gangetic*a subsp. gangetica (L.) T.Anderson และ *Asystasia gangetica* (L.) Anderson subsp. *micarantha* (Nees) Ensermu ซึ่งชนิดหลังนี้เป็นชนิดที่มีลักษณะรุกรานมากกว่าชนิดแรก อย่างไรก็ตามในเอกสารรายงานการเป็นวัชพืชในหลายประเทศมิได้ระบุถึงชนิดย่อย ส่วนมากมักระบุเพียง *A. gangetica* ซึ่งมีชื่อพ้องคือ *Asystasia coromandeliana* Nees. และ *Justicia gangetica* L. ซึ่งมีชื่อสามัญภาษาอังกฤษหลายชื่อ เช่น Chinese violet, coromandel, Ganges primrose และ Philippine violet การวิเคราะห์ความเสี่ยงการเป็นวัชพืชของพืชนี้ในประเทศในแถบมหาสมุทรแปซิฟิค ได้คะแนนถึง 12 คือมีความเสี่ยงในการที่จะเป็นวัชพืชร้ายแรงสูงมาก (PIER, 2005) ในมาเลเซีย มีรายงานว่า *Asystasia intrusa* (Forssk.) Blume เป็นวัชพืชที่สำคัญในสวนยางและสวนปาล์มน้ำมัน ซึ่ง *A. intrusa* นี้ก็คือชื่อพ้องของ *A. gangetica* (L.) Anderson subsp. *micarantha* (Nees) Ensermu นั่นเอง (GRIN, USDA)

สำหรับประเทศไทย พืชนี้เป็นวัชพืชในสวนปาล์มน้ำมันทางภาคใต้ และมีการนำพืชนี้มาปลูกเป็นไม้ประดับ มีชื่อไทยว่า บาหยา ขณะเดียวกันก็กลายเป็นวัชพืชในหลายพื้นที่ พบเห็นทั่วไปข้างถนนหรือที่ว่างข้างถนน และมีการนำไปปลูกในสวนไม้ผลบนที่สูงทางภาคเหนือ ปรากฏว่าเจริญเติบโตได้ดี ขยายพันธุ์ได้เร็ว สามารถแก่งแย่งที่ว่างได้ดี จนไม่มีพืชอื่นขึ้นปะปนได้ บาหยานี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งที่แสงแดดจัดและที่ร่มเงา สร้างเมล็ดได้จำนวนมาก ผลแก่แล้วแตก ดีดเมล็ดข้างในออกมา และสามารถเจริญงอกงามต่อไปได้ (ภาพที่ 25)

ภาพที่ 26 ลักษณะต้น ใบ ช่อดอกและเมล็ดของ Asystasia gangetica (L.) Anders.

7.2 **บอลลูน** (*Gomphocarpus physocarpus* E.Meyer) เป็นพืชในวงศ์ Asclepiadaceae หรือวงศ์เดียวกับดอกรัก เป็นไม้พุ่ม อายุหลายปี ออกดอกและติดผลได้ง่าย ผลแก่แล้วแตก มีเมล็ดจำนวนมาก เมล็ดมีขนอ่อนติดปลาย เช่นเดียวกับดอกรัก ทำให้ปลิวไปตามลมได้ไกลๆ เมล็ดงอกได้ดี (ภาพที่ 26) พืชชนิดนี้เป็นวัชพืชร้ายแรงชนิดหนึ่งของออสเตรเลีย

ภาพที่ 26 ลักษณะต้น ดอก และเมล็ดของ *Gomphocarpus physocarpus* E.Meyer

7.3 **ผักบุ้ง** (*Gymnocoromis spilanthoides* DC.) เป็นพืชในวงศ์ทานตะวัน และเป็นพืชชนิดหนึ่งที่ถูกจัดเป็นพืชที่รุกรานของโลก ซึ่งจัดโดย ISSG – IUCN นำเข้ามาเป็นไม้น้ำไม้ประดับ สามารถเจริญเติบโตได้ดี ขยายพันธุ์โดยตัดกิ่งปักชำ และเมล็ด (ภาพที่ 27)

7.4 **ผักแว่นขน หรือผักแว่นกำมะหยี่** (*Marsilea drummondii* A. Braun) เป็นเฟิร์นน้ำในวงศ์ Marsilleaceae มีถิ่นกำเนิดในออสเตรเลีย และเป็นวัชพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งด้วย (ภาพที่ 28)

จากผลการสำรวจนี้ จะเห็นว่าพื้นที่ภาคเหนือ ซึ่งมีเขตแดนติดต่อกับประเทศเมียนม่าร์ ซึ่งในปัจจุบันมีการโยกย้ายแรงงานเข้ามาประเทศไทยเป็นจำนวนมาก ทั้งชนกลุ่มน้อยที่อยู่ชายแดนนั้น ในอดีตที่ผ่านมา พบว่ามีการเดินทางข้ามพรมแดนไป-มา และในบางกลุ่มมีการเดินทางไปถึงประเทศจีน เพื่อนำสินค้ามาจำหน่าย ดังนั้นการที่พบผักเป็ด (*Alternanthera* sp.) หรือ *C.ambrosioides* ซึ่งมีลักษณะเหมือนกับตัวอย่างพืชที่เก็บจากประเทศพม่า หรือ *H. lasiocarpum* และ *P.clematidea* ซึ่งมีรายงานพบในประเทศจีน และอีหนาว (*D. muricata*) พบในปากีสถาน นั้น เนื่องจากไม่พบการใช้ประโยชน์จากพืชเหล่านี้ อาจเป็นไปได้ว่าพืชเหล่านี้เข้ามาในประเทศไทย โดยการปนเปื้อนหรือติดมากับสัมภาระที่ติดตัว

ภาพที่ 27 ผักบุ้ง
(*Gymnocoromis spilanthoides* DC.)

ภาพที่ 28 ผักแว่นขน หรือผักแว่นกำมะหยี่
(*Marsilea drummondii* A. Braun)

ส่วนบาหยานั้น เป็นวัชพืชที่ระบาดในมาเลเซีย และเป็นวัชพืชที่ระบาดทางภาคใต้ มีการนำมาเพื่อเป็นไม้ประดับในภาคกลางและภาคเหนือ และได้กลายเป็นวัชพืชในพื้นที่นั้นแล้ว มีแนวโน้มจะเป็นวัชพืชร้ายแรงเช่นกัน และอาจเป็นพืชที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อความหลากหลายของพืช โดยเฉพาะพืชที่เป็นผักพื้นเมืองได้มาก เนื่องจากพืชนี้สามารถทนแล้งได้ และสามารถเจริญได้ดีในที่ร่มเงา ดังนั้นการนำไปปลูกในพื้นที่เกษตรที่สูง ทางภาคเหนือ และกลายเป็นวัชพืชแล้วนั้น อาจคุกคามพืชท้องถิ่นได้ง่าย

ส่วนพืชอีกสามชนิด ซึ่งเป็นพืชที่นำเข้ามาในประเทศไทยเพื่อเป็นไม้ประดับนั้น ทั้งสามชนิดมีรายงานการเป็นวัชพืชร้ายแรงในต่างประเทศอยู่แล้ว และสามารถเจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทยทั้งสิ้น (และอยู่ระหว่างการศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืชเพิ่มเติม) แต่สถานะของพืชทั้งสามชนิดในประเทศไทยปัจจุบันยังไม่เป็นวัชพืช

ดังนั้นหากไม่มีการจัดการอะไรเลย ประเทศไทยอาจมีวัชพืชร้ายแรงเพิ่มอีก อย่างน้อย 3 ชนิด ในอนาคตอันใกล้ และมีวัชพืชที่เปลี่ยนสถานภาพมาจากไม้ประดับเพิ่มอีก 3 ชนิด ด้วยเช่นกัน จึงควรมีการป้องกันให้มีการปนเปื้อนของเมล็ดวัชพืชเข้ามาในประเทศไทยน้อยที่สุด ไม่ว่าจะในสินค้าหรือสัมภาระของผู้เดินทาง โดยเฉพาะการเดินทางโดยทางบก ข้ามพรมแดนระหว่างประเทศ ซึ่งในปัจจุบัน

สามารถเดินทางโดยรถยนต์ได้หลายเส้นทาง การป้องกันสามารถทำได้โดยวิธีง่ายๆ เช่นการให้รถยนต์วิ่งผ่านน้ำ เพื่อล้างล้อรถยนต์ เป็นการลดการปนเปื้อนของเมล็ดพืชที่อาจติดมากับล้อรถ หรือการให้ข้อมูลเกี่ยวกับพืชที่รุกรานและผลกระทบของพืชเหล่านี้แก่ประชาชน เพื่อป้องกันมิให้มีการนำพืชที่อาจเป็นวัชพืชร้ายแรงเข้ามาในประเทศไทย เป็นต้น

คำขอบคุณ

ขอบคุณ Dr. Hirohiko Morita (National Agricultural Research Centre, Japan) ที่ช่วยในการตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ของพืช และเอกสารเพื่อการตรวจสอบ ขอพระคุณเพื่อนๆ อีกมากมายหลายท่านในกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และกลุ่มวิจัยเพื่อการคุ้มครองพันธุ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ ข้อคิดเห็น และสนับสนุนการสำรวจและการศึกษาศักยภาพการเป็นวัชพืชเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

Australian Weed Committee.2004.Weed Identification : Praxelsi. http://www.weeds.org.au/cgibin/weedident.cgi?tpl=plant.tpl&state=&s=&ibra=&card=H33

Chuakul, W., Soonthornchareonnon, N. & Saralamp, P., 1999. Heliotropium scabrum Retz.In: de Padua, L.S., Bunyapraphatsara, N. and Lemmens, R.H.M.J. (Editors). Plant Resources of South-East Asia No. 12(1): Medicinal and poisonous plants 1. Backhuys Publisher, Leiden, The Netherlands, pp. 295-296

GBIF (Global Biodiversity Information Facility). 2007. Species: *Heliotropium lasiocarpum* Fisch.&C.A.Meyer. http://www.secretariat.gbif.net/portal/ecat_browser.jsp?taxonKey=1015425&countryKey=0&resourceKey=0. Accessed on Apr. 14th 2007

Gorlett, R.T. and J.C. Shaw. 1995. *Praxelis clematidea*: yesterday South America, today Hong Kong, tomorrow the world. In Memoirs of the Hong Kong Natural History Society, No. 20, 1995. http://www.hku.hk/ecology/staffhp/rtc/corlett-pdf/RTC-praxelis-1995.pdf

GRIN-USDA (USDA, ARS, National Genetic Resources Program. *Germplasm Resources Information Network - (GRIN)* [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland.) URL: http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?418386 (14 April 2007)

http://www.daffa.gov.au/__data/assets/file/25445/non-permitted_species.xls. Accessed on Apr.14, 2007.

Jansen, P.C.M., 2004. *Digera muricata* (L.) Mart. [Internet] Record from Protabase. Grubben, G.J.H. & Denton, O.A. (Editors). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa / Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Netherlands. < http://database.prota.org/search.htm>. Accessed 27 April 2007

Larsen, K. 1992. Amaranthaceae. Flora of Thailand. Vol 5. part 4. pp375-409.

PIER (Pacific Island Ecosystems at Risk). 2006. Alternanthera pubiflora (Benth.) Kuntze . (http://www.hear.org/pier/species/alternanthera_pubiflora.html)

Pollock S., Holland, A. and Smith, W. 2004. New Alien Weed for Queensland. PRAXELIS : Queensland Herbarium Alert Sheet 1/2004 http://www.epa.qld.gov.au/publications?id=1248. Accessed on May 1st, 2007.

Sahyadri: Western Ghats Ecology and Biodiversity Environmental Information System @ CES , IISc. Environmental Information System, Centre for Ecological Sciences [CES] , Indian Institute of Science, Bangalore 560012, India. http://wgbis.ces.iisc.ernet.in/biodiversity/database/?q=node/5. Accessed on May 2nd, 2007.

U.S. Department of Health, Education, and Welfare. 1978. Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogencinity. National Cancer Institute, Carcinogenesis Technical Report Series No.39. http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr039.pdf

USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. URL: http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?411163 (09 May 2007)

Victorian Resources online. 2007. Invasiveness Assessment – Praxelis http://www.dpi.vic.gov.au/dpi/vro/vrosite.nsf/pages/invasive_praxelis. Accessed on May 7th, 2007.

Zhu, G.L., Riedl, H. and Kamelin, R.V. Boraginacea. In Flora of China vol. 16. http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=114922. Accessed on Apr. 14th 2007.

Weber, E. 2003. Invasive Plant Species of the World A Reference Guide to Environmental Weeds. CABI Publishing. UK. 548p.

สำรวจ รวบรวมและจำแนกราไมคอร์ไรซากล้วยไม้

Survey, Collection and Identification of the Orchid Mycorrhiza

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้ *Dendrobium* , *Cathallya*, กล้วยไม้รองเท้านารี 5 ชนิด, กล้วยไม้ดิน *Ludisia discolor* 3 ตัวอย่าง และกล้วยไม้ดิน 3 ชนิด ทำการแยกราไมคอร์ไรซาจาก peloton ในส่วนของคอร์เท็กซ์ภายในรากโดยวิธีปลอดเชื้อ บนอาหาร 1/6 NDY พบราไมคอร์ไรซากล้วยไม้ทั้งหมด 25 ไอโซเลท ได้แก่ไมคอร์ไรซาที่แยกจากกล้วยไม้รองเท้านารีได้ 15 ไอโซเลท จากกล้วยไม้ดิน *Ludisia discolor* 3 ไอโซเลท จากกล้วยไม้ดิน 6 ไอโซเลท และไม่พบราไมคอร์ไรซาในรากกล้วยไม้ *Dendrobium* และ *Cathallya* ที่เก็บมาจากกรุงเทพ ฯ เนื่องจากพบการปนเปื้อนแบคทีเรีย โดยโคโลนีมีสีน้ำตาลและสีขาว ศึกษาราไมคอร์ไรซ่าบนอาหาร corn meal agar พบราโคโลนีน้ำตาล มี concentric zonation ลักษณะ monilioid รูปร่าง Dumbell สร้าง microsclerotium ในอาหาร และมีนิวเคลียสเป็น binucleate มี 2 นิวเคลียสต่อ 1 เซลล์ สำหรับราที่มีโคโลนีสีขาวพบว่าลักษณะ monilioid ของราบนอาหาร corn meal agar มีรูปร่างค่อนข้างกลม monilioid รวมตัวกันในอาหารเป็น microsclerotium และมีนิวเคลียสเป็น binucleate จากการจำแนกชนิดของราพบว่าราไมคอร์ไรซากล้วยไม้จัดอยู่ในสกุล *Rhizoctonia* และจำแนกราไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ดิน *Ludisia discolor* ซึ่งมีโคโลนีสีน้ำตาล มี concentric zonation นิวเคลียส binucleate จำแนกชนิดเป็นรา *Ceratorhiza goodyerae-repentis* (*Rhizoctonia goodyerae-repentis*)

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราสกุล *Rhizoctonia* เป็นราไมคอร์ไรซาชนิดหนึ่งที่เจริญอยู่ร่วมกับรากกล้วยไม้ โดยที่ราสร้างเส้นใยเข้าไปในรากกล้วยไม้ ราเข้าไปเจริญอยู่ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ สร้างโครงสร้างภายในเซลล์เรียกว่า peloton ราชนิดนี้ไม่ไดเข้าทำลายรากพืช แต่จะให้ธาตุอาหารแก่พืช เช่นธาตุคาร์บอน ซึ่งเป็นแหล่งให้พลังงานที่สำคัญกับพืช (Hadley, 1982; Harley and Smith, 1983) ในทางตรงกันข้ามราสกุลนี้เป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิดได้แก่ 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* มีรายงานการศึกษาอนุกรมวิธานของราในกลุ่มนี้แต่มีรายงานในระดับ 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 ดังนั้นจึงมีความสำคัญที่ควรจะทำการศึกษาโดยเฉพาะการศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์ราไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้โดยการจำแนก รวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์รา เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบ

เกื้อกูลซึ่งกันและกัน (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 ศึกษาลักษณะและวัดขนาดของเส้นใย ลักษณะรูปร่างและขนาดของ monilioid cell ของราที่เจริญบนอาหาร ถ่ายภาพราจากกล้องจุลทรรศน์แบบ 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 2548 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2549

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้

เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้ *Dendrobium* , *Cathallya*, กล้วยไม้รองเท้านารี 5 ชนิด, กล้วยไม้ดิน *Ludisia discolor* 3 ตัวอย่าง และกล้วยไม้ดิน 3 ชนิด

2. การแยกราจาก peloton ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้

แยกราไมคอร์ไรซาจาก peloton ในส่วนของคอร์เท็กซ์ภายในรากโดยวิธีปลอดเชื้อ บนอาหาร 1/6 NDY พบราไมคอร์ไรซากล้วยไม้ทั้งหมด 25 ไอโซเลท ได้แก่ไมคอร์ไรซาที่แยกจากกล้วยไม้รองเท้านารีได้ 15 ไอโซเลท จากกล้วยไม้ดิน *Ludisia discolor* 3 ไอโซเลท จากกล้วยไม้ดิน 6 ไอโซเลท และไม่พบราไมคอร์ไรซาในรากกล้วยไม้ *Dendrobium* และ *Cathallya* ที่เก็บมาจากกรุงเทพ ฯ เนื่องจากพบการปนเปื้อนแบคทีเรีย

3. การจำแนกราไมคอร์ไรซา

จากการศึกษาลักษณะโคโลนีของราไมคอร์ไรซากล้วยไม้พบว่าโคโลนีของรามีสีน้ำตาลและสีขาว ศึกษาราไมคอร์ไรซ่าบนอาหาร corn meal agar พบราโคโลนีน้ำตาล มี concentric zonation ลักษณะ monilioid รูปร่าง Dumbell สร้าง microsclerotium ในอาหาร และมีนิวเคลียสเป็น

binucleate มี 2 นิวเคลียสต่อ 1 เซลล์ สำหรับราที่มีโคโลนีสีขาวพบว่าลักษณะ monilioid ของราบนอาหาร corn meal agar มีรูปร่างค่อนข้างกลม monilioid รวมตัวกันในอาหารเป็น microsclerotium และมีนิวเคลียสเป็น binucleate จากการจำแนกชนิดของราพบว่าราไมคอร์ไรซากล้วยไม้จัดอยู่ในสกุล *Rhizoctonia* และจำแนกราไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ดิน *Ludisia discolor* ซึ่งมีโคโลนีสีน้ำตาล มี concentric zonation นิวเคลียส binucleate จำแนกชนิดเป็นรา *Ceratorhiza goodyerae-repentis* (*Rhizoctonia goodyerae-repentis*)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการจำแนกชนิดของราพบว่าราไมคอร์ไรซากล้วยไม้จัดอยู่ในสกุล *Rhizoctonia* และจำแนกราไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ดิน *Ludisia discolor* ซึ่งมีโคโลนีสีน้ำตาล มี concentric zonation นิวเคลียส binucleate จำแนกชนิดเป็นรา *Ceratorhiza goodyerae-repentis* (*Rhizoctonia goodyerae-repentis*)

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*, *Ceratorhiza* 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.

การคัดเลือกและจำแนกเชื้อราที่มีประโยชน์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อ

Selection and Classification of Effective Fungi for Increasing Mycelium Growth Pleurotus

วรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

มีเชื้อรา(fungi)ที่เป็นประโยชน์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใย(mycelium)เห็ด(mushroom) จากการทดลองใช้โคนีเดีย(conedia)ของเชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียวมี3 สูตร คือ1. โคนีเดียเชื้อรา *Penicillium* sp.สีเขียว ผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2.โคนีเดียเชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว ผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วและต้มให้เดือด 3. น้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วอย่างเดียว สำหรับเลี้ยงออยเดีย(oidia)ของเห็ดเป๋าฮื้อ และวางแผนการทดลองแบบCRD(completely randomized desize)มี 3 สูตรเป็นกรรมวิธี(treatment)ๆละ 3 ซ้ำแล้ว บ่มไว้ในห้องปรับอากาศ 25±3°ซ มีแสงกลางวัน และห้องธรรมดา 28±3°ซ ไม่มีแสงกลางคืน ที่กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จตุจักร กทม. 10900 ผลปรากฏว่า ออยเดียสามารถเจริญให้เป็นเส้นใยเห็ดและนำมาทำแห้งได้น้ำหนักเส้นใยแห้งจากทั้ง 3 สูตร คือ 0.033, 0.030 และ 0.027 กรัม/5 มล. ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดลองครั้งนี้ใช้โคนีเดียอย่างเดียวถ้าใช้เส้นใยและโคนีเดียของเชื้อรา *Penicillium* sp.สีเขียว น่าจะทำให้เส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อเจริญเติบโตได้นน.เส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อแห้งมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งจากรหัสทะเบียนวิจัยเลขที่46 11 001เรื่อง การคัดเลือกเชื้อราที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมภูฏานใช้สปอร์และเส้นใยของเชื้อรา *Geotrighum sp.* สีดำ, *Aspergillus flavo furcatis, Aspergillus flavus* และslime moldสีขาวแต่ละชนิดผสมน้ำประปาแล้วต้มให้เดือดแล้วผสมกับ WA.ใช้เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางรมภูฏานซึ่งทำให้เส้นใยเห็ดเจริญหนาแน่นอย่างชัดเจนและจำนวนวันที่เจริญเต็มจานเลี้ยงเร็วกว่าไม่ผสมเชื้อราดังกล่าวอย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ(วรลักษณ์, 2546)

รหัสโครงการ 09- 02- 49- 01

คำนำ

Grappelli และคณะ(1978) ใช้ เอกซ์แทรคท์(extracts) และฟิลเทรท(filtrates) แบคทีเรีย ของ *Arthrobacter giacomelloi* ผสมในเบซอล มีเดีย(basal media) เลี้ยงเห็ดฝรั่งเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ Parkและ Agnihotri (1969)ใช้สารแขวนลอยของแบคทีเรีย *Arthrobacter terregens, Bacillus megaterium* และ *Rhizobium meliloti* ผสม medium เลี้ยงเห็ดฝรั่งทำให้การเจริญดีขึ้น

ในการทดลองครั้งนี้ แยกเชื้อราจากอากาศแล้วใช้ โคนีเดียของเชื้อรา *Penicillium* sp.สีเขียว ผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วทำเป็นสารแขวนลอยแบบไม่ต้มและแบบต้มให้เดือด เปรียบเทียบกับใช้น้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วอย่างเดียวสำหรับใช้ เลี้ยงออยเดียของเห็ดเป๋าฮื้อ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หลอดทดลองขนาด 20 มล. ยี่ห้อ Pyrex
2. น้ำประปา และ PDA
3. กระดาษกรอง Whatman No. 32
4. ไมโครเวฟ ยี่ห้อ Sharp Carousel
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า ยี่ห้อ Precisa 2200°c
6. กระดาษวัด pH ยี่ห้อ Phydrion
7. กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Olympus
8. หม้อนึ่งอัดความดันไฟฟ้า
9. อุปกรณ์แยกเชื้อราและ ทำสไลด์เชื้อรา
10. ดอกเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus cystidiosus* O.K.Miller)และอุปกรณ์เลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ด (tissue culture)

วิธีการ

1. แยกเชื้อรา *Penicillium* sp.สีเขียว จากอากาศ

ใช้อาหาร PDA เทใส่จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. วางเปิดฝาจานในห้องเขี่ยเชื้อจนกระทั่งพบเชื้อราบนอาหาร แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเส้นใยเชื้อราเลี้ยงบน PDA แสลนท์ในหลอดทดลองขนาด 20 ลบ.มล. และเมื่อเส้นใยเชื้อราเจริญจึงใช้เข็มเขี่ยตัดเส้นใยเชื้อราเลี้ยงบน PDA แสลนท์ในหลอดทดลองและทำซ้ำเช่นนี้ทั้งหมด 3 ครั้ง จะได้เชื้อราบริสุทธิ์

2. เตรียมสารแขวนลอยโคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว

2.1 เลี้ยงเชื้อราบน PDA แสลนท์อายุ 7 วัน

2.2 ใช้น้ำประปาบรรจุในหลอดทดลองขนาด 20 ลบ.ซม. จำนวน 5 มล. แล้วนำไปนึ่งในหม้ออัดความดันไฟฟ้า ที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2.3 ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะโคนีเดียบนเชื้อราข้อ 2.1 จำนวน 1 ครั้ง เลี้ยงลงในข้อ 2.2

2.4 ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะโคนีเดียบนเชื้อราข้อ2.1 จำนวน 1 ครั้ง เลี้ยงลงในข้อ 2.2 แล้วนำไปต้มให้เดือดด้วยไมโครเวฟ 20 วินาที

3. เตรียมออยเดียของเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อ

3.1 เลือกดอกเห็ดเป๋าฮื้อลักษณะตามต้องการและไม่มีศัตรูเห็ดแล้วใช้เข็มเขี่ยตัดเนื้อเยื่อภายในดอกเห็ดระหว่างหมวกและก้านเลี้ยงบน PDA แสลนท์จนเกิดออยเดียบนเส้นใยเห็ด (tissue culture) อายุ 7 วัน

3.2 ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะออยเดีย จำนวน 1 ครั้ง ทั้งหมดทำแบบสภาพปลอดเชื้อ.(aseptic technique)

4. ทดสอบโคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียวกับการเจริญของออยเดียเห็ดเป๋าฮื้อ

ใช้ 3 สูตร คือสูตรที่ 1โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียวผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วข้อ 2.2 สูตรที่ 2 โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียวผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วและต้มให้เดือดข้อ 2.4 สูตรที่ 3 น้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วอย่างเดียว ข้อ 2.2 เลี้ยงออยเดียของเห็ดเป๋าฮื้อในข้อ 3และบ่มไว้ที่ห้องปรับอากาศอุณหภูมิ 25±3°ซ มีแสงกลางวัน และห้องธรรมดาอุณหภูมิ 28±3°ซ ไม่มีแสงกลางคืน

5. วางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized desize)มี 3 สูตรเป็นกรรมวิธี (treatment) กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ

6. บันทึกผลการทดลอง

โดยสังเกตเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อใน3 สูตร และวัด pH ของสูตรทุกซ้ำทุกวันด้วยกระดาษวัด แล้วชั่งน้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดที่บ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน ซึ่งกรองด้วยกระดาษกรอง และทำแห้งด้วยไมโครเวฟ 2.31 นาที จากนั้นวางไว้ให้แห้ง 16 วัน แล้วชั่งด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า และคำนวณเป็นกรัม/ลิตร

7. การจำแนกเชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียวโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ศึกษาสัณฐานวิทยาโดยเปรียบเทียบลักษณะต่างๆ ของเชื้อรากับรายงานจากเอกสารอ้างอิงของBarnett and Hunter(1972)

7.1 เตรียมเชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว โดยเลี้ยงเชื้อราบน PDA แสลนท์อายุได้ 7 วัน

7.2 เตรียมสไลด์เชื้อรา *Penicillium* sp.สีเขียว โดยทำความสะอาดสไลด์ (slide) และคลอพเวอร์กลาส (cover glass) ด้วยแอลกอฮอล์ขององค์การเภสัชกรรมทิ้งไว้จนแห้งแล้วหยดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อบนสไลด์ 1 หยด จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อลนไฟด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์เพื่อฆ่าเชื้อโรค ทิ้งไว้จนเย็นแล้วตัดเส้นใยเชื้อราข้อ 7.1 เล็กน้อยวางบนหยดน้ำกลั่น และใช้คลอพเวอร์กลาสปิดทับเบาๆ ไม่ให้เกิดฟองอากาศใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 20x10 ดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Penicillium* sp.สีเขียว และสุ่มวาดภาพ จำนวน 3 ครั้ง

7.3 เปรียบเทียบลักษณะของเชื้อรา *Penicillium* sp.สีเขียว จากภาพที่วาดไว้กับรายงานจากเอกสารอ้างอิงของ Barnett and Hunter (1972)

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548-กันยายน 2549

กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการทดลองเลี้ยงออยเดียเห็ดเป๋าฮื้อ ใน3สูตรคือ1ใช้โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียวผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ใช้โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียวผสมน้ำประปาฆ่าเชื้อแล้วและต้มให้เดือด และ 3 ใช้น้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วอย่างเดียวผลปรากฏตามตารางที่ 1 pH ของทุกสูตรทุกซ้ำและทุกวัน วัดได้ 6-7และให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดที่เลี้ยงในสูตรที่ 1 ให้น้ำหนักแห้งมากที่สุด 0.033 กรัมรองลงมาในสูตรที่2ให้ 0.030 กรัม และสูตรที่3ให้ 0.027 กรัม ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 1 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อที่เจริญในหลอดทดลองขนาด 20 ลบ.ซม. จำนวน 3 ซ้ำ ที่ห้องปรับอากาศอุณหภูมิ 25±2°ซ มีแสงกลางวันและห้องธรรมดาอุณหภูมิ 28±3° ซ ไม่มีแสงกลางคืน

สูตร	pH ของสูตรแต่ละวัน							น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อ	
	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน	5 วัน	6 วัน	7 วัน	กรัม/5 มล.	กรัม/1 ลิตร (คำนวณ)
1	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	0.033 a	6.6
2	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	0.030 a	6.0
3	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	0.027 a	5.4

สูตร 1 โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว ผสมในน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้ว

สูตร 2 โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว. ผสมในน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วและต้มให้เดือด

สูตร 3 น้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วอย่างเดียว

คอลัมน์ที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

CV. = 53.3%

<u>วิธีการคำนวณ</u>

<u>สูตร1</u> โคนีเดียเชื้อรา*Penicillium sp.*สีเขียวผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้ว5มล.เลี้ยงออยเดียเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อได้น้ำหนักเส้นใยเห็ดแห้ง = 0.033 กรัม

ถ้าผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1,000 มล (1 ลิตร) = $\frac{0.033 \times 1,000}{5}$ กรัม

เพราะฉะนั้น: ได้เส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อแห้ง = 6.6 กรัม

สูตร 2 โคนีเดียเชื้อรา *Penicillium sp.*สีเขียว. ผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วและต้มให้เดือด จำนวน 5มล. เลี้ยงออยเดียเห็ดเป๋าฮื้อได้เส้นใยเห็ดแห้ง = 0.030 กรัม

ถ้าผสม 1,000 มล. (1 ลิตร) = $\frac{0.030 \times 1,000}{5}$ กรัม

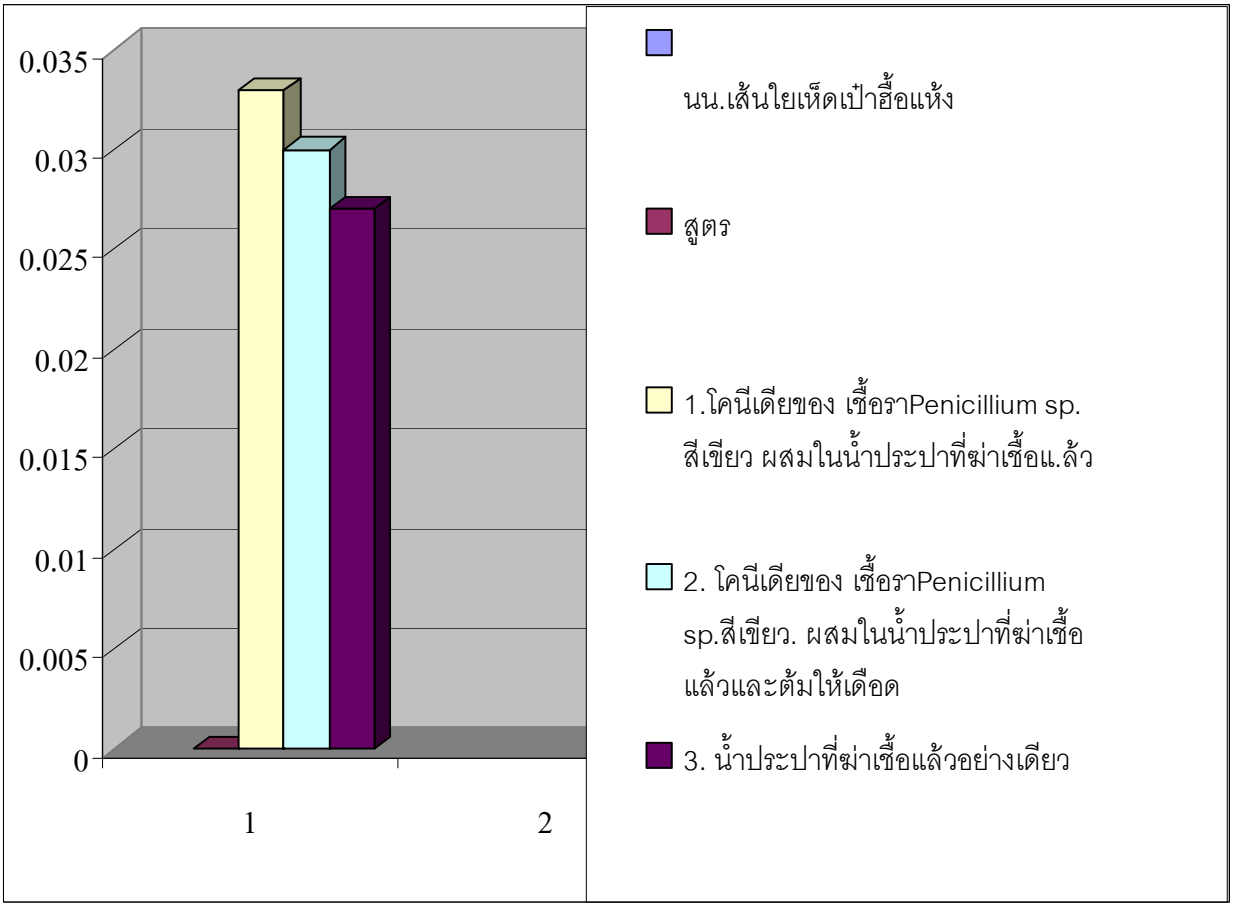
เพราะฉะนั้น ได้เส้นใยเห็ดแห้ง = 6.0 กรัม

สูตร 3 น้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้วอย่างเดียว 5 มล. เลี้ยงออยเดียเห็ดเป๋าอื้อได้เส้นใยเห็ดแห้ง = 0.027 กรัม

ถ้า ผสม 1,000 มล. (1 ลิตร) = $\frac{0.027 \times 1,000}{5}$ กรัม

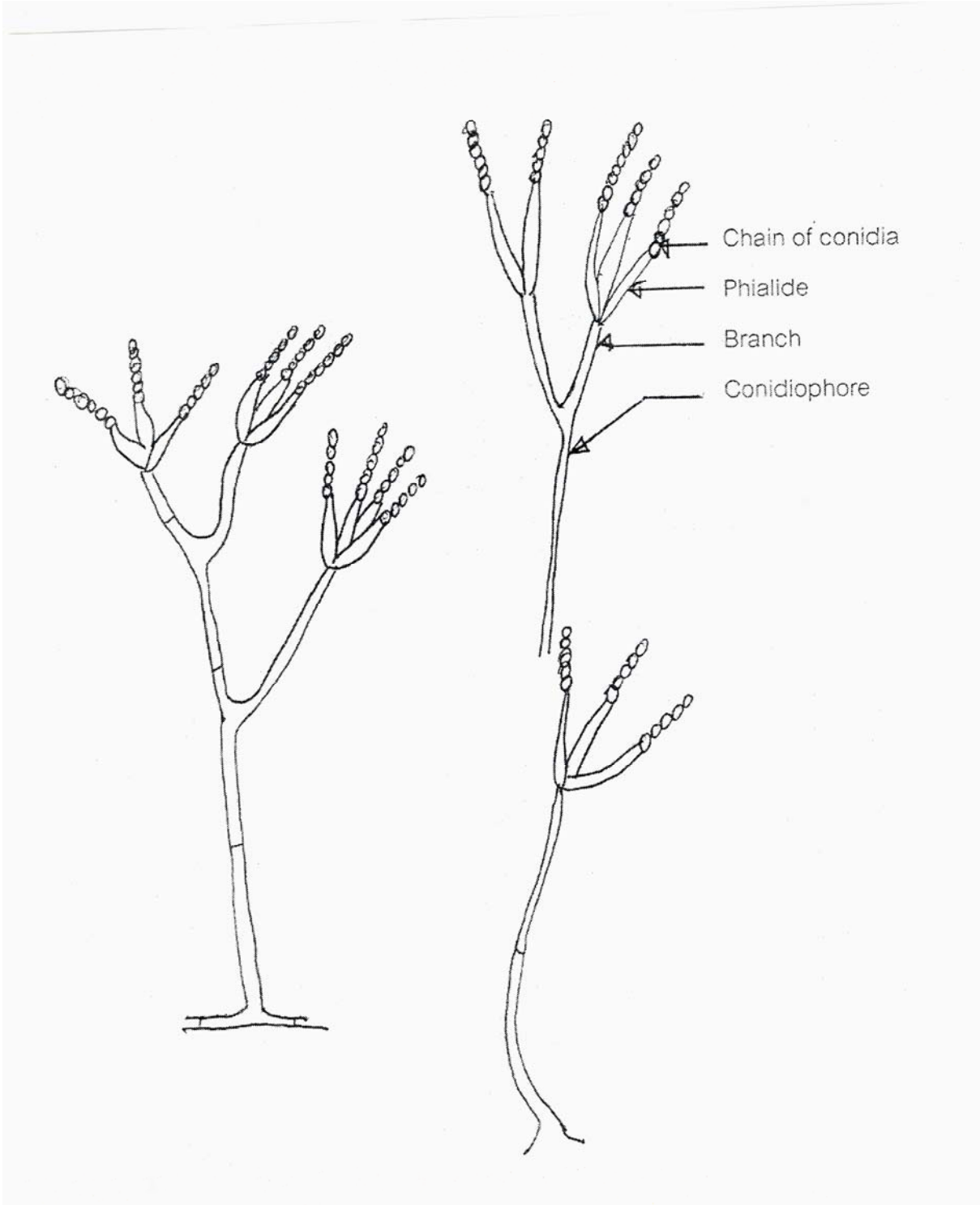
เพราะฉะนั้น ได้เส้นใยเห็ดแห้ง = 5.4 กรัม

จากการทดลองเลี้ยงเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อในสูตรที่ 1, 2 และ 3 น้ำหนักเส้นใยเห็ดที่ได้รับ ให้น้ำหนักแห้งมากในสูตร 1 และ 2 ที่ผสมโคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว. ซึ่งมากกว่าในสูตร 3 ที่ไม่ได้ผสมโคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว.น่าจะเป็นน้ำหนักของ โคนีเดียรวมอยู่ด้วยก็ได้ สำหรับ *Penicillium* sp. เป็นเชื้อราปกติไม่เจริญในน้ำ จากการตรวจเอกสารBarnett and Hunter(1972)รายงาน ในการจำแนกเชื้อรา แบบ The Hughes-Tubaki-Barron System of Classification ใน Phialospore 152b ปกติไม่เจริญในน้ำ ในการทดลองครั้งนี้ใช้โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว. แต่ถ้าใช้เส้นใยของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียวรวมผสมด้วยน่าจะทำให้เส้นใยเห็ดเจริญเพิ่มมากขึ้นและมีผลให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากทะเบียนวิจัยเลขที่46 11 001เรื่องการคัดเลือกเชื้อราที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมภูฏาน วรลักษณ์ (2546) ใช้สปอร์และเส้นใยของเชื้อรา*Geotrighum sp* สีดำ *Aspergillus flavo furcatis, Aspergillus flavus* และslime moldสีขาวแต่ละชนิดผสมน้ำประปาต้มให้เดือดและผสมกับWA เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางรมภูฏานทำให้เส้นใยเห็ดเจริญหนาแน่นมากอย่างชัดเจนและจำนวนวันที่เส้นใยเห็ดเจริญเต็มจานเลี้ยงเร็วกว่าอย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่1.น้ำหนักของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อแห้ง (กรัม/5มล.)จากการเลี้ยงออยเดียใน3สูตร

2. จากการจำแนกเชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว.โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ศึกษาทางสัณฐานวิทยาได้ภาพที่2.และเปรียบเทียบกับรายงานจากเอกสารอ้างอิงของBarnett and Hunter(1972)ให้ผลดังนี้



ภาพที่ 2 ลักษณะของ *Penicillium* sp.สีเขียว ที่กำลังขยาย 20x10

1. การจำแนกแบบ The Saccardo System of Classification

สำหรับ Imperfect fungi ใช้ Morphology ของ sporulating structures และสีของ conidia มี mycelium แบบมีseptate

Moniliales……62

conidia สร้างโดยตรงจาก mycelium หรือบนการแยกออกของ sporogenous cells หรือ conidiophore ซึ่ง แยกออกเป็น clusters หรือเป็น groups ที่ถูก packed อย่างแน่น

Moniliaceae and Dematiaceae conidiophore แบบ single และแยกออกจากกัน หรือ แบบ clusters อย่างหลวมๆ Moniliales

1 b conidia ไม่เป็น Coiled……..12

12 a conidia และ Conidiophores แบบ hyaline หรือ มีสี Brightly conidiophores แบบ single หรือ elusters แบบหลวมๆ (Moniliaceae)……....13

13 a conidia แบบ มี 1 เซลล์ globose-cylindrical……14

14 b conidiophores ชัดเจนแบบสั้น.....24

24c conidial ไม่ใช่สภาพแบบ powdery mildews……...25

25a conidiophore cells ชัดเจนจาก conidia ……26

26b conidiophores ส่วนมากมี branched บางครั้ง Simple ส่วน phialides เป็น groups หรือ heads…… 41

41a conidia แบบ catenulate……42

42b phialides ไม่เป็น heads ส่วน conidiophores แบบ branched…… 44

44a conidia เป็น chain……..45

45a conidiophores ไม่เป็น layer หรือ column…… .46

46b conidia แบบ phialospores มี phialides ตั้งตรง แบบ brushlike …… Penicillium 90

2. การจำแนกแบบ The Hughes-Tubaki-Barron System of Classification
ใช้จำแนกตามลักษณะการสร้าง รูปร่าง สี และ septate ของ conidia บน conidiophore
1 : conidia (phialospores) สร้างจาก apex ของ conidiophore หรือ sporogenous cell (phialide) ปกติไม่เพิ่มความยาว ส่วน conidia บ่อยๆ รวมกันเป็น drop หรือ slime ที่ apex ของ phialide หรือ เป็น chain มี conidiophore แบบ simple หรือ branched บาง genera แบบ apex simple conidiophore สามารถสร้าง phialides ใหม่ (ตัวอย่าง : chalara, Phialophora) Series Phialosporae

152b ปกติไม่เจริญในน้ำ.....156

156b conidia แบบ 1 เซลล์……..161

161b conidiophores มี phialides หรือ conidia……162

162a conidia แบบ hyaline หรือ subhyaline ……..163

163b conidia แบบ globose ovoid oblong หรือ hooked ไม่มี appendages……165

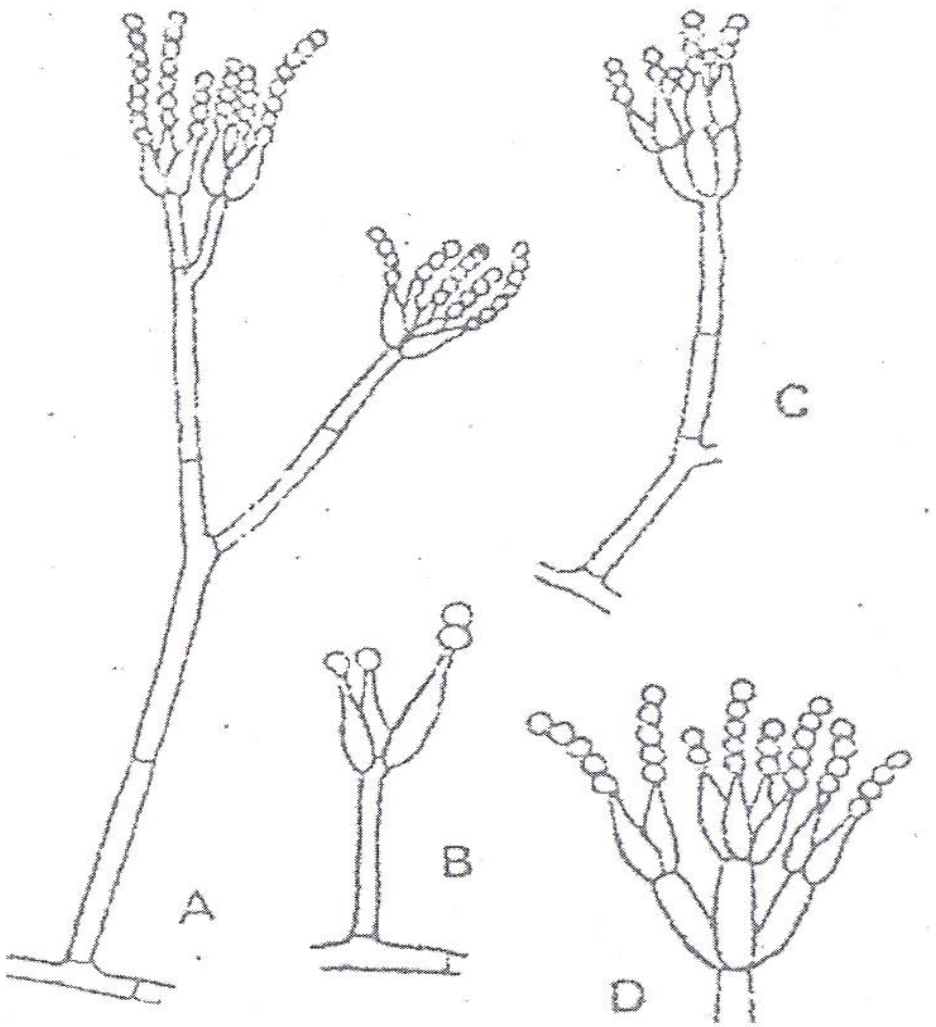
165b conidia ถูกสร้างจาก apex ของ phialide ไม่มีแบบ rod-shaped……169

169b conidiophores เจริญได้ดีแบบ simple หรือ branched……171

171a conidia แห้งไม่ยึดติดกันในแบบ slime……172

172c conidiophores แบบ branched เป็น hyaline ส่วน conidia แบบ chains แห้ง……173

173b conidia แบบ globose-ovoid ส่วน conidiophore แบบ brush ……Penicillium 90



PENICILLIUM

PENICILLIUM Link. Conidiophores เกิดขึ้นจาก mycelium แบบ single หรือบ่อยๆ แบบ synnemata มี branched ใกล้ apex มี penicillate ส่วนตอนปลายเป็น phialides สำหรับ conidia (phialospores) แบบ hyaline หรือ มีสี brightly มากมาย มี 1 เซลล์ ส่วนมากแบบ globose หรือ Ovoid เป็น chain แห้งๆ *Penicillium* sp จากภาพA B และ C เป็นแบบต่างๆของ conidiophore ส่วนD เป็น branched, phialides, และ chains ของconidia อยู่ในclass Deuteromycetes order Moniliales family Dematiaceae genus Penicillium ทั้งหมดนี้อยู่ใน รายงานของBarnett and Hunter (1972)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. เลี้ยงออยเดียเห็ดเป๋าฮื้อในสูตรที่ 1 โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว. ผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้ว สูตรที่ 2 โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว ผสมน้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้ว และต้มให้เดือด และสูตรที่ 3 น้ำประปาที่ฆ่าเชื้อแล้ว ให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ด 0.033 , 0.030 และ 0.027 กรัม/5มล. ตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
2. จำแนกเชื้อราได้ *Penicillium* sp.สีเขียว.

การทดลองครั้งนี้ใช้โคนีเดียของ เชื้อรา*Penicillium* sp.สีเขียว. แต่ถ้าใช้เส้นใยของ เชื้อรา *Penicillium* sp.สีเขียวรวมผสมด้วยน่าจะทำให้เส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อเจริญเพิ่มมากขึ้นและมีผลให้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดเป๋าฮื้อมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากทะเบียนวิจัยเลขที่46 11 001เรื่องการคัดเลือกเชื้อราที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมภูฏาน วรลักษณ์ (2546) ใช้สปอร์และเส้นใยของเชื้อรา*Geotrighum sp* สีดำ *Aspergillus flavo furcatis, Aspergillus flavus* และslime moldสีขาวแต่ละชนิดผสมน้ำประปาต้มให้เดือดและผสมกับWA เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางรมภูฏานทำให้เส้นใยเห็ดเจริญหนาแน่นมากอย่างชัดเจนและจำนวนวันที่เส้นใยเห็ดเจริญเต็มจานเลี้ยงเร็วกว่าอย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

วรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ 2546. การคัดเลือกเชื้อราที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมภูฏาน หน้า 45 ใน : เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่อง การจัดการงานวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (ครั้งที่ 2) : ผลงานวิจัยและพัฒนาที่ควรเผยแพร่และนำไปใช้ประโยชน์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร 30 สิงหาคม- กันยายน 2547 ณ คลองทรายรีสอร์ท อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

วรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ 2547. การคัดเลือกเชื้อราที่มีประโยชน์กับการเจริญเติบโตของเห็ดสกุลนางรม หน้า 44.ใน : เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่อง การจัดการงานวิจัยและพัฒนเทคโนโลยีชีวภาพ (ครั้งที่2) ผลงานวิจัยและพัฒนาที่ควรเผยแพร่และนำไปใช้ประโยชน์ สำนักวิจัยพัฒนเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร 30 สิงหาคม-กันยายน 2547 ณ คลองทรายรีสอร์ท อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

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

Grappelli,A.,I.Cacciari, D.Lippi and W.Pietrosanti. 1978. Influence of bacterial metabolites on the growth of *Agaricus bisporus* in submerged cultures. Mushroom Science 10 (1) : 335-345 Park, J.Y. and V.P. Agnihotri. 1969. Bacterial metabolites Trigger sporophore formation in *Agaricus bisporus* . Nature. London 222; 984.

สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก

Surveying collection and identification Rust fungal diseases on Vegetables ornamental and weed in plantation

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี
สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ที่แสดงอาการโรคราสนิม ระหว่างเดือนตุลาคม 2547 ถึง กันยายน 2549 จำนวน 46 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดเชื้อราสนิมได้ 8 ชนิด 25 ไอโซเลท ได้แก่ *Puccinia allii* Rud. , *Puccinia horiana* P. Henn. , *Puccinia philippinensis* P. et H. Syd. , *Puccinia thaliae* Diet. , *Puccinia thwaitesii* M.J. Berkeley , *Puccinia nakanishikii* Dietel ,*Coleosporium plumeriae* Pat. , *Uromyces fabae* Pers

---

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการปลูกพืชหลายชนิดทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งมีผลถึงจุลินทรีย์ต่างๆ ด้วย เมื่อมีความเปลี่ยนแปลงอันเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชก็มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนไป

ปัจจุบันงานด้านอนุกรมวิธานเชื้อจุลินทรีย์โรคพืชได้มีผู้ให้ความสำคัญเพิ่มมากขึ้น อันเป็นผลจากการที่ประเทศต่างๆ ในโลกมีการประสานความสัมพันธ์กันในด้านต่างๆ ทั้งทางการศึกษาและการค้าที่มีต่อกัน การที่พันธุกรรมจุลินทรีย์โรคพืชเปลี่ยนแปลงไป อาจทำให้เกิดชนิดหรือ สายพันธุ์ใหม่ๆ ในอดีตที่ผ่านมาได้มีการศึกษารายละเอียดข้อมูลประจำสายพันธุ์ และเก็บรักษาสายพันธุ์ แต่หากมีการศึกษาและเก็บรักษาได้มาตรฐานสากล จะสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในงานวิจัยทางด้านอื่นอีกหลายด้าน บางสายพันธุ์อาจให้สารที่มีประโยชน์ และสร้างมูลค่าเพิ่มได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อให้ได้แหล่งของสายพันธุ์ และข้อมูลจุลินทรีย์โรคพืช เพื่อเข้าเก็บรวบรวมในหน่วยเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์โรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช เพื่อใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อย่างยั่งยืน ต่อไป

โรคราสนิมเป็นโรคที่เกิดกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด สมภาค และคณะ (2527) รายงานการระบาดโรคราสนิมหม่อนที่จังหวัดเชียงใหม่ จะเริ่มระบาดตั้งแต่กลางเดือนตุลาคม เป็นต้นไป ทวี (2527) รายงานโรคราสนิมของฝ้าย (*Phakopsora gossypi* (Arthur) Hirat.) ว่าการระบาดยังอยู่ในวงจำกัด พบในเรือนทดลองในกรุงเทพมหานคร และบางท้องที่ในจังหวัดลพบุรี สระบุรี ราชบุรี นครสวรรค์ นครราชสีมา และกาญจนบุรี ความเสียหายไม่มากนัก แต่ในต่างประเทศทำความเสียหายมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงมีแนวโน้มที่จะมีความสำคัญในอนาคต เนื่องจากเชื้อราสามารถเข้าทำลายได้รุนแรงทุกโอกาส ถ้าสภาพแวดล้อมเหมาะสม และใช้พันธุ์ฝ้ายที่อ่อนแอต่อโรคนี้ปลูก อุดม (2529) รายงานโรคราสนิมของข้าวโพด เกิดจากเชื้อ *Puccinia polysora* Undrew. ราสนิมชนิดนี้จะพบในประเทศเขตร้อนทั่วไป และจะพบเฉพาะบางท้องที่ของประเทศไทย เช่น อำเภอปากช่องข้าวโพดหวานจะเป็นโรครุนแรง ส่วนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ก็อาจแสดงอาการโรคได้เช่นกัน ตั้งแต่ พ.ศ. 2527 โรคนี้ระบาดรุนแรงมากกับข้าวโพดพันธุ์ลูกผสม และสายพันธุ์พ่อแม่ของพันธุ์ลูกผสมบางพันธุ์ คาดว่าในอนาคตอันใกล้นี้โรคนี้จะมีบทบาทสำคัญถ้าการผสมพันธุ์ข้าวโพดไม่ให้ความสนใจเกี่ยวกับการคัดสายพันธุ์ นุชนารถ (2546) ได้รายงานการพบโรคราสนิม เกิดกับพืชผักหลายชนิด ได้แก่ ข้าวโพดหวาน ถั่วแขก ถั่วลันเตา หอมญี่ปุ่น หน่อไม้ฝรั่ง ดอกไม้จีน

อย่างไรก็ตาม การศึกษาโรคราสนิมในพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ที่ผ่านมายังมีน้อย และโรคราสนิมในบางพืชยังมิได้มีการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุ อีกทั้งในปัจจุบันการปลูกพืชมีการเปลี่ยนแปลงสถานที่และชนิดพืช มีการนำพืชจากต่างประเทศเข้ามาปลูก อาจทำให้พบโรคราสนิมในพืชที่ยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทยมาก่อน จึงควรที่จะได้ศึกษาต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช

1.1 ถุงพลาสติก ยางรัด กระดาษหนังสือพิมพ์

1.2 ปากกาเขียนถุง

1.3 กระดาษฟาง

1.4 แผงอัดตัวอย่าง

1.5 กระดาษบันทึกข้อมูล

1.6 กรรไกรตัดกิ่ง มีด

1.7 ถังเก็บความเย็น เพื่อเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค

1.8 ฯ

2 อุปกรณ์ห้องปฏิบัติการ

2.1 กล้องจุลทรรศน์ Stereoscopic Microscope

2.2 กล้องจุลทรรศน์ Compound Microscope

2.3 เข็มเขี่ยเชื้อ

2.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2.5 Slide และ cover slip

วิธีการ

1. แบบการทดลอง

-

2. กรรมวิธี

2.1. สำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคของพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการโรคราสนิม

2.2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของเชื้อสาเหตุโรคพืช

2.3. จัดจำแนกชนิด ของเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืช

2.4. จัดเก็บตัวอย่างอาการของโรคในพิพิธภัณฑ์

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง

3.1. เก็บตัวอย่างพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวชพืชในแปลงปลูกชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการราสนิมนำตัวอย่างที่ได้แบ่งส่วนหนึ่งมาทำการอัดตัวอย่างแห้งด้วยการจัดเรียงชิ้นส่วนใบพืชที่แสดงอาการของโรคบนกระดาษฟางและปิดทับด้วยกระดาษฟางอีกชั้นหนึ่ง นำไปอัดเก็บไว้ด้วยแผงอัดตัวอย่าง ตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งเก็บห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วเก็บลงถุงพลาสติกมัดปากถุง นำไปเก็บในถังเก็บความเย็นเพื่อนำไปแยกเชื้อศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป

3.2. นำมาแยกเชื้อโดยนำชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการดังกล่าวมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereoscopic microscope ทำการเขี่ยเชื้อจากแผลบนใบพืชดังกล่าวนั้นมาทำสไลด์

3.3. นำสไลด์ที่ได้มาทำการส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound microscope ศึกษาลักษณะของเชื้อราดังกล่าว เพื่อการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสนิม เปรียบเทียบกับเอกสารวิชาการในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อสนิม

3.4. เมื่อทำการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุได้แล้ว นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคและอัดเก็บเป็นตัวอย่างแห้ง เก็บเข้าสู่พิพิธภัณฑ์โรคพืช เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการ

4. การบันทึกข้อมูล

4.1. บันทึกข้อมูลตัวอย่างพืชที่เป็นโรคที่ได้เก็บตัวอย่างมา เช่น สถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่ ชื่อพืช อาการ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เป็นต้น

4.2. บันทึกข้อมูลชนิดเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชของพืชชนิดต่างๆ ตามหลักการจัดเก็บด้านโรคพืชหลังจากทำการจัดจำแนกแล้ว

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่ ตุลาคม 2547 สิ้นสุด กันยายน 2549 ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ในพื้นที่ปลูกพืชของเกษตรกร และทำการจำแนกชนิดเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชที่กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่าง และบันทึกข้อมูลโรคพืช ระหว่าง ตุลาคม 2547 – กันยายน 2549 โดยทำการเก็บตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการราสนิม จำนวน 46 ตัวอย่าง นำมาทำการจัดจำแนกเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืช สามารถจัดจำแนกเชื้อราสนิม โดยใช้เอกสารการจัดจำแนกของ George B. Cummins and Yasuyuki Hiratsuka (1983), (2003) และ พงษ์วิภา (2529) ได้เชื้อราสนิม 8 ชนิด 25 ไอโซเลท ได้แก่

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของเชื้อราสนิมของผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ที่จำแนกได้

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
1.	ถั่วลันเตา	ใบ	*Uromyces fabae*	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
2.	กุยช่าย	ใบ	*Puccinia allii*	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
3.	กุยช่าย	ใบ ก้านดอก	*Puccinia allii*	สถานีเกษตรที่สูง แม่หลอด จ. เชียงใหม่
4.	แห้วหมู	ใบ	*Puccinia philippinensis*	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
5.	ขาไก่ดำ	ใบ	*Puccinia thwaitesii*	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
6.	ขาไก่ดำ	ใบ	*Puccinia thwaitesii*	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย จ. เชียงราย
7.	ขาไก่ด่าง	ใบ	*Puccinia thwaitesii*	เกษตรหลวงปางดะ อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่
8.	พุทธรักษา	ใบ	*Puccinia thaliae*	อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่
9.	พุทธรักษา	ใบ	*Puccinia thaliae*	ต. ม่วงคำ อ. พาน จ. เชียงราย
10.	พุทธรักษา	ใบ	*Puccinia thaliae*	ต. มหาวัน อ. แม่สอด จ. ตาก
11.	พุทธรักษา	ใบ	*Puccinia thaliae*	เขตบางเขน จ. กรุงเทพมหานคร

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
12.	ตะไคร้	ใบ	*Puccinia nakanishikii*	ต. ม่วงคำ อ. พาน จ. เชียงราย
13.	ตะไคร้	ใบ	*Puccinia nakanishikii*	อ. แม่แจ่ม จ. เชียงใหม่
14.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	โครงการค้นคว้าเกษตร จ. เพชรบุรี
15.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.สวนดอก อ. เมือง จ.ลำปาง
16.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.บ้านแลง อ. เมือง จ.ลำปาง
17.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.พระธาตุผาแดง อ.แม่สอด จ.ตาก
18.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.แม่สอด อ.แม่สอด จ.ตาก
19.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	ต.ดอนตูม อ.เมือง จ.ลพบุรี
20.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	บ้านกรูด จ. ประจวบคีรีขันธ์
21.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	อ. เมือง จ. นนทบุรี
22.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี
23.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	เขตบางเขน จ. กรุงเทพมหานคร
24.	ลั่นทม	ใบ	*Coleosporium plumeriae*	อ. ลาดหญ้า จ. กาญจนบุรี
25.	เบญจมาศ	ใบ	*Puccinia horiana*	โป่งแยง อ. สะเมิง จ. เชียงใหม่

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสนิมชนิดต่าง ๆ

1. *Puccinia allii* Rud.

ในประเทศไทยพบเชื้อในระยะ uredinium เกิดทั้งสองด้านของใบ มีลักษณะเป็นตุ่มนูนรีสีเหลืองสด โดยเกิดเดี่ยวๆ กระจายทั่วใบ บางครั้งเกิดติดๆ กันเป็นทางยาว ใต้ชั้น epidermis ของพืช และดัน epidermis โป่งออกมา หรือดัน epidermis จนแตกออก urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านผนังบาง ไม่มีสี รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลมเป็นส่วนใหญ่ บางสปอร์มีรูปร่างแบบ broadly ellipsoid ขนาด 21.25 – 25 x 20.00 – 23.75 µm. ขนาดเฉลี่ย 23.31 x 21.88 µm. พบเม็ด oil

content อยู่ภายในสปอร์ สีอำพันจนถึงเหลืองอ่อน ผนังสปอร์หนาเท่ากันทั้งสปอร์ และใสไม่มีสี ผิวหนังเป็นหนามแบบ echinulate ไม่เห็นจุดงอก

พืชอาศัย

กุยช่าย (*Allium schoenosprasum* Linn.)

ลักษณะอาการของโรค

พบทั้งสองด้านของใบ ทำให้เนื้อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเปลี่ยนเป็นจุดสีเหลือง ต่อมาจะแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาล ในที่สุดใบจะแห้งไหม้ไปทั้งหมดใบ

2. *Puccinia horiana* P. Henn.

ราสนิมชนิดนี้มีชีพจักรแบบ Microcyclic สร้าง telium ด้านใต้ใบมากกว่าด้านบนใบ เริ่มแรกเกิดใต้ epidermis ของพืช และดัน epidermis แตกออกเป็นกระจุกแน่นแข็งนูนขึ้นมาบนผิวใบค่อนข้างหนา ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.50-3.00 มม. สีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาล เข้ม telium เมื่อเกิดติดๆ กันมากจะรวมเป็นกลุ่มนูนขนาดใหญ่ teliospore ส่วนมากมี 2 เซล แต่บางสปอร์ก็มี 3-4 เซล รูปร่างแบบ fusiform ขนาด 37.50-55.00 x 11.25-15.00 µm. ขนาดเฉลี่ย 44.75 x 12.75 µm. ผนังสปอร์ด้านบนหนากว่าผนังด้านข้าง สีใสออกแกมเหลืองอ่อน ผิวผนังเรียบ มีจุดงอก 1 จุดต่อเซล เซลบนมีจุดงอกอยู่กึ่งกลางของปลายสปอร์ เซลล่างมีจุดงอกอยู่ติดกับ septum ทางด้านข้างสปอร์ สปอร์เกิดบนก้านใสไม่มีสี ผนังบางยาวได้ถึง 80 µm.

พืชอาศัย

เบญจมาศ (*Chrysanthemum morifolium* Ramat)

ลักษณะอาการของโรค

ทำให้เนื้อใบตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเหลืองและไหม้เป็นวงๆ เมื่อราสนิมระบาดมากจะทำให้ใบเบญจมาศเหลืองและลามแห้งทั้งใบ บางครั้งอาจมีผู้เรียกเป็นราสนิมขาว เนื่องจากกลุ่มของเชื้อมีสีเหลืองอ่อนออกเป็นสีครีมขาว

3. *Puccinia philippinensis* P. et H. Syd.

พบระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบเท่านั้น ไม่พบทางด้านหน้าใบ บางทีเกิดในเส้นใบด้วย uredinium เจริญใต้ epidermis ของพืช และดัน epidermis แตกออกมาเมื่อแก่ มีลักษณะเป็นขีดนูนยาวสีเหลืองน้ำตาลจนถึงสีน้ำตาล cinnamon กระจายทั่วใบ urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านผลังบาง ใสไม่มีสีและค่อนข้างยาว รูปร่างส่วนมากเป็นแบบ ellipsoid จนถึง obovoid ขนาด 20.00-30.00 x 16.25-21.25 µm. ขนาดเฉลี่ย 25.06-19.44 µm. ผนังบางสม่ำเสมอ 0.65-1.25 µm. สีเหลืองทอง ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate มีจุดงอก 2-4 จุดต่อสปอร์เรียงเป็นวงตามแนวขวาง

พืชอาศัย

แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)

ลักษณะอาการของโรค

ทำให้เนื้อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเปลี่ยนเป็นจุดสีเหลือง ต่อมาจะแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาล ในที่สุดใบจะแห้งไหม้ไปทั้งหมดใบ

4. *Puccinia thaliae* Diet.

พบระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบมากกว่า นอกจากนี้ยังเกิดตามก้านใบอีกด้วย มีลักษณะเป็นจุดกลมนูน หรือรียาว สีเหลืองสดจนถึงสีส้มขนาด 0.20-1.00 มม. อาจเกิดเดี่ยวๆ หรือเกาะกลุ่มกันหลวมๆ กระจายทั่วใบเริ่มแรกเกิดใต้ epidermis ของพืชและอาจดัน epidermis แตกออก หรือยังคงมี epidermis พืชคลุมอยู่ตลอด urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านใสไม่มีสี ผนังบาง รูปร่างแบบ obovoid, ellipsoid, pyriform จนถึงรูปร่างไม่แน่นอนค่อนข้างเป็นเหลี่ยมขนาด 28.75-42.50 x 21.25-30.00 µm. ขนาดเฉลี่ย 34.44 x 23.75 µm. ผนังหนาสม่ำเสมอ 2.00-2.50 µm. ใสไม่มีสี แต่ภายในสปอร์มีสีเหลืองส้ม (luteous) ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate จุดงอกมองไม่เห็น

พืชอาศัย

พุทธรักษา (*Canna indica* Linn.)

ลักษณะอาการของโรค

พบบนใบและก้าน ทำให้เนื้อใบบริเวณรอบๆ กลุ่มเชื้อมีสีเขียวจางลงจากปกติ ในที่สุดก็แห้งไหม้เป็นจุดสีน้ำตาลเข้ม

5. *Puccinia thwaitesii* M.J. Berkeley

ราสนิมนี้เป็นพวก microcyclic species สร้าง telium เกิดด้านใต้ใบใต้ epidermis ของพืชและดัน epidermis แตกออกตั้งแต่ยังอ่อน มีลักษณะเป็นกลุ่มนูนสีน้ำตาลดำ เกิดเรียงซ้อนกันเป็นวงกลม กว้างถึง 1.50 ซม. รอบๆ ของกลุ่ม telium เนื้อใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองล้อมรอบ teliospore 2 เซล รูปร่างแบบ ellipsoid ผนังบริเวณ septum คอดเข้าเล็กน้อย ขนาด 28.75 – 40.00 x 17.50 – 21.25 µm. ขนาดเฉลี่ย 30.00 x 19.50 µm. ผนังด้านบนมนกลมและหนากว่าด้านข้างเล็กน้อย โดยหนา 3.75-5.00 µm. ผนังด้านข้างหนา 2.50-3.75 µm. สีน้ำตาล chestnut ผิวผนังเรียบ มีจุดงอก 1 จุดต่อเซล สปอร์เกิดบนก้านผนังบาง สีน้ำตาลอ่อนไม่ยุบง่ายและยาวมากถึง 122.5 µm.

พืชอาศัย

ขาไก่ดำ (*Justicia* sp.)

ขาไก่ด่าง (*Justica fraqilis* Wall.)

ลักษณะอาการของโรค

ทำให้เนื้อใบบริเวณรอบๆ กลุ่มเชื้อและด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและแห้งไหม้ตาย ใบอ่อนจะไหม้และบิดเบี้ยวหงิกงอเสียรูปทรงไป ในที่สุดจะแห้งไหม้ตายทั้งใบ

6. *Puccinia nakanishikii* Dietel

พบระยะ uredinium ราสนิมนี้สร้าง uredinium เกิดด้านใต้ใบมากกว่าด้านบนใบ เกิดใต้ epidermis ของพืช เมื่อแก่จะดัน epidermis แตกออกตามทางยาวขนานกับเส้นใบ มีลักษณะเป็นขีดสีน้ำตาลดำ ภายใน uredinium เป็นที่เกิดของ urediniospore และ paraphyses paraphyses มีรูปร่างแบบ capitate หรือ clavate ผนังด้านบนหนา 5.00-12.50 µm. และค่อยๆ บางลงทางด้านข้าง สีเหลืองทอง urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านใสไม่มีสี รูปร่างแบบ obovoid เป็นส่วนมาก ขนาด 25.00-37.50 x 20.00-26.25 µm. ขนาดเฉลี่ย 29.94 x 21.88 µm. ผนังสปอร์หนา 1.25-2.50 µm. สีน้ำตาล cinnamon และมีสีเทาเข้มขึ้นทางด้านบนของ ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate มีจุดงอก 4-5 จุดต่อสปอร์ เรียงเป็นวงตามแนวเส้นศูนย์สูตร และโป่งนูนเห็นชัดเจน

พืชอาศัย

ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf)

ลักษณะอาการของโรค

ทำให้เนื้อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อแห้งไหม้เป็นขีดสีน้ำตาลทั่วทั้งใบ

7. *Coleosporium plumeriae* Pat.

พบในระยะ uredinium เกิดด้นใต้บมากกว่าด้านบนใบ ลักษณะเป็นจุดนูนกลมสีเหลืองสดถึงเหลืองส้ม เกิดเป็นกลุ่มหรือเกิดเดี่ยวๆ กระจายทั่วใบ uredinium เกิดใต้ชั้น epidermis ของพืช เมื่อแก่จะดัน epidermis ให้ปริแตกออกเกิดเป็นผงฝุ่นสปอร์สีเหลือง urediniospore 1 เซล รูปร่างกลมจนถึงเกือบกลม บางครั้งกลมรีหรือรูปไข่ สีขาวหรือเหลืองอ่อนจนถึงเหลืองอมส้ม ขนาดสปอร์ 16.25-26.25 x 12.50-18.75 µm. ผิวสปอร์ขรุขระ ลักษณะเป็นหนามขนาดเล็ก จุดงอกมองไม่เห็น

พืชอาศัย

ลั่นทม (*Plumeria acuminata* Art.)

ลักษณะอาการของโรค

ทำให้เนื้อเยื่อด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อเป็นสีเหลืองซีด ต่อมาจะเกิดอาการแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาลและใบจะร่วงก่อนกำหนด หากเป็นรุนแรงใบจะร่วงทั้งต้นทำให้พืชโทรมได้หากไม่ดูแล

8. *Uromyces fabae* Pers

พบระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบเป็นส่วนใหญ่ uredinium เกิดใต้ชั้น epidermis ของพืช เมื่อแก่จะดัน epidermis ให้ปริแตกออก เกิดเป็นฝุ่นผงสปอร์ urediniospores เกิดเดี่ยวๆบนก้านสปอร์ลักษณะกลมรี ผนังสปอร์เป็นหนามแบบ echinulate สีเหลืองอ่อนจนถึงเหลืองสด ขนาดสปอร์

พืชอาศัย

ถั่วลันเตา (*Pisum sativum* L.)

ลักษณะอาการของโรค

ทำให้เนื้อเยื่อด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อเป็นสีเหลืองซีด ต่อมากลุ่มเชื้ออาจเปลี่ยนเป็นสีเป็นสีน้ำตาลเข้ม จะเกิดอาการแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาล

จากผลการวิจัยนี้ ทำให้ทราบชนิดของเชื้อราสนิมชนิดต่างๆ ที่เกิดกับพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ซึ่งก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการค้าขายสินค้าเกษตรระหว่างประเทศในปัจจุบัน เนื่องจากมีการใช้มาตรการด้านสุขอนามัยพืช ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาถึงเชื้อสาเหตุโรคพืชสกุลและชนิดต่างๆ ว่าสามารถทำให้เกิดโรคกับพืชใดได้บ้าง เพื่อเป็นหลักฐานในการยืนยันและอ้างอิง หากมีการร้องขอข้อมูล หากไม่มีการศึกษาวิจัยดังกล่าวนี้อาจมีผลต่อการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรในอนาคตได้ อีกทั้งการวิจัยดังกล่าว ยังสามารถนำไปศึกษาวิจัยด้านอื่นๆ เช่น การป้องกันกำจัดโรคพืช เป็นต้น

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างผัก ไม้ดอกไม้ประดับและวัชพืชในแปลงปลูก ที่แสดงอาการโรคราสนิม จำนวน 46 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดเชื้อราสนิมได้ 8 ชนิด 25 ไอโซเลท ได้แก่ได้แก่ *Puccinia allii* Rud. , *Puccinia horiana* P. Henn. , *Puccinia philippinensis* P. et H. Syd. , *Puccinia thaliae* Diet. , *Puccinia thwaitesii* M.J. Berkeley , *Puccinia nakanishikii* Dietel , *Coleosporium plumeriae* Pat. , *Uromyces fabae* Pers

เอกสารอ้างอิง

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

นุชนารถ จงเลขา. 2546. คู่มือการควบคุมโรคและศัตรูต่างๆของพืชผักแบบผสมผสาน. สำหรับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมผักบนที่สูง. ศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง 163 หน้า.

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

อุดม ภู่พิพัฒน์. 2529. โรคข้าวโพด. ข่าวสารศัตรูพืช 2 (1) : 22-33.

พงษ์วิภา หล่อสมบูรณ์. 2529. ราสนิมในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย-เกษตรศาสตร์. 193 หน้า

Cummins, G.B. and Y. Hiratsuka. 1983. Illustrated Genera of Rust Fungi. Revised Edition. , The American Phytopathological Society,. Minnesota. 152 p.

Cummins, G.B. and Y. Hiratsuka. 2003. Illustrated Genera of Rust Fungi. Third Edition. , The American Phytopathological Society,. Minnesota. 225 p.

สำรวจรวบรวมและจำแนกชนิดราสนิม สาเหตุโรคไม้ผล ไม้ยืนต้นและวัชพืชในแปลงปลูก

Identification Rust Fungal Disease on Fruit Tree Perennial and Weed in Plantation

ธารทิพย ภาสบุตร ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี อภิรัชต์ สมฤทธิ์ นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างไม้ผล ไม้ยืนต้นและวัชพืชในแปลงปลูกที่เป็นโรคราสนิมในพื้นที่จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ตาก เพชรบูรณ์ พิษณุโลก พิจิตร นครปฐม ราชบุรี และกาญจนบุรีระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2549 พบพืชที่เป็นโรคราสนิมรวมทั้งสิ้น 73 ตัวอย่าง ได้แก่ มะยม 10 ตัวอย่าง ท้อ 3 ตัวอย่าง สัก 35 ตัวอย่าง หม่อน 2 ตัวอย่าง ไผ่ 3 ตัวอย่าง หญ้าคา 1 ตัวอย่าง หญ้าแห้วหมู 2 ตัวอย่าง องุ่น 4 ตัวอย่าง กาแฟ 4 ตัวอย่าง กกสามเหลี่ยม 1 ตัวอย่าง กกทราย 2 ตัวอย่าง ทิ้งถ่อน 1 ตัวอย่าง ผักปราบ 1 ตัวอย่าง หญ้าโขย่ง 1 ตัวอย่าง หญ้าขจรจบ 1 ตัวอย่าง หญ้าขน 1 ตัวอย่าง และส้มกบ 1 ตัวอย่าง เมื่อนำมาศึกษาลักษณะอาการของโรคและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์เพื่อจำแนกชนิดราสนิมสาเหตุโรค ผลการศึกษาพบว่าจำแนกราสนิมได้ 8 สกุล (genera) 10 ชนิด (species) คือ *Aecidium mori* สาเหตุโรคราสนิมของหม่อน *Hemileia vastatrix* สาเหตุโรคราสนิมของกาแฟ *Olivea tectonae* สาเหตุโรคราสนิมของสัก *Phakopsora phyllanthi* สาเหตุโรคราสนิมของมะยม *Phakopsora tecta* สาเหตุโรคราสนิมของผักปราบ *Phakopsora ampelopsidis* สาเหตุโรคราสนิมขององุ่น *Puccinia philippinensis* สาเหตุ โรคราสนิมของหญ้าแห้วหมู กกทรายและกกสามเหลี่ยม *Puccinia rufipes* สาเหตุโรคราสนิมของหญ้าคา *Tranzschelia pruni-spinosae* สาเหตุโรคราสนิมของท้อ *Dasturella bambusina* สาเหตุโรคราสนิมของไผ่ *Ravenelia* sp.สาเหตุโรคราสนิมของทิ้งถ่อน

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราสนิม (Rust fungi) เป็นราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญกลุ่มหนึ่งอยู่ใน Class Basidiomycetes Order Uredinales เป็น obligate parasite ที่มีพืชอาศัยกว้างทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ มักเข้าทำลายพืชที่อ่อนแอหรือพืชปลูกที่ไม่ได้รับการเอาใจใส่ดูแล อาจพบได้ทุกระยะการเจริญของพืช ทั้งเนื้อเยื่อส่วนอ่อนและส่วนแก่ สปอร์ของราชนิดนี้แพร่กระจายได้ง่ายและไปได้เป็นระยะทางไกลๆ โดยปลิวไปตามลม หรือติดไปกับผิวเมล็ดพันธุ์ หรือชิ้นส่วนของพืช เมื่อเกิดการระบาดจะก่อความเสียหายแก่พืชอาศัยของเชื้อได้อย่างรุนแรง ราสนิมสามารถสร้างสปอร์ได้หลายแบบต่างๆกัน เป็นจำนวน 1-5 แบบ ขึ้นอยู่กับชนิดของรา ชีพจักรของราสนิมแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน บางชนิดต้องการพืชอาศัย 2 ชนิดที่ต่างกันเพื่อดำเนินวงจรชีวิตให้ครบสมบูรณ์ (heteroecious life cycle) แต่มีราสนิมบางชนิดที่สามารถเจริญครบวงจรชีวิตได้บนพืชชนิดเดียว (autoecious life cycle) โดยทั่วไปราสนิมแต่ละชนิดมีความจำเพาะ (host specific) ต่อการเข้าทำลายสูงและมี host range แคบ

ในประเทศไทยเคยมีประวัติการระบาดของโรคราสนิมอย่างรุนแรงบนพืชหลายชนิดเช่น ถั่วเหลือง ข้าวฟ่าง ถั่วแขก กาแฟ ถั่วฝักยาว ถั่วลันเตา และกุยช่าย แต่การศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราสาเหตุโรคยังมีไม่มากนักและไม่ได้มีการเก็บรักษาตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราสนิมไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงและตรวจสอบยืนยันความถูกต้อง ดังนั้นการสำรวจรวบรวมและจำแนกชนิดราสนิมสาเหตุโรคไม้ผล ไม้ยืนต้น และวัชพืชในแปลงปลูกครั้งนี้ วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาให้ได้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ของราสนิมที่ตรวจพบ พืชอาศัย และเขตการแพร่กระจายของราเพิ่มเติมจากของเดิมที่เคยรวบรวมไว้บ้างแล้ว ซึ่งข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับงานด้านอารักขาพืชและเป็นประโยชน์สำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) รวมทั้งได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชเพื่อการศึกษาต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราสนิมจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง (ถุงกระดาษ กระดาษฟาง และแผงไม้ herbarium)
3. สารเคมีสำหรับย้อมสีและตรวจราภายใต้กล้องจุลทรรศน์
4. กล้องจุลทรรศน์ กล้องถ่ายภาพและอุปกรณ์ต่างๆ

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างและการเก็บรักษาตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

สำรวจรวบรวมตัวอย่างพืชชนิดต่างๆที่แสดงอาการของโรคราสนิม รวมทั้งพืชปลูกและพืชที่ขึ้นตามธรรมชาติจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย ในระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 บันทึกข้อมูลสถานที่ ลักษณะอาการ เลือกเก็บใบและส่วนต่างๆของพืชที่แสดงอาการของโรคราสนิม มาทำ herbarium ซึ่งใช้กระดาษหนังสือพิมพ์วางบนแผงไม้ ผึ่งลมไม่ให้ถูกแสงแดด เปลี่ยนกระดาษทุกวัน เพื่อให้สีพืชคงอยู่และไม่มีราอื่นปนเนื่องจากความชื้น เมื่อตัวอย่างพืชแห้งจึงนำมาเก็บในถุงกระดาษเก็บตัวอย่างพร้อมบันทึกข้อมูลที่สำคัญส่งพิพิธภัณฑ์โรคพืช

2. การศึกษาและจำแนกชนิดของราสนิม

นำใบพืชและส่วนอื่นๆของพืชแต่ละชนิดมาตรวจดูลักษณะอาการและโครงสร้างต่างๆของราสนิมใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอ จากนั้นตัดส่วนที่แสดงอาการที่มีราสนิมเจริญอยู่เป็นสี่เหลี่ยมเล็กๆขนาดประมาณ 5x5 มิลลิเมตร นำมาทำการตัดขวางเนื้อเยื่อพืช (cross-section) โดยวางชิ้นส่วนพืชนี้ลงบนสไลด์หยด KOH 3 เปอร์เซ็นต์ แล้ววางสไลด์อีกแผ่นหนึ่งทาบกดบนใบพืชเป็นมุม 45 องศา ใช้ใบมีดโกนคมตัดเป็นชิ้นเล็กๆ เมื่อได้ชิ้นส่วนที่แสดงอาการชัดเจนแล้วหยด mounting medium เก็บเป็นสไลด์เพื่อใช้ในการศึกษาลักษณะการเกิดสปอร์และโครงสร้างของ fruiting structure จากนั้นทำการเขี่ยสปอร์จากตัวอย่างสดหรือตัวอย่างแห้งจากพืชที่เป็นโรคราสนิมลงบนสไลด์ที่หยดด้วย KOH 3 เปอร์เซ็นต์ ปิด cover slip แล้วหยด mounting medium เพื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้น ตุลาคม 2548
	สิ้นสุด กันยายน 2549
สถานที่ทำการทดลอง	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	แหล่งปลูกพืชต่างๆในประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจรวบรวมและศึกษาโรคราสนิมของไม้ผล ไม้ยืนต้นและวัชพืชในแปลงปลูก ระหว่าง เดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2549 พบราสนิมจำนวน 8 สกุล 10 ชนิด ดังนี้

Aecidium mori สาเหตุโรคราสนิมของหม่อน จำนวน 2 ตัวอย่าง

Dasturella bambusina สาเหตุโรคราสนิมของไผ่ จำนวน 3 ตัวอย่าง

Hemileia vastatrix สาเหตุโรคราสนิมของกาแฟ จำนวน 4 ตัวอย่าง

Olivea tectonae สาเหตุโรคราสนิมของต้นสัก จำนวน 35 ตัวอย่าง

Phakopsora ampelopsidis สาเหตุโรคราสนิมขององุ่น จำนวน 4 ตัวอย่าง

Phakopsora phyllanthi สาเหตุโรคราสนิมของมะยม จำนวน 10 ตัวอย่าง

Phakopsora tecta สาเหตุโรคราสนิมของผักปราบ 1 ตัวอย่าง

Puccinia philippinensis สาเหตุโรคราสนิมของหญ้าแห้วหมู จำนวน 2 ตัวอย่าง

Puccinia philippinensis สาเหตุโรคราสนิมของกกทราย จำนวน 1 ตัวอย่าง

Puccinia philippinensis สาเหตุโรคราสนิมของกกสามเหลี่ยม จำนวน 1 ตัวอย่าง

Puccinia rufipes สาเหตุโรคราสนิมของหญ้าคา จำนวน 1 ตัวอย่าง

Tranzschelia pruni-spinosae สาเหตุโรคราสนิมของท้อ จำนวน 3 ตัวอย่าง

Ravenelia sp. สาเหตุโรคราสนิมของทิ้งถ่อน 1 ตัวอย่าง

Aecidium mori (Barclay) Barclay 1891

ชื่อพ้อง Caeoma mori Barclay 1891

Uredo mori Sacc. (Barclay) 1890

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา aeciospore 1 เซลล์ เกิดต่อกันเป็นลูกโซ่ ที่ยังอ่อนรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม แต่ละสปอร์จะเป็นเหลี่ยมเล็กน้อย สีเหลือง ผนังไม่เป็นหนาม เมื่อ aeciospore แก่รูปร่างจะเปลี่ยนเป็นกลมรี (ellipsoid) สีน้ำตาลอ่อน ผนังเป็นหนามแบบ verrucose

ลักษณะอาการ พบแต่ระยะ aecium เป็นรูประฆังคว่ำฝังตัวอยู่ที่ผิวด้านใต้ใบ ต่อมาจะเจริญดันผิวใบให้แตกเป็นจุดนูน ลักษณะอาการที่ใบ ด้านหน้าของใบจะเป็นจุดสีน้ำตาล และจุดสีเหลือง มีวงสีเหลืองล้อมรอบ ถ้ามีอาการรุนแรงจะกระจายเต็มใบ ด้านหลังเป็นจุดนูนสีเหลืองล้อมรอบ มีลักษณะเหมือนสะเก็ด

Wang (1980) ได้รายงานไว้ว่าโรคราสนิมหม่อน (Mulberry red rust) เป็นโรคที่ระบาดอย่างรวดเร็วและยากต่อการป้องกันกำจัดมีสาเหตุจากรา *Aecidium mori* (Barcl.) (Barcl.) Syd. Et Butler. ใบหม่อนที่เป็นโรคถ้าเก็บใบที่เป็นโรคไปเลี้ยงตัวไหม จะทำให้ระยะตัวหนอน (larval stage) นานกว่าปกติ (นิรนาม, 2523) จากการศึกษาครั้งนี้พบเฉพาะระยะ aecium stage เท่านั้น และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเช่นเดียวกับที่มีรายงานไว้จึงจำแนกชนิดเป็นรา*A. mori* เช่นเดียวกัน

Dasturella bambusina Mundk. & Khes.

: G.B. Cummins. 1971. Rust Fungi Cereal Grass & Bamboo. p.42

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้าน ผนังบาง ใสไม่มีสี ล้อมรอบด้วย paraphyses urediniospore สีน้ำตาลอ่อนหรือน้ำตาลทอง ผนังเป็นหนามแหลมแบบ echinulate รูปร่างกลมหรือคอนข้างกลมเป็นส่วนใหญ่ บางสปอร์มีรูปร่างแบบ broadly ellipsoid ผนังสปอร์หนาเท่ากันทั้งสปอร์ จุดงอกมองไม่เห็น

ลักษณะอาการ พบ uredinium ที่ด้านใต้ใบ ใต้ epidermis ของพืชและดัน epidermis ให้แตกออกตามแนวยาว เกิดเป็นรอยสีเหลืองอมน้ำตาล เนื้อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อไหม้เป็นขีดยาวสีน้ำตาลแดง

จากการศึกษาครั้งนี้พบ *D. bambusina* บนใบไผ่ในสกุล *Bambusa* ที่เชียงราย เชียงใหม่ กาญจนบุรี และกรุงเทพฯ Cummins (1971) รายงานรานี้บนไผ่ *Bambusa* sp.ในประเทศอินเดียและสิงคโปร์ พงษ์วิภา (2529) รายงานรานี้บนไผ่ *Bambusa* sp. ที่วนอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จ.นครราชสีมา ประเทศไทย

Hemileia vastatrix Berk. & Br.

: G.F. Laundon & J.M. Waterston. 1964. C.M.I. Description. No.1

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ สร้างบนก้านที่มีรูปร่างคล้ายกระบอง สปอร์สีเหลืองสดถึงเหลืองส้ม รูปร่างรูปไต (reniform) หรือมีลักษณะแบบ 2 ข้างของสปอร์ไม่สมดุลกัน ด้านหนึ่งของสปอร์ผิวเรียบแบนตรงหรือโค้งเข้าเล็กน้อย (concave) ส่วนอีกด้านหนึ่งผนังโค้งออก (convex) และผิวผนังเป็นหนามแบบ aculeate

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium เกิดทางด้านใต้ใบ เป็นจุดนูนเล็กสีเหลืองสดถึงสีส้ม กระจายอยู่ทั่วใบ เนื้อใบด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อเป็นสีเหลืองซีดและจะขยายเป็นวงกลมขนาดใหญ่แล้วจะเริ่มแห้งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบจะร่วงก่อนกำหนด

โรคราสนิมของกาแฟมีการแพร่ระบาดทำความเสียหายตามแหล่งปลูกกาแฟทั่วไป โดยจะเริ่มระบาดรุนแรงในฤดูฝน ประมาณเดือนพฤษภาคมถึงกรกฎาคม ทำให้ผลผลิตกาแฟลดลง (ไพโรจน์, 2525) และยังไม่มีรายงานการพบ teliospore ของราสนิมกาแฟในประเทศไทย (อาภรณ์และคณะ, 2524)

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

: J.L. Mulder & I.A.S. Gibson. 1973. C.M.I. Description No.365

ชื่อพ้อง *Olivea tectonae* (Racib.) Thirum

Urdo tectonae Racib.

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

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบเป็นจุดนูนขนาดเล็กสีเหลืองปนส้ม เกิดเดี่ยวๆ กระจายทั่วใบ เนื้อเยื่อด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อแห้งและเปลี่ยนเป็นสีเทาจนถึงน้ำตาลเข้ม ถ้าระบาดมากทำให้ใบแห้งหมดทั้งใบและร่วงก่อนกำหนด

อนิวรรต (2523) รายงานว่าในประเทศไทยพบโรคราสนิมสักเป็นประจำในแปลงเพาะชำ กล้าไม้ ในสวนป่า และป่าธรรมชาติ ทำให้ใบร่วงก่อนกำหนดและอัตราการเจริญเติบโตของไม้สักลดลงกว่าปกติ การระบาดจะเป็นไปอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในช่วงฤดูหนาวต่อฤดูร้อน และจะพบราเฉพาะระยะ uredinium ไม่มีรายงานการพบระยะ telium

Phakopsora ampelopsidis (Diet. & P. Syd) Cumm. & Ramachar

: E. Punithalingam. 1968. C.M.I. Description No.173

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore มี paraphyses ล้อมรอบเป็นจำนวนมาก ใสไม่มีสี รูปร่างแบบทรงกระบอกส่วนปลายกว้างกว่าฐานเล็กน้อย และโค้งเข้าทางด้านในของ uredinium urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้านสั้น ผนังบางใสไม่มีสี รูปร่างส่วนใหญ่เป็นแบบรูปไข่คว่ำ จนถึง broadly ellipsoid สีเหลืองส้ม ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate จุดงอกมองไม่เห็น

ลักษณะอาการ พบแต่ระยะ uredinium บนใบแก่ที่ด้านใต้ใบ อาจพบเกิดด้านบนใบเล็กน้อย มีลักษณะเป็นฝุ่นผงมีสีเหลืองส้ม มีขนาดใหญ่ เกิดเดี่ยวๆหรือรวมกันเป็นกลุ่มกระจายทั่วทั้งใบ ทำให้เนื้อเยื่อใบด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองแผลเป็นเหลี่ยม ขนาดเล็ก เมื่อราเจริญมากทำให้ใบแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาลและร่วงก่อนกำหนด

การศึกษาครั้งนี้พบรา *Phakopsora ampelopsidis* ระยะ uredinium ที่ด้านใต้ใบแก่ขององุ่นเช่นเดียวกับที่ พงษ์วิภา (2529) รายงานไว้ว่าพบรา *P. ampelopsidis* เฉพาะระยะ uredinium

ด้านใต้ใบองุ่น ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนท่าชัย จ.สุโขทัย เดือนธันวาคม โดยโรคราสนิมจะเกิดกับใบแก่ขององุ่นเท่านั้น

Phakopsora phyllanthi Diet.

: P. et H. Sydoe. 1914. Monogr. Ured. III : p.414

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore มี paraphyses ล้อมรอบ paraphyses รูปร่างแบบทรงกระบอกและแบบกระบองโค้งเข้าด้านในของ uredinium ใสไม่มีสี ผิวผนังเรียบ urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้านที่สั้นมากหรือเกิดจากเซลล์ที่ให้กำเนิดสปอร์โดยตรง ผนังบางใสไม่มีสี รูปร่างกลมรีหรือรูปไข่จนถึงรูปไข่คว่ำ ใสไม่มีสีหรือแกมเหลืองเล็กน้อย ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate จุดงอกมองไม่เห็น

ลักษณะอาการ พบแต่ระยะ uredinium ที่ด้านใต้ใบ ใต้ epidermis ของพืช เป็นจุดนูนสีครีม เกิดเดี่ยวๆหรือรวมกันเป็นกลุ่ม กระจายทั่วทั้งใบ เนื้อเยื่อใบด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อเป็นจุดสีน้ำตาลเล็กๆ ตามขนาดของกลุ่มเชื้อกระจายทั่วใบ เมื่อจุดแผลมีมากขึ้นและลามติดกัน ทำให้ใบไหม้แห้งตายและร่วงก่อนกำหนด

Phakopsora tecta Jackson & Holway

: G.B. Cummins. 1940. Mycologia 32: p.370

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore มี paraphyses ล้อมรอบ paraphyses รูปร่างแบบแบบกระบอง ใสไม่มีสีจนถึงสีน้ำตาลอ่อน urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้านที่สั้นมาก ผนังบาง รูปร่างส่วนใหญ่เป็นแบบกลมรีหรือรูปไข่ และมีแบบ broadly ellipsoid บ้าง ผนังหนาทั้งสปอร์ ใสไม่มีสี ผิวผนังสปอร์เป็นหนามแบบ echinulate จุดงอกมองไม่เห็น

ลักษณะอาการ พบแต่ระยะ uredinium ที่ด้านใต้ใบ ใต้ epidermis ของพืช เป็นจุดนูนสีเหลืองน้ำตาล เกิดกระจายทั่วทั้งใบ เนื้อเยื่อใบด้านตรงข้ามกลุ่มเชื้อเป็นจุดสีเหลืองต่อไปเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและแห้งไหม้หมดทั้งใบ

Gardner (1981) รายงานว่าในรัฐฮาวายพบรา *Phakopsora tecta* ระยะ uredinial state บนผักปราบ (*Commelina diffusa*) ทำให้ผักปราบซึ่งใช้เป็นพืชคลุมดินของรัฐนี้ตายเป็นบริเวณกว้าง ส่วนในประเทศไทยมี รายงานว่าพบระยะ uredinial state บนใบผักปราบที่เป็นวัชพืชที่ทุ่งเริง อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่ (พงษ์วิภา, 2529)

Puccinia philippinensis P. et H. Syd.

: S. Ito. 1950. Mycol, Fl.Jap. II (3): p. 202

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้านผนังบาง รูปร่างส่วนใหญ่เป็นรูปกลมรีหรือรูปไข่ จนถึงรูปไข่คว่ำ ผนังบางสม่ำเสมอ สีเหลืองทอง ผิวผนังเป็นหนาม จุดงอก 2-4 จุดต่อสปอร์เรียงเป็นวงตามแนวเส้นศูนย์สูตร teliospore 2 เซลล์ รูปร่างแบบ ellipsoid ผนังเซลล์ด้านบนโค้งเข้าเล็กน้อย เซลล์ด้านล่างค่อนข้างยาวกว่าเซลล์ด้านบน ผิวผนังเรียบมีจุดงอก 1จุดต่อเซลล์

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium และ telium ที่ด้านใต้ใบเกิดเป็นขีดนูนยาวสีเหลืองน้ำตาล จนถึงน้ำตาล cinnamon กระจายทั่วใบ เนื้อเยื่อด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อจะแห้งไหม้เป็นแผลรีสีน้ำตาลและถ้าอาการรุนแรงจะลามไหม้ทั้งใบ

จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *Puccinia philippinensis* บนใบ กกทราย (*Cyperus iria*) กกสามเหลี่ยม และแห้วหมู ซึ่งราชนิดนี้เคยมีรายงานแล้วว่าพบทั้งระยะ uredinium และ telium บนกกสามเหลี่ยมเล็ก (*Cyperus pilosus*) ที่ จ.เชียงใหม่ พบเฉพาะระยะ uredinium บนกกขนาก (*Cyperus difformis*) ที่ จ.นครราชสีมา บนแห้วหมู (*Cyperus rotundus*) ที่ จ.เชียงใหม่ และ จ.สุพรรณบุรี (พงษ์วิภา, 2529)

Puccinia rufipes Diet.

: G.B. Cummins. 1971. Rust F. Cereal, Grass & Bamb. p. 115

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore มี paraphyses เกิดปะปนล้อมรอบจำนวนมาก paraphyses รูปร่างแบบเข็มหมุด (capitate) ส่วนหัวกว้าง ผนังด้านบนหนากว่าผนังด้านข้าง ใสแกมเหลืองอ่อน urediniospore 1 เซลล์ ส่วนมากรูปร่างแบบรูปไข่คว่ำ สีน้ำตาล ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate มี จุดงอก 4-5 จุดต่อสปอร์เรียงเป็นวงตามแนวเส้นศูนย์สูตร

ลักษณะอาการ พบแต่ระยะ uredinium ด้านใต้ใบ มีลักษณะเป็นขีดยาวนูนสีน้ำตาลเข้ม กระจายทั่วใบ เมื่อแก่จะดัน epidermis แตกออกตามทางยาว มีลักษณะเป็นฝุ่นผงสีน้ำตาลแดง เนื้อเยื่อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อแห้งไหม้เป็นขีดสีน้ำตาลยาว กระจายทั่วใบ

การศึกษาครั้งนี้พบรา *Puccinia rufipes* เฉพาะระยะ uredinium ที่ด้านใต้ใบของหญ้าคา จ.เชียงใหม่ จ.เพชรบูรณ์ จ.ราชบุรี ซึ่งต่างจากที่ พงษ์วิภา (2529) รายงานไว้ว่าพบรา *P. rufipes* ทั้งระยะ uredinium และ telium ที่ด้านใต้ใบหญ้าคา บนดอยอ่างขาง จ.เชียงใหม่ และที่บ้านบ่อ จ.พิษณุโลก ช่วงเดือนธันวาคม จากการศึกษาครั้งนี้ที่ไม่พบระยะ telium ของราสนิมนั้นอาจ

เนื่องมาจากพื้นที่ที่สำรวจมีสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะต่อการสร้าง telium นั่นคือมีอุณหภูมิสูงและความชื้นต่ำเกินไป

Tranzschelia pruni-spinosae (Pers.) Dietel

: J.L. Mulder & I.A.S. Gibson, C.M.I. Description No.287

ชื่อพ้อง *Puccinia discolor* Fuckel, 1867

Tranzschelia discolor (Fuckel) Tranz. & Litv., 1939

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore เกิดปะปนกับ paraphyses จำนวนมาก paraphyses รูปร่างแบบเข็มหมุด (capitate) ส่วนหัวกว้าง ผนังด้านบนหนากว่าผนังด้านข้าง ใสไม่มีสีจนถึงสีเหลืองทอง urediniospore 1 เซลล์ เกิดบนก้านใสไม่มีสี ผนังบาง รูปร่าง oblong-obovoid ปลายสปอร์กลมมนหรือเรียวขึ้นไปเล็กน้อย ผนังด้านบนหนา สีเหลืองทองค่อนข้างเข้มกว่าผนังด้านข้าง ผิวผนังด้านบนเรียบไม่มีหนาม ผิวผนังด้านข้างเป็นหนามแบบ echinulate มีจุดงอก 3-4 จุดต่อสปอร์เรียงเป็นวงเหนือแนวเส้นศูนย์สูตรขึ้นไปเล็กน้อย teliospore 2 เซลล์ แยกหลุดออกจากกันได้ง่าย เซลล์ด้านบนรูปร่างกลม สีน้ำตาลเหลืองถึงสีน้ำตาล chestnut ผนังเป็นหนามปลายมน (verrucose) หนาแน่น เซลล์ด้านล่างรูปร่างกลมจนถึงยาวเรียว ขนาดเล็กกว่าเซลล์ด้านบน ผนังเป็นหนามปลายมนหนาแน่นน้อยกว่าเซลล์ด้านบน และสีอ่อนกว่า teliospore เกิดบนก้านผนังบาง ที่มีส่วนฐานติดกัน

ลักษณะอาการ พบทั้งระยะ uredinium และ telium ที่ด้านใต้ใบ มีลักษณะเป็นจุดสีเหลืองถึงสีน้ำตาลกระจายทั่วใบ อาจเกิดเดี่ยวๆหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม เมื่อแก่จะปริแตกภายในมีผงสปอร์สีน้ำตาลแดงถึงน้ำตาลเข้มอยู่ภายใน เนื้อเยื่อด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเป็นสีเหลืองและจะแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาลขอบดำ จุดแผลเป็นเหลี่ยมจำกัดตามเส้นใบ

มีรายงานว่าพบรา *Tranzschelia pruni-spinosae* บนใบท้อ (*Prunus persica* (L.) Batsch) ที่ จ.เชียงใหม่ ซึ่งพบแต่ระยะ uredinium (พงษ์วิภา, 2529) ต่อมามีการรายงานว่าพบ telial state ของราสนิมบนใบท้อที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายบนดอยตุง จ.เชียงราย ในเดือนธันวาคม พ.ศ.2534 จึงจำแนกได้แน่ชัดว่า *Tranzschelia pruni-spinosae* เป็นสาเหตุ โรคราสนิมของท้อในประเทศไทยเหมือนกับที่มีรายงานในต่างประเทศ (วิรัช และประไพศรี, 2537) จากการศึกษาครั้งนี้พบทั้งระยะ uredinium และ telium ของรา *Tranzschelia pruni-spinosae* บนใบท้อที่โครงการหลวงปางดะ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่ ในเดือนมกราคม ซึ่งมีลักษณะ

ทางสัณฐานวิทยาเช่นเดียวกับที่เคยมีรายงานไว้ จึงจำแนกชนิดเป็นรา *Tranzschelia pruni-spinosae* เช่นเดียวกัน

Ravenelia sp.

: G.B. Cummins. & Y. Hiratsuka. 1983. Illustrated Genera of Rust Fungi. p. 99

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา urediniospore 1 เซลล์ รูปร่างค่อนข้างกลมถึงรูปไข่ ผนังหนาสม่ำเสมอ สีเหลืองอ่อน ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate มี จุดงอก 4-7 จุดต่อสปอร์เรียงเป็นวงตามแนวเส้นศูนย์สูตร telium ส่วนมากเกิดที่ด้านบนของใบ สีน้ำตาลเข้ม teliospore 1 เซลล์ รูปร่างเป็นเหลี่ยมคล้ายสี่เหลี่ยมผืนผ้ารวมตัวติดกันแน่นประกอบกันเป็น teliospore head สีเหลืองทองถึงน้ำตาลเข้ม รูปร่างค่อนข้างกลมจนถึงรูปรี ผนังหนา ผิวผนังเป็นหนาม (tubercule) ใสสีเหลืองปลายมน teliospore แต่ละสปอร์ยึดติดกันโดย cyst ใสไม่มีสีหลายๆอันเกาะติดห้อยลงมานับ teliospore ตามแนวเส้นผ่าศูนย์กลางได้ 5-7 สปอร์

ลักษณะอาการ พบระยะ uredinium และtelium uredinium เกิดทั้งบนใบและใต้ใบ มีลักษณะเป็นจุดสีเหลือง เมื่อแก่จะดัน epidermis แตกออก telium เกิดทั้งบนใบและใต้ใบแต่ส่วนมากเกิดที่ด้านบนของใบ ภายในมี teliospore head ลักษณะเป็นเม็ดค่อนข้างกลมขนาดเล็กมากสีน้ำตาลดำ

พงษ์วิภา (2529) รายงานว่าในประเทศไทยพบรา *Ravenelia* sp. บนใบกางขี้มอด (*Albizia odoratissima* Benth) ที่ จ.นครราชสีมา ต่อมาวิรัช (2542) รายงานว่าพบรา *Ravenelia* sp. บนใบถ่อน (*A. procera* Benth) ที่สถานีวิจัยและพัฒนากาแฟอาราบิก้าแม่หลอด อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่ จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *Ravenelia* sp. บนใบถ่อนที่ ต.ม่วงคำ อ.พาน จ.เชียงราย ที่ยังสามารถจำแนกชนิดได้แน่นอนเช่นกันเนื่องจากค้นหาแล้วไม่พบเอกสารหรือรายละเอียดของราสกุลนี้ (monograph)

สรุป

จากการสำรวจและศึกษาราสนิมที่เป็นสาเหตุโรคของพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและพืชอาศัยชนิดอื่น จากแหล่งปลูกพืชต่างๆในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2549 เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานเพื่อจำแนกชนิดของราเหล่านี้ จำแนกชนิดราสนิมได้ 8 สกุล 10 ชนิด คือ *Aecidium morri Hemileia vastatrix Olivea tectonae Phakopsora phyllanthi Phakopsora tecta Phakopsora ampelopsidis Puccinia philippinensis Puccinia rufipes Tranzschelia pruni-spinosae Dasturella bambusina Ravenelia* sp. และมีตัวอย่าง

พืช ที่เป็นโรคราสนิม 4 ตัวอย่างได้แก่หญ้าโขย่ง หญ้าขจรจบ หญ้าขน และส้มกบ ที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดราสนิมสาเหตุโรคได้ ส่วนตัวอย่างชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคและศึกษาจำแนกชนิดแล้ว ได้นำมาทำเป็นตัวอย่างแห้งส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช

ตารางที่ 1 รายชื่อราสนิมและแหล่งที่สำรวจพบในประเทศไทย

Family และ Genus	ราสนิม	พืชอาศัย	แหล่งที่พบ (จังหวัด)
Phakopsoraceae			
Dasturella	*Dasturella bambusina* Mundk.& Khes.	ไผ่	กรุงเทพฯ กาญจนบุรี เชียงราย
Phakopsora	*Phakopsora ampelopsidis* (Diet. & Cumm. & Ramachar	P. Syd) องุ่น	กรุงเทพฯ ลพบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เพชรบุรี กาญจนบุรี
	Phakopsora phyllanthi Diet.	มะยม	กรุงเทพฯ ศรีสะเกษ เชียงราย ลำปาง ตาก นครปฐม ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์
	Phakopsora tecta Jackson & Holway		ผักปราบ เชียงใหม่
Chaconiaceae			
Olivea	*Olivea tectonae* (T.S. & K. Ramakrishnan) Mulder	สัก	เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ตาก เพชรบูรณ์ พิษณุโลก พิจิตร ราชบุรี กาญจนบุรี

ตารางที่ 1 (ต่อ) รายชื่อราสนิมและแหล่งที่สำรวจพบในประเทศไทย

Family และ Genus	ราสนิม	พืชอาศัย	แหล่งที่พบ (จังหวัด)
Uropyxidaceae			
Tranzschelia	*Tranzschelia pruni-spinusae* (Pers.) Dietel	ท้อ	เชียงใหม่
Reveneliaceae			
Revenelia	*Revenelia* sp.	ทิ้งถ่อน	เชียงราย
Pucciniaceae			
Puccinia	*Puccinia philippinensis* P.et H. Syd.	กกทราย	เชียงใหม่
		กกสามเหลี่ยม	เพชรบูรณ์
		หญ้าแห้วหมู	สุพรรณบุรี พิจิตร
	Puccinia rufipes Diet.	หญ้าคา	ราชบุรี เชียงใหม่ เพชรบูรณ์
Genera of Uncertain Affinities			
Hemileia	*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.	กาแฟ	เชียงใหม่
Uredinales Imperfecti			
Aecidium	*Aecidium mori* (Barclay) Barclay	หม่อน	เพชรบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

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

นิรนาม 2523. เอกสารวิชาการเล่มที่ 2 หม่อน-ไหม กรมวิชาการเกษตร หน้า 181.

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

พงษ์วิภา หล่อสมบูรณ์. 2529. ราสนิมในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ไพโรจน์ จ่วงพานิช. 2525. หลักวิชาโรคพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2, ภาควิชาโรคพืช, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 393 น.

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

วิรัช ชูบำรุง. 2542. Reverelia , น.15 ใน ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยาปีที่ 9 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน 2542.

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

อนิวรรต เฉลิมพงษ์. 2523. โรคราสนิมของไม้สัก. เอกสารของฝ่ายปราบศัตรูพืชป่าไม้ กองบำรุง กรมป่าไม้. 8 น.

อาภรณ์ ธรรมเขต, ศุภชัย ลีจีรจำเนียร และ นิยม จิ้วจิ้น. 2524. โรคกาแฟ. เอกสารวิชาการของสาขาโรคพืชไร่ กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร. 11 น.

Cummins. 1971. The Rust Fungi of Cereals, Grasses and Bamboos. Springer-Verlag, New York. 570 p.

Cummins, G.B. and Y. Hiratsuka. 1983. Illustrated Genera of Rust Fungi. Revised Edition., The American Phytopathological Society, Minnesota. p. 99

Gardner, D. E. 1981. Rust on Commelina diffusa in Hawaii. Plant Disease 65:690-691.

Ito, S. 1950. Mycological Flora of Japan. II(2). Tokyo, Japan. 435 p.

Mulder, J.L. and I.A.S. Gibson. 1973. C.M.I. Descr. Pathog. Fungi Bact. No. 365. *Olivea tectonae*. Commonrealth Mycological Institute, Kew, England.

Punithalingam, E. 1968. C.M.I. Descr. Pathog. Fungi Bact. No.173. *Phakopsora ampelopsidis*. Commonrealth Mycological Institute, Kew, England.

Wang, H. 1980. Rust of mulberry (*Aecidium mori*) Wat. Sci Counc Mon 8 (7) : 604-615

สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชไร่ และวัชพืชในแปลงปลูก

Collection and Identification of Rust Diseases on Field Crops and Weeds in Plantations.

นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ นางสาวธารทิพย ภาสบุตร นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราสนิมของพืชไร่ และวัชพืชในแปลงปลูก ในช่วงเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 ในพื้นที่ภาคเหนือ และภาคกลาง จำนวน 17 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน ตาก สุโขทัย กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ พิษณุโลก พิจิตร นครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา กาญจนบุรี และเพชรบุรี ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ราสนิม รวม 30 ตัวอย่าง บนพืช 10 ชนิด ได้แก่ ราสนิมข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วขาว ถั่วเหลือง กกทราย หญ้าแห้วหมู หญ้ากำมะหยี่ หญ้าตีนกา และหญ้าชันอากาศ ได้จัดจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคราสนิมบนพืช 6 ชนิด จำแนกได้เป็นเชื้อรา 2 สกุล 4 ชนิด คือ เชื้อรา *Puccinia polysora* Underw. สาเหตุโรคราสนิมข้าวโพด เชื้อรา *Puccinia arachidis* Speg. สาเหตุโรคราสนิมถั่วลิสง เชื้อรา *Puccinia philippinensis* H. & P. Syd. สาเหตุโรคราสนิมแห้วหมู กกขนาก และ กกทราย และเชื้อรา *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. สาเหตุโรคราสนิมถั่วเหลือง และได้จัดทำตัวอย่างแห้งของโรคพืชเพื่อส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช จำนวน 30 ตัวอย่าง

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราสนิม เป็นกลุ่มเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากกลุ่มหนึ่ง โดยก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจ และพืชอื่นๆหลายชนิด ทั้งพืชไร่ พืชสวน และป่าไม้ ราสนิมมักจะเข้าทำลายพืชที่อ่อนแอ หรือพืชปลูกที่ไม่ได้รับการดูแลอย่างใกล้ชิด อาจพบได้ทุกระยะการเจริญของพืช สปอร์ของเชื้อระบาดได้ง่ายและระยะทางไกล โดยปลิวไปตามลม หรือติดไปกับชิ้นส่วนพืช เมื่อเกิดการระบาดจะก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชอาศัยได้มาก นอกจากนี้ราสนิมยังเป็นสาเหตุโรคของวัชพืชอีกด้วย

ตัวอย่างโรคราสนิมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่ โรคราสนิมของข้าวสาลี สาเหตุจากเชื้อ *Puccinia graminis tritici* Pers. ซึ่งทำความเสียหายกับข้าวสาลี ในสหรัฐอเมริกาเป็นล้านๆตันในช่วงที่มีการแพร่ระบาด (Littlefield, 1981) โรคราสนิมของกาแฟ สาเหตุจากเชื้อ *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. เป็นโรคที่ทำความเสียหายแก่กาแฟมากที่สุด การแพร่ระบาดของโรคนี้ในประเทศศรีลังกา ทำให้เกษตรกรต้องเปลี่ยนมาปลูกชาแทนกาแฟ (Javed,1984) โรคราสนิมที่สำคัญในประเทศไทย ได้แก่ โรคราสนิมของถั่วเหลือง สาเหตุจากเชื้อ *Phakopsora pachyrhizi* Syd. โรคราสนิมของข้าวโพด สาเหตุจากเชื้อ *Puccinia polysora* Underw. โรคราสนิมของกาแฟ สาเหตุจากเชื้อ *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. และโรคราสนิมของถั่วลิสง สาเหตุจากเชื้อ *Puccinia arachidis* Speg. เป็นต้น

ในต่างประเทศมีการศึกษาเกี่ยวกับราสนิมอย่างกว้างขวางทั้งในยุโรป อเมริกาเหนือ ญี่ปุ่น นิวซีแลนด์ และออสเตรเลีย (Cummins *et al*, 1983) แต่สำหรับประเทศไทยยังมีการศึกษา งานด้านอนุกรมวิธานเชื้อราสนิมน้อย จึงขาดข้อมูลอีกมาก และไม่มีการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งโรคราสนิมเข้าสู่พิพิธภัณฑ์ รวมทั้งการเก็บข้อมูลตัวอย่างแห้งยังไม่เป็นระบบสากล ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษา เพื่อให้ได้ข้อมูลเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืช แหล่งแพร่ระบาด และจัดทำตัวอย่างแห้งโรคราสนิมของพืชชนิดต่างๆ เพื่อเก็บรวบรวมในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ซึ่งการศึกษารายละเอียดของราสนิมสาเหตุโรคพืช จะสามารถนำมาใช้ เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการศึกษาด้านต่างๆ ต่อไป รวมทั้งการศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดโรค ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกร โดยงานวิจัยนี้ทำการศึกษาในส่วนของราสนิมสาเหตุโรคพืชไร่ และวัชพืชในแปลงปลูก

วัตถุประสงค์ของการวิจัย เพื่อ รวบรวม และเก็บตัวอย่างราสนิมสาเหตุโรคพืชไร่และวัชพืชในแปลงปลูก จากแหล่งต่างๆในประเทศไทย และจัดจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราสนิมจากแหล่งปลูกภาคเหนือ และภาคกลางของประเทศไทย ในช่วงเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549

2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษฟาง กล่องเก็บความเย็น

3. กรอบไม้อัดตัวอย่างโรคพืช กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์

4.วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

5. สารเคมี ได้แก่ lactophenol

6. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

7.ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกเชื้อราสนิม ได้แก่ Illustrated Genera of Rust Fungi. Revised Edition (Cummins *et al*, 1983) Illustrated Genera of Rust Fungi. Third Edition (Cummins *et al*, 2003) และ ราสนิมในประเทศไทย (พงษ์วิภา ,2529)

วิธีการ

1. สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคราสนิมของพืชไร่ และวัชพืชในแปลงปลูก

สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคราสนิมของพืชไร่ และวัชพืชในแปลงปลูกของเกษตรกรในเขตภาคเหนือและภาคกลางของประเทศไทย ในช่วงเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 เก็บตัวอย่างโรค โดยห่อส่วนของพืชที่เป็นโรค ด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช บรรจุลงในกล่องเก็บความเย็น นำมาวินิจัย และจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช

2. การจำแนกชนิดราสนิมในห้องปฏิบัติการ

โดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตรวจดูลักษณะอาการ และโครงสร้างของเชื้อภายใต้กล้องสเตอริโอ และศึกษาโครงสร้างต่างๆ ของเชื้อ โดยการตัดขวาง (cross section) เนื้อเยื่อพืชบริเวณที่แสดงอาการ เตรียมเป็นสไลด์ โดยใช้ lactophenol เป็น mounting medium ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง แล้วบันทึกลักษณะอาการ และลักษณะโครงสร้างของเชื้อราสนิม

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของสปอร์ โดยเขี่ยสปอร์จากตัวอย่างโรคราสนิม เตรียมเป็นสไลด์โดยใช้ lactophenol เป็น mounting medium สุ่มวัดขนาดสปอร์ จำนวน 20 สปอร์ บันทึก

ขนาด รูปร่าง ลักษณะผนังของสปอร์ และสี ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของขนาดสปอร์ และโครงสร้างของราสนิมที่วัดขนาดไว้

ทำการจัดจำแนกชนิดเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืช โดยใช้ตำราสำหรับการจัดจำแนกเชื้อราสนิม ได้แก่ Illustrated Genera of Rust Fungi. Revised Edition (Cummins *et al*, 1983) Illustrated Genera of Rust Fungi. Third Edition (Cummins *et al*, 2003) และ ราสนิมในประเทศไทย (พงษ์วิภา ,2529)

3. การจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

โดยเลือกส่วนของพืชที่เป็นโรคราสนิม วางบนกระดาษฟาง พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช และปิดทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ อัดตัวอย่างโรคด้วยกรอบไม้ วางผึ่งลม ไม่ให้ถูกแดด เปลี่ยนกระดาษทุกวัน จนตัวอย่างแห้ง จึงนำมาเก็บในถุงเก็บตัวอย่างแห้ง ลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่างตามระบบสากล เช่น ชนิดพืช ลักษณะอาการ ชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืช วันที่ ผู้เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง ผู้จัดจำแนกชนิดเชื้อรา เป็นต้น แล้วส่งตัวอย่างแห้งโรคราสนิมของพืชเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2549

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคราสนิมของพืชไร่ และวัชพืชในแปลงปลูก

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราสนิมของพืชไร่ และวัชพืชในแปลงปลูก ในช่วงเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 ในพื้นที่ภาคเหนือ และภาคกลาง จำนวน 17 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน ตาก สุโขทัย กำแพงเพชร เพชรบูรณ์ พิษณุโลก พิจิตร นครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา กาญจนบุรี และเพชรบุรี ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ราสนิม รวม 30 ตัวอย่าง บนพืช 10 ชนิด ได้แก่ ราสนิมข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วขาว ถั่วเหลือง กกทราย หญ้าแห้วหมู หญ้ากำมะหยี่ หญ้าตีนกา และหญ้าชันอากาศ ได้จัดจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคราสนิมบนพืช 6 ชนิด จำแนกได้เป็นเชื้อรา 2 สกุล 4 ชนิด คือ เชื้อรา *Puccinia polysora* Underw. สาเหตุโรคราสนิมข้าวโพด เชื้อรา *Puccinia arachidis* Speg. สาเหตุโรคราสนิมถั่วลิสง เชื้อรา *Puccinia philippinensis* H. & P. Syd. สาเหตุโรคราสนิมแห้วหมู กกขนาก และ กกทราย และเชื้อรา *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. สาเหตุโรคราสนิมถั่วเหลือง (ตารางที่1)

ตารางที่ 1 รายชื่อราสนิม ชนิดพืช และแหล่งที่พบ จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่าง ในช่วงเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549

เชื้อสาเหตุ	พืช	แหล่งที่พบ
Puccinia polysora Underw.	ข้าวโพด	อ.แม่สรวย อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่ อ.แจ้ห่ม อ.วังเหนือ จ.ลำปาง อ.พบพระ อ.แม่สอด จ.ตาก อ.บรรพตพิสัย อ.ท่าตะโก อ.ตากฟ้า อ.ตาคลี จ.นครสวรรค์ อ.วิเชียรบุรี จ.เพชรบูรณ์ อ.นครไทย อ.เมือง จ.พิษณุโลก อ.เมือง อ.ทับคล้อ อ.ดงเจริญ จ.พิจิตร อ.เมือง จ.กำแพงเพชร อ.บ้านด่านลานหอย จ.สุโขทัย อ.บ้านไร่ จ.อุทัยธานี อ.บางบาล จ.พระนครศรีอยุธยา อ.เมือง จ.กาญจนบุรี
Puccinia arachidis Speg.	ถั่วลิสง	อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ อ. เมือง จ.ลพบุรี
Puccinia philippinensis H. & P. Syd.	แห้วหมู	อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่ อ.เมือง จ.ลำพูน อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี อ.ตากฟ้า อ.ตาคลี จ.นครสวรรค์ อ.เมือง อ. พัฒนานิคม จ.ลพบุรี อ.เมือง จ.ชัยนาท อ.เมือง จ. เพชรบุรี
Puccinia philippinensis H. & P. Syd.	กกขนาก	อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี
Puccinia philippinensis H. & P. Syd.	กกทราย	อ.ทับคล้อ อ.ดงเจริญ จ.พิจิตร
Phakopsora pachyrhizi Syd. & P. Syd.	ถั่วเหลือง	อ.สะเมิง อ.สันป่าตอง อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่

2. การจำแนกชนิดราสนิมในห้องปฏิบัติการ

โรคราสนิมข้าวโพด

พบแต่ระยะ uredinium เกิดด้านบนใบมากกว่าด้านใต้ใบ มีลักษณะเป็นจุดนูนค่อนข้างกลม หรือมีรูปร่างกระสวย สีเหลืองส้ม มักเกิดเป็นกลุ่มๆ หรือกระจายทั่วใบ uredinium เกิดใต้ epidermis ของพืช และดัน epidermis นูนขึ้นมา บาง uredinium จะดัน epidermis ของพืช แตกออก ทำให้สปอร์ที่สร้างอยู่ภายใน uredinium ออกมาเป็นผงฝุ่นสีเหลืองส้ม เนื้อเยื่อใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

Urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านผนังบาง ไม่มีสี รูปร่างส่วนใหญ่เป็นแบบ broadly ellipsoid และบาง spore มีรูปร่างแบบ obovoid ขนาด 25.00-35.00 x 20.00-25.00 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 30.38 x 22.81 ไมครอน ผนังหนา สีเหลืองทอง ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate มีจุดงอก 4-5 จุดต่อสปอร์

ลักษณะอาการบนใบข้าวโพด พบลักษณะเป็นจุดนูนสีเหลืองส้ม เกิดด้านบนใบมากกว่าด้านใต้ใบ และพบสปอร์เป็นผงฝุ่นสีเหลืองส้ม เนื้อใบตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และแห้งไหม้เป็นสีน้ำตาล ถ้าอาการรุนแรงใบจะแห้งไหม้หมดทั้งใบ และจะพบอาการโรคได้ทั้งบนลำต้น และฝัก

จัดจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อ *Puccinia polysora* Underw.

โรคราสนิมถั่วลิสง

พบแต่ระยะ uredinium เกิดด้านใต้ใบมากกว่าด้านบนใบ เป็นกลุ่มนูนสีน้ำตาล จนถึงสีน้ำตาลเข้ม ขนาดประมาณ 0.50-1.00 มิลลิเมตร เจริญใต้ epidermis ของพืช เมื่อเจริญเต็มที่จะดัน epidermis แตกออกเห็นสปอร์เป็นผงฝุ่นสีน้ำตาลแดง

Urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านใสไม่มีสี ผนังบาง รูปร่างแบบ obovoid และ broadly ellipsoid ขนาด 22.50-27.50 x 18.75-21.25 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 24.88 x 20.19 ไมครอน ผนังหนา สีน้ำตาลแดงจนถึงสีเหลืองน้ำตาล ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate มีจุดงอก 2 จุดต่อสปอร์ อยู่ตรงข้ามกัน

ลักษณะอาการบนใบถั่วลิสง พบกลุ่มนูนสีน้ำตาลจนถึงสีน้ำตาลเข้ม เกิดด้านใต้ใบมากกว่าด้านบนใบ เมื่อเจริญเต็มที่จะดัน epidermis แตกออกเห็นสปอร์เป็นผงฝุ่นสีน้ำตาลแดง เนื้อเยื่อพืชบริเวณตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อไหม้เป็นจุดเล็กๆสีน้ำตาล เนื้อใบเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองอ่อน ถ้ารุนแรงใบจะไหม้ และร่วง

จัดจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อ *Puccinia arachidis* Speg.

โรคราสนิมแห้วหมู กกขนาก และ กกทราย

พบระยะ uredinium และ telium uredinium เกิดด้านใต้ใบเท่านั้น ไม่พบทางด้านหน้าใบ บางทีเกิดในเส้นใบด้วย uredinium เจริญใต้ epidermis ของพืช และดัน epidermis แตกออกมา เมื่อแก่ มีลักษณะเป็นขีดนูนยาวสีเหลืองน้ำตาล จนถึงสีน้ำตาล cinnamon เกิดกระจายทั่วใบ

Urediniospore 1 เซล เกิดบนก้านใสไม่มีสี ผนังบาง ค่อนข้าวยาว รูปร่างส่วนใหญ่เป็นแบบ ellipsoid จนถึง obovoid และ ขนาด 20.00-30.00 x 16.25-21.25 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 25.06 x 19.44 ไมครอน ผนังบางสม่ำเสมอ สีเหลืองทอง ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate มีจุดงอก 2-4 จุดต่อสปอร์

Telium เกิดด้านใต้ใบ ไม่พบด้านบนใบ มีลักษณะเป็นขีดนูนยาวสีน้ำตาลดำ กระจายทั่วใบ เกิดใต้ epidermis ของพืช และดัน epidermis โป่งขึ้นมาแต่ไม่แตกออก teliospore 2 เซล อยู่รวมกันเป็น locule ในชั้น mesophyll รูปร่างแบบ ellipsoid ยาวรี ผนังเซลบนโค้งงอเข้าเล็กน้อย เซลล่างค่อนข้างยาวกว่าเซลบน ขนาด41.25-62.50x12.50-18.75 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 49.19 x15.75 ไมครอน มีสีเหลืองทอง ผิวหนังเรียบ มีจุดงอก 1 จุดต่อเซล สปอร์เกิดบนก้านผนังบางสีเหลืองทอง ค่อนข้างสั้น

ลักษณะอาการบนใบแห้วหมู กกขนาก และ กกทราย พบลักษณะเป็นขีดนูนยาวสีเหลืองน้ำตาล หรือสีน้ำตาลดำ เนื้อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อไหม้ เป็นแผลค่อนข้างรีสีน้ำตาล และลามไหม้ติดกัน เมื่อเชื้อระบาดมากใบจะไหม้แห้งหมด

จัดจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อ *Puccinia philippinensis* H. & P. Syd.

ราสนิมถั่วเหลือง

พบระยะ uredinium และ telium uredinium เกิดด้านใต้ใบ มีลักษณะเป็นจุดขนาดเล็กมากสีน้ำตาลอยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ ขนาดกลุ่มประมาณ 1 มิลลิเมตร กระจายอยู่ทั่วใบ เริ่มแรกเกิดใต้ epidermis ของพืช และค่อนข้างโค้งเว้าเข้าไปในเนื้อเยื่อ เมื่อแก่ paraphyses จะดัน epidermis แตกออกเป็นรูตรงกลาง paraphyses มีฐานร่วมกัน และอัดกันแน่นที่ด้านข้างของ uredinium มาแยกจากกันบริเวณปากเปิดของ uredinium และเกิดล้อมรอบ urediniospore รูปร่างแบบทรงกระบอก ค่อนข้างโค้งเข้าหาภายใน ผนังใสไม่มีสีจนถึงแกมเหลืองเล็กน้อย ผนังส่วนปลายหนา 1.25-6.25 ไมครอน ผนังด้านข้างบางกว่าเล็กน้อย urediniospore 1 เซล มีก้าน ส่วนใหญ่มีรูปร่างแบบ obovoid จนถึง ellipsoid ขนาด 22.50-30.00x15.00-23.75 ไมครอน ขนาดเฉลี่ย 25.31x19.94 ไมครอน ผนังบางสม่ำเสมอทั้งสปอร์ 0.63-1.25 ไมครอน สีเหลืองอ่อนจนถึงสีเหลืองน้ำตาล ผิวผนังเป็นหนามแบบ echinulate จุดงอกมองไม่เห็น

telium เกิดด้านใต้ใบ เหมือน uredinium และเกิดปะปนกัน หรือเกิดภายใน uredinium เก่า มีลักษณะป็นจุดนูนขึ้นมาเล็กน้อย สีน้ำตาลออกแดง มีลักษณะเป็นก้อนใต้ epidermis ของพืช

telium ประกอบด้วย teliospore 3-5 ชั้น เรียงสลับกันขึ้นไปไม่ต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ teliospore 1 เซล ไม่มีก้านรูปร่างแบบ oblong แต่ค่อนข้างเป็นเหลี่ยม เกิดอัดแน่น ขนาด 13.75-23.75x10.00-15.00 ไมครอน ผนังบางสม่ำเสมอ 0.50-1.25 ไมครอน สีเหลืองอ่อน จนถึงสีเหลืองน้ำตาล ผิวเรียบ

ลักษณะอาการบนใบถั่วเหลือง ด้านใต้ใบ มีลักษณะเป็นจุดขนาดเล็กมากสีน้ำตาลอยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ กระจายอยู่ทั่วใบ เนื้อใบบริเวณที่เชื้อราเข้าทำลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งด้านบนใบและใต้ใบ เนื้อใบด้านตรงข้ามกับกลุ่มเชื้อแห้งเป็นจุดๆ เล็ก สีน้ำตาล และจุดแผลจะลามติดกันเป็นแผลใหญ่ และใบร่วง

จัดจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อ *Phakopsora pachyrhizi* Syd.

3. การจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ได้จัดทำตัวอย่างแห้งของโรคราสนิมที่ได้จากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง ในช่วงเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 โดยลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่างตามระบบสากล เช่น ชนิดพืช ลักษณะอาการ ชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืช วันที่ ผู้เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง ผู้จัดจำแนกชนิดเชื้อรา เพื่อส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช จำนวน 30 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราสนิมของพืชไร่ และวัชพืชในแปลงปลูก ในช่วงเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 ในพื้นที่ภาคเหนือ และภาคกลางของประเทศไทย จำนวน 17 จังหวัด ได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ราสนิม รวม 30 ตัวอย่าง บนพืช 10 ชนิด ได้แก่ ราสนิมข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วขาว ถั่วเหลือง กกทราย หญ้าแห้วหมู หญ้ากำมะหยี่ หญ้าตีนกา และหญ้าชันอากาศ และจัดจำแนกชนิด ได้เป็นเชื้อรา 2 สกุล 4 ชนิด คือ เชื้อรา *Puccinia polysora* Underw. สาเหตุโรคราสนิมข้าวโพด เชื้อรา *Puccinia arachidis* Speg. สาเหตุโรคราสนิมถั่วลิสง เชื้อรา *Puccinia philippinensis* H. & P. Syd. สาเหตุโรคราสนิมแห้วหมู กกขนาก และ กกทราย และเชื้อรา *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. สาเหตุโรคราสนิมถั่วเหลือง และได้จัดทำตัวอย่างแห้งของโรคราสนิม เพื่อส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช จำนวน 30 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

พงษ์วิภา หล่อสมบูรณ์. 2529. ราสนิมในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 193 หน้า

Cummins, G.B. and Y. Hiratsuka. 1983. Illustrated Genera of Rust Fungi. Revised Edition., The American Phytopathological Society,.Minnesota. 152 p.

Cummins, G.B. and Y. Hiratsuka. 2003. Illustrated Genera of Rust Fungi. Third Edition., The American Phytopathological Society,.Minnesota. 225 p.

Javed, Z.V.R. 1984. Leaf Rust in America and what it means to American programs, pp. 15-34. *In* Coffee rust in the Americas. American Phytopathol. Society, Minnesota.

Littlefield, L.J. 1981. Biology of the Plant Rusts, An Introduction. The Iowa State Univ. Press, New York. 277p.

สำรวจ รวบรวมและจำแนกราเขม่าดำ

Survey, Collection and Identification of Smut Fungi

พรพิมล อธิปัญญาคม
ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และ พีระวรรณ พัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจ รวบรวมราเขม่าดำ ได้ราเขม่าดำทั้งหมดจำนวน 83 ตัวอย่าง จากจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกชนิดได้ราเขม่าดำได้ 12 genera 45 species ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และจากการสำรวจรวบรวมราเขม่าดำครั้งนี้พบราเขม่าดำชนิดใหม่ที่จำนวนทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ *Macalpinomyces siamensis* บน *Coelorachis striata* พบที่อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ *Sporisorium clandestinum* บน *Aristida setacea* ที่อำเภอนาคู จังหวัดกาฬสินธุ์ *Sporisorium pseudosorghi* บน *Pseudosorghum pseudosorghi* ที่เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคอนสาน จังหวัดชัยภูมิ *Sporisorium trispicatae* บน *Eulalia trispicata* ที่เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ *Tilletia filisora* บน *Pennisetum setosum* พบ 3 แหล่ง ได้แก่ เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคอนสาน จังหวัดชัยภูมิ อำเภอนครไทย และ อำเภอ วังทอง จังหวัดพิษณุโลก *Tilletia lageniformis* บน *Hyparrhenia rufa* พบ 2 แหล่ง ได้แก่ เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง และ อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ *Yelsemia droserae* บน *Drosera burmanni* เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ที่อำเภอโนนคูณ จังหวัดอุบลราชธานี ตัวอย่างแห้งของราเขม่าดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราเขม่าดำ (Smut fungi) จัดอยู่ใน Order Ustilaginales Class Basidiomycetes ทำให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิด แพร่กระจายอยู่ทั่ว ราเขม่าดำมักเข้าทำลายรังไข่ของเมล็ดธัญญพืชและหญ้า รวมทั้งเข้าทำลายผล แต่ก็มีราเขม่าดำหลายชนิดที่ทำลายใบ ลำต้น และส่วนของดอก (Agrios, 2005)

ราเขม่าดำ หรือ smut fungi เป็นราสาเหตุโรคพืชที่เป็น basidiomycetous microfungi สร้าง teliospores พบโดยทั่วไปมีอยู่ประมาณ 77 genera 1,450 species ประมาณ 53% ทำลายพืชตระกูลหญ้าและธัญญพืช และอีก 14% ทำลายพืชตระกูล Cyperaceae มีพืชอาศัยประมาณ 4,100 ชนิด ราเขม่าดำส่วนใหญ่มีพืชอาศัยจำเพาะ พืชที่ถูกทำลายมีลักษณะแคระแกร็นและเกิดความเสียหายของเมล็ดพืช ราสร้างสปอร์เป็นกลุ่มผงสีดำใน sorus บนส่วนของพืชที่เป็นโรค เช่นที่รังไข่ เกสรตัวผู้ ช่อดอก ลำต้น ใบ และเมล็ด ราเขม่าดำบางชนิดเช่น *Entorrhiza* สร้าง gall บนรากพืช (McKenzie and Vánky, 2001)

โรคเขม่าดำ (smut disease) ทำความเสียหายแก่ธัญญพืชชนิดต่าง ๆ มาก พบได้ทั่วไป เข้าทำลายเมล็ด มีผงสปอร์สีดำอยู่ภายในเมล็ด ทำให้ผลผลิตและคุณภาพลดลง เชื้อราสาเหตุโรคที่พบทั่วไป ลักษณะสำคัญคือการรวมกันของ compatible spores หรือเส้นใย ราสร้าง teliospores ได้แก่ genera *Ustilago* ทำให้กิดโรคราเขม่าดำของข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ และอื่น ๆ *Tilletia* หลาย species ทำให้เกิดโรค bunt หรือ stinking smut ของข้าวสาลี *Sphacelotheca* หลาย species ทำให้เกิดโรคเขม่าดาของข้าวฟ่าง (loose smut of sorghum) *Urocystis* ทำให้เกิดโรคเขม่าดำของหอม *Neovossia* และ *Entyloma* เชื้อราเข้าทำลายเมล็ดตั้งแต่ในช่วงรังไข่ แล้วเจริญพร้อมกับการเกิดของเมล็ด ทำให้ทั้งผลและเมล็ดและผลเป็นโรค บางชนิดทำลายใบ ลำต้น และช่อดอก บางชนิดเข้าทำลายเมล็ดตั้งแต่ยังไม่โผล่จากดิน หรือระยะต้นกล้าแล้วเมื่อต้นพืชเจริญ ก็ทำลายช่อดอกด้วย แต่บางชนิดทำลายพืชเฉพาะแห่ง เช่น ที่ใบ ลำต้น ทำให้เซลล์ที่มีเชื้ออยู่เต็มไปด้วยผงสปอร์ มีการบวมโตเนื่องจากเซลล์ขยายใหญ่ขึ้นเพราะผงสปอร์ พืชอาจตายและแคระแกรนได้

ราเขม่าดำจัดเป็นราที่มีความสำคัญเช่นเดียวกับราสนิม หรือ rust fungi พืชอาศัยของราเขม่าดำ ได้แก่ Angiosperm โดยเฉพาะพืชใน family Cyperaceae และ Gramineae และสามารถเข้าทำลายพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้หลายชนิดเช่น อ้อย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง เป็นต้น Basidiospore ของราเขม่าดำ เมื่องอกให้กำเนิด primary mycelium ซึ่งเป็น monokaryotic ระยะที่เป็น primary mycelium นี้สั้นมาก ชีพจักรส่วนใหญ่ของราจึงมีเส้นใยเป็น secondary mycelium (N+N) ซึ่งเจริญอยู่ในเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของ meristem แม้ว่าราเขม่าดำจะพบ

เป็น parasite บนส่วนของพืชที่มีชีวิต แต่ก็มีหลาย species ที่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ โดยการเป็น saprobe ในดิน และบางพวกอาจนำมาเลี้ยงและเจริญจนครบชีพจักรได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (วิจัย, 2546)

ในปี 1847 Tulasne และ Tulasne จำแนกชนิดของราเขม่าดำ อาศัยลักษณะแตกต่างของการงอกของ teliospores เป็นลักษณะสำคัญในการจัดจำแนกราใน Order Ustilaginales ออกเป็น 2 familes ได้แก่ Ustilaginaceae และ Tilletiaceae ต่อมามีการศึกษาจำแนกชนิดราเขม่าดำโดยวิธีต่าง ๆ หลายวิธี เช่น เทคนิคอณูชีวโมเลกุล เทคนิคชีวเคมี ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Blanz and Gott Schalk, 1984; Begerow *et al*., 1977) Vánky (1999) ได้รวบรวมและจำแนกราเขม่าดำ Class Ustilaginomycetse ออกเป็น 8 orders สำหรับราสกุล *Cintractia* อยู่ใน Order Ustilaginales ส่วนใหญ่กลุ่มสปอร์มีสีดำ พบบนพืชตระกูล Cyperaceae และ Juncaceae จำแนกชนิดโดยใช้ ultrastructure เป็นหลัก จัดอยู่ใน Family Ustilaginaceae (Bauer *et al*., 2000) อย่างไรก็ตามการจำแนกโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาเป็นหลักจัดให้ *Cintractia, Leucocentractia, Trichocintractia, Ustanciosporium* รวมทั้ง *Heterotolyposporium, Testicularia* และ *Tolyposporium* อยู่ใน Family Cintractiaceae (Vánky, 2000)

สำหรับในประเทศไทยนั้นมีการศึกษาราเขม่าดำบนข้าวโพด (Panichsukpatana and Boon-long, 2002) อ้อย (Ouvanich , 2002) เดือย Titatarn *et al.,* 1983) ยังไม่ค่อยมีการศึกษาราเขม่าดำบนพืชอาศัยอื่น ๆ เช่นพืชตระกูลหญ้า ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้เป็นการสำรวจและจำแนกชนิดราเขม่าดำบนพืชตระกูล Cyperacaea ในประเทศไทยทำให้ทราบชนิดของราและพบว่ายังมีราเขม่าดำอีกหลายชนิดมากที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทยและบางชนิดยังไม่มีรายงานในประเทศอื่นด้วย การศึกษาการจำแนกชนิดราเขม่าดำนั้นมีประโยชน์โดยได้ข้อมูลใหม่เกี่ยวกับรากับพืชอาศัยและการแพร่กระจายราเขม่าดำ รวมทั้งเป็นการพัฒนานักอนุกรมวิธานด้านราในการจำแนกชนิดของเชื้อ

ดังนั้นการสำรวจ ศึกษาการรวบรวม และจำแนกชนิดของราเขม่าดำนี้จึงมีความสำคัญเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์พืช เช่น อ้อย เพื่อต้านทานโรคเขม่าดำ และเนื่องจากราเขม่าดำในแต่ละพืช หรือพืชเดียวกัน จะมีความหลากหลายของเชื้อ เพราะฉะนั้นการจำแนกชนิดเชื้อราเขม่าดำนั้นมีประโยชน์เพื่อเป็นฐานข้อมูล การเก็บตัวอย่างแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์พืช เพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบในการตรวจเมล็ดพันธุ์พืชนำเข้า ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในงานกักกันพืช ตลอดจนเป็นพื้นฐานในการศึกษาจำแนกอนุกรมวิธานราดำของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทยเพื่อสร้างนักอนุกรมวิธานทางด้านราสาเหตุโรคพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราดำจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย
2. สารเคมี ได้แก่ Shear's solution, lactophenol, lactic acid, 3-5% KOH, Methylene blue in lactophenol
3. ตะเกียง เข็มเขี่ย มีดโกนคม สไลด์และแผ่นปิดสไลด์
4. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ
5. อุปกรณ์วาดภาพจากกล้องจลทรรศน์ (camera lucida)
6. กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด SEM (Scanning Electron Microscope) JEOL JSM-5600 LV

วิธีการ

1. สำรวจรวบรวมราเขม่าดำจากแหล่งต่าง ๆ

สำรวจเก็บตัวอย่างโรคราเขม่าดำจากส่วนของรังไข่ เกสรตัวผู้ ช่อดอก ลำต้น ใบ ราก และเมล็ด จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย บันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างแห้งเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

2. การศึกษาราเขม่าดำ

2.1 ศึกษาราเขม่าดำโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช (Direct observation)

ศึกษาลักษณะของราเขม่าดำบนส่วนต่าง ๆ ของพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo บันทึกลักษณะต่าง ๆ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยส่วนของรา ได้แก่ สปอร์ หรือส่วนขยายพันธุ์ของรา มาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วย cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning electron microscope) Vánky (2002)

2.2 การจำแนกราเขม่าดำ

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ และถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ (Benson, H.J., 1998) และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน นำลักษณะของราดังกล่าวเปรียบเทียบกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดราเขม่าดำ ที่ใช้กันทั่วไปได้แก่ Vánky (2002)

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด

ตุลาคม 2548 – กันยายน 2551

สถานที่ แหล่งพืชธรรมชาติ

แปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจรวบรวมราเขม่าดำจากแหล่งต่าง ๆ

สำรวจ รวบรวมราเขม่าดำจากภาคต่าง ๆ ในประเทศไทยทั้งหมด 23 จังหวัด ได้แก่จังหวัดสมุทรสงคราม เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ กาญจนบุรี กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ศรีสะเกศ สุรินทร์ ชัยภูมิ สกลนคร อุบลราชธานี เลย พิษณุโลก อุตรดิตถ์ เชียงใหม่ เชียงราย นครสวรรค์ สระแก้ว ชลบุรี ชุมพร พังงา กระบี่ และกรุงเทพ ฯ ได้ราเขม่าดำจำนวนทั้งหมด 83 ตัวอย่าง ตัวอย่างแห้งเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

2. การศึกษาราเขม่าดำ

ผลการศึกษาจากตัวอย่างราเขม่าดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound และศึกษาลักษณะผิวของสปอร์โดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด จัดจำแนกราเขม่าดำได้ 12 genera 45 species ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย ราเขม่าดำที่พบมีดังนี้

Cintractia axicola (Berk.) Cornu, Ann. Sci Nat. Bot., Sér. 6, 15: 279, 1883

พบบน *Fimbristylis dichotoma* อำเภอนครไทย จังหวัดพิษณุโลก อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเหนือคลอง จังหวัดกระบี่ อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร และ อำเภอละหานทราย จังหวัดบุรีรัมย์ (พรพิมล และคณะ, 2550) (ตารางที่ 1)

Sori อยู่บนฐานของก้านดอก และในดอก รูปร่าง subglobose ถึง ovoid มีขนาดประมาณ 1-1.5 x 1-5 มิลลิเมตร เริ่มแรก Sori ถูกปกคลุมด้วยผนังเนื้อเยื่อขาว เทา ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล กลุ่มสปอร์สีดำจะอยู่ภายในเนื้อเยื่อ สปอร์ (Figure 1 C) เซลล์เดียว รูปร่าง globose, ovoid, subpolyangular มีขนาด 8-15 x 10-17 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังหนา 1 ไมครอน

รา *Cintractia axicola* ที่พบในประเทศไทยนี้เป็นชนิดเดียวกับที่ Lee (1950) และVánky (2002) รายงานไว้ ราชนิดนี้มีพืชอาศัยหลายชนิดในตระกูล Cyperaceae พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้นและกึ่งเขตร้อน

Cintractia limitata G.P.Clinton, Proc. Boston Soc. Nat. Hist. 31:399, 1904.

พบบน *Cyperus corymbosus*: อำเภอโกสุมพิสัย จังหวัดขอนแก่น และพบบน *Cyperus mitis*: อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม และอำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (พรพิมล และคณะ, 2550) (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่บนฐานของก้านดอก และในดอก รูปร่าง subglobose ถึง ovoid มีขนาดประมาณ 1-1.5 x 1-5 มิลลิเมตร เริ่มแรก Sori ถูกปกคลุมด้วยผนังเนื้อเยื่อขาว เทา ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล กลุ่มสปอร์สีดำจะอยู่ภายในเนื้อเยื่อ สปอร์ เซลล์เดียว รูปร่าง globose, ovoid, subpolyangular มีขนาด 8-15 x 10-17 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังหนา 1 ไมครอน

รา *Cintractia limitata* ที่พบในประเทศไทยนี้เป็นชนิดเดียวกับที่ Lee (1950) รายงานไว้พบบน *C. compressus* ที่ประเทศจีนและไต้หวัน และมีรายงานพบราชนิดนี้บนพืชตระกูล Cyperaceae หลายชนิด พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้นและกึ่งเขตร้อน

Cintractia mitchellii Vánky, Mycotaxon 62:159, 1997

พบบน *Fimbristylis acuminata*: อำเภอวารอนชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี และพบบน *Fimbristylis tetragona*: อำเภอท่าตูม จังหวัดสุรินทร์ (พรพิมล และคณะ, 2550) (ตารางที่ 1)

Sori เกิดรวมกันอยู่รอบ spikelets เริ่มต้นเกิดอยู่ที่ส่วนฐาน ปกคลุมด้วยผนังสปอร์สีขาว ภายในมีกลุ่มของสปอร์อัดกันแน่นเป็นผงสีดำ กลุ่มของสปอร์มีขนาด 1-2 x 1-3.5 มิลลิเมตร สปอร์ค่อนข้างแบน รูปร่าง broadly elliptic ถึง slightly irregular มีขนาด 9.5-13 x 11-15 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังสปอร์มีลักษณะเป็นปุ่มและร่างแห

รา *Cintractia mitchellii* พบครั้งแรกที่เมือง Perth ประเทศออสเตรเลีย โดย Andrew A. Mitchell พบบน *Fimbristylis schultzii* (Vánky, 1997)

Conidiosporomyces ayresii (Berk.) Vánky, in Vánky & Bauer, Mycotaxon 43: 429 (1992)

พบบน *Panicum maximum* จังหวัดเพชรบุรี เขื่อนปราณบุรี อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ อำเภอทองผาภูมิ และ อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี (ตารางที่ 1)

Dermatosorus schoenoplecti Vánky & R.G. Shivas, Fungal Diversity 14: 244 (2003)

พบบน Schoenoplectus juncoides อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1) และพบราชนิดนี้ทางเหนือของรัฐควีนสแลนด์ ประเทศออสเตรเลีย และประเทศแคมารูน

Entyloma bidentis Henn., in Engler, Die Pflanzenwelt Ost-Afrikas, C: 49 (1895)

พบบน *Biden pilosa* เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ (ตารางที่ 1)

Franzpetrakia microstegii Thirum. & Pavgi, *in* Pavgi & Thirumalachar, *Sydowia*, 1: 2 (1957)

พบบน *Microstegium vagans* อำเภอสังขละบุรี จังหวัดกาญจนบุรี (ตารางที่ 1)

Macalpinomyces arundinellae-setosae R.G.Shivas & Vánky, *Mycol. Balcan*. 2: 101 (2005)

พบบน *Arundinella setosa* อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1) ราชนิดนี้พบครั้งแรกและมีรายงานพบเฉพาะทางเหนือของรัฐควีนสแลนด์ ประเทศออสเตรเลีย เท่านั้น (Shivas & Vánky, 2005).

Macalpinomyces bothriochloae (L.Ling) Vánky, *Fungal Diversity* 15: 225 (2004)

พบบน *Bothriochloa bladhii* อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ และพบบน *Bothriochloa pertusa* อำเภอเชียงแสน และอำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Macalpinomyces siamensis R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 108 (2006)

พบบน *Coelorachis striata* อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Microbotryum tenuisporum (Cif.) Vánky, *Mycotaxon* 67: 50 (1998)

พบบน *Polygonum* aff. *barbatum* L.: บริเวณสะพานแม่น้ำแม่กลอง อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี

Moesziomyces bullatus (J.Schröt.) Vánky, *Bot. Not*. 130: 133 (1977)

พบบน *Leersia hexandra* อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ และพบบน *Polytrias amaura* โรงแรมกรีนเวิลด์ อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี (ตารางที่ 1) รา *Moesziomyces bullatus* พบมากบนหญ้า *Echinochloa*, *Leersia*, *Paspalum*, *Pennisetum* และ *Uranthoecium*.

ราเขม่าดำชนิดนี้พบบนหญ้า *Polytrias* ซึ่งเป็นพืชอาศัยชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Sporisorium andropogonis-aciculati (Petch) Vánky, *Mycotaxon* 18: 328 (1983)

พบบน *Chrysopogon aciculatus* อำเภอท่าตูม จังหวัดสุรินทร์ (ตารางที่ 1)

Sporisorium anthistiriae (Cobb) Vánky, *in* Vánky & Guo, *Acta Mycol. Sinica*, Suppl. 1: 230 (1986) [1987]

พบบน *Themeda triandra* อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร (ตารางที่ 1)

Sporisorium arthraxonis (Pat.) L.Guo, *Mycosystema* 2: 221 (1989)

พบบน *Arthraxon hispidus* อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1) ราชนิดนี้พบครั้งแรกและมีรายงานพบเฉพาะที่ประเทศเวียดนามเท่านั้น

Sporisorium clandestinum R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 108 (2006)

พบบน *Aristida setacea* Retz.: อำเภอนาคู จังหวัดกาฬสินธุ์ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Sporisorium cruentum (J.G.Kühn) Vánky, *Symb. Bot. Upsal*. 24: 115 (1985)

พบบน *Sorghum propinquum* อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย

Sporisorium dichanthicola (Mundkur & Thirum.) Vánky, *Fungal Diversity* 15: 229 (2004)

พบบน *Dichanthium caricosum* เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ และอำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1) ราชนิดนี้พบครั้งแรกและมีรายงานพบเฉพาะในประเทศอินเดียเท่านั้น

Sporisorium doidgeae (Zundel) Langdon & Fullerton, *Mycotaxon* 6: 452 (1978)

พบบน *Bothriochloa bladhii* อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sporisorium aff. ***flagellatum*** (Syd., P.Syd. & Butler) Vánky, *Mycotaxon* 62: 139 (1997)

พบบน *Ischaemum indicum* อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sporisorium holstii (Henn.) Vánky, *Mycotaxon* 51: 162 (1994)

พบบน *Themeda triandra* อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร (ตารางที่ 1)

Sporisorium inopinatum Vánky, *Mycotaxon* 81: 384 (2002)

พบบน *Aristida* sp.: อำเภอนาคู จังหวัดกาฬสินธุ์ (ตารางที่ 1) จากการสำรวจครั้งนี้พบรา *Sporisorium inopinatum* บนพืชอาศัยดังกล่าวเพียง 1 sorus เท่านั้น

Sporisorium ischaemicola (L.Ling) Vánky, *Mycotaxon* 89: 99 (2004)

พบบน *Ischaemum indicum* อำเภอลำดวน จังหวัดสุรินทร์ และ อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sporisorium manilense (Syd. & P.Syd.) Vánky, *Mycotaxon* 59: 110 (1996)

พบบน *Sacciolepis indica* อำเภอโนนคูน จังหวัดศรีสะเกษ และ อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร (ตารางที่ 1)

Sporisorium ophiuri (Henn.) Vánky, *Publ. Herb. Ustilag.* Vánky (HUV) 3: 9 (1986)

พบบน *Rottboellia cochinchinensis* อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sporisorium paspali-thunbergii (Henn.) Vánky, *Publ. Herb. Ustilag. V□nky* (HUV) 3: 9 (1986)

พบบน *Paspalum orbiculare* อำเภอโนนคูน จังหวัดศรีสะเกษ (ตารางที่ 1)

Sporisorium pseudosorghi Vánky, R.G.Shivas & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 109 (2006)

พบบน *Pseudosorghum fasciculare* เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Sporisorium sacchari (Rabenh.) Vánky, *Symb. Bot. Upsal*. 24: 120 (1985)

พบบน *Saccharum arundinaceum* etz.: อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย พบบน *Saccharum* sp. [c.f. *arundinaceum* Retz.]: เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ และ อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ และพบบน *Setaria parviflora* อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้พบบนหญ้า *Setaria parviflora* เป็นการพบครั้งแรกในประเทศไทยบนพืชอาศัยชนิดนี้

Sporisorium trispicatae R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 111 (2006)

พบบน *Eulalia trispicata* (Schult.) เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Tilletia chiangmaiensis R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 112 (2006)

พบบน *Arundinella bengalensis* อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Tilletia filisora R.G. Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 113 (2006)

พบบน ***Pennisetum setosum*** เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ อำเภอนครไทย และอำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Tilletia ischaemi Vánky & N.D.Sharma, *J. Mycopathol. Res*. 39: 71 (2001)

พบบน *Ischaemum rugosum* อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)ราชนิดนี้พบครั้งแรกและมีรายงานพบเฉพาะในประเทศอินเดียเท่านั้น

Tilletia lageniformis Vánky, C.Vánky, R.G.Shivas & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 115 (2006)

พบบน *Hyparrhenia rufa* เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง และอำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรก และพบบน *Tilletia lageniformis* ในประเทศไทย ซึ่งยังไม่เคยพบราเขม่าดำบนพืชอาศัยชนิดนี้มาก่อน

Tilletia setariae-parviflorae Vánky & R.G.Shivas, *in* Vánky, *Mycotaxon* 99: 11 (2007)

พบบน *Setaria parviflora* อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Tilletia thailandica Vánky & R.G.Shivas, *in* Vánky, *Mycotaxon* 99: 19 (2007)

พบบน *Eragrostis amabilis* อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Tilletia vittata (Berk.) Mundk., *Trans. Brit. Mycol. Soc*. 24: 312 (1940)

พบบน *Oplismenus compositus* อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย และอำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

Trichocintractia utriculicola M. Piepenbring, Can. J. Bot. 73: 1095, 1995

พบบน On *Rhynchospora corymbosa*: อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา อำเภอเขาพนม จังหวัดกระบี่ และอำเภอละหานทราย จังหวัดบุรีรัมย์ (พรพิมล และคณะ, 2550) (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ใน spikelets ของ inflorescences ซึ่งเกิดแทนที่ช่อดอก รูปร่าง ovoid ถึง egg-shaped ขนาด 2-2.5 x 3-5 มิลลิเมตร เริ่มแรก sori ถูกปกคลุมด้วยผนังเนื้อเยื่อขาวอมเทา เริ่มแรกปิดต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล กลุ่มสปอร์สีดำจะอยู่ภายในเนื้อเยื่อ สปอร์เซลล์เดียว รูปร่าง round ถึง boardly elliptic ขนาด 11-15 x 10-17 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังหนา 1-2 ไมครอน ผนังสปอร์เรียบและมีลักษณะเป็น punctuate เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound ผนังสปอร์มีลักษณะ verruculose เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

Piepenbring (1994) ศึกษาราเขม่าดำ *Cintractia utriculicola* บน *Rhynchospora* spp. ราสร้าง sori ใน spikelets ซึ่งแตกต่างจาก *Cintractia* spp. และตั้ง genus ใหม่ของ *Cintractia utriculicola* เป็น *Trichocintractia*

ราชนิดนี้พบมากในเขตร้อนชื้น บนพืชอาศัยตระกูล Cyperaceae ได้แก่ *Rhynchospora corymbosa, R. cyperoides, R gigantean* (Vánky, 2002)

Ustilago coicis Bref., *Unters. Gesammtgeb. Mykol*. 12: 110 (1895)

พบบน *Coix lachryma-jobi* L.: อำเภอวังสระพุง จังหวัดเลย (ตารางที่ 1)

Ustilago cynodontis (Pass.) Henn., *Bull. Herb. Boissier* 1: 114 (1893)

พบบน *Cynodon dactylon* ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง อำเภอเมือง จังหวัดระยอง อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ หมู่บ้านชลนิเวศน์ และ สระน้ำบริเวณกลุ่มวิจัยกักันพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ (ตารางที่ 1)

Ustilago engenula Syd., P.Syd & E.J.Butler, *Ann. Mycol*. 10: 251 (1912)

พบบน *Eragrostis japonica* อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี และอำเภอตรอน จังหวัดอุตรดิตถ์ (ตารางที่ 1)

Ustilago maydis (DC.) Corda, *Icones fungorum* 5: 3 (1842)

พบบน *Zea mays* อำเภอวังสระพุง จังหวัดเลย (ตารางที่ 1)

Ustilago neyraudiae Mundk., *Trans. Brit. Mycol. Soc*. 24: 323 (1940)

พบบน *Neyraudia reynaudiana* อำเภอหางดง และ เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง และอำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

Ustilago phragmitis L.Ling, *Sydowia* 4: 76 (1950)

พบบน *Phragmites karka* อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี (ตารางที่ 1)

Ustilago planetella Vánky & R.G.Shivas, *in* Vánky, *Mycotaxon* 99: 24 (2007)

พบบน *Eragrostis japonica* อำเภอตรอน จังหวัดอุตรดิตถ์ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Ustilago scitaminea Syd., *Ann. Mycol*. 22: 281 (1924)

พบบน *Saccharum officinarum* อำเภอบรรพตพิสัย จังหวัดนครสวรรค์ และอำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี (ตารางที่ 1) ราเขม่าดำนี้ก่อให้เกิดโรคกับอ้อย

Ustilago trichophora (Link) Körn., *Hedwigia* 16: 36 (1877)

พบบน *Echinochloa colonum* อำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก (ตารางที่ 1)

Yelsemia droserae R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 115 (2006)

พบบน *Drosera burmanni* Vahl: อำเภอโนนคูน จังหวัดอุบลราชธานี (ตารางที่ 1) พืชอาศัยชนิดนี้เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ พบราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย ต่อมาพบราเขม่าดำชนิดนี้ที่ประเทศออสเตรเลีย

ราสร้าง sori .ใน capsiles (เมล็ด) ของ *Drosera* เป็นพืชกินแมลง รา *Yelsemia droserae* ที่พบครั้งนี้เป็นราเขม่าดำชนิดที่สองที่พบในพืชที่กินแมลง

รา *Yelsemia lowrieana* R.G.Shivas & Vánky เป็นอีกชนิดหนึ่งที่พบบน *Byblis rorida* ซึ่งเป็นพืชกินแมลง พบทางตะวันตกของประเทศออสเตรเลีย ราเข้าทำลายลำต้น ดอก และเมล็ด (Shivas & Vánky 2003).

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจ รวบรวมราเขม่าดำ ได้ราเขม่าดำทั้งหมดจำนวน 80 ตัวอย่าง จากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกชนิดได้ราเขม่าดำได้ 12 genera 45 species ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และจากการสำรวจรวบรวมราเขม่าดำครั้งนี้พบราเขม่าดำชนิดใหม่ที่จำนวนทั้งหมด 8 ชนิด

เอกส่ารอ้างอิง

ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และเตือนใจ บุญหลง. 2545. โรคของข้าวโพดและการควบคุมโรค. กลุ่มวิจัยโรคพืชไร่ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพ ฯ . 69 หน้า.

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และพจนา ตระกูลสุขรัตน์. 2550. ราเขม่าดำใน Family Cintractiaceae จากประเทศไทย. หน้า 663-670. *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน วันที่ 30 มกราคม-2 กุมภาพันธ์ 2549.

วันทนีย์ อู่วานิชย์. 2545. โรคสำคัญของอ้อย. กลุ่มวิจัยโรคพืชไร่ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพ ฯ . 78 หน้า.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. จัดพิมพ์โดยจามจุรีโปรดักท์ กรุงเทพฯ. 351 หน้า.

Begrew, D., R. Bauer and F. Oberwinkler. 1997 or 1977. Phylogenetic studies on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences of smut fungi and related taxa. Can. J. Bot. 75: 2045-2056.

Benson, H.J. 1998. Fungi: Yeasts and Molds. P. 40-45. *In* Microbiological Applications Laboratory: Complete Version Lab Manual (Manual in General Microbiology) by the McGraw-Hill Companies, USA.

Blanz, P.A. and M. Gottschalk. 1984. A comparison of 5S ribosomal RNA nucleotide sequence from smut fungi. Systematic and Applied Microbiology 5: 518-526.

Lee, L. 1950. Studies in the genus Cintractia. II. C. axicola and related species. Mycologia 42: 646-653.

McKenzie, E.H.C. and K. Vánky. 2001. Smut fungi of New Zealand: An introduction and list of recorded species. New Zealand J. of Bot. 39: 501-515.

Piepenbring, M. 1995. *Trichocintractia*, a new genus for *Cintractia utriculicola* (Ustilaginales). Can.J.Bot. 73: 1089-1096.

Reeder RH, Ellison CA, Thomas MB (1996) Population dynamic aspects of the interaction between the weed *Rottboellia cochinchinensis* (itch grass) and the potential biological control agent *Sporisorium ophiuri* (head smut). Proceedings of the 9th international symposium on biological control of weeds, Stellenbosch, South Africa, 19-26 January 1996, pp.205-211.

Shivas RG, Vánky K, Vánky C, Kula GR, Gavali V (2001) An annotated checklist of Ustilaginomycetes in Papua New Guinea. *Australasian Plant Pathology* **30**, 231-237.

Shivas RG, Vánky K, (2003). First record of a smut fungus on *Byblidaceae*: *Yelsemia lowrieana*, a new species from Australia. *Fungal Diversity* 13: 131-135.

Thaung MM (2005) Rusts, smuts and their allies in Burma. *Australasian Mycologist* 24, 29-46.

Titatarn S, Chiengkul A, Unchalisangkas D, Chamkrachang W, Chew-Chin N,

Vánky K. 1997. *Cintractia mitchellii* Vánky. Mycotaxon 62: 159.

Vánky K. 1999. The new classificatory system for smut fungi, and two new genera. Mycotaxon 70: 35-49.

Vánky K. 2002. Illustrated genera of smut fungi, 2nd ed. APS Press, St. Paul. 238 pp.

Vánky K. 2000. New taxa of Ustilaginomycetes. Mycotaxon 74: 343-356.

Vánky K. (2007) Taxonomic studies in *Ustilaginomycetes* – 27. *Mycotaxon* 99, 1-70.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 รายชื่อราเขม่าดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างปี 2548-2549

ราเขม่าดำ	พืชอาศัย	แหล่งที่เก็บ
Cintractia axicola	*Fimbristylis dichotoma* (L.) Vahl (หญ้านิ้วหนู)	อ. นครไทย จ พิษณุโลก อ. เชียงแสน จ.เชียงราย อ. แม่แตง จ.เชียงใหม่ อ. เหนือคลอง จ.กระบี่ อ. ตะกั่วป่า จ.พังงา อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร อ. ละหานทราย จ.บุรีรัมย์
Cintractia limitata	*Cyperus corymbosus* Rottb. (กกสานเสื่อ กกจันทบุรี) *Cyperus mitis* Steud. (กกแห้วหมู)	อ. โกสุมพิสัย จ. ขอนแก่น อ. เมือง จ. สุมทรสงคราม อ ปราณบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์
Cintractia mitchellii	*Fimbristylis acuminata* Vahl (หญ้าเปลือกกระเทียมทราย) *Fimbristylis tetragona* R.Br. (กกก้านดอก)	อ. วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี อ. ท่าตูม จ. สุรินทร์
Conidiosporomyces ayresii	*Panicum maximum* (เสือแกลก)	อ. เมือง จ. เพชรบุรี เขื่อนปราณบุรี อ. ปราณบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์ อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี อ. ไทรโยค จ. กาญจนบุรี
Dermatosorus schoenoplecti	*Schoenoplectus juncoides* (พรงกลมใหญ่)	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Entyloma bidentis	*Bidens pilosa* (หญ้าก้นจ้ำขาว)	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ .
Franzpetrakia microstegii	*Microstegium vagans*	อ. สังขละบุรี จ. กาญจนบุรี
Macalpinomyces arundinellae-setosae	*Arundinella setosa*	เขื่อนแม่งัด อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ .
Macalpinomyces bothriochloae	*Bothriochloa bladhii* (หญ้าขี้หมา)	อ. หางดง จ.เชียงใหม่

ราเขม่าดำ	พืชอาศัย	แหล่งที่เก็บ
	Bothriochloa pertusa (หญ้าหอม)	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย อ. เวียงป่าเป้า จ. เชียงราย
Macalpinomyces siamensis	*Coelorachis striata* (หญ้าขน)	อ. พร้าว จ.เชียงใหม่
Microbotryum tenuisporum *Moeziomycea bullatus*	*Polygonum* aff. *Barbatum* *Leersia hexandras* (หญ้าไทร) *Polytrias amaura* (หญ้านวลจันทร์)	อ. เมือง จ. กาญจนบุรี อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี อ. ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ สนามหญ้าโรงแรมกรีนเวิลด์ อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี
Sporisorium andropogonis-aciculati	*Chrysopogon aciculatus* (หญ้าเจ้าชู้)	อ. ท่าตูม จ. สุรินทร์
Sporisorium anthistiriae	*Themeda triandra* (หญ้าแฝก)	อ. ภูพาน จ. สกลนคร
Sporisorium axthraxonis	*Arthraxon hispidus*	อ. หางดง จ.เชียงใหม่
Sporisorium clandestinum	*Aristida setacea*	อ. นาคู จ. กาฬสินธุ์
Sporisorium cruentum	*Sorghum propinqum* (หญ้าพง)	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Sporisorium dichanthicola	*Dichanthium caricosum* (หญ้าแหวน)	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ . อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Sporisorium doidgeae	*Bothriochloa bladhii* (หญ้าขี้หมา)	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Sporisorium aff. *Flagellatum*	*Ischaemum indicum*	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Sporisorium holstii	*Themeda triandra* (หญ้าแฝก)	อ. ภูพาน จ. สกลนคร
Sporisorium inopinatum	*Aristida* sp.	อ. นาคู จ. กาฬสินธุ์
Sporisorium ischaemicola	*Ischaemum indicum*	อ. ลำดวน จ. สุรินทร์ อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Sporisorium manilense	*Sacciolepis indica* (หญ้าปล้องเล็ก)	อ. โนนคูณ จ. ศรีสะเกษ อ. ภูพาน จ. สกลนคร
Sporisorium ophiuri	*Rottboellia cochincninensis*	อ. เวียงแก่น จ. เชียงราย

ราเขม่าดำ	**พืชอาศัย**	**แหล่งที่เก็บ**
Sporisorium paspali-thunbergii	*Paspalum orbiculare* (หญ้านมหนอน)	อ. โนนคูณ จ. ศรีสะเกษ
Sporisorium pseudosorghi	*Pseudosorghum fasciculare*	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ .
Sporisorium sacchari	*Saccharum arundinaceum* Retz. (แขม)	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี
		อ. แม่สาย จ. เชียงราย
	Saccharum sp.[c.f.*dinaceum* Retz.]	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ .
		อ. เมือง จ. อุตรดิตถ์
Sporisorium trispicatae	*Eulalia trispicata*	เขื่อนแม่งัด อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ .
Tilletia chiangmaiensis	*Arundinella bengalensis*	อ. พร้าว จ.เชียงใหม่
Tilletia filisora	*Pennisetum setosum*	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ .
		อ. นครไทย จ พิษณุโลก
		อ. วังทอง จ พิษณุโลก
Tilletia ischaemi	*Ischaemum rugoaum* (หญ้าแดง)	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Tilletia lageniformis	*Hyparrhenia eufa* (หญ้าแสงคำ)	เขื่อนแม่งัด อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ .
		อ. พร้าว จ.เชียงใหม่
Tilletia setariae-parviflorae	*Setaria parviflora* (หญ้ากาบไผ่)	อ. ภูพาน จ. สกลนคร
Tilletia thailandica	*Eragrostis amabilis*	อ. ด่านซ้าย จ. เลย
Tilletia vittata	*Oplismenus compositus* (หญ้าไข่แมงดา)	อ. เมือง จ. อุตรดิตถ์
		อ. เวียงป่าเป้า จ. เชียงราย
		อ. พร้าว จ.เชียงใหม่
Trichocintractia utriculicola	*Rhynchospora corymbosa* (L.) Britton	อ. ท่าแซะ จ.ชุมพร
	(หญ้าคมบาง)	อ. ตะกั่วป่า จ. พังงา
		อ. เขาพนม จ.กระบี่
		อ. ละหานทราย จ.บุรีรัมย์

ราเขม่าดำ	**พืชอาศัย**	**แหล่งที่เก็บ**
Ustilago coicis	*Coix lachryma-jobi* L.: (เดือย)	อ. วังสะพุง จ. เลย
Ustilago cynodontis	*Cynodon dactylon* (หญ้าแพรก)	ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง อ. เมือง จ. ระยอง อ. เมือง จ.ขอนแก่น อ. แม่แตง จ.เชียงใหม่ หมู่บ้านชลนิเวศน์ กรุงเทพ ฯ สระน้ำบริเวณกลุ่มวิจัยกักันพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ
Ustilago engenula	*Eragrostis japonica*	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี อ. ตรอน จ. อุตรดิตถ์
Ustilago maydis	*Zea mays* (ข้าวโพด)	อ. วังสะพุง จ. เลย
Ustilago neyraudiae	*Neyraudia reynaudiana* (Kunth) Keng ex Hitchc.	อ. หางดง จ.เชียงใหม่ เขื่อนแม่งัด อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ .
Ustilago phragmitis	*Phragmites karka* (Retz.) Steud.	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี
Ustilago planetella	*Eragrostis japonica* (Thunb.) Trin. (	อ. ตรอน จ. อุตรดิตถ์
Ustilago scitaminea	*Saccharum officinarum* L/ (อ้อย)	อ. บรรพตพิสัย จ. นครสวรรค์ อ. บ้านโป่ง จ. ราชบุรี
Ustilago trichophora	*Echinochloa colonum* (หญ้าข้าวนก)	อ. วังทอง จ พิษณุโลก
Yelsemia droserae	*Drosera burmanni* (จอกบ่วาย)	อ. โนนคูณ จ. ศรีสะเกษ

สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล Ganoderma

Surveying Collecting and Identification of Ganoderma

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช พรพิมล อธิปัญญาคม อัจฉรา พยัพพานนท์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการค้นเอกสารที่มีรายงานในประเทศไทยพบรา *Ganoderma* ทำให้เกิดโรคบนพืชเศรษฐกิจ 5 ชนิด คือ ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว หมาก และยางพารา ผลจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างที่ จ.นครปฐม นครนายก ปราจีนบุรี ชลบุรี ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช ตรัง สงขลา ผลการสำรวจในปี 2549 พบโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันและเก็บตัวอย่างดอกเห็ดของที่คาดว่าจะเป็นรา *Ganoderma* ที่บริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมันที่เป็นโรค 2 isolate (GO-1 และ GO-2) จาก อ.ปลายพระยา และ อ.เขาพนม จ.กระบี่ เก็บตัวอย่างดอกเห็ด ที่โคนต้นหมากที่เป็นโรครากเน่าได้ 2 isolate (GB-1 และ GB-2) มะพร้าวที่เป็นโรครากเน่า 2 isolate (GC-1 และ GC-2) จาก จ.นครปฐม ต้นหางนกยูง 1 isolate (GJ-1) จาก อ.เขาพนม จ.กระบี่ พุทรา 1 isolate (GZ-1) จาก อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา นำตัวอย่างดอกเห็ดมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาลักษณะภายนอก เช่น รูปร่างของดอกเห็ด สี ลักษณะของส่วนสร้างสปอร์ที่เป็น pore และลักษณะของสปอร์ พบว่าดอกเห็ดที่เก็บมาทั้ง 8 isolate มีลักษณะตรงกับรา *Ganoderma*

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราสกุล *Ganoderma* จัดอยู่ใน class Basidiomycetes ตระกูล Ganodermataceae เป็นเห็ดในตระกูลเดียวกับเห็ดหลินจือเชื้อ *Ganoderma* สามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิดด้วยกัน บางชนิดทำความเสียหายอย่างรุนแรงและบางชนิดไม่รุนแรง พืชที่ได้รับความเสียหายอย่างรุนแรงดูเหมือนว่าจะเป็นพืชในตระกูลปาล์ม เช่น มะพร้าว ปาล์มน้ำมัน และ หมาก (ศรีสุรางค์, 2538; ศรีสุรางค์,2539ข) โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน มีสาเหตุจากเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. มีรายงานพบโรคนี้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2458 และอีก 20 ปีต่อมาจึงพบว่าเชื้อเห็ดทำความเสียหายในหลายประเทศที่ปลูกปาล์มน้ำมันเป็นการค้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศมาเลเซีย และอินโดนีเซีย (Ariffin and Idris. 1990; Turner, 1981) นอกจากนี้มีรายงานพบโรคในประเทศแซร์ โรดีเซียเหนือ คาเมรูน เซนต์เทมส์ พริ้นซิปเป้ แองโกล่า กานา ไนจีเรีย แทนซาเนีย ปาปัวนิวกินี และประเทศไทย (ศรีสุรางค์, 2536) โดยทั่วไปเชื้อเห็ดจะเข้าทำลายต้นปาล์มน้ำมันที่มีอายุ 25-30 ปี ในปี พ.ศ. 2534 Singh ได้รายงานถึงความเสียหายของโรคนี้ว่า ทำให้ต้นปาล์มน้ำมันแถบชายฝั่งทะเลของมาเลเซียที่มีอายุ 25 ปี เป็นโรคลำต้นเน่าตายถึง 85% และเมื่อทำการปลูกแทนในที่เดิมด้วยปาล์มน้ำมันก็จะทำให้ปาล์มน้ำมันที่ปลูกแทนนั้นเป็นโรค และแสดงอาการของโรคได้ตั้งแต่อายุ 4-5 ปี หลังจากลงแปลงปลูก ความรุนแรงของโรคจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งปาล์มน้ำมันอายุ 15 ปี ทำให้เกิดโรคถึง 40-50% ซึ่งปัญหาดังกล่าวนี้นับว่าเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างยิ่งในการปลูกทดแทนของปาล์มน้ำมันในประเทศมาเลเซีย ซึ่งจะต้องมีการปลูกแทนในปี พ.ศ. 2540-2543 ปีละ 82,000 แฮกแตร์ (Mohamad *et al*., 1985) โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันมีความสำคัญเพิ่มขึ้นในพื้นที่ที่มีการปลูกทดแทนในพื้นที่เดิมของปาปัว นิวกินี และหมู่เกาะโซโลมอน (Flood and Hasan, 2004)

จากงานสำรวจความเสียหายของมะพร้าวและหมากที่เกิดจากเชื้อ *Ganoderma* ในจังหวัดนครปฐม และสมุทรสงคราม พบว่ามะพร้าวที่มีอายุมากกว่า 20 ปีขึ้นไปพบอาการโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Ganoderma* 7% โดยพบต้นที่สร้างดอกเห็ดที่โคนต้นเพียง 0.5% ส่วนโรครากเน่าของหมากอายุ 15 ปีขึ้นไป พบอาการโรครากเน่า 5-20% ส่วนต้นหมากที่อายุ 7 ปี จะพบอาการโรครากเน่าเพียง 0.7% (ศรีสุรางค์ และคณะ, 2540)

นอกจากพืชตระกูลปาล์มแล้วยังมีรายงานถึงพืชชนิดอื่น ๆ หลายชนิดที่มีรายงานเป็นพืชอาศัยของเชื้อเห็ด *Ganoderma* ในประเทศไทย ได้แก่ ยางพารา มะขาม พืชยืนต้นหลายชนิดพบว่าเชื้อจะสร้างดอกเห็ดบนต้นแต่ไม่ทำให้เกิดอาการรุนแรง เช่น ส้ม มะม่วง สะตอ มะนาว มะขาม พิกุล เป็นต้น ในปี พ.ศ. 2479 มีรายงานจากประเทศอินเดียถึงพืชอาศัยของเชื้อเห็ดถึง 44 ชนิด จาก 34 สกุลด้วยกัน (Venkataratyan, 1936) การตรวจเอกสารในช่วงปี พ.ศ. 2466- 2512 พบว่า เชื้อ *Ganoderma* เป็น parasite กับไม้ผลเขตร้อนและเขตอบอุ่น พืชอุตสาหกรรม ไม้ประดับ และไม้ป่า หลายชนิดด้วยกัน (อาภรณ์, 2542) จากการสำรวจพืชตระกูลถั่วในแปลงปลูกปาล์ม

น้ำมันที่มีอายุมากพบเส้นใยของ Ganoderma sp. บนรากและลำต้นของพืชตระกูลถั่วที่สำรวจ อัตราที่พบอยู่ในระหว่าง 0 – 18.7% ขึ้นกับเปอร์เซนต์การเกิดโรคลำต้นของปาล์มน้ำมันในแต่ละแปลงที่สำรวจ (Idris et al., 2003) เมื่อทำการแยกเชื้อจากรากและลำต้นของถั่วด้วยอาหารแยกเชื้อเห็ด Ganoderma selective media (GSM) พบเชื้อเห็ด 2 ชนิด คือ *G.boninense* และ *G. zonatum* ซึ่งเชื้อทั้ง 2ชนิดเป็นเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน จากการศึกษานี้สามารถยืนยันได้ว่าถั่วเป็น alternative host ของ Ganoderma sp. ที่เป็นสาเหตุของโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน (Idris et al., 2004) กล่าวได้ว่าราสกุล Ganoderma มีบทบาทสำคัญในการเข้าทำลายพืชหลายชนิดแต่ยังไม่มีการศึกษาอย่างจริงจัง ดังนั้นการศึกษาจำแนกชนิดของราสกุล Ganoderma ที่พบในประเทศจะเป็นแนวทางที่จะสามารถจัดการการปลูกพืชในพื้นที่เพื่อหลีกเลี่ยงการเข้าทำลายของรา และสามารถหาทางป้องกันกำจัดก่อนการเกิดและระบาดของโรค

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรอบไม้อัดตัวอย่างโรคพืช
2. กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์
3. ซองกระดาษใส ซองกระดาษแข็งใส่ตัวอย่าง และกล่องกระดาษ
4. กล้องถ่ายภาพ
5. คอมพิวเตอร์ เครื่องสแกนเนอร์
6. กล้องจุลทรรศน์ Light microscope และ Stereo microscope
7. อุปกรณ์แยกเชื้อ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฯลฯ
8. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น กระดาษบันทึกข้อมูล GPS ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯลฯ

วิธีการ

การสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจเก็บตัวอย่างโรครากเน่าของพืชตระกูลปาล์มตามแหล่งปลูก บันทึกข้อมูลลักษณะอาการ วันที่เก็บ ผู้เก็บและแหล่งเก็บตัวอย่างพร้อมกับบันทึกภาพตัวอย่างโรคพืช

การจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ

การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้อง stereomicroscope และเตรียมสไลด์ของเชื้อสาเหตุ ตรวจดูภายใต้กล้อง microscpe ศึกษาการเจริญบนพืชด้วยการตัด section บริเวณที่แสดงอาการ และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ่ายภาพลักษณะของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้อง

การจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุจากการแยกเชื้อ

- แยกเชื้อสาเหตุจากดอกเห็ด โดยการตัดเนื้อเยื่อภายในดอกเห็ดที่หมวกดอกหรือก้านดอกวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar

- แยกเชื้อสาเหตุจากรากที่แสดงอาการรากเน่าโดยล้างทำความสะอาดตัวอย่างรากด้วยน้ำซับตัวอย่างให้แห้ง ตัดตัวอย่างบริเวณรอยต่อระหว่างส่วนที่เป็นโรคและส่วนที่ไม่เป็นโรคเป็นชิ้นขนาด 1-5 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วยการแช่ใน sodium hypochlirite หรือ calcium hypochlirite 10% นาน 1-5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำชิ้นตัวอย่างวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เมื่อเชื้อสาเหตุเจริญจากชิ้นตัวอย่างแยกไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ นำเชื้อสาเหตุที่ได้ไปศึกษาลักษณะรายละเอียดของเชื้อเพื่อจำแนกชนิดตามหลักวิชาโรคพืช และส่งเชื้อบริสุทธิ์ที่เป็นสาเหตุโรคพืชไปเก็บไว้ที่ culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช

การทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

วางตัวอย่างดอกเห็ดของเชื้อ *Ganoderma* ที่รวบรวมได้จากต้นปาล์มที่เป็นโรครากเน่าวางที่อุณหภูมิห้องที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก เป็นเวลา 1 เดือน

นำตัวอย่างแห้งที่ได้ใส่ในตู้ –20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เพื่อฆ่าไข่แมลง และแมลงเสร็จแล้วนำไปเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลของตัวอย่างลงในคอมพิวเตอร์ ข้อมูลที่ต้องบันทึกคือ

1. Accession number
2. Pathogen scientific name; genus, species, infraspecies, authority
3. Host scientific name; genus, species, infraspecies, authority
4. Host damage / symptoms
5. Locality of collection; precise location, town, state / district / province, country
6. Collection date
7. Collector’s name
8. Determiner

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2546 สิ้นสุด กันยายน 2549

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การตรวจเอกสาร

จากการค้นเอกสารที่มีรายงานในประเทศไทยพบรา *Ganoderma* ทำให้เกิดโรคบนพืชเศรษฐกิจ 4 ชนิด คือ ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว หมาก ยางพารา เป็นการสำรวจพบแต่ไม่มีรายงานการศึกษาราละอียด ได้แก่บนมะม่วง ส้มเขียว มะขาม พิกุล ฯลฯ

การสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืช

ผลจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างที่แปลงปาล์มน้ำมัน อ.ปาล์มพระยา ในแปลงปาล์มน้ำมันอายุ 15 ปี พบต้นปาล์มน้ำมันเป็นโรคลำต้นเน่ามีดอกเห็ดที่โคนต้นปาล์มน้ำมัน เก็บตัวอย่างดอกเห็ด (GO-1) จากแปลงปาล์มน้ำมันที่ อ.เขาพนม จ. กระบี่ เก็บตัวอย่างดอกเห็ดจากปาล์มน้ำมันที่เป็นโรคลำต้นเน่า (GO-2) และดอกเห็ดจากตอต้นหางนกยูง (GJ-1) ที่ อ.เขาพนม จ.กระบี่ ซึ่งคาดว่าเดิมเป็นพื้นที่ที่เคยปลูกปาล์มน้ำมันมาก่อน (ตารางที่ 1)

การสำรวจรวบรวมตัวอย่างที่ จ.นครปฐม ได้เก็บตัวอย่างดอกเห็ดจากต้นหมากที่เป็นโรครากเน่า โดยหมากแสดงอาการทางใบล่างทิ้งตัวลงรอบ ๆ เหลือทางใบบนต้นเพียง 2-3 ทาง ทางใบมีลักษณะสั้นกว่าปกติและมีสีเหลืองซีดพบว่าที่โคนต้นมีดอกเห็ดสีน้ำตาล เมื่ออ่อนมีขอบสีขาวเมื่อดอกเห็ดแก่ขอบสีขาวจะหายไป เก็บดอกเห็ดจากโคนต้นหมาก 2 จุด (GB-1 และ GB-2) จากการสำรวจมะพร้าวในบริเวณดังกล่าวทั้ง 2 จุด พบมะพร้าวมีดอกเห็ดขึ้นที่โคนต้นเช่นกัน (GC-1 และ GC-2) การสำรวจรวบรวมตัวอย่างที่ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา พบดอกเห็ดขึ้นที่ตอต้นพุทรา (GZ-1) (ตารางที่ 1)

การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

เมื่อนำตัวอย่างดอกเห็ดที่รวบรวมจากแปลง นำมาศึกษาลักษณะของดอกเห็ดและตรวจลักษณะของสปอร์ที่ดอกเห็ดสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในเบื้องต้นพบว่าดอกเห็ดที่รวบรวมมาจากปาล์มน้ำมัน หมาก มะพร้าว หางนกยูงและพุทราทุก isolate มีลักษณะเช่นเดียวกับเชื้อเห็ด Ganoderma sp.

นำดอกเห็ดที่ได้วางผึ่งในที่ระบายอากาศเพื่อให้ดอกเห็ดแห้งก่อนนำไปเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียสเพื่อฆ่าแมลงและไข่แมลง

เอกสารอ้างอิง

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2536. โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในประเทศไทย หน้า 205-209 *ใน* : การอบรมสัมมนาเชิงปฏิบัติการการพัฒนาเพื่อเพิ่มเทคโนโลยีการวิจัยและการผลิตมะพร้าว โกโก้ ปาล์มน้ำมัน ประจำปี 2536. ณ โรงแรมแมนฮัตตันพาเลซ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา .

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2538. โรคพืชที่เกิดจากเห็ดหลินจือ เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมสัมมนาประจำปี 2538 ของสมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย 8 ธันวาคม 2538 ณ ห้องประชุมกรมวิชาการเกษตร ชั้น 3 ตึกกสิกรรม กรมวิชาการเกษตร 7 หน้า.

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2539 . หลินจือสาเหตุโรคพืชชนิดหนึ่ง กสิกร 69(4) : 333-337

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช แสงมณี ชิงดวง และศุภชัย ลีจีรจำเนียร. 2540. โรครากเน่าของมะพร้าว และหมาก วารสารโรคพืช 12(1) : 34-39.

อาภรณ์ ธรรมเขต. 2542. เห็ดสกุล *Ganoderma*. เห็ดไทย 2542. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย หน้า 62-67.

Ariffin, D., A.S. Idris. 1990. Progress on *Ganoderma* research at PORIM .Pages 113-131 *in* : Proceedings ofthe *Ganoderma* Workshop, 11 September 1990. Ariffin, D and Jalani, S. eds. Palm Oil Research Institute of Malaysia, Bangi, Selangor, Malaysia.

Flood, J. and Y. Hasan. 2004. Basal Stem Rot – Taxinomy, Biology, Epidemiology, Economic Status and Control in South East Asia and Pacific Islands. In Mohd Basri Wahid et al. (eds) Proceedings of the International conference on Pests ND Diseases of Importance to the Oil Palm Industry. 2004. Kuala Lumpur, Malaysia.

Idris, A. and Ariffin D. 2004. Basal Stem Rot – Biology, Detection and Control. In Mohd Basri Wahid et al. (eds) Proceedings of the International conference on Pests ND Diseases of Importance to the Oil Palm Industry. 2004. Kuala Lumpur, Malaysia.

Idris, A.S., Ariffin D., and Ismail.S. 2003. Interaction between Ganoderma and Leguminous cover crop – pathogenicity and field observations in oil palm plantations. In the Procedings of the Agriculyure Conference of 2003 PIPOC, organized by Malaysian Palm Oil Board, Bangi, 24-28 August 2003, Pytrajaya, Malaysia. pp. 1020-1028

Mohamad, H., Zin, Z.Z and Halim, A.H. 1985. Potentials of oil palm by-products as raw materials for agro-based industries. Pages 7-15. *in* : Proceedings of the

National Symposium on Oil Palm By-Products for Agro-Based Industries. Palm Oil Research Institule of Malaysia, Kuala Lumpur.

Singh, Gurmit. 1991. Ganoderma - The Scourge of Oil Palms in the Coastal Areas. The Planter. 67 : 421-444.

Turner, P.D. 1981. Oil Palm Diseases and Disorders.Oxford University Press. 280 pp.

Venkatarayan, S.V. 1936. The biology of *Ganoderma lucidum* on areca and coconut palms. Phytopathology 26 : 153-175.

ตารางที่ 1 พืชอาศัย สถานะภาพของพืช และสถานที่เก็บตัวอย่างเชื้อ *Ganoderma* sp.

ตัวอย่างที่	**พืช : ชื่อวิทยาศาสตร์**	**สถานะพืชอาศัย**	**สถานที่เก็บ**	isolate
1	ปาล์มน้ำมัน : Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)	มีชีวิต	อ.ปลายพระยา จ.กระบี่	GO-1
2	ปาล์มน้ำมัน : Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)	มีชีวิต	อ.เขาพนม จ.กระบี่	GO-2
3	หางนกยูง : Peacock'screst (*Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw.)	ตาย	อ.เขาพนม จ.กระบี่	GP-1
4	หมาก : Betelnut palm *(Areca catechu* Linn.)	มีชีวิต	ต.ทรงคะนอง อ.สามพราน จ.นครปฐม	GB-1
5	หมาก : Betelnut palm (*Areca catechu* Linn.)	มีชีวิต	อ.สามพราน นครปฐม	GB-2
6	มะพร้าว : Coconut (*Cocos nucifera* Linn.)	มีชีวิต	ต.ทรงคะนอง อ.สามพราน จ.นครปฐม	GC-1
7	มะพร้าว : Coconut (*Cocos nucifera* Linn.)	มีชีวิต	อ.สามพราน นครปฐม	GC-2
8	พุทรา : Jujube (*Zizphus mauritiana* Lamk.)	ตาย	อ.ปากช่อง นครราชสีมา	GJ-1

สำรวจ รวบรวมและจำแนกราดำ

Survey, Collection and Identification of the Sooty Mould, Sooty blotch and Black Mildew

พรพิมล อธิปัญญาคม และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจ รวบรวมราดำ จำนวนทั้งหมด 97 ตัวอย่าง จากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จำแนกชนิดได้ราดำ 12 genera 34 species ได้แก่ รา *Aithaloderma clavatisporum*, *Aithaloderma* spp. (3 ชนิด), *Annellophragmia* sp., *Cladosporium* spp (5 ชนิด), *Leptoxyphium* sp., *Meliola alstoniae, M. butleri, M. citricola, M. dimorcarpi, Meliola jasmine, Meliola tamarindi, Micropetis* sp., *Phragmocapnias betle, Polychaeton* spp. (4 ชนิด), *Scorias* sp., *Tetraploa aristata, Tetraploa* sp. *Torula herbatum, Torula* sp., *Trichomerium grandisporium*, *Tripospermum* spp. (4 ชนิด) ตัวอย่างแห้งของราดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราดำ (Sooty Mould, Sooty blotch, Black mildew)สร้างเส้นใยสีดำปกคลุมอยู่บนส่วนของพืชที่มีชีวิต เช่น ใบ กิ่ง ดอก ผล เป็นต้น โดยไม่ได้ดูดกินอาหารจากพืช (saprophyte) หรือบางครั้งเป็นปรสิต (parasite) ที่เจริญอยู่บนราดำด้วยกัน ราดำที่เป็นปรสิตกับพืช จะสร้างเส้นใยปกคลุมบนผิวพืชแล้ว ยังสามารถส่วนของเส้นใยแบบต่าง ๆ และผนังชั้นนอกของเส้นใยจะเป็นเมือกเหนียว ทำหน้าที่เป็นตัวยึดเกาะกับส่วนของพืช และทำหน้าที่ดูดน้ำเลี้ยงจากพืช (Hughes, 1976) ราดำที่เป็น saprophyte มักมีความสัมพันธ์กับแมลงจำพวก เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยจักจั่น โดยแมลงเหล่านี้จะขับน้ำหวาน (honey dew) ออกมา และราดำได้รับอาหารจากน้ำหวานที่แมลงขับออกมา

ราดำมีพืชอาศัยกว้างมาก ส่วนมากพบบนไม้ผล เช่น พืชตระกูลส้ม มะม่วง ลำไย ลองกอง ฝรั่ง น้อยหน่า พุทรา เป็นต้น และยังพบบนวัชพืชหลายชนิด สำหรับราดำบนมะม่วงอาจพบรานี้เข้าทำลายช่อดอก ทำให้ช่อดอกไม่ติดผล ราดำปกคลุมใบ และราเจริญอยู่ที่ขั้วผลหนาแน่น การเจริญของราดำบนใบ หรือกิ่งอ่อน มักเกิดหนาแน่น ประกอบด้วยเส้นใยที่มาสานกันเป็นกลุ่มสีดำ ปกคลุมอยู่บนผิวใบ ราดำนี้จะพบมากในฤดูฝน โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น (Thite และ Kulkarani, 1973)

การที่พืชหรือไม้ผลมีราดำปกคลุม มีผลทำให้พืชชนิดนั้นมีราคาตกลง หรือไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค แต่ส่วนใหญ่มักพบราเข้าทำลายที่ใบ และช่อดอกมากกว่าส่วนอื่น ทำให้ไม่ติดผล ผลผลิตลดน้อยลง ทำให้ผลผลิตมีคุณภาพต่ำ ซึ่งทำให้เกิดปัญหากับการส่งออก โดยเฉพาะลองกองจะพบว่ามีราดำติดอยู่ที่ผลมาก ปัจจุบันในประเทศไทยมีการศึกษาอนุกรมวิธานราดำน้อย และยังไม่มีรายงานถึงความเสียหายทางเศรษฐกิจจากราดำ ดังนั้นการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของราดำและความหลากหลายของราในกลุ่มนี้จะทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อราและยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อ เพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออกสินค้า ตลอดจนเป็นพื้นฐานในการศึกษาจำแนกอนุกรมวิธานราดำของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทย เพื่อหาวิธีการควบคุมราดำบนพืชเศรษฐกิจต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราดำจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระดาษ ถุงพลาสติค ปากกาเคมี ดินสอ กรรไกรตัดกิ่ง และ GPS

3. อุปกรณ์จัดเก็บตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผ่นไม้อัดทับตัวอย่าง กระดาษ

4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ slide cover slip ปากคีบ เข็มเขี่ยปลายแหลม ใบมีดโกน ตะเกียง ยาทาเล็บ

5. สารเคมีสำหรับ mount slide ได้แก่ lactophenol , lactic acid, shear's sulution

6. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพราจากกล้องจุลทรรศน์

7. คอมพิวเตอร์สำหรับเก็บข้อมูล

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่าง

สำรวจ และเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นราดำทั้งพืชเศรษฐกิจ วัชพืช และพืชป่า จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย โดยเก็บเฉพาะส่วนที่เป็นโรค เช่น ใบ ช่อดอก กิ่ง และผล และเก็บตัวอย่างพืชมาให้ครบทุกส่วนเพื่อประโยชน์ต่อการจำแนกชนิดของพืชนั้น ๆ และห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษ ใส่ในถุงพลาสติค และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์

2. จัดเก็บตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

แบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดให้แห้ง ด้วยแผงอัดตัวอย่างแห้ง (herbarium) และจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

3. การศึกษาและจำแนกชนิดของราดำ

3.1 การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของราดำ โดยบันทึกลักษณะของราที่เจริญอยู่บนส่วนของพืช

3.2 ตรวจลักษณะของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo โดยแยกราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช บันทึกลักษณะต่าง ๆ ของราบนผิวพืช ใช้เข็มเขี่ย เขี่ยส่วนของราหรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ มาวางบนแผ่นสไลด์ ที่มีหยดน้ำ หรือ mouting solution เช่น lactophenol, lactic acid, shear's sulution, และตรวจดูลักษณะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพด้วย camera lucida และบันทึdภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

3.3 เปรียบเทียบและจำแนกชนิดของรากับเอกสารต่าง ๆ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจรวบรวมราเขม่าดำ

สำรวจ รวบรวมราดำ จำนวนทั้งหมด 97 ตัวอย่าง จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย จำนวน 27 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ นครราชสีมา เพชรบุรี เพชรบูรณ์ กาญจนบุรี กรุงเทพ ฯ ชัยภูมิ ศรีสะเกศ นครราชสีมา กระบี่ ชุมพร ตรัง สงขลา พังงา นครนายก ปราจีนบุรี สระบุรี ราชบุรี จันทบุรี ตราด ขอนแก่น ตาก แพร่ ลำปาง เชียงใหม่ และเชียงราย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 ตัวอย่างแห้งของราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ เก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การศึกษาราดำ

จากราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ที่เก็บได้จำนวนทั้งหมด 97 ตัวอย่าง ได้นำมาจำแนกชนิดราดำจำนวน 45 ตัวอย่าง โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบราดำ 12 genera 34 species ได้แก่ รา *Aithaloderma clavatisporum* บนใบฝรั่ง จังหวัดอุบลราชธานี กาญจนบุรี และเชียงใหม่, *Aithaloderma* sp. 1 บนใบส้มโอ จังหวัดนครนายก และปราจีนบุรี, *Aithaloderma* sp. 2 บนใบลำไย จังหวัดเพชรบูรณ์, *Aithaloderma* sp. 3 บนใบพุทรา จังหวัดสระบุรีและราชบุรี, *Annellophragmia* sp. บนใบมะนาว อ. ปะทิว จ. ชุมพร *Cladosporium* sp. 1 บนใบพริกยักษ์ จังหวัดเชียงใหม่, *Cladosporium* sp. 2 บนใบพริก จังหวัดเพชรบูรณ์, *Cladosporium* sp. 3 บนใบขาไก่ จังหวัดเพชรบุรี, *Cladosporium* sp. 4 บนใบมะกอกน้ำ จังหวัดเพชรบุรี, *Cladosporium* sp. 5 บนผลพุทรา จังหวัดเชียงราย, *Leptoxyphium* sp 1 บนใบละมุด จังหวัด นครราชสีมา, *Leptoxyphium* sp 2 บนใบละมุด จังหวัดเชียงใหม่ *Meliola alstoniae* บนใบพญาสัตบรรณ จังหวัดกระบี่, *M. butleri* บนใบส้มเขียวหวาน จังหวัดแพร่และเชียงราย บนใบส้มโชกุน จังหวัดชุมพร บนใบมะกรูด จังหวัดปทุมธานีและเชียงใหม่ บนใบมะนาว จังหวัดเพชรบุรีและเชียงใหม่, *M. citricola* บนใบส้มโอ จังหวัดนครนายก ปราจีนบุรีและสงขลา, *M. dimorcarpi* บนใบลำไย จังหวัดเพชรบูรณ์ จันทบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ลำปางและชุมพร, *Meliola jasmine* บนใบมะลิ จังหวัดจันทบุรี, *Meliola tamarindi* บนใบมะขาม จังหวัดเพชรบูรณ์,, *Micropetis* sp. บนใบลำไย จังหวัดเพชรบูรณ์, *Phragmocapnias betle* บนใบกาแฟอาราบิก้า จังหวัดเชียงใหม่ บนใบ *Cyperus compactus* จังหวัดกระบี่และพังงา, *Polychaeton* sp. 1 บนใบกาแฟอาราบิก้า จังหวัดเชียงใหม่, *Polychaeton* sp. 2 บนใบละมุด จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย และนครราชสีมา, *Polychaeton* sp. 3 บนผลพุทรา จังหวัดเชียงราย, *Polychaeton* sp. 4 บนใบฝรั่ง จังกาญจนบุรี อุบลราชธานีและเชียงใหม่ *Scorias* sp. บนผลพุทรา จังหวัดเชียงราย, *Tetraploa aristata* บนใบมะพร้าว จังหวัดราชบุรี, *Tetraploa* sp. บนใบละมุด จังหวัด เชียงใหม่และนครราชสีมา *Torula*

herbatum บนใบมะพร้าว จังหวัดราชบุรี, *Torula* sp. บนใบละมุด จังหวัด เชียงใหม่และนครราชสีมา, *Trichomerium grandisporium* บนใบพุด จังหวัดเชียงใหม่, *Tripospermum* sp.1 . บนใบละมุด จังหวัด เชียงใหม่และนครราชสีมา, *Tripospermum* sp.2 บนใบส้มเขียวหวาน จังหวัดแพร่ , *Tripospermum* sp.3 บนใบฝรั่ง จังหวัดเชียงใหม่, *Tripospermum* sp.4 บนใบมะนาว จังหวัดชุมพร (ตารางที่ 1) ตัวอย่างแห้งของราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ เก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและจำแนกราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ จากจังหวัดต่าง ในประเทศไทย จำนวน 27 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2549 จำนวนทั้งหมด 97 ตัวอย่าง พบราดำ 12 genera 34 species ตัวอย่างแห้งของราดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. จัดพิมพ์โดยจามจุรีโปรดักท์ กรุงเทพฯ. 351 หน้า.

Huge, S.L. 1976. Sooty moulds. Mycologia 68: 639-820.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 รายชื่อราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างปี 2548-2549

ราดำ	พืชอาศัย		แหล่งที่เก็บ
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	
Aithaloderma clavatisporum	ฝรั่ง	*Psidium guajava*	ต.ท่าช้าง กิ่ง อ.สว่างวีรวงศ์ จ.อุบลราชธานี อ.เมือง จ.กาญจนบุรี อ.สันทราย จ.เชียงใหม่
Aithaloderma sp. 1	ส้มโอ	*Citrus maxima*	อ. สาลิกา จ. นครนายก อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
Aithaloderma sp. 2	ลำไย	*Dimocarpus longan*	เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Aithaloderma sp. 3	พุทรา	*Ziziphus jujuba*	อ.บ้านหมอ จ.สระบุรี บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี

ราดำ	พืชอาศัย		แหล่งที่เก็บ
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	
Annellophragmia sp.	มะนาว	*Citrus aurantifolia*	อ.ปะทิว จ.เชียงใหม่
Cladosporium sp. 1	พริกยักษ์	*Capsicum annuum* var. *grossum*	เชียงใหม่
Cladosporium sp. 2	พริก	*Capsicum annuum* var. *annuum*	เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Cladosporium sp. 3	ขาไก่	*Sericocalyx schomburgkii*	อ.ท่าทราย จ.เพชรบุรี
Cladosporium sp. 4	มะกอกน้ำ	*Elaeocarpus hygropsilus*	อ.ท่าทราย จ.เพชรบุรี
Cladosporium sp. 5	พุทรา	*Ziziphus jujuba*	อ.แม่สรวย จ.เชียงราย
Leptoxyphium sp. 1	ละมุด	*Manilkara kauki*	บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา อ. สันทราย จ. เชียงใหม่
Leptoxyphium sp. 2	พญาสัตบรรณ	*Alstonia scholaris*	อ.เมือง จ.กระบี่
Meliola alstoniae	พญาสัตบรรณ	*Alstonia scholaris*	อ.เมือง จ.กระบี่
Meliola butleri	ส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน มะกรูด มะนาว	*Citrus reticulata* *Citrus reticulata* *Citrus hystrix* *Citrus aurantifolia*	อ.ลอง จ. แพร่ อ.เมือง จ.เชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย อ. ปะทิว จ. ชุมพร จ.เชียงใหม่ จ.ปทุมธานี อ.ปะทิว จ.เชียงใหม่ อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี
Meliola citricola	ส้มโอ	*Citrus maxima*	อ. สาลิกา จ. นครนายก อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี ต.เขาพระ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา

ราดำ	พืชอาศัย		แหล่งที่เก็บ
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	
Meliola dimorcarpi i	ลำไย	*Dimocarpus longan*	อ. เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ อ. เมือง จ.จันทบุรี อ.เมือง อ.แม่สรวย จ.เชียงราย อ.พะโต๊ะ จ.ชุมพร อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง อ.แม่แตง อ.พร้าว จ.เชียงใหม่
Meliola jasmini	มะลิ	*Jasminum sambac*	ต.คมบาง อ.เมือง จ.จันทบุรี
Meliola tamarindi	มะขาม	*Tamarindus indica*	อ.หล่มสัก อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Micropeltis sp.	ลำไย	*Dimocarpus longan*	อ. เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Phragmocapnias betle	กาแฟ พันธุ์อาราบิก้า หญ้าคมบาง	*Coffea arabica* *Cyperus compactus*	อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่ อ.เขาพนม จ.กระบี่ อ.เมือง จ.พังงา
	พญาสัตบรรณ	*Alstonia scholaris*	อ.เมือง จ.กระบี่
Polychaeton sp.	กาแฟ พันธุ์อาราบิก้า ละมุด พุทรา ฝรั่ง	*Coffea arabica* *Manilkara kauki* *Psidium guajava*	อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่ อ.สันทราย จ. เชียงใหม่ บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา อ. แม่สรวย จ. เชียงราย ต.ท่าช้าง กิ่ง อ.สว่างวีรวงศ์ จ. อุบลราชธานี อ.เมือง จ.กาญจนบุรี อ.สันทราย จ.เชียงใหม่
Scorias sp.	พุทรา		อ.แม่สรวย จ. เชียงราย
Tetraploa aristata	มะพร้าว	*Cocos nucifera* L.var. *nucifera*	บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี
Tetraploa	ละมุด	*Manilkara kauki*	บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา อ.สันทราย จ. เชียงใหม่

ราดำ	พืชอาศัย		แหล่งที่เก็บ
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	
Torula herbatum	มะพร้าว	*Cocos nucifera* L.var. *nucifera*	บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี
Torula	ละมุด	*Manilkara kauki*	บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา อ.สันทราย จ. เชียงใหม่
Trichomerium grandisporium	ดอกพุด	*Gardinia augusta*	อ.แม่ริม จ.ชียงใหม่
Tripospermum sp.1	ละมุด	*Manilkara kauki*	บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา อ.สันทราย จ. เชียงใหม่
Tripospermum sp.2	ส้มเขียวหวาน	*Citrus reticulata*	อ. ลอง จ. แพร่
Tripospermum sp.3	ฝรั่ง	*Psidium guajava*	อ. สันทราย จ.เชียงใหม่
Tripospermum sp.4	มะนาว	*Citrus aurantifolia*	อ.ปะทิว จ.ชุมพร

สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราน้ำค้างสาเหตุโรคพืชไร่

Survey Collect and Identification of Downy Mildew diseases in Field Crops.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้างศึกษาเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างของข้าวโพดจำนวน 2 isolate จาก อ. แม่กรณ์ จังหวัดเชียงราย อ. แม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 2 isolate จาก อ. ทุ่งเสลี่ยม และ อ. ศรีสำโรง จ. สุโขทัย จำนวน 1 isolate จาก อ. ขาณุวรลักษณ์ จ. กำแพงเพชร จำนวน 1 isolate จาก อ. เมือง จ. ลพบุรี โรคราน้ำค้างของถั่วเหลืองจำนวน 9 isolate ที่ อ. แม่ริม อ. แม่แตง อ.สันกำแพง อ. แม่วาง อ. แม่แจ่ม อ. จอมทอง อ. เชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ อ. เมือง จ. พิจิตร ตรวจดูและบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค และเก็บตัวอย่างแห้งพืชที่เป็นโรค ส่งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ผลการจำแนกเชื้อสาเหตุพบโรคราน้ำค้างข้าวโพด เกิดจากเชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* โรคราน้ำค้างถั่วเหลือง เกิดจากเชื้อรา *Peronospora manshurica*

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

โรคราน้ำค้าง (Downy Mildew) เป็นโรคที่พบเสมอในที่มีอากาศเย็น และมีน้ำค้างเชื้อรา สาเหตุโรคนี้ทำให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น ข้าวโพด ยาสูบ ถั่วเหลือง โรคนี้เป็นอุปสรรคอย่างยิ่งต่อการผลิตทุกๆ แหล่งปลูก ทุกระยะของการเจริญเติบโต ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงเก็บเมล็ดพันธุ์ ในข้าวโพดหากเป็นโรคนี้ขณะข้าวโพดอายุต่ำกว่า 1 เดือน ทำความเสียหายแก่ผลผลิตถึง 100% พัฒนาและคณะ (2542) จัดทำดรรชนีโรคพืชที่เป็นโรคราน้ำค้างในประเทศไทย ดังนี้ เชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* ทำให้เกิดโรคกับข้าวโพด *Peronosclerospora spontanea* ทำให้เกิดโรคกับอ้อย *Peronospora trifoliorum* ทำให้เกิดโรคกับถั่วเหลือง *Plasmopara sp.* ทำให้เกิดโรคกับทานตะวัน Frederiksen, R. A., และ Renfro, B.L.(1977) รายงานว่าโรคราน้ำค้างบนข้าวโพดในประเทศไทยมีความสำคัญมานานกว่า 10 ปี สมเกียรติและคณะ(2521) ได้รายงานพบการระบาดของโรคราน้ำค้างอ้อยซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Sclerospora spontanea* ที่ ต. นครชุม อ. เมือง จ. กำแพงเพชร เป็นการพบโรคนี้ครั้งแรกในประเทศไทย สมเกียรติ ฐิตะฐาน และคณะ(2524) ได้รายงานว่าโรคราน้ำค้างข้าวโพดที่พบระบาดในประเทศไทยมี 2 species คือ *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G.Shaw (Syn. *Sclerospora sorghi* Weston & Uppal) และ *Peronosclerospora spontanea* (Weston) C.G.Shaw (Syn. *Sclerospora sorghi* Weston) แต่ที่พบมากที่สุดคือ *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G.Shaw Bonman, J. M., และคณะ .(1983) รายงานว่าหญ้าพื้นเมืองของประเทศไทยจำนวน 25 ชนิด และหญ้าที่นำเข้ามาทดสอบจำนวน 20 ชนิด อ่อนแอต่อเชื้อ *Peronosclerospora sorghi* Thurston H. D. (1988) ได้กล่าวว่าโรคราน้ำค้างเป็นโรคที่สำคัญทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ราน้ำค้างข้าวโพด มีสาเหตุจากเชื้อ *Peronosclerospora sorghi* และ *Peronosclerospora philippinensis* ราน้ำค้างข้าวฟ่างมีสาเหตุจากเชื้อ *Peronosclerospora sorghi* ราน้ำค้างของ millets มีสาเหตุจากเชื้อ *Sclerospora graminicola* ราน้ำค้างถั่วเหลืองมีสาเหตุจากเชื้อ *Peronospora manshurica* และ ราน้ำค้างยาสูบมีสาเหตุจากเชื้อ *Peronospora hyoscyami* f. sp. *tabacina* เป็นโรคที่ทำความเสียหายอย่างมากกับการผลิตยาสูบ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์
2. กรอบไม้อัดตัวอย่างแห้งโรคพืช
3. สไลด์ กระจกปิดสไลด์

4. กล้องจุลทรรศน์
5. lactophenol

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชไร่
2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของเชื้อราน้ำค้างสาเหตุโรคพืช บนพืชอาศัย
3. จัดจำแนกสกุล ชนิด ของเชื้อราน้ำค้างสาเหตุโรคพืช
4. ศึกษาเขตการระบาดและการแพร่กระจาย
5. นำตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรคราน้ำค้าง ทำการอัดแห้ง
6. นำตัวอย่างไปเก็บในตู้อุณหภูมิต่ำ เพื่อทำการฆ่าแมลงหรือไรที่อาจติดมา
7. ลงรายละเอียดชนิดพืช สกุล ชนิด ของเชื้อราน้ำค้างสาเหตุโรค สถานที่เก็บ ผู้เก็บ ฯ ตามระบบสากล
8. เก็บเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช

<u>การเก็บข้อมูล</u>

1. ทำการบันทึก สถานที่ วันที่ และชนิดของพืช / เมล็ดพืชที่เก็บตัวอย่าง
2. บันทึกอาการของโรค และลักษณะสัณฐานของราบนพืชอาศัย
3. บันทึกข้อมูลทางสรีระวิทยา
4. บันทึกภาพ / ข้อมูลภาพ ของเชื้อราน้ำค้างแต่ละชนิด
5. จัดเก็บข้อมูลให้เป็นระบบ

เวลาและสถานที่

กันยายน 2548 – ตุลาคม 2549

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการโรคราน้ำค้างในแหล่งปลูกพืชไร่ได้เก็บตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการโรคราน้ำค้างของข้าวโพดจำนวน 2 isolate จาก อ. แม่กรณ์ จังหวัดเชียงราย อ. แม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 2 isolate จาก อ. ทุ่งเสลี่ยม และ อ. ศรีสำโรง จ. สุโขทัย จำนวน 1 isolate จาก อ. ขาณุวรลักษณ์ จ. กำแพงเพชร จำนวน 1 isolate จาก อ. เมือง จ. ลพบุรี ถั่วเหลืองที่มีลักษณะอาการโรคราน้ำค้างจำนวน 9 isolate ที่ อ. แม่ริม อ. แม่แตง อ.สันกำแพง อ. แม่วาง อ. แม่แจ่ม อ. จอมทอง อ. เชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ อ. เมือง จ. พิจิตร ตรวจดู

และบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูกพบว่าใบข้าวโพดมีลักษณะสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวแก่ใบอ่อนที่ยอดมีสีเขียวอ่อนเมื่อพลิกดูใต้ใบพบผงสีขาวของเชื้อรา ข้าวโพดที่อายุมากรอยสีเขียวอ่อนหรือสีเหลืองก็จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลักษณะคล้ายใบไหม้และแห้งตายในที่สุด ลักษณะอาการอื่นที่พบได้แก่ ต้นแคระแกรน เตี้ย ข้อถี่ ไม่มีฝักหรือมีฝักขนาดเล็ก ก้านฝักมีความยาวมากหรือมีจำนวนฝักมากกว่าปกติ แต่จะไม่สมบูรณ์ เช่น มีเมล็ดจำนวนน้อยหรือไม่มีเมล็ดเลย ยอดแตกฝอยเป็นพุ่ม เกสรตัวผู้กลายเป็นเกสรตัวเมียสร้างเมล็ดและต้นอ่อน

ถั่วเหลืองพบว่าใบของถั่วเหลืองด้านบนใบมีสีเหลืองอ่อนขนาดของแผลไม่แน่นอนเมื่อพลิกดูด้านใต้ใบพบผงสีเทาอ่อน หรือเทาอมม่วง ถั่วเหลืองที่มีอาการโรคนี้รุนแรงเนื้อเยื่อพืชตรงบริเวณแผลจะตายแห้งและโหว่ นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค เก็บตัวอย่างแห้งพืชที่เป็นโรคส่งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช และนำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อสาเหตุ วัดขนาดของ spore และถ่ายรูปเชื้อสาเหตุจาก permanent slide ผลการจำแนกเชื้อสาเหตุพบว่าโรคราน้ำค้างข้าวโพดเกิดจากเชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* (Weston &Uppal) C.G. Shaw เชื้อราชนิดนี้มีก้านชูสปอร์ตรง แผ่ขยายออกที่ปลาย สีใส มักจะแตกแขนงแบบสองแฉกเสมอ จากใต้ใบและด้านบนของใบ สปอร์ใสรูปไข่หรือรียาวมีขนาดอยู่ระหว่าง 14-26x15-28 ไมครอน ติดอยู่บนก้านชูเรียวแหลม โรคราน้ำค้างของถั่วเหลือง ผลการจำแนกเชื้อสาเหตุ พบว่าโรคราน้ำค้างถั่วเหลือง เกิดจากเชื้อรา *Peronospora manshurica* (Naum.) Syd. ex Gaum. (syn. *P. sojae* Lehman and Wolf) เชื้อราชนิดนี้มีก้านชูสปอร์เรียวคล้ายต้นไม้แตกแขนงออกเป็นสองแฉกโดยแตกได้ตั้งแต่สองถึงสิบครั้งด้านใต้ใบถั่วเหลือง สปอร์ค่อนข้างใสรูปไข่หรือรีมีขนาดอยู่ระหว่าง 10-19x8-24 ไมครอน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้างศึกษาเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างของข้าวโพดจำนวน 2 isolate จาก อ. แม่กรณ์ จังหวัดเชียงราย อ. แม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 2 isolate จาก อ. ทุ่งเสลี่ยม และ อ. ศรีสำโรง จ. สุโขทัย จำนวน 1 isolate จาก อ. ขาณุวรลักษณ์ จ. กำแพงเพชร จำนวน 1 isolate จาก อ. เมือง จ. ลพบุรี พบว่าใบข้าวโพดที่เป็นโรคราน้ำค้างมีลักษณะสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวแก่ใบอ่อนที่ยอดมีสีเขียวอ่อนเมื่อพลิกดูใต้ใบพบผงสีขาวของเชื้อรา ข้าวโพดที่อายุมากรอยสีเขียวอ่อนหรือสีเหลืองก็จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลักษณะคล้ายใบไหม้และแห้งตายในที่สุด เก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้างของถั่วเหลืองจำนวน 9 isolate ที่ อ. แม่ริม อ. แม่แตง อ.สันกำแพง อ. แม่วาง อ. แม่แจ่ม อ. จอมทอง อ. เชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ อ. เมือง จ. พิจิตร ตรวจดูและบันทึก

ลักษณะอาการในแปลงปลูก ใบของถั่วเหลืองด้านบนใบมีสีเหลืองอ่อนขนาดของแผลไม่แน่นอน เมื่อพลิกดูด้านใต้ใบพบผงสีเทาอ่อน หรือเทาอมม่วง นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค และเก็บตัวอย่างแห้งพืชที่เป็นโรค ส่งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ผลการจำแนกเชื้อสาเหตุพบโรคราน้ำค้างข้าวโพด เกิดจากเชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* โรคราน้ำค้างถั่วเหลือง เกิดจากเชื้อรา *Peronospora manshurica* วัดขนาดของ spore และถ่ายรูปเชื้อสาเหตุจาก permanent slide

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันกำจัดโรคพืชด้วยสารเคมี กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 171 หน้า.

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

สมเกียรติ ฐิตะฐาน ดิลก อัญชลิสังกาศ นิยม จิ้วจิ้น และฤกษ์ ศยามานนท์. 2521. เอกสารทางวิชาการเรื่องโรคราน้ำค้างของอ้อยในประเทศไทย. สาขาโรคพืชไร่ กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 14 หน้า.

สมเกียรติ ฐิตะฐาน ดิลก อัญชลิสังกาศ วีระ แจ่มกระจ่าง และนิยม จิ้วจิ้น. 2524. เอกสารทางวิชาการเรื่องโรคข้าวโพด สาขาโรคพืชไร่ กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 22 หน้า.

Bonman, J. M., Paisooksantivatana, Y., and Pitipornchai, P. 1983. Host range of *Peronosclerospora sorghi* in Thailand. Plant Dis. 67:630-632.

Frederiksen, R. A., and Renfro, B.L. 1977. Global status of maize downy mildew. Annu. Rev. Phytopathol. 15:249-275.

Thurston H. D. 1988. Tropical Plant Diseases. Amrican Phytopathological Society, St. Paul, MN.200 p.

มณฑา นันทพันธ์.2548. เอกสารวิชาการโรคถั่วเหลืองและการป้องกันจำกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 จ. เชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 57 หน้า.

James B. S. 1982. Compendium of Soybean Diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minesota. 104 pp.

สำรวจ รวบรวมเชื้อราโรคราน้ำค้างของพืชผักและไม้ผล[1]

Collection and Identification of Downy Mildew Diseases on Vegetable and Fruit Crop

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส
และเพลินพิศ สงสังข์
กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผักและไม้ผล ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 ได้ตัวอย่างโรคราน้ำค้างองุ่น จากประจวบคีรีขันธ์ 2 ตัวอย่างและราชบุรี 1 ตัวอย่าง รวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างไม้ผล 3 ตัวอย่าง โรคราน้ำค้างคะน้า (1) ผักขมจีน (1) และกวางตุ้ง (1) จากสวนผักจังหวัดนนทบุรี รวม 3 ตัวอย่าง โรคราน้ำค้างคะน้า จากจังหวัดสุพรรณบุรี 1 ตัวอย่าง โรคราน้ำค้างกวางตุ้ง (1) จากราชบุรี โรคราน้ำค้างแตงร้าน (1) คะน้า (1) และผักกาดขาวปลี (1) จากกาญจนบุรี รวม 3 ตัวอย่าง โรคราน้ำค้างแตงร้าน จากจังหวัดเพชรบุรี 1 ตัวอย่าง โรคราน้ำค้างคะน้า (1) ผักกาดขาวปลี (2) แตงกวา (1) บวบ (1) กวางตุ้ง (4) จากเชียงใหม่ รวม 9 ตัวอย่าง และโรคราน้ำค้างแตงกวา จากจังหวัดเลย 1 ตัวอย่าง รวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างผัก 19 ตัวอย่าง รวมเป็นตัวอย่างโรคราน้ำค้างทั้งหมด 22 ตัวอย่าง ตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก ถ่ายภาพตัวอย่างโรค เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคอัดให้แห้ง ส่งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์โรคพืชนำตัวอย่างโรคราน้ำค้างอีกส่วนหนึ่งมาจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ โดยจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยสาเหตุโรค

ผลการสำรวจพบโรคราน้ำค้างในสวนองุ่น 3 แห่ง ในแปลงผักพบโรคราน้ำค้าง เกือบทุกแปลงผัก โดยเฉพาะระยะใกล้เก็บเกี่ยว และระยะเวลาช่วงปลายฝนต้นหนาว พบการระบาดของโรคมากและรุนแรง มักพบโรคเกิดกับใบแก่บริเวณใต้ใบ ใน ฤดูแล้งไม่พบโรคราน้ำค้าง

ผลการจำแนกเชื้อสาเหตุพบว่า โรคราน้ำค้างองุ่น มีสาเหตุจาก เชื้อรา *Plasmopara vasticola* (Berk. & Curt.) Berl. & de Toni พืชตระกูลแตง ได้แก่ แตงร้าน แตงกวา และบวบ ที่เป็นโรคราน้ำค้าง มีสาเหตุจาก รา *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & Curt.) Rost. ส่วนพืชตระกูลผักกาด ได้แก่ คะน้า ผักขมจีน ผักกาดขาวปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำใบ และกวางตุ้งที่เป็นโรคราน้ำค้าง มีสาเหตุจาก รา *Peronospora parasitica* (Pers. ex. Fr.) Tul.

[1] รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างจัดอยู่ใน class Oomycetes วงศ์ (Family) Peronosporaceae ลักษณะประจำ วงศ์ คือ ก้านชูสปอร์ (sporangiophore) ต่างจาก เส้นใย (somatic hyphae) อย่างเห็นได้ชัด สปอร์แรงเจีย (sporangia) อาจเกิดเดี่ยว หรือเป็นกระจุกที่ปลาย ลักษณะการเจริญของเส้นใยในพืช เป็นทั้งการเจริญเข้าไปในเซลล์ (intarcellular parasite) หรืออยู่ระหว่างเซลล์ (intercellular parasite) โดยสร้างเส้นใยพิเศษทำหน้าที่ดูดซับอาหารและน้ำ (haustoria) เซลล์ของพืช (cell host) การแยกออกเป็นชนิด (genera) ต่างๆ นั้น อาศัยลักษณะการแตกกิ่งก้านของก้านชูสปอร์เป็นหลัก ราใน วงศ์ นี้มีการวิวัฒนาการมากกว่าพวกอื่นๆ ใน Oomycetes เพราะ ทุกสกุล (genus) อาศัยอยู่บนบก เป็นราที่อาศัยเจริญเติบโตบนสิ่งที่มีชีวิตเท่านั้น (obligate parasite) รา สร้างเส้นใยที่เจริญแตกกิ่งก้านสาขาออกไปมากมาย ผนังเส้นใยมีส่วนประกอบ เป็น cellulose และ β-glucan ไม่มีผนังกั้นเซลล์ สปอแรนเจียม (sporangium) เมื่อแก่จะหลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ง่าย เป็นพวกเกิดในอากาศ การแยกออกเป็น genera ต่างๆ นั้น ได้อาศัยลักษณะการแตกกิ่งก้านของ sporangiophores เป็นหลัก สาเหตุที่เรียกราพวกนี้ว่าเป็น โรคราน้ำค้าง อาจเป็นเพราะการเกิดของ สปอแรนเจียม และ ก้านชูสปอร์เกิดด้านนอกของผิวของพืช ทำให้มีลักษณะโผล่หรือยื่นออกมาคล้ายๆ กำมะหยี่เป็นกลุ่มก้อนของสปอร์ มีสีขาว สีเทา ปรากฏบนผิวใบตัดสีเขียวของพืช ราพวกนี้แบ่งออกเป็น สกุล ต่างๆ ได้ง่ายโดยอาศัยลักษณะรูปร่างของก้านสปอร์เป็นสำคัญ เช่น *Plasmopara, Peronospora* ก้านสปอร์มีลักษณะใสไม่มีสี ชัดเจน แตกกิ่งก้านสาขาต่างกันออกไปแต่ละ สกุล ก้านสปอร์เกิดในปากใบของพืชที่มันทำลาย ก้านสปอร์จะแห้งตาย หลังจากที่สปอร์หลุดออกไปแล้ว จะไม่มีการสร้างสปอร์ใหม่อีก (ทวี, 2549)

โรคราน้ำค้างพบทั่วไปบนกะหล่ำ คะน้าและผักกาด พืชมักแสดงอาการรุนแรง ในระยะกล้าใบเลี้ยงเกิดเป็นจุดช้ำ แผลขยายลุกลามรวดเร็ว ลำต้นเน่ายุบ ทำให้พืชตายหรือแคระแกร็นไม่เจริญเติบโต ในระยะต้นโตใบพืชที่เป็นโรคมักเกิดจุดสีเหลืองซีดเป็นหย่อมๆ ขึ้นที่ใบ ขยายออกเป็นหย่อมแผลสีน้ำตาลในเนื้อใบ เมื่ออากาศชื้นจัดในช่วงเช้าตรู่ หรือหลังฝนตกใหม่ๆ มักพบเส้นใยและสปอร์ของราสาเหตุโรคเจริญปกคลุมบริเวณที่เหลืองซีดนั้น ลักษณะเป็นขุยสีขาว หรือสีเทาอ่อน เห็นได้ชัดด้านใต้ใบ แต่ถ้าอากาศแห้งจะพบแต่อาการเหลืองซีดเท่านั้น ในกะหล่ำดอกและบร๊อคโคลี่ ถ้าเชื้อราเข้าทำลายในระยะสร้างดอกจะเกิดเป็นจุดดำเล็กๆ บนช่อดอก อาการรุนแรงดอกอาจยืด หรือบิดเบี้ยวเสียรูปทรง ในกะหล่ำปลีเกิดเป็นจุดเล็กๆ บนใบไม่ค่อยขยายขนาด (*ศศิธร*, 2545)

บนใบพืชตระกูลแตงจะเป็นปื้นสีเหลืองสดใสตามผิวใบด้านบน ปื้นสีเหลืองนี้ต่อไปจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจากกลางแผลออกไป ส่วนด้านใต้ใบเป็นจุดที่ปกคลุมด้วยกลุ่มสปอร์สีเทาดำ

จุดดังกล่าวคือเนื้อเยื่อตาย จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบแตงที่เป็นโรคแสดงลักษณะอาการเป็นจุดเหลี่ยมอยู่ในขอบเขตของเส้นใบ ใบที่เป็นโรคค่อยๆ แห้งลง แต่ไม่หลุดร่วงจากเถา ถ้าโรคระบาดในระยะที่แตงยังเล็กอยู่ อาจทำให้เถาแตงแห้งตาย หรือถ้าเป็นโรคในระยะที่ผลยังอ่อน จะทำให้ผลมีขนาดลีบเล็กลง บิดเบี้ยว แคระแกร็นและคุณภาพต่ำ เกิดความเสียหายอย่างมาก ในแคนตาลูปและแตงโม โรคนี้ทำให้ความหวานลดลง (จุมพล และคณะ, 2540)

การเกิดโรคของพืชที่มีรายงานไว้แต่เดิมอาจเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือจากการเขตกรรม เนื่องจากเกษตรกรมีการดูแลรักษาที่ดีขึ้นกว่าเดิม หรืออาจเป็นเพราะความต้านทานของพืชเอง ที่ทำให้เชื้อลดความรุนแรงลงหรือหมดไป ในทางตรงข้ามความรุนแรงของโรคอาจมีมากขึ้น หรือมีการแพร่ระบาดของโรคเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการสำรวจ รวบรวมเชื้อราโรคราน้ำค้างของพืชผักและไม้ผลอย่างสม่ำเสมอ จึงมีความจำเป็น ให้ทราบถึงการแพร่ระบาดของโรค เพื่อให้มีการป้องกันกำจัดโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผักและไม้ผล จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผักและไม้ผล จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ได้แก่ แหล่งปลูกในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตกและภาคใต้ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 ตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก ถ่ายภาพตัวอย่างโรค แล้วนำตัวอย่างโรคพืชเหล่านั้นมาจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคราน้ำค้างบนพืชต่าง ๆ

ศึกษาลักษณะอาการบนพืชไม้ผล พืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด และพืชผักตระกูลแตงในสภาพธรรมชาติ ถ่ายภาพลักษณะอาการต่างๆ เหล่านั้น เก็บไว้ที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ.

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างบนไม้ผล พืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด และบนพืชผักตระกูลแตง โดยจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยสาเหตุโรค แล้วถ่ายภาพเชื้อราสาเหตุโรคใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (sporangiophores) และ สปอร์แรงเจีย (sporangia)

4. การจำแนกชนิด เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (sporangiophores) และสปอร์แรงเจีย (sporangia) ของราสาเหตุโรคราน้ำค้าง กับคู่มือการจำแนกเชื้อรา class Oomycetes ของ Alexopoulos *et al* (1996)

ผลการทดลอง

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผักและไม้ผล จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ

ผลการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผักและไม้ผล จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ได้ตัวอย่างโรคราน้ำค้างพืชผักและไม้ผล ดังนี้ (ตารางที่ 1)

1.1 แหล่งปลูกภาคเหนือ

จังหวัดเชียงใหม่ พบโรคราน้ำค้างผัก จำนวน 9 ตัวอย่าง คือ โรคราน้ำค้างคะน้า (1) ผักกาดขาวปลี (2) แตงกวา (1) บวบ (1) และกวางตุ้ง (4)

1.2 แหล่งปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

จังหวัดเลยพบโรคราน้ำค้างแตงกวา 1 ตัวอย่าง

1.3 แหล่งปลูกภาคกลาง

จังหวัดนนทบุรี พบโรคราน้ำค้างคะน้า (1) ผักขมจีน (1) และกวางตุ้ง (1) รวม 3 ตัวอย่าง จังหวัดราชบุรี พบโรคราน้ำค้างองุ่น 1 ตัวอย่าง โรคราน้ำค้างกวางตุ้ง 1 ตัวอย่าง รวม 2 ตัวอย่างและจังหวัดสุพรรณบุรี พบโรคราน้ำค้างคะน้า 1 ตัวอย่าง

1.4 แหล่งปลูกภาคตะวันตก

จังหวัดกาญจนบุรี พบโรคราน้ำค้างแตงร้าน (1) คะน้า (1) และผักกาดขาวปลี (1) จาก รวม 3 ตัวอย่าง

1.5 แหล่งปลูกในภาคใต้

จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พบโรคราน้ำค้างองุ่น 2 ตัวอย่าง และจังหวัดเพชรบุรี พบโรคราน้ำค้างแตงร้าน 1 ตัวอย่าง

รวมได้สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างทั้งหมด 22 ตัวอย่าง ตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก ถ่ายภาพตัวอย่างโรค เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคอัดแห้ง ส่งเข้าจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช และนำตัวอย่างโรคราน้ำค้างอีกส่วนหนึ่งไปศึกษาสาเหตุของโรค โดยการทำ permanent slide

2. **การศึกษาลักษณะอาการของโรคราน้ำค้างบนพืชต่าง ๆ**

ศึกษาลักษณะอาการบนพืชไม้ผล พืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด และพืชผักตระกูลแตง ในสภาพธรรมชาติ ดังนี้

2.1 **ลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนไม้ผล**

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนพืชไม้ผล พบว่า ลักษณะอาการเริ่มแรกของโรค ซึ่งปรากฏที่ด้านบนของใบอ่อนที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเป็นจุดสีเหลือง หรือสีเขียวอ่อน ต่อมาเมื่ออาการรุนแรงขึ้นเชื้อขยายลามทำให้แผลขยายใหญ่เป็นปื้นสีเหลือง เมื่อเป็นนานๆ แผลจะกลายเป็นสีน้ำตาล ทำให้ใบแห้งกรอบ ส่วนบริเวณด้านใต้ใบ จะพบเชื้อราสาเหตุโรคเป็นขุยสีขาวปกคลุมบริเวณที่เหลืองซีด เห็นได้ชัดเจน

2.2 **อาการโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด**

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด พบว่า ลักษณะอาการเริ่มแรกเกิดแผลสีเหลืองซีดขึ้นที่ใบ ขยายออกเป็นแผลสีเหลืองคล้ำๆ เป็นหย่อมๆ จะพบเชื้อราสาเหตุโรคลักษณะเป็นขุยสีขาวอมเทาอ่อน ปกคลุมอยู่ในบริเวณแผล เห็นได้ชัดเจนทางด้านใต้ใบ

2.3 **อาการโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลแตง**

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลแตง พบว่า ลักษณะอาการบนใบเป็นจุดสีเหลืองสดใสตามผิวใบด้านบน ส่วนด้านใต้ใบเป็นจุดที่ปกคลุมด้วยกลุ่มสปอร์สีเทา จุดซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบแตงที่เป็นโรคแสดงลักษณะอาการเป็นจุดเหลี่ยมอยู่ในขอบเขตของเส้นใบ ใบที่เป็นโรคค่อยๆ แห้งลง แต่ไม่หลุดร่วงจากเถาว์

3. **การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง**

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างบนไม้ผล พืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด และบนพืชผักตระกูลแตง ดังนี้

3.1 **ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างไม้ผล**

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างไม้ผล ได้แก่ โรคราน้ำค้างองุ่น พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง การแตกกิ่งก้านและแตกกิ่งย่อยออกไปของ sporangiophore ทำมุมฉากต่อกัน สร้าง sporangium ใส เซลล์เดียว เป็นรูปไข่

3.2 **ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด**

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชตระกูลผักกาด ได้แก่ คะน้า กวางตุ้ง ผักขมจีน และผักกาดขาวปลี พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสร้างเส้นใย

แบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง มี sporangiophore ที่เรียวยาว แตกกิ่งเป็นมุมแหลม ส่วนปลายเรียวยาวและโค้งเล็กน้อย คล้ายเขากวาง ชูออกมาจากปากใบ สร้าง sporangium รูปกลม หรือรูปไข่

3.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชตระกูลแตง

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชตระกูลแตง ได้แก่ แตงร้าน แตงกวา และบวบ พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง สร้าง sporangium รูปไข่ บน sporangiophore ที่เรียวยาว แตกกิ่งเป็นมุมป้าน ปลายมน

4. การจำแนกชนิด เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (sporangiophores) และสปอร์แรงเจีย (sporangia) ของราสาเหตุโรคราน้ำค้าง กับคู่มือการจำแนกเชื้อรา class Oomycetes ของ Alexopoulos et al (1996) พบว่า

4.1 เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างองุ่น คือ รา *Plasmopara vasticola* (Berk. & Curt.) Berl. & de Toni

4.2 เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด คือ รา *Peronospora parasitica* (Pers. ex. Fr.) Tul.

4.3 เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชผักตระกูลแตง คือ รา *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & Curt.) Rost.

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผักและไม้ผล จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ครั้งนี้ พบโรคราน้ำค้างองุ่น จากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และราชบุรี จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง รวม 2 ตัวอย่าง มีสาเหตุจาก รา *Plasmopara vasticola* ซึ่งตรงกับการรายงาน เมื่อ 40 ปีที่แล้วของ นิรนาม ที่รายงานโรคราน้ำค้างที่พบในประเทศไทย ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2505 (นิรนาม, 2505) และ ทนง ที่ได้สำรวจโรคองุ่นในบางท้องที่ของประเทศไทย และใน ปี พ.ศ. 2508 (ทนง, 2508) ส่วนราน้ำค้างกับพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด พบการระบาดกับ คะน้า กวางตุ้ง ผักขมจีน และผักกาดขาวปลี มีสาเหตุจาก *Peronospora parasitica* ซึ่งตรงกับการรายงานการเกิดโรคกับพืชผักในประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2505 ของ Puckdeedindan (1966) ที่รายงานการแพร่ระบาดของโรคราน้ำค้างบนผักคะน้าจีน และผักกาดขาวปลี (ผักกาดหางหงส์ หรือผักกาดฮ่องเต้) และ ศุภลักษณ์ (2527) ที่รายงานการเกิดโรคราน้ำค้างกวางตุ้ง และมีรายงานการเกิดโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลนี้อีกหลายชนิดในประเทศไทย คือ ผักกาดเขียวปลี ผักกาดหัว กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กะหล่ำปม และ

กะหล่ำดอกอิตาเลียน (บร๊อคโคลี่) (พัฒนาและคณะ, 2537) เช่นเดียวกับการรายงานโรคกับ ผักกาด คะน้า กะหล่ำดอก และบร๊อคโคลี่ ของ ศศิธร (2545) นอกจากนี้ในการสำรวจโรคราน้ำค้างในครั้งนี้ พบโรคราน้ำค้างบนพืชตระกูลแตง ได้แก่ แตงร้าน แตงกวา และบวบ มีสาเหตุจาก รา *Pseudoperonospora cubensis* ซึ่งตรงกับการรายงานของประไพศรีและคณะ (2525) และสมศิริ (2532) และมีรายงานการเกิดโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลนี้อีกหลายชนิดในประเทศไทย คือ ฟัก ฟักเขียว และแฟง แตงโม แตงไทย แตงเทศ แตงฝรั่ง และมะระจีน (พัฒนาและคณะ, 2537)

แม้จะมีการรายงานการพบโรคราน้ำค้างในประเทศไทยมานานกว่า 50 ปี แต่ในการสำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างครั้งนี้ ยังคงพบการระบาดของโรคในแปลงผักทั่วไป ทำให้น่าสนใจว่า การควบคุมโรคนี้ในประเทศไทยไม่ได้ผลหรืออย่างไร ดังนั้นการสำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรคราน้ำค้างต่อเนื่องเป็นประจำ อย่างสม่ำเสมอทั่วประเทศ จึงมีความจำเป็น เพื่อประโยชน์ในการหาทางป้องกันกำจัดโรคราน้ำค้างอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จุมพล สาระนาค อรพรรณ วิเศษสังข์. และจักรพงษ์ เจิมศิริ. 2540. คู่มือนักวิชาการภาคสนาม “โรคผัก”.

เอกสารวิชาการ ฝ่ายวิเคราะห์และบริการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 6 กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 3 (2544). หน้า 66-67 และหน้า 104-105.

ทนง พงษ์พานิช. 2508. การสำรวจโรคอุ่นขั้นต้นในบางท้องที่ของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 61 หน้า.

ทวี เก่าศิริ. 2549. หน่วยที่ 9 สาเหตุโรคพืช ตอนที่ 9.1 รา เรื่องที่ 9.1.1 ลักษณะทั่วไปของราสาเหตุโรคพืชและหน่วยที่ 10 ชนิดของโรคพืช ตอนที่ 10.1 โรคพืชที่เกิดจากรา เรื่องที่ 10.1.1 รา สาเหตุโรคพืชที่สำคัญ. *ใน* เอกสารการสอนชุดวิชา ศัตรูพืชเบื้องต้น หน่วยที่ 8-15 มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์. หน้า 9-5 – 9-26 และหน้า 10-8 - 10-33.

นิรนาม. 2505. รายชื่อโรคที่ตรวจพบ. หน้า 207-215. *ใน* รายงานประจำปี แผนกโรควิทยา. กองพืชพันธุ์. กรมกสิกรรม.

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน วิรัช ชูบำรุง ปิยะ เกียรติก้องและอภิชัย อยู่เอี่ยม. 2525. โรคราน้ำค้างของพืชตระกูลแตงบางชนิด. ไม่มีเลขที่หน้า. *ใน* รายงานผลการทดลอง พ.ศ. 2525 เล่มที่ 1 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุงและอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. (ปรับปรุงครั้งที่ 3). 285 หน้า.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค.เอกสารวิชาการ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 173 หน้า.

ศุภลักษณ์ ฮอกะวัต. 2527. โรคพืชผัก. อกสารประกอบการสอนวิชา 111 / 413. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 99 หน้า.

สมศิริ แสงโชติ. 2532.โรคพืชเศรษฐกิจ : พืชผัก. บริษัทประชาชน จำกัด. 74 หน้า.

Alexopoulos, C. J. and C. W. Mims and M. Blackwell. 1996. Introductory Mycology. 4th Edition. John Wily & Son, Inc., New York, U. S. A. 868 pp.

Puckdeedindan, P. 1966. A supplementary host list of plant disease in Thailand. Tech. Bull. No. 7, Dept. of Agr., Bangkok. 24 p.

สำรวจ รวบรวมและจำแนก เชื้อแบคทีเรีย*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] นงรัตน์ นิลพานิชย์[2/] รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์[2/]

1/ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2/ กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาข้าว กรมการข้าว

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้งของข้าวจากแปลงปลูกข้าวในเขตจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี อุดรธานี และหนองคาย จำนวน 40 ตัวอย่าง และเขตภาคเหนือ ได้แก่ เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ พิษณุโลก แพร่ จำนวน 20 ตัวอย่างรวมตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหาร Potato synthetic agar ได้แบคทีเรียโคโลนีกลม สีเหลืองนวล ขอบเรียบเป็นมัน จำนวน 50 ไอโซเลท นำไปทดสอบการเป็นโรคบนต้นกล้าข้าวพันธุ์ NT 1 พบเสามารถทำให้ต้นข้าวแสดงอาการของโรคขอบใบแห้ง จำนวน 45 ไอโซเลท เมื่อนำมาจำแนกตามคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าเชื้อทั้ง 45 ไอโซเลทมีคุณสมบัติเหมือนกับเชื้อ *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*

รหัสโครงการ 09- 02- 49- 01

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง (Bacterial Blight disease) ของข้าว เป็นเชื้อที่แพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับแหล่งปลูกข้าวทั่วโลก โดยเฉพาะในแถบเอเชีย (Mew, 1987) เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางกักกันพืช ในกลุ่มสหภาพยุโรปจัดให้อยู่ในกลุ่ม EPPO A1 เชื้อนี้มีรายงานว่าสามารถติดไปกับเมล็ด (seed borne) ทำให้ทีโอกาสถ่ายทอดโรคทางเมล็ดได้ (seed transmission) (Singh *et.al*., 1983) และเชื้อนี้สามารถอยู่ในเมล็ดได้นาน 7-8 เดือน (Reddy, 1972)

เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* เป็นเชื้อที่มีความผันแปรในแง่ของความรุนแรงสูง มีการจัดกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อ (race) ตามปฏิกิริยาระหว่างสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงกับพันธุ์ข้าวมาตรฐาน (differential varieties) ที่มียีนต้านทาน (Mew, 1987) ประเทศไทยมีการศึกษาการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* (race) ที่พบในประเทศไทยออกเป็น 3 กลุ่มตามความรุนแรงบนพันธุ์ข้าวมาตรฐาน (Eamchit and Mew, 1982; นงรัตน์ และคณะ ,2530) สายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* ในแต่ละพื้นที่มีความรุนแรงต่อพันธุ์ข้าวมาตรฐานแตกต่างกัน สายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* ของประเทศไทยแตกต่างจากสายพันธุ์เชื้อจากประเทศอื่น เช่น สายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* จากประเทศญี่ปุ่น จำแนกตามความรุนแรงบนพันธุ์ข้าวมาตรฐานได้ 7 กลุ่ม ในขณะที่สายพันธุ์จากฟิลิปปินส์ จำแนกได้ 6 กลุ่ม อินโดนีเซีย ได้ 9 กลุ่มเป็นต้น(Mew, 1987)

วิธีดำเนินการ

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 และเตรียมอาหารคุณสมบัติทางชีวเคมี
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย เมล็ดพันธุ์ข้าว
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ห่อด้วยกระดาษ ใส่ในถุงพลาสติค และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

แยกจากส่วนของพืชที่มีอาการของโรค ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 4 ตร.มม. ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพืชที่บด นำมา streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PSA(Potato semisynthetic agar) หลังจากนั้นเก็บจานเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28^0 ซ. นาน 72 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนี ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี streak plate หลาย ๆ ครั้ง เก็บ single colony เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

3. ทดสอบการเกิดโรคกับพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ (Pathogenicity test)

ทดสอบการเกิดโรคกับพืชอาศัยชนิดต่างๆ (Pathogenicity test)เพื่อพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's patulation)

4. จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์

ศึกษาข้อมูลพื้นฐานของเชื้อ ศึกษาคุณสมบัติต่างๆทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย โดยศึกษาตามวิธีการของ Bergey (1986) และ Schaad *et al*., 2001

เวลาและสถานที่

ต.ค.48 - ก.ย.49 ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลอง

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้งของข้าวจากแปลงปลูกข้าวในเขตจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี อุดรธานี และหนองคาย จำนวน 40 ตัวอย่าง และเขตภาคเหนือ ได้แก่ เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ พิษณุโลก แพร่ จำนวน 20 ตัวอย่างรวมตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่าง

2 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

นำมาแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหาร Potato synthetic agar ได้แบคทีเรียโคโลนีกลม สีเหลืองนวล ขอบเรียบเป็นมัน จำนวน 50 ไอโซเลท

3. ทดสอบการเกิดโรคกับพืชอาศัยชนิดต่างๆ (Pathogenicity test)

นำไปทดสอบการเป็นโรคบนต้นกล้าข้าวพันธุ์ NT 1 พบเสามารถทำให้ต้นข้าวแสดงอาการของโรคขอบใบแห้ง จำนวน 45 ไอโซเลท

4. จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์

เมื่อนำมาจำแนกตามคุณสมบัติต่างๆทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย ตามวิธีการของ Bergey (1986) และ Schaad *et al*., 2001 พบว่าเชื้อทั้ง 45 ไอโซเลทมีคุณสมบัติเหมือนกับเชื้อ *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*

ในปี 2550 เป็นการดำเนินการ สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคจากแหล่งปลูกในเขตภาคใต้และภาคกลาง และจัดจำแนกเชื้อตามลักษณะทางพันธุกรรมต่อไป

การประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* จากการสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (EPS)

Evaluation of Vilulence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by Extracellular polysaccharides Producing

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของการสร้างสาร Extracellular polysaccharides (EPS) ของแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*.) จำนวน 20 ไอโซเลท คือ TB 0019, 0096, 8901, 8205, 8209, 0051-7, TB 0105, TB 0062, 8208, TB0013, TB0113, 8211, TB0052-4, TB0117, TB9002, 0001, 8214, 0015, TB0003 และ TB0092 กับลักษณะทางสรีรวิทยาของเชื้อ ได้แก่ ขนาดของโคโลนี ความเมือกเยิ้มของโคโลนี และสีของโคโลนี ที่เจริญบนอาหารแข็ง PSA พบว่า ปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรีย*Xoo*.ทั้ง 20 ไอโซเลท กับขนาดโคโลนี และ การก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคใบไหม้บนข้าวทดสอบพันธุ์ไทยซุน มีแนวโน้มที่จะมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับขนาดของโคโลนี ความเมือกเยิ้มและเปอร์เซ็นต์การก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคใบไหม้บนข้าวทดสอบ แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะสีของโคโลนี

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ในขบวนการชักนำให้เกิดโรคบนพืชของเชื้อแบคทีเรียนั้น สารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (Extracellular polysaccharide; EPS) จัดเป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับขบวนการก่อให้เกิดโรคและความรุนแรงของโรคที่เชื้อแบคทีเรียสร้างขึ้น นอกเหนือจากเอ็นไซม์ (enzyme) สารพิษ (toxin) ไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharides;LPS) และฮอร์โมน (hormone) พบว่าสาร EPS มีบทบาทสำคัญในขบวนการก่อให้เกิดโรคและการเพิ่มความรุนแรงของโรคเนื่องจากสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* สร้างขึ้นจัดเป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น *X.phaseoli* สร้างสารheteropolysacccharide ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 19,500,000 สามารถขัดขวางระบบการลำเลียงน้ำในท่อน้ำทำให้เกิดอาการเหี่ยว (Leach และคณะ,1957) โดยที่เชื้อ *X.phaseoli* ต่าง strain จะมีความสามารถสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ต่างกันและปริมาณสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่สร้างขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการก่อให้เกิดโรคต่างกัน (Corey และ Starr,1957) ทั้งนี้ Rudolph และคณะ (1989) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์กับความรุนแรงของเชื้อ *Psuedomonas syringae* pv. *phaseolicola*สาเหตุโรค halo blight ในถั่ว พบว่า race-2 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงจะสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ในปริมาณสูงสุด และHokawat และ Rudolp (1988) ได้รายงานไว้ว่าเมื่อเติมสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์บริสุทธิ์ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย *X.campestris pv. glycines*สาเหตุโรคใบจุดนูนถั่วเหลืองลงใน cell suspension ของเชื้อสาเหตุแล้วทำการปลูกเชื้อลงบนถั่วเหลืองพบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนถั่วเหลืองพันธุ์อ่อนแอ (สจ.5) และพันธุ์ต้านทาน (Clark 63) โดยแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทหรือต่างสายพันธุ์กันจะมีการสร้างสาร EPS ที่ต่างกันโดยสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงจะมีการสร้างสาร EPS ในปริมาณสูง เนื่องจากEPS เป็นส่วนที่สร้างอยู่ที่ภายนอกผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ที่เรียกว่าแคปซูล ซึ่งจะหลุดลอกง่าย ทำให้โคโลนีของแบคทีเรียมีลักษณะเมือกเยิ้มเมื่อเจริญบนอาหารแข็ง

นอกจากนี้ บุษราคัม (2543) ได้ศึกษาบทบาทของสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *X.oryzae* pathovarต่างๆในการก่อให้เกิดโรคพบว่า EPS สามารถก่อให้เกิดอาการโรคแบบเฉพาะแห่งบนถั่วเหลือง คะน้า ส้ม มะเขือเทศ ข้าวและฝ้าย โดยมีลักษณะอาการคล้ายคลึงกับอาการที่เกิดจากการปลูกด้วยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ

ดังนั้นจึงควรที่จะมีการศึกษาการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* แต่ละไอโซเลทเพื่อประเมินความรุนแรงของการก่อให้เกิดโรคขอบใบแห้งของข้าว โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการสร้างสาร EPS กับความสามารถในการก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคแต่ละไอโซเลท เนื่องจากการสกัดสาร EPS เพื่อศึกษาปริมาณการสร้างทำได้ง่าย

กรรมวิธีไม่ยุ่งยาก จึงน่าที่จะเป็นวิธีหนึ่งในการประเมินคุณลักษณะความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ PSA (Potato sucrose agar)

PSB (Potato sucrose broth)

2. แบคทีเรีย *X.oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท

3. ข้าวพันธุ์ไทยชุน

4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ เครื่องหมุนเหวี่ยง เครื่องเขย่า ฯลฯ

5. ดินปลูก

6. กระบะปลูก

วิธีการ

1. <u>การศึกษาปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลทต่างๆ</u>

วิธีปฏิบัติดังนี้

1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรีย *Xoo*. 20 ไอโซเลท มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง PSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. การเตรียมหัวเชื้อ

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่มีอายุ 48 ชั่วโมงจำนวน 1 loopมาตรฐานลงในอาหารเหลว PSB ปริมาตร 50 มล. ที่บรรจุในฟลาสก์ 250 มล. นำไปเลี้ยงในสภาพเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

3. การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเพื่อผลิตสาร EPS

ถ่ายหัวเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ลงในอาหารเหลวชนิดเดิม จำนวน 100 มล. ที่บรรจุในฟาสก์ขนาด 250 มล. โดยใช้หัวเชื้อ 10 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชม.

4. การสกัดและตกตะกอนสาร EPS

นำอาหารที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 72 ชั่วโมงที่ได้จากข้อ 3. มาแยกเซลล์แบคทีเรียออกโดยเติมน้ำกลั่นลงไปในอัตราอาหารเลี้ยงเชื้อ : น้ำเท่ากับ 1: 1 โดยปริมาตร นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง โดยใช้ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำเอาส่วนใสมาเติมด้วยสารโพแตสเซียมคลอไรด์ ปริมาณ 1 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

นำไปสกัดแซนแทนกัมออกจากอาหารเหลว โดยเติมเอทธิลแอลกอฮอล์ 95% ในอัตราส่วน อาหารเหลว : เอทธิลอลกอฮอล์ 1:3 โดยปริมาตร คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนแซนแทนกัมตกตะกอน นำมากรองด้วยกระดาษกรอง จะได้สารแซนแทนกัมมีลักษณะเหนียวจับตัวเป็นก้อน

5. การหาน้ำหนักของสารEPS

นำตะกอนสารEPSที่ได้ไป อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชม.

6. การบันทึกข้อมูล

บันทึกน้ำหนักแห้งของสารEPSที่สร้างโดยแบคทีเรีย *X.oo.* ใน แต่ละไอโซเลท

2. <u>การศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาของโคโลนีของแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* บนอาหารแข็ง</u>

วิธีปฏิบัติดังนี้

1. เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Xoo.* 20 ไอโซเลทบนอาหาร PSA โดยวิธี serial dilution plate เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. บันทึกผลโดย วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี ลักษณะความเมือกเยิ้ม และสีของโคโลนี ของแบคทีเรียทั้ง 20 ไอโซเลท

3. <u>ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลทต่างๆ ในการก่อให้เกิดโรคใบไหม้</u>

วิธีปฏิบัติดังนี้

1. ปลูกข้าวพันธุ์ไทยชุนลงในกระบะปลูก ให้มีอายุ 45 วัน

2. ปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Xoo.* ไอโซเลทต่างๆลงบนข้าวพันธุ์ไทยชุน โดยการฉีดพ่นด้วย cell suspension ที่ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

3. บันทึกผล โดยให้คะแนนเป็นระดับความรุนแรงของการก่อให้เกิดโรคใบไหม้

เวลาและสถานที่ **เริ่มต้น** ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2549
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. <u>การศึกษาปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลทต่างๆ</u>

ผลการทดลอง พบว่า แบคทีเรีย *Xoo.* ไอโซเลท 0001 สร้างสาร EPS ในอาหารเหลว 100 มล. คิดเป็นน้ำหนักแห้งสูงสุด เท่ากับ 1.04 กรัม และมีน้ำหนักสดเท่ากับ 3.13 กรัม รองลงมาได้แก่ TB 0092 และ TB 0013 มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.92 และ 0.85 กรัม และมีน้ำหนักสด เท่ากับ 2.60 และ 2.65 กรัม ตามลำดับ โดยไอโซเลท 0051-7 สร้างสาร EPS ได้น้อยสุดคือมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.07 กรัมและน้ำหนักสดเท่ากับ 0.60 กรัมตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการทดลอง พบว่า ปริมาณน้ำหนักแห้งไม่แปรตามปริมาณน้ำหนักสด ทั้งนี้เนื่องจากขึ้นกับลักษณะของสาร EPS ที่แต่ละไอโซเลทสร้างขึ้น ตัวอย่างเช่น ไอโซเลท 8205 สร้างสารEPS ที่มีลักษณะเป็นเส้นสายเหนียว อุ้มน้ำ ทำให้เมื่อกรองเก็บสารEPS จึงมีน้ำหนักสดมากกว่าไอโซเลท TB0003 ซึ่งเส้นใยเป็นฝอย ไม่อุ้มน้ำ และเมื่อไปอบแห้งจึงทำให้น้ำหนักแห้งของ TB0003 จึงมากกว่าของไอโซเลท 8205 เป็นต้น ดังนั้นในการ นำค่าสาร EPS ไปเปรียบเทียบความสัมพันธ์กับปัจจัยอื่น จึงใช้ค่าของน้ำหนักแห้งเป็นหลัก

2. <u>การศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาของโคโลนีของแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* บนอาหารแข็ง</u>

จากการทดลองพบว่า แบคทีเรีย *Xoo.* ไอโซเลท 8205 มีขนาดโคโลนีที่เจริญบนอาหารใหญ่สุด คือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.41 ซม. และมีความเมือกเยิ้มสูงสุด รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 0051-7 และ TB 0105 โดยมีขนาดโคโลนีเท่ากับ 0.33 และ 0.29 ซม.ตามลำดับ โดยที่ไอโซเลท TB 0003 มีขนาดโคโลนีเล็กสุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 0.06 ซม.

ผลการตรวจสอบความเข้มของสีเหลืองของโคโลนี พบว่า ไอโซเลท 0015 TB 0113 และ 0001 โคโลนีมีความเข้มของสีเหลืองสูงที่สุด (ตารางที่ 2)

3. <u>ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลทต่างๆ ในการก่อให้เกิดโรคใบไหม้</u>

ผลการทดสอบการก่อให้เกิดโรค และการก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคของแบคทีเรีย *Xoo.* ทั้ง 20 ไอโซเลท บนข้าวพันธุ์อ่อนแอ (ไทยชุน) พบว่า ไอโซเลท 0096 TB 0117 TB 9002 และ TB 0003 สามารถก่อให้เกิดโรคบนข้าวทดสอบได้ถึง 100 % โดยที่ไอโซเลท 8209 สามารถก่อให้เกิดความรุนแรงบนข้าวทดสอบสูงสุด คือ 30% ของพื้นที่ใบและต้น

จากผลการทดลอง พบว่า ทั้ง 20 ไอโซเลท สามารถก่อให้เกิดโรคบนข้าวทดสอบได้ทุกไอโซเลท โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคประมาณ 70-100 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์สูง แต่เมื่อเปรียบเทียบกับการก่อให้เกิดความรุนแรงบนต้นข้าว พบว่า ข้าวทดสอบไม่เป็นโรครุนแรง กล่าวคือ พบว่าเป็นโรครุนแรงสูงสุดเพียง 30% โดยเกิดจากไอโซเลท 8209 (ตารางที่ 3)

จากผลการทดลอง เมื่อเปรียบข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรียกับขนาดโคโลนี และ การก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคใบไหม้บนข้าวทดสอบของแบคทีเรีย *Xoo.* 20 ไอโซเลท พบว่า ปริมาณการสร้างสาร EPS มีแนวโน้มที่จะมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับขนาดของโคโลนี ความเมือกเยิ้มและเปอร์เซ็นต์การก่อให้เกิดความรุนแรงของโรค กล่าวคือ แบคทีเรียกลุ่มที่มีการสร้างสาร EPS สูง จะมีขนาดโคโลนีใหญ่และสามารถก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคสูง แต่จะไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะสีของโคโลนี (ตารางที่ 4 ภาพที่ 1 2 3 และ4) ซึ่งในปี พ.ศ.2550 จะทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์เพื่อยืนยันผลอีกครั้ง และศึกษาผลของ

สาร EPS ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคเพิ่มเติม เช่น การเสริมความรุนแรงของโรค เพื่อนำมาหาค่าสหสัมพันธ์ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลอง ปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรียกับขนาดโคโลนี และ การก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคใบไหม้บนข้าวทดสอบของแบคทีเรีย *Xoo*. 20 ไอโซเลท มีแนวโน้มที่จะมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับขนาดของโคโลนี ความเมือกเยิ้มและเปอร์เซ็นต์การก่อให้เกิดความรุนแรงของโรค แต่จะไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะสีของโคโลนี

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว ที่ให้ความอนุเคราะห์แบคทีเรียและพันธุ์ข้าวทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

บุษราคัม อุดมศักดิ์ .2543.บทบาทของสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *X.campestris* pathovarต่างๆในการก่อให้เกิดโรค.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์มกรุงเทพฯ.

Corey,R.R. and M.P.Starr.1957.The chemistry of polysaccharide and glycopeptide phytotoxins,pp.127-735. *In* R.K.S Wood,A.Ballis and A.GrantiZZ (eds.).Phytotoxins inPlnt Diseases. The Utrecht.State University Press,The Netherlands.

Hokawat,S. and K.Rudolph.1988.Effect of extracellular polysaccharides of Xanthomonas campestris pv. Glycines on multiplication and survival of the Pathogen,pp.23-30. In Proceedings of the 26th Science Conference,Plant Division,3-5 February 1988.Kasetsart University,Bangkok Thailand.

Leach,J.G.,V.G.Lilll,H.A.Wilson and M.R.Purvis.1957.Bacterial Polysaccharides:The nature and function of the exudates produced by Xanthomonas phaseoli.Phytopathology 47:113-120.

Rudolph,K. W.E.,M.Gross and M.Neugebauer.1989.Extracellular polysaccharides as determinants of Leaf spot disease caused by pseudomonads and xanthomonads,pp.177-218. In A.Graniti,R.D.Durbin and A.Ballio (eds.).Phytotoxins and Plant Pathogenesis,NATO ASI Series,Vol.27,Springer Verlag,Berlin,Germany.

ตารางที่ 1 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของสาร extracellular polysaccharides (EPS) ที่แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท สร้างขึ้น

ไอโซเลทแบคทีเรีย *Xoo*.	**ปริมาณสาร EPS (กรัม) ต่ออาหารเหลว 100มล.**	
	น้ำหนักสด	**น้ำหนักแห้ง**
TB 0019	2.19	0.31
0096	1.71	0.24
8901	2.41	0.26
8205	3.10	0.61
8209	2.42	0.44
0051-7	0.60	0.07
TB 0105	2.36	0.39
TB 0062	2.10	0.42
8208	0.72	0.25
TB 0013	2.65	0.85
TB 0113	1.39	0.31
8211	2.80	0.43
TB 0052-4	2.85	0.36
TB 0117	1.13	0.19
TB 9002	2.14	0.33
0001	3.13	1.04
8214	1.20	0.40
0015	2.06	0.43
TB 0003	2.53	0.75
TB 0092	2.60	0.92

ตารางที่ 2 เส้นผ่าศูนย์กลาง ความเมือกเยิ้ม และความเข้มของสีเหลืองของโคโลนี ของแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหาร Potato sucrose Agar

ไอโซเลทแบคทีเรีย *Xoo*.	ลักษณะทางสรีรวิทยาของแบคทีเรีย *Xoo*.		
	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	ความเมือกเยิ้ม[1/]	ความเข้มสีเหลือง[2/]
TB 0019	0.18	++	+++
0096	0.06	+	+
8901	0.10	+	++
8205	0.41	+++	+++
8209	0.25	++	+++
0051-7	0.33	+++	+++
TB 0105	0.29	++	+++
TB 0062	0.23	++	+++
8208	0.14	++	+
TB 0013	0.25	+	+++
TB 0113	0.26	++	++++
8211	0.17	+	+++
TB 0052-4	0.23	++	+
TB 0117	0.15	+	+
TB 9002	0.14	++	+++
0001	0.10	+	++++
8214	0.24	++	+++
0015	0.28	++	++++
TB 0003	0.06	++	+++
TB 0092	0.15	++	+

[1/] ความเยิ้มของโคโลนี , + = ความเยิ้มน้อย , ++ = ความเยิ้มปานกลาง, +++ = ความเยิ้มมาก

[2/] สีของโคโลนีของแบคทีเรีย, + = สีครีมปนเหลืองเล็กน้อย, ++ = สีเหลืองอ่อน, +++=สีเหลือง, ++++= สีเหลืองเข้ม

ตารางที่ 3 เปอร์เซนต์การเกิดโรค และความรุนแรงของโรคใบไหม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท บนข้าวพันธุ์ไทยชุน

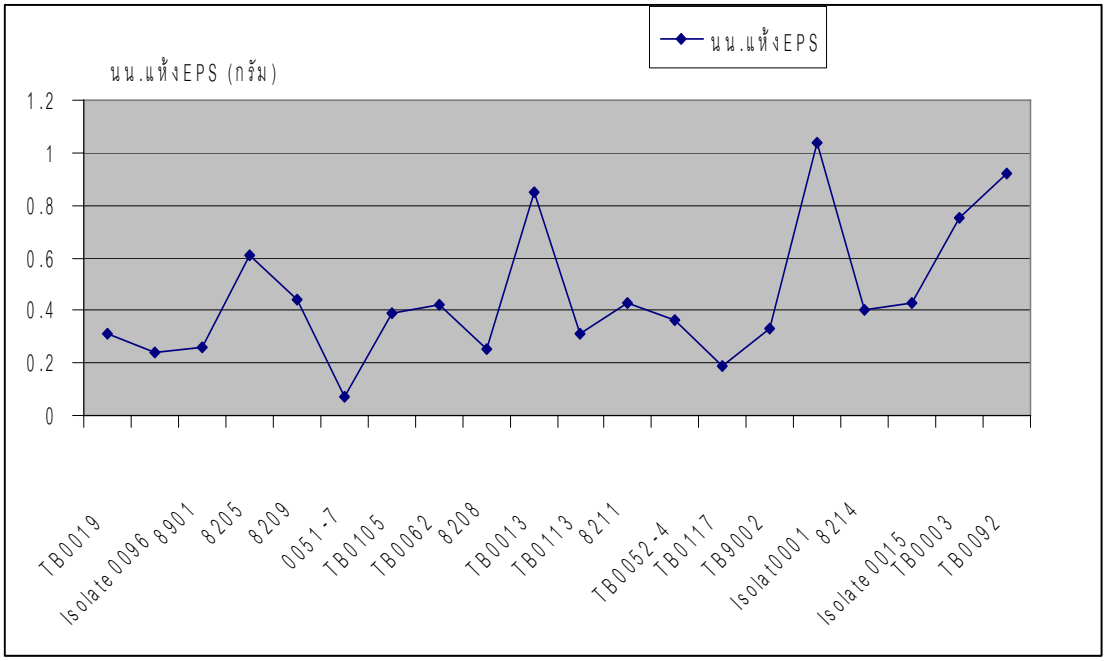
ไอโซเลทแบคทีเรีย *Xoo*.	**การเกิดโรคใบไหม้บนข้าวทดสอบ**	
	% การเกิดโรค	**% ความรุนแรงของโรค**
TB 0019	88.46	25
0096	100	20
8901	86.20	10
8205	92.00	20
8209	92.30	30
0051-7	91.30	15
TB 0105	81.48	20
TB 0062	85.71	20
8208	88.46	20
TB 0013	88.00	15
TB 0113	79.17	15
8211	91.30	10
TB 0052-4	77.78	20
TB 0117	100	20
TB 9002	100	20
0001	93.10	25
8214	80.00	15
0015	82.14	15
TB 0003	100	20
TB 0092	71.43	15
control	0	0

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณสาร extracellular polysaccharides (EPS) ที่สร้างโดยแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท กับลักษณะทางสรีรวิทยาของโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร Potato sucrose agar ได้แก่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางความเมือกเยิ้ม ความเข้มของสีเหลือง และเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากแบคทีเรียทั้ง 20 ไอโซเลท บนข้าวพันธุ์ไทยชุน

ไอโซเลทแบคทีเรีย *Xoo*.	**น้ำหนักแห้ง EPS (กรัม)**	**ลักษณะทางสรีรวิทยาของแบคทีเรีย *Xoo*.**			**% ความรุนแรงของโรค (30 DAI)**
		เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)	**ความเมือกเยิ้ม** [1/]	**ควมเข้มสีเหลือง** [2/]	
TB 0019	0.31	0.18	++	+++	25
0096	0.24	0.06	+	+	20
8901	0.26	0.10	+	++	10
8205	0.61	0.41	+++	+++	20
8209	0.44	0.25	++	+++	30
0051-7	0.07	0.33	+++	+++	15
TB 0105	0.39	0.29	++	+++	20
TB 0062	0.42	0.23	++	+++	20
8208	0.25	0.14	++	+	20
TB 0013	0.85	0.25	+	+++	15
TB 0113	0.31	0.26	+++	++++	15
8211	0.43	0.17	+	+++	10
TB 0052-4	0.36	0.23	++	+	20
TB 0117	0.19	0.15	+	+	20
TB 9002	0.33	0.14	++	+++	20
0001	1.04	0.10	+	++++	25
8214	0.40	0.24	++	+++	15
0015	0.43	0.28	++	++++	15
TB 0003	0.75	0.06	++	+++	20
TB 0092	0.92	0.15	++	+	15

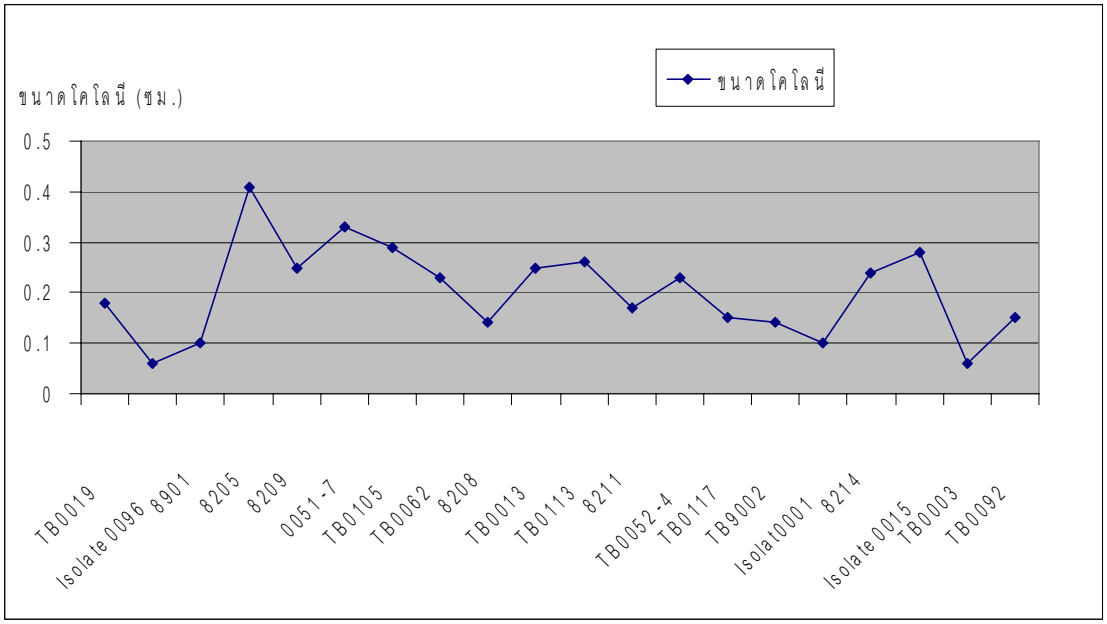
[1/] ความเยิ้มของโคโลนี , + = ความเยิ้มน้อย , ++ = ความเยิ้มปานกลาง, +++ = ความเยิ้มมาก

[2/] สีของโคโลนีของแบคทีเรีย, + = สีครีมปนเหลืองเล็กน้อย, ++ = สีเหลืองอ่อน, +++=สีเหลือง, ++++= สีเหลืองเข้ม



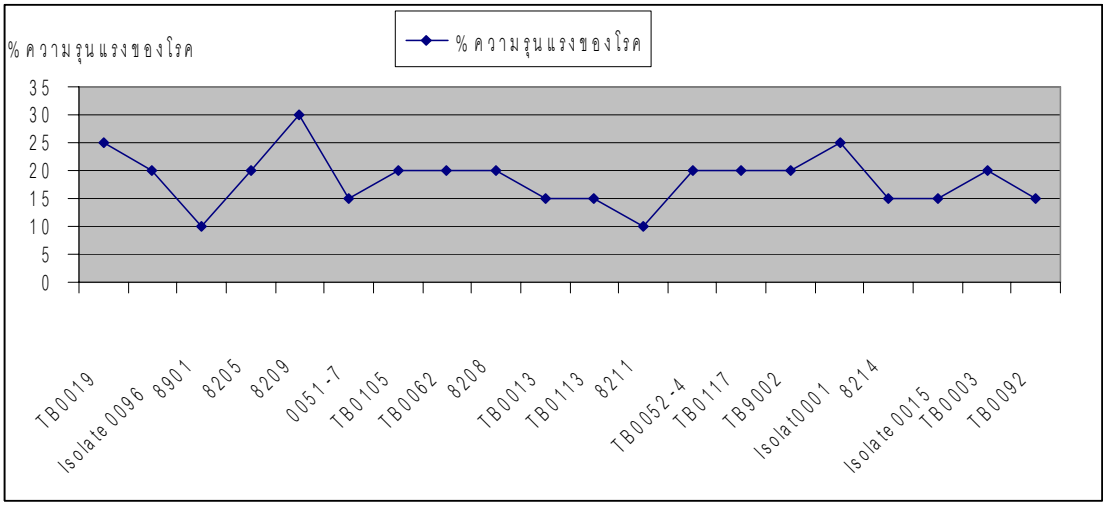
Xanthomonas oryzae pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท

ภาพที่ 1 ปริมาณสาร extracellular polysaccharides (EPS) ที่แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท สร้างขึ้น โดยคิดเป็นน้ำหนักแห้ง



Xanthomonas oryzae pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท

ภาพที่ 2 เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหาร Potato sucrose agar



Xanthomonas oryzae pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท

ภาพที่ 3 เปอร์เซนต์ความรุนแรงของโรคใบไหม้บนข้าวพันธุ์ไทยซุนที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท

สำรวจรวบรวม และจำแนกแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว (*Anthurium andreanum*)

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจการเกิดโรคใบไหม้หน้าวัวจากแบคทีเรีย ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 จากสวนหน้าวัว 10 สวน ในพื้นที่ 9 จังหวัด เก็บตัวอย่างอาการโรค ได้แก่อาการแผลจุดช้ำฉ่ำน้ำบริเวณขอบใบและกลางใบ อาการแผลไหม้ และอาการไหม้ดำจากเส้นกลางใบและเส้นใบ (vein) ขอบแผลช้ำฉ่ำน้ำ อาการใบเหลืองจากใบแก่สุดด้านล่าง เมื่อตัดลำต้นดูจะพบว่าท่อลำเลียงจะเป็นสีน้ำตาลดำ อาการต้นเหี่ยว ทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย บนอาหาร Nutrient glucose agar (NGA) และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) ได้แบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีกลมนูนเยิ้ม สีเหลือง ทดสอบปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ พืชแสดงอาการใบแห้งเป็นสีน้ำตาลบริเวณที่ฉีดเชื้อ ผลของปฏิกิริยาเป็นบวกทุกไอโซเลท การทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีบางประการ พบว่าแบคทีเรียสร้างเมือก (Mucoid) บนอาหาร NA สามารถย่อย gelatin และ starch ผล Catalase เป็นบวก สามารถใช้ acetate citrate succinate arabinose galactose และ trehalose สร้างกรดจากน้ำตาล maltose xylose ribose raffinose melezitose dextrin glycerol และ rhamnose จากลักษณะอาการและคุณสมบัติต่างๆ จำแนกแบคทีเรียสาเหตุโรคของหน้าวัว ได้เป็น *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* (McCulloch & Pirone 1939) Vauterin et al. 1995

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

โรคใบไหม้ของหน้าวัว เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* (McCulloch & Pirone 1939) Vauterin et al. 1995 ระบาดและเข้าทำลายพืชในตระกูล Araceae พบรายงานครั้งแรกในมลรัฐฮาวาย สหรัฐ อเมริกา โดย Hayward (1972) ทำความเสียหายกับบริษัทผู้ผลิตพืชสกุลหน้าวัว (anthurium) ในปี 1989 เป็นมูลค่ากว่า 600,000 บาทต่อเฮกเตอร์ และมูลค่ารวมความเสียหายนับ 100 ล้านบาท เป็นเชื้อที่เป็นข้อจำกัดในการผลิตพืชในสกุลหน้าวัว ของอเมริกาเหนือและใต้ นับเป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางกักกันพืชชนิดหนึ่ง จัดเป็น A1 quarantine organism สำหรับ EPPO และ A2 สำหรับ CPPC ซึ่งมีความเสี่ยงสูงต่อการติดเข้ามาในประเทศกับส่วนขยายพันธุ์ของไม้ดอกไม้ประดับนำเข้า ประเทศไทยมีการปลูกเลี้ยงหน้าวัวตั้งแต่ปี พ.ศ. 2536 ปัจจุบันประเทศไทยมีการขยายพื้นที่ปลูกหน้าวัวเพื่อเป็นไม้ตัดดอก และไม้กระถางเป็นจำนวนมากในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคใต้ โดยผู้ปลูกเลี้ยงหน้าวัวในประเทศไทย นิยมปลูกเลี้ยงหน้าวัวพันธุ์นำเข้า จากบริษัทแอนทูร่า ประเทศเนเธอร์แลนด์ พันธุ์ใหม่ๆ จำนวนมากทุกๆ ปี ทำให้มีความเสี่ยงสูงในการติดมาของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคสายพันธุ์ใหม่ที่มีความรุนแรงในการเกิดโรค เนื่องจากนโยบายเปิดการค้าเสรีในปัจจุบันและการนำเข้าพืชในกลุ่มนี้ยังมีสถานะเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม จึงมีความเสี่ยงต่อการแพร่ระบาดของเชื้อสายพันธุ์ใหม่ๆ ทำความเสียหายกับธุรกิจไม้ดอกไม้ประดับในประเทศไทย ทั้งนี้ในประเทศไทยยังไม่มีฐานข้อมูลที่สมบูรณ์ของแบคทีเรียดังกล่าว การสำรวจรวบรวม จำแนก และการประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ที่มีการระบาดในประเทศไทยปัจจุบัน จะเป็นฐานข้อมูลในการวางแผนการควบคุมการแพร่ระบาด และการจัดการโรคที่มีประสิทธิภาพ และได้ข้อมูลสายพันธุ์เชื้อและแหล่งเชื้อที่มีความรุนแรง เพื่อการคัดพันธุ์ต้านทานโรค และมีฐานข้อมูลในการวิเคราะห์ความเสี่ยงการนำเข้าพันธุ์พืช เพื่อป้องกันเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ที่มีความรุนแรงในการเกิดโรคต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจ รวมรวม และจำแนกอาการโรคใบไหม้ของหน้าวัว

สำรวจรวบรวมอาการโรคไหม้ของหน้าวัว 10 สวน ในพื้นที่ 9 จังหวัด ได้แก่ โครงการในพระราชดำริ อ.เมือง จ.ชลบุรี สวนขวัญธนา อ.บางละมุง จ. ชลบุรี สวนสมิมัน อ.บางคณฑี จ. สมุทรสงคราม สวนสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี สวนหน้าวัว อ. ปางดะ จ.เชียงใหม่ สวนหน้าวัว อ.วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา อ.ลาดหลุมแก้ว จ. ปทุมธานี และจากโครงการพระราชดำริ อ. ชะอำ จ.เพชรบุรี อ.ภูเรือ จ.เลย และ อ.แม่สอด จ. ตาก

บันทึกภาพอาการผิดปกติ โดยกล้องดิจิตอล บันทึกแหล่งสำรวจ จำแนกลักษณะอาการผิดปกติของพืช และพันธุ์ของหน้าวัวเก็บตัวอย่างอาการโรค ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ และเก็บใส่ในถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่ง นำตัวอย่างเข้าห้องปฏิบัติการเพื่อการแยกเชื้อต่อไป

2. การแยกเชื้อ และเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

แยกตัวอย่างอาการโรค บริเวณใบ (ใบจุด หรือใบไหม้) อาการท่อลำเลียงของก้านใบ หรือลำต้นช้ำเป็นสีน้ำตาล (อาการที่แสดงออก ใบเหี่ยวเนื้อใบเป็นสีเหลืองเส้นใบเขียว) อาการที่จานรองดอก เป็นจุดช้ำ และอาการไหม้

เลือกตัดชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการ โดยตัดบริเวณที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5x 0.5 มิลลิเมตร 1-2 ชิ้น จุ่มแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบชิ้นส่วนพืชดังกล่าว วางบนหยดน้ำ 10-20 ไมโครลิตร ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 3-5 นาที แล้วใช้ลูปที่ฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำ นำมาลาก (streak) บน Nutrient glucose agar (NGA) และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) วางจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก คว่ำจานลง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) 1-2 วัน จากนั้นเลือกโคโลนีของเชื้อที่เจริญ มีลักษณะนูนเยิ้มสีเหลือง เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหารจนได้เชื้อบริสุทธิ์

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

3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสาเหตุโรค

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

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

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ รวมรวม และจำแนกอาการโรคใบไหม้ของหน้าวัว

จากการสำรวจโรคใบไหม้ของหน้าวัวในสวนเกษตรกรทุกภาคในประเทศไทย พบการเกิดโรคใบไหม้จากแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* ในทุกสวนและทุกภาคของประเทศไทย โดยพบความรุนแรงในการเกิดโรคมากในช่วงฤดูฝนที่มีฝนตกชุก อากาศร้อน สามารถจัดจำแนกอาการ (ภาพที่ 1) ได้ดังนี้

- อาการที่ใบ (Leaf blight) ส่วนมากพบอาการจุดช้ำฉ่ำน้ำ จากการเข้าทำลายของแบคทีเรียบริเวณขอบใบ จากนั้นอาการจุดจะขยายลุกลาม ทำให้เกิดอาการใบไหม้ มีวงขอบสีเหลืองล้อมรอบ และหากสังเกตบริเวณขอบแผลจะพบอาการฉ่ำน้ำ จากการที่มีแบคทีเรียสาเหตุโรคเจริญอยู่ นอกจากนี้อาจพบอาการจุดช้ำ กระจายทั่วไปบนใบ สันนิษฐานว่าแบคทีเรียสาเหตุโรคแพร่ระบาด โดยติดไปกับน้ำที่รดต้นพืช นอกจากนี้หากแบคทีเรียเข้าทำลายใบอ่อนจะพบอาการใบไหม้เป็นสีน้ำตาลถึงดำอย่างรุนแรง นอกจากนี้ยังพบอาการที่ดอก หรือจานรองดอก มีอาการจุดช้ำฉ่ำน้ำกระจายจากขอบของจานรองดอก และลุกลามต่อแสดงอาการไหม้แห้ง ขอบแผลช้ำ

- อาการ Systemic เป็นอาการที่แบคทีเรียเข้าทำลายพืชทางราก หรือแบคทีเรียเจริญเข้าไปในท่อลำเลียงของพืช ส่วนมากสังเกตอาการได้เมื่อพืชถูกเชื้อเข้าทำลายมากแล้ว โดยใบแก่ด้านล่าง แสดงอาการเนื้อใบเป็นสีเหลืองในขณะที่เส้นใบเขียว เมื่อหักก้านใบจากลำต้น จะพบอาการท่อลำเลียงของพืชเป็นสีน้ำตาลดำ บริเวณลำต้นเมื่อผ่าตัดขวางจะพบอาการท่อลำเลียงเป็นสีน้ำตาลดำ และมี ooze หรือกลุ่มเซลล์ของแบคทีเรียปุดขึ้นมาบริเวณท่อลำเลียงพืช ทั้งนี้การเข้าทำลายดังกล่าวจะทำให้พืชเหี่ยวและตายในที่สุด

ทั้งนี้เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* เป็นเชื้อที่เป็นข้อจำกัดในการผลิตพืชในสกุลหน้าวัว ของอเมริกาเหนือและใต้ พบการแพร่ระบาดทำความเสียหายกับพืชในสภาพอากาศร้อนชื้นอุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส เข้าทำลายพืชทางบาดแผลและช่องเปิดธรรมชาติ นอกจากการเข้าทำลายพืชบนใบแล้ว (epiphytically) ยังสามารถเจริญแฝงอยู่ในท่อลำเลียงพืชได้ (latent infection) สามารถแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วไปในพื้นที่ปลูกใหม่ โดยติดไปกับส่วนขยายพันธุ์พืชและแพร่กระจายโดยการกระเด็นติดไปกับน้ำฝนหรือน้ำในระบบการปลูกพืช ปนเปื้อนไปกับ

เครื่องมือเครื่องใช้ทางการเกษตร ติดไปกับดิน และไส้เดือนฝอย ในขั้นตอนการตัดแต่งกิ่งหรือการเก็บเกี่ยวผลผลิต (Nishijima and Fujiyama, 1985)

ภาพที่ 1 ลักษณะอาการโรคใบไหม้ (Bacterial leaf blight) ของหน้าวัว

(A) อาการไหม้ลามจากขอบใบมีล้อมด้วยวงสีเหลือง

(B) อาการไหม้ของใบอ่อน แผลไหม้ขยายใหญ่ลุกลามรวดเร็ว

(C) บริเวณด้านหลังใบ แสดงอาการจุดช้ำ ฉ่ำน้ำ บริเวณที่เชื้อเข้าทำลาย

(D) อาการที่จานรองดอก เป็นจุดช้ำฉ่ำน้ำ เช่นอาการที่ใบ

(E) อาการท่อลำเลียงถูกอุดตัน กลายเป็นสีน้ำตาล

(F) อาการต้นเหี่ยว จากการที่แบคทีเรียเข้าทำลายที่โคนต้น

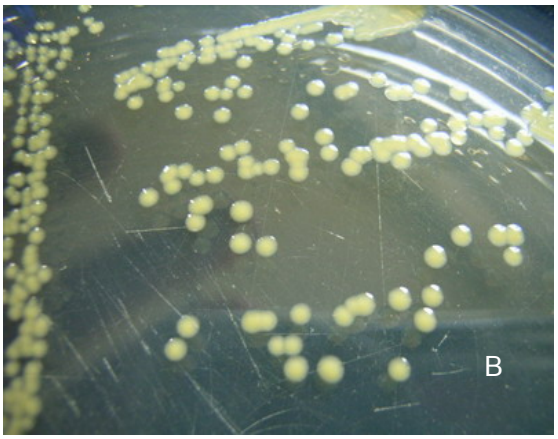
2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสาเหตุโรค

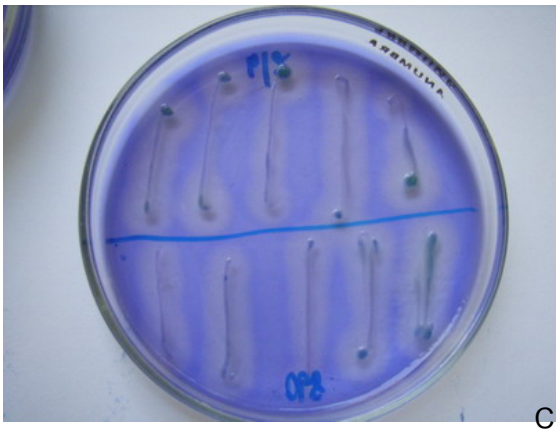
ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว บนอาหารที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของลักษณะโคโลนี ดังนี้

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

ผลการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สามารถย่อยเจลาตินและย่อยแป้ง 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

ศึกษาคุณสมบัติการย่อยแป้งของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* บนอาหาร SX พบว่าเชื้อทุกไอโซเลท สามารถย่อยแป้งได้ ทั้งนี้มีการจัดแบ่งเชื้อออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่สามารถย่อยแป้งได้ และกลุ่มที่ไม่ย่อยแป้ง จากการทดสอบสายพันธุ์ในประเทศไทยสามารถย่อยแป้งได้ทั้งหมด





ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนี ของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae*

A เจริญบนอาหาร Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ อายุ 36 ชั่วโมง

B เจริญบนอาหาร NA อายุ 24 ชั่วโมง

C การทดสอบการย่อยแป้งบนอาหาร SX agar

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae*

เปรียบเทียบกับคุณสมบัติของแบคทีเรีย *X. axonopododis* pv.*vesicatoria*,

คุณสมบัติชีวเคมี	เชื้อ/ สายพันธุ์เชื้อ[a]					
	XC	Xcv7	Xcv691	Xav10	Xcc12	Xad14
Mucoid growth on nutrient agar +	+	+	+	+	+	+
5% glucose						
Xanthomonadins produced	+	nd	nd	nd	nd	+
Hydrolysis of:						
Gelatin	d	+	+	+	+	+
Esculin	+	nd	nd	nd	nd	nd
Starch	D	+	+	-	-	+
Growth on nutrient agar:						
Good	+	+	+	+	+	+
Growth rate in culture:						
Moderate	+	+	+	+	+	+
Slow to very slow	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+
Nitrate reductase	-	-	-	-	-	-
Utilization of:						
Acetate	+	+	+	+	+	+
Citrate	+	+	+	+	+	+
Succinate	+	+	+	+	+	+
Benzoate	-	-	-	-	-	-
Arabinose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+

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	-	+	+	+	+	+

[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, Xcv10 เชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* สายพันธุ์จากพริก, Xcc12 เชื้อ *X. campestris* pv.*campestris* และ Xad14 เชื้อ *X. axonopodis*pv. *dieffenbachiae* จากหน้าวัว d= 11-89% ผลการทดสอบเป็นบวก, nd= ไม่ได้ทดสอบ

3. การทดสอบพืชอาศัย

ทดสอบเบื้องต้นการเกิดโรคบนพืชอาศัยชนิดอื่น โดยปลูกเชื้อ Xad. 2 ไอโซเลท คือ Xad. 016 และ Xad. 035 บนไม้ใบประดับ ได้แก่ ฟิโลเดนดรอน เขียวหมื่นปี พลูฉีก และพลูด่าง ด้วยวิธีการตัดใบ ผลการทดสอบ เชื้อ Xad. 2 ไอโซเลท ทำให้บริเวณที่ปลูกเชื้อ (ตัดใบ) แสดงอาการเหลือง และบริเวณเส้นใบที่ต่อจากรอยตัดปลูกเชื้อ มีอาการช้ำเป็นทาง (ภาพที่ 3) หลังปลูกเชื้อประมาณ 2 สัปดาห์ หลังการปลูกเชื้อนาน 40 วัน อาการไม่ลุกลามต่อ ไม่ทำให้พืชใบไหม้หรือตาย ทั้งนี้ เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคของพืชในตระกูล Araceae เช่น อะโกรนีมา คาลาเดียม ฟิโลเดนดรอน และซินโกเนียม จัดแบ่งกลุ่มของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ได้อย่างน้อย 3 กลุ่ม ตามการเข้าทำลายพืชอาศัย กลุ่มที่ 1 เป็นสายพันธุ์เชื้อที่เข้าทำลายพืชอย่างรุนแรงในกลุ่มหน้าวัว (anthurium) มีพืชอาศัยกว้าง กลุ่มที่ 2 เป็นสายพันธุ์ที่เข้าทำลาย syngonium และเข้าทำลายรุนแรงพืชในกลุ่มหน้าวัว และมีความสัมพันธุ์ทางเซรุ่มวิทยากับ

เชื้อในกลุ่มหน้าวัว มีพืชอาศัยแคบกว่ากลุ่มแรก กลุ่มที่ 3 เป็นสายพันธุ์จากพืชตระกูล Araceae อื่นๆ รวมถึงสายพันธุ์จาก syngonium อื่นๆ นอกจากกลุ่มข้างต้น (CPC, 2003)

ภาพที่ 3 การทดสอบพืชอาศัย หน้าวัว ฟิโลเดนดรอน และ เขียวหมื่นปี
โดยการปลูกเชื้อ Xanthomonas *axonopodis* pv. *diffenbachiae* ด้วยวิธีตัดใบ

สรุปผลการทดลอง

1. โรคใบไหม้ของหน้าวัว เกิดจากแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* พบระบาดในสวนหน้าวัวทั่วประเทศไทย โดยระบาดมากในสภาพอากาศร้อนฝนตกชุก

2. คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สามารถย่อยเจลาติน และย่อยแป้ง มีปฏิกิริยาคะตาเลสบวก ไม่รีดิวซ์ไนเตรท สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโตส ทรีฮาโลส ฟรุคโตส มอลโตส ไซโลส ไรโบส ราฟฟิโนส และแมนโนส โดยเชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอล และจัดอยู่ในกลุ่มที่สามารถย่อยแป้งได้

3. *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว สามารถเจริญและเข้าทำลายพืชในกลุ่มไม้ใบประดับ ได้แก่ ฟิโลเดนดรอน เขียวหมื่นปี พลูฉีก และพลูด่าง ได้แต่อาการไม่รุนแรง

เอกสารอ้างอิง

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพฯ 90 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ลักษณา วรรณภีร์ ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ สุเนตรา ภาวิจิตร และวันดี ใจนิ่ม. 2536. การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของหน้าวัวที่เกิดจากเชื้อบักเตรีโดยใช้สารเคมี, น. 75-83. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2536. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

นิยมรัฐ ไตรศรี ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ลักษณา วรรณภีร์ ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ สุเนตรา ภาวิจิตร และวันดี ใจนิ่ม. 2536. การศึกษาปฏิกิริยาของหน้าวัวพันธุ์ต่างๆ ต่อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv.*dieffenbachiae* เชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว, น.84-88. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2536. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

CABI/EPPO, 1998. *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. Distribution Maps of Quarantine Pests for Europe No. 282. Wallingford, UK, CAB International.

Crop Protection Compendium. 2003. Data Sheet of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. 2003 edition. Wallingford, UK, CAB International.

Hayward AC, 1972. A bacterial disease of Anthurium in Hawaii. Plant Disease Reporter, 56:904-908.

McCulloch L, Pirone PP, 1939. Bacterial leaf spot of Dieffenbachia. Phytopathology, 29:956-962.

Nishijima WT, Fujiyama DK, 1985. Bacterial blight of Anthurium. Commodity Fact Sheet AN-4 (A). Hawaii, USA: Institute of Tropical Agriculture and Human Resources.

Vauterin L, Hoste B, Kersters K, Swings J, 1995. Reclassification of Xanthomonas. International Journal of Systematic Bacteriology, 45(3):472-489.

การประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว (*Anthurium andreanum*)

Assessment for Severity Strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* on *Anthurium andreanum*

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae*สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว(*Anthurium andreanum*) ที่เก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกต่างๆ ทั่วประเทศ จำนวน 48 ไอโซเลท แบ่งกลุ่มตามเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคได้ 6 ระดับ คือระดับ 5 เกิดโรครุนแรงมาก (76-100 เปอร์เซ็นต์) 2 ไอโซเลท คือ 107 และ 110 ระดับ 4 เกิดโรครุนแรง (51-75 เปอร์เซ็นต์) 5 ไอโซเลท คือ 025, 065, 077, 078 และ 108 ระดับ 3 เกิดโรคปานกลาง (26-50 เปอร์เซ็นต์) 3 ไอโซเลท คือ 061, 069 และ 106 ระดับ 2 เกิดโรคน้อย (10-25 เปอร์เซ็นต์) 14 ไอโซเลท ระดับ 1 เกิดโรคเล็กน้อย (1-9 เปอร์เซ็นต์) 20 ไอโซเลท และระดับ 0 (ไม่แสดงอาการโรค) จำนวน 5 ไอโซเลท ทั้งนี้การเปรียบเทียบวิธีปลูกเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* บนต้นหน้าวัว 5 วิธีการ ได้แก่ การตัดใบ การพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ การฉีดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าใต้ใบ การทำแผลที่รากและราดเซลล์แขวนลอยเชื้อที่โคนต้น และการราดเซลล์แขวนลอยเชื้อที่โคนต้นแบบไม่ทำแผล พบว่าพืชเริ่มแสดงอาการหลังปลูกเชื้อประมาณ 2 สัปดาห์ วิธีการตัดใบ พืชแสดงอาการไหม้ลามจากบริเวณรอยตัด อาการไหม้ชัดเจนหลังปลูกเชื้อนาน 3 สัปดาห์ วิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ ด้านใต้ใบมีอาการแผลจุดช้ำฉ่ำน้ำกระจาย หลังปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ อาการแผลขยายขึ้นหลังปลูกเชื้อนาน 3 สัปดาห์ ต่อมาขอบใบมีอาการจุดช้ำฉ่ำน้ำ และวิธีการฉีดเชื้อเข้าใต้ใบ พืชแสดงอาการแผลช้ำฉ่ำน้ำบริเวณฉีดเชื้อเชื้อ และต่อมาแผลช้ำขยายลุกลามใหญ่ขึ้น ในขณะที่การปลูกเชื้อที่โคนต้นทั้งทำแผล และไม่ทำแผล พืชไม่แสดงอาการโรค

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

แบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* (McCulloch & Pirone 1939) Vauterin et al. 1995 (Syn. *Xanthomonas campestris* pv. *diffenbachiae*) เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว และพืชในตระกูล Araceae เช่น อะโกรนีมา คาลาเดียม ฟิโลเดนดรอน และซินโกเนียม เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* พบรายงานครั้งแรกในมลรัฐฮาวาย สหรัฐอเมริกา โดย Hayward (1972) ทำความเสียหายกับบริษัทผู้ผลิตพืชสกุลหน้าวัว (anthurium) ในปี 1989 เป็นมูลค่ากว่า 600,000 บาทต่อเฮกเตอร์ และมูลค่ารวมความเสียหายนับ 100 ล้านบาท เป็นเชื้อที่เป็นข้อจำกัดในการผลิตพืชในสกุลหน้าวัว ของอเมริกาเหนือและใต้ พบการแพร่ระบาดทำความเสียหายกับพืชในสภาพอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส เข้าทำลายพืชทางบาดแผลและช่องเปิดธรรมชาติ นอกจากการเข้าทำลายพืชบนใบแล้ว (epiphytically) ยังสามารถเจริญแฝงอยู่ในท่อลำเลียงพืชได้ (latent infection) สามารถแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วไปในพื้นที่ปลูกใหม่ โดยติดไปกับส่วนขยายพันธุ์พืช และแพร่กระจายโดยการกระเด็นติดไปกับน้ำฝนหรือน้ำในระบบการปลูกพืช ปนเปื้อนไปกับเครื่องมือเครื่องใช้ทางการเกษตร ติดไปกับดิน และไส้เดือนฝอย ในขั้นตอนการตัดแต่งกิ่งหรือการเก็บเกี่ยวผลผลิต (Nishijima and Fujiyama, 1985) จัดแบ่งกลุ่มของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ได้อย่างน้อย 3 กลุ่ม ตามการเข้าทำลายพืชอาศัย กลุ่มที่ 1 เป็นสายพันธุ์เชื้อที่เข้าทำลายพืชอย่างรุนแรงในกลุ่มหน้าวัว (anthurium) มีพืชอาศัยกว้าง กลุ่มที่ 2 เป็นสายพันธุ์ที่เข้าทำลาย syngonium และเข้าทำลายรุนแรงพืชในกลุ่มหน้าวัว และมีความสัมพันธ์ทางเซรุ่มวิทยากับเชื้อในกลุ่มหน้าวัว มีพืชอาศัยแคบกว่ากลุ่มแรก กลุ่มที่ 3 เป็นสายพันธุ์จากพืชตระกูล Araceae อื่นๆ รวมถึงสายพันธุ์จาก syngonium อื่นๆ นอกจากกลุ่มข้างต้น (CPC, 2003)

ในประเทศไทย พบการแพร่ระบาดของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ในโรงเรือนที่มีความชื้นสูง การระบายน้ำและการถ่ายเทอากาศไม่ดี (นิยมรัฐ, 2544) การศึกษาปฏิกิริยาของหน้าวัว ต่อแบคทีเรีย *X. campestris* pv.*dieffenbachiae* พบว่าทุกพันธุ์อ่อนแอต่อการเกิดโรค และสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค คือสารประกอบคอปเปอร์ (นิยมรัฐ และคณะ, 2536ab) การศึกษาประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ จะเป็นข้อมูลสำหรับการเลือกสายพันธุ์แบคทีเรีย เพื่อคัดพันธุ์พืชต้านทานโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อและการเก็บรักษาเชื้อ

แยกตัวอย่างอาการโรค บริเวณใบ (ใบจุด หรือใบไหม้) อาการท่อลำเลียงของก้านใบ หรือลำต้นช้ำเป็นสีน้ำตาล (อาการที่แสดงออก ใบเหี่ยวเนื้อใบเป็นสีเหลืองเส้นใบเขียว) อาการที่จานรองดอก เป็นจุดช้ำ และอาการไหม้

เลือกตัดชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการ โดยตัดบริเวณที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5x 0.5 มิลลิเมตร 1-2 ชิ้น จุ่มแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบชิ้นส่วนพืชดังกล่าว วางบนหยดน้ำ 10-20 ไมโครลิตร ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 3-5 นาที แล้วใช้ลูปที่ฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำ นำมาลาก (streak) บน Nutrient glucose agar (NGA) และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) วางจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก คว่ำจานลง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) 1-2 วัน จากนั้นเลือกโคโลนีของเชื้อที่เจริญ มีลักษณะนูนเยิ้มสีเหลือง เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหาร NGA หรือ YDC จนได้แบคทีเรียบริสุทธิ์

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

2. เปรียบเทียบเทคนิคการปลูกเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* บนต้นหน้าวัว

เตรียมแบคทีเรีย *X.axonopodis* pv. *diffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว จำนวน 48 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) เลี้ยงบนอาหาร NGA หรือ YDC บ่มที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) จากนั้นใช้ลูปฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยว มาลากบนอาหาร NGA เก็บจานเลี้ยงเชื้อในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อด้วยน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยเชื้อทุกไอโซเลท ให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.2 OD ที่ความยาวคลื่น Absorbance 600 นาโนเมตร โดยมีปริมาณเชื้อโดยเฉลี่ย 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธี 3 ซ้ำ โดยใช้ต้นหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล (Tropical) อายุประมาณ 3 เดือน ปลูกในกระถางสีดำ วัสดุปลูกเป็นอิฐแดง

กรรมวิธีที่ 1 การตัดใบ โดยใช้กรรไกรผ่าตัด ลนไฟฆ่าเชื้อทิ้งไว้ให้เย็น จุ่มในเซลล์แขวนลอยเชื้อ แล้วตัดใบลึกประมาณ 2 นิ้ว 2 แผลต่อใบ

กรรมวิธีที่ 2 การพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ โดยใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อ 10 มิลลิลิตร ผสมผงซิลิคอน คาร์ไบ (คาร์บอแรนดัม) ขนาด 600 mesh บรรจุในกระบอกพลาสติกพ่นฝอย แล้วพ่นให้ทั่วต้นหน้าวัว

กรรมวิธีที่ 3 การฉีดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าใต้ใบ ใช้หลอดฉีดยาพลาสติก ไม่ใช้เข็ม ดูดเซลล์แขวนลอยเชื้อ 3 มิลลิลิตร ฉีดอัดเข้าด้านใต้ใบแผลละประมาณ 500 ไมโครลิตร โดยใช้เข็มฉีดยาเจาะรูทำแผลบริเวณที่ฉีด

กรรมวิธีวิธีการที่ 4 การราดเซลล์แขวนลอยเชื้อที่โคนต้น ร่วมกับการทำแผลที่ราก โดยใช้ใบมีดผ่าตัดลนไฟฆ่าเชื้อ ตัดผ่านรากที่โคนต้น 2 แผลต่อต้น แล้วราดด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อต้นละ 10 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 การราดเซลล์แขวนลอยเชื้อ ไม่ทำแผล แล้วราดด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อต้นละ 10 มิลลิลิตร

ในทุกกรรมวิธี ใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นการทดลองเปรียบเทียบ และหลังการปลูกเชื้อนำต้นหน้าวัว ใส่ในถุงพลาสติก ที่พ่นน้ำฝอยให้ความชื้น ปิดทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วเปิดปากถุงพลาสติก บันทึกการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อ 5 วัน และทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 1 เดือน

3. การทดสอบประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae*

ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ โดยการเตรียมเชื้อเช่นเดียวกับในข้อ 2 และเลือกใช้วิธีการปลูกเชื้อแบบกรรมวิธีการพ่นเชื้อผสมผงคาร์บอแรนดัม บ่มในถุงพลาสติกฉีดน้ำ ให้มีความชื้น 100 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วเปิดปากถุง บันทึกอาการการเกิดโรคที่ 5 วัน และทุก 7 วันเป็นเวลา 1 เดือน ให้คะแนนการเกิดโรค โดยประเมินความรุนแรงในการเกิดโรค ดังนี้

ระดับ 5 พืชแสดงอาการโรครุนแรงมาก 76-100 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 4 พืชแสดงอาการโรครุนแรง 51-75 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการโรคปานกลาง 26-50 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 2 พืชแสดงอาการโรคน้อย 10-25 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 1 พืชแสดงอาการโรค 1-9 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 0 พืชไม่แสดงอาการโรค

จากนั้นหาค่าเฉลี่ยความรุนแรงในการเกิดโรค 3 ต้น แล้วจัดกลุ่มระดับความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ *X. axonopodis* pv. *Diffenbachiae*

เวลาและสถานที่

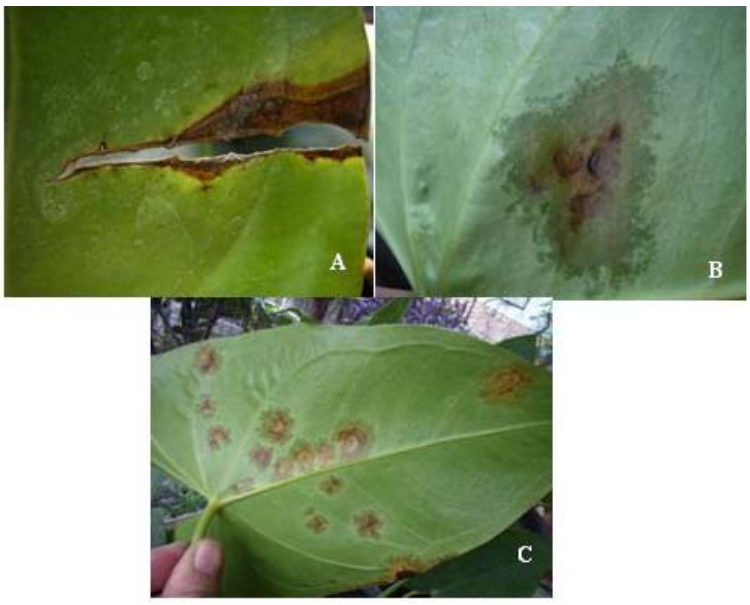
ระยะเวลา 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

สถานที่ทำ ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. **เปรียบเทียบวิธีการปลูกเชื้อ** *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae*

พบว่ากรรมวิธีการปลูกเชื้อ 3 กรรมวิธี ที่ทำให้พืชแสดงอาการโรค คือ การตัดใบ การพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ และการฉีดเชื้อเข้าใต้ใบ (ภาพที่ 1) วิธีการตัดใบ พืชแสดงอาการไหม้ลามจากบริเวณรอยตัด อาการโดยพืชเริ่มแสดงอาการไหม้ และมีจุดช้ำฉ่ำน้ำบริเวณขอบแผลหลังปลูกเชื้อประมาณ 14 วัน และมีอาการไหม้แห้งหลังปลูกเชื้อนาน 21 วัน วิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ ด้านใต้ใบมีอาการแผลจุดช้ำฉ่ำน้ำ กระจาย หลังปลูกเชื้อ 14 วัน อาการแผลขยายขึ้นหลังปลูกเชื้อนาน 21 วัน ต่อมาขอบใบมีอาการจุดช้ำฉ่ำน้ำ และวิธีการฉีดเชื้อเข้าใต้ใบ พืชแสดงอาการแผลช้ำฉ่ำน้ำบริเวณฉีดเชื้อ หลังการปลูกเชื้อ 5 วัน ต่อมาแผลช้ำขยายลุกลามใหญ่ขึ้น



ภาพที่ 1 แสดงอาการโรคใบไหม้หน้าวัวโดยการปลูกเชื้อต่างกรรมวิธี
A อาการแผลไหม้จากการปลูกเชื้อด้วยกรรมวิธีตัดใบ
B อาการแผลช้ำฉ่ำน้ำ จากการปลูกเชื้อโดยฉีดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าใต้ใบ
C อาการแผลจุดวงช้ำฉ่ำน้ำ จากการปลูกเชื้อด้วยวิธีการพ่นเชื้อ

2. การทดสอบประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae*

ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* จำนวนทั้งสิ้น 48 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) จัดแบ่งกลุ่มตามเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรค 6 ระดับ (ภาพที่ 2) คือระดับ 5 เกิดโรครุนแรงมาก (76-100 เปอร์เซ็นต์) 2 ไอโซเลท คือ 107 และ 110 ระดับ 4 เกิดโรครุนแรง (51-75 เปอร์เซ็นต์) 5 ไอโซเลท คือ 025, 065, 077, 078 และ 108 ระดับ 3 เกิดโรคปานกลาง (26-50 เปอร์เซ็นต์) 3 ไอโซเลท คือ 061, 069 และ 106 ระดับ 2 เกิดโรคน้อย (10-25 เปอร์เซ็นต์) 14 ไอโซเลท ระดับ 1 เกิดโรคเล็กน้อย (1-9 เปอร์เซ็นต์) 20 ไอโซเลท และระดับ 0 (ไม่แสดงอาการโรค) จำนวน 4 ไอโซเลท (ตารางที่ 2) ทั้งนี้มีข้อสังเกตว่าสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรงมาก เป็นสายพันธุ์แบคทีเรียที่แยกได้ใหม่ในปี 2549 ทั้งสองสายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่ไม่แสดงอาการโรค เมื่อนำมาแยกแบคทีเรีย พบการเจริญแบบแฝง (latent infection) ซึ่งการเจริญแฝงโดยไม่แสดงอาการโรค ทำให้เป็นแหล่งแพร่ระบาดของแบคทีเรียได้มาก

ตารางที่ 1 สายพันธุ์และแหล่งที่มาของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *diffenbachiae* ที่ใช้ในการศึกษา

สายพันธุ์	สถานที่ปลูก	เดือน/ปีที่เก็บ	แหล่งที่มา[1]
014	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	04-2547	การศึกษานี้
015	ศูนย์ส่งเสริมพืชสวน จ.กระบี่	09-2547	การศึกษานี้
016	สถาบันวิจัยยาง จ.ภูเก็ต	09-2547	การศึกษานี้
017	สวนสุลภัส จ.สุราษฎร์ธานี	09-2547	การศึกษานี้
019	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	07-2547	การศึกษานี้
024	บ.สตาร์ฟลอร่า จ.นครศรีธรรมราช	07-2547	การศึกษานี้
025	อ.เมือง จ.ชุมพร	09-2547	การศึกษานี้
026	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	09-2547	การศึกษานี้
027	เขตหนองแขม กทม.	09-2547	การศึกษานี้
028	อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม	09-2547	การศึกษานี้
030	มหาสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2547	การศึกษานี้
032	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	11-2547	การศึกษานี้
033	คุณพงษ์เศวต เขตมีนบุรี กทม.	09-2547	การศึกษานี้
035	อ.สวี จ.ชุมพร	11-2547	การศึกษานี้
052	อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง	02-2548	การศึกษานี้
055	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	06-2548	การศึกษานี้

สายพันธุ์	สถานที่ปลูก	เดือน/ปีที่เก็บ	แหล่งที่มา[1]
058	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
059	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
061	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
062	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
064	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
065	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
066	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
067	สวนที่ 1 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
068	สวนที่ 2 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
069	สวนที่ 2 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
071	สมิมันหน้าวัว อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	02-2549	การศึกษานี้
072	อ.ปางดะ จ.เชียงใหม่	02-2549	การศึกษานี้
074	อ.ปางดะ จ.เชียงใหม่	02-2549	การศึกษานี้
075	คุณสุชาดา อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
076	คุณสุชาดา อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
077	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
078	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
079	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
099	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
101	อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	06-2549	การศึกษานี้
104	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
105	อ.พบพระ จ.ตาก	07-2549	การศึกษานี้
106	คุณสมชาย อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
107	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
108	ไร่คลายกังวล อ.ภูเรือ จ.เลย	08-2549	การศึกษานี้
110	บ้านสวนละออ อ.แม่สอด จ.ตาก	08-2549	การศึกษานี้
1057	เขตบางกอกน้อย กทม.	01-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1058	เขตบางกอกน้อย กทม.	01-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1063	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1188	เขตบางกอกน้อย กทม.	10-2535	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1415	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2540	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา

ตารางที่ 2 แสดงระดับความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้จากแบคทีเรีย บนต้นหน้าวัว พันธุ์ Tropical หลังการปลูกเชื้อ นาน 30 วัน

ระดับความรุนแรง	**สายพันธุ์เชื้อ** *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae*	**จำนวนไอโซเลทของเชื้อ** Xad.
5 (76-100 %)	107, 110	2
4(51-75 %)	025, 065, 077, 078, 108	5
3 (26-50 %)	061, 069, 106	3
2 (10-25 %)	019, 030, 032, 055, 058, 062, 066, 072, 104, 105, 068, 079, 1057, 060	14
1 (1-9 %)	014, 015, 017, 024, 035, 052, 059, 064, 067, 091, 074, 076, 099, 101, 033, 075, 1063, 1188, 1415, 1058	20
0 (ไม่เกิดโรค)	016, 026, 027, 028	4

ภาพที่ 3 แสดงอาการใบไหม้ของหน้าวัวพันธุ์ Tropical จากการปลูกเชื้อประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์ ด้วยวิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ A ไม่แสดงอาการโรค (0) B อาการโรคระดับ 1, C อาการโรคระดับ 2

D อาการโรคระดับ 3, E อาการโรคระดับ 4, F อาการโรคระดับ 5

สรุปผลการทดลอง

ได้แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ที่แยกเก็บจากสวนหน้าวัวในจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศไทย มีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคต่างกัน โดยสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการเกิดโรคมาก ระดับ 5 (76-100 เปอร์เซ็นต์) 2 สายพันธุ์ คือ Xad. 107 ไอโซเลท แยกเชื้อจากใบหน้าวัว สวนหน้าวัวคุณสมพงษ์ เม่นขำ อำเภอบางกรวย จังหวัดนนทบุรี และไอโซเลท 110 แยกเชื้อจากหน้าวัวพันธุ์ Tropical สวนบ้านสวนละออ อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก และสายพันธุ์ที่เกิดโรคในระดับรุนแรง ระดับ 4

เกิดโรค 51-75 เปอร์เซ็นต์ 5 ไอโซเลท คือ 025 จากสวน อ.เมือง จ.ชุมพร 065, 077 และ 078 จากสวนคุณสมพงษ์ เม่นขำ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี และ 108 จากไร่คลายกังวล อ.ภูเรือ จ.เลย

เอกสารอ้างอิง

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพฯ 90 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ลักษณา วรรณภีร์ ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ สุเนตรา ภาวิจิตร และวันดี ใจนิ่ม. 2536. การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของหน้าวัวที่เกิดจากเชื้อบักเตรีโดยใช้สารเคมี, น. 75-83. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2536. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

นิยมรัฐ ไตรศรี ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ลักษณา วรรณภีร์ ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ สุเนตรา ภาวิจิตร และวันดี ใจนิ่ม. 2536. การศึกษาปฏิกิริยาของหน้าวัวพันธุ์ต่างๆ ต่อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv.*dieffenbachiae* เชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว, น.84-88. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2536. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

CABI/EPPO, 1998. *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. Distribution Maps of Quarantine Pests for Europe No. 282. Wallingford, UK, CAB International.

Crop Protection Compendium. 2003. Data Sheet of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. 2003 edition. Wallingford, UK, CAB International.

Hayward AC, 1972. A bacterial disease of Anthurium in Hawaii. Plant Disease Reporter, 56:904-908.

McCulloch L, Pirone PP, 1939. Bacterial leaf spot of Dieffenbachia. Phytopathology, 29:956-962.

Nishijima WT, Fujiyama DK, 1985. Bacterial blight of Anthurium. Commodity Fact Sheet AN-4 (A). Hawaii, USA: Institute of Tropical Agriculture and Human Resources.

Vauterin L, Hoste B, Kersters K, Swings J, 1995. Reclassification of Xanthomonas. International Journal of Systematic Bacteriology, 45(3):472-489.

สำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรคพืชในประเทศไทย

Surveying and Collecting Plant Diseases samples in Thailand

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช **พรพิมล อธิปัญญาคม**
ธารทิพย์ ภาสบุตร **ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี**
ศรีสุข พูนผลกุล **วุฒิศักดิ์ บุตรธนู**
พจนา ตระกูลสุขรัตน์ **เพลินพิศ สงสังข์**

กลุ่มวิจัยโรคพืช **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืชจาก จ.เชียงใหม่ เชียงราย ชลบุรี นครราชสีมา สุรินทร์ อุบลราชธานี ขอนแก่น นครนายก ปราจีนบุรี ปทุมธานี นครปฐม ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ ตรัง และสงขลา ระหว่าง เดือนตุลาคม 2548-กันยายน 2549 ได้ตัวอย่างโรคพืชจำนวน 258 ตัวอย่าง ซึ่งได้อัดแห้งตัวอย่างโรคพืชทั้งหมดเก็บเข้าไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จากตัวอย่างตัวอย่างที่แสดงอาการใบจุดสาหร่าย (Algal spot) จากพืช 16 ชนิดพืช 23 isolate พบว่าเป็น algae ชนิด *Cephaleurose virescence* ตัวอย่างที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียจากพืช 7 ชนิด 14 isolate ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อสาเหตุที่เป็นเชื้อราได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรค 159 ชนิด 221 isolate ได้แก่ โรคราสนิม โรคราแป้ง โรคราน้ำค้าง โรคใบจุด โรคใบไหม้ และ Tar spot เป็นต้น

รหัสโครงการ 09-02-49-01

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 และยกเลิกสินค้าที่มีความเสี่ยงต่อการเกษตรภายในประเทศ เพื่อเป็นการป้องกันอุตสาหกรรมเกษตรจากศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศมาก่อนโดยมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ และการประเมินความเสี่ยงในการจัดการสินค้าเกษตรดังกล่าวด้วยความโปร่งใสและสามารคตรวจสอบทางเทคนิคได้

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 อย่างไรก็ตามในการค้าสากลข้อมูลที่ปรากฏบนกระดาษบันทึกข้อมูลที่เก็บไว้พร้อมกับตัวอย่างศัตรูพืช ที่มีการจัดการดูแลโดยเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เก็บตัวอย่างจะเป็นข้อมูลที่สำคัญมาก เนื่องจากเป็นข้อมูลที่มีรายละเอียด เช่น สถานที่เก็บ วันที่เก็บ ช่อผู้เก็บ ชื่อพืชอาศัย และการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ นอกจากข้อมูลดังกล่าวจะใช้ในการตรวจสอบชนิดของเชื้อสาเหตุของพืชแล้วยังทำให้ทราบถึงข้อมูลการแพร่กระจายของจุลินทรีย์โรคพืชได้อีกด้วย ในทางกลับกันเอกสารที่ไม่มีตัวอย่างศัตรูพืชเก็บไว้ จะเป็นเอกสารที่ไม่มีคุณค่าและเป็นสิ่งกีดขวางการส่งออก เอกสารรายงานที่ผิดพลาดจะทำให้ต้องมีการตรวจสอบและพิสูจน์สถานภาพของศัตรูพืชใหม่ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ตัวอย่างที่เก็บอย่างถูกต้อง มีการบันทึกข้อมูลที่ดี และเก็บในสถานที่ปลอดภัย สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการต่อรองในการทำ market access และการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

พิพิธภัณฑ์โรคพืชเป็นสถานที่รวบรวมตัวอย่างโรคพืช เพื่อใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงการเกิดและการระบาดของโรคพืชในแต่ละประเทศ และใช้ตรวจสอบกลับเมื่อมีปัญหาเกี่ยวกับโรคพืช และเชื้อสาเหตุตลอดจนใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อ เพื่อเสนอแก่ประเทศคู่ค้าต่อไป พิพิภัณฑ์โรคพืชเป็นที่เก็บตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญซึ่งสามารถใช้เป็นหลักฐานอ้างอิง และยืนยันว่าอาการของโรคของพืชมีลักษณะเป็นอย่างไร พบที่ไหน เมื่อไร ตัวอย่างแห้งโรคพืชนี้มีความสำคัญต่อการศึกษาทางอนุกรมวิธานของเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อสาเหตุที่เป็นเชื้อราเพราะจะเป็นตัวอย่างที่ใช้ตัดสินชนิดของเชื้อสาเหตุว่าที่เก็บต่อมาภายหลังว่าเป็น ชนิดเดียวกันหรือไม่ 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 ขึ้นและมีการสนับสนุนให้จัดตั้งศูนย์เก็บรักษาตัวอย่างแมลง และตัวอย่างโรคพืชในประเทศภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในหลายประเทศ เนื่องจากได้มีการตรวจสอบศูนย์เก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืชในประเทศดังกล่าวแล้ว พบว่าไม่มีประเทศใดที่จะสามารถให้ข้อมูลสถานภาพศัตรูพืชได้อย่างครบถ้วน 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. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล คอมพิวเตอร์ เครื่องสแกนเนอร์
6. กล้องจุลทัศน์ Light microscope และ Stereo microscope
7. อุปกรณ์แยกเชื้อ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฯลฯ
8. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น กระดาษบันทึกข้อมูล GPS ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯ

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

-ลักษณะอาการของโรค

-สถานที่เก็บประกอบด้วย ประเทศ จังหวัด เส้นรุ้ง เส้นแวงของสถานที่เก็บ

-ชื่อผู้เก็บและรหัสประจำตัวผู้เก็บ

-วันที่เก็บ

-ชื่อผู้วินิจฉัยโรค และผู้จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

-เอกสารอ้างอิง

นำตัวอย่างแห้งที่ได้ใส่ในตู้ –40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เพื่อฆ่าไข่แมลง และแมลงเสร็จแล้วนำไปเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์

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 และเตรียมสไลด์ของเชื้อสาเหตุ ตรวจดูภายใต้กล้อง microscpe ศึกษาการเจริญบนพืชด้วยการตัด section บริเวณที่แสดงอาการ และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทัศน์ ถ่ายภาพลักษณะของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้อง

3.2 การแยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplanting

แยกเชื้อจากตัวอย่างโรคพืชโดยตัดชิ้นตัวอย่างโรคที่เป็นส่วนต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 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$\pm$2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทัศน์แบบสเตอริโอ แยก hyphal tip ของเชื้อราที่เจริญออกมา ย้ายลงบนอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเก็บไว้เพื่อศึกษาลักษณะรายละเอียดของเชื้อประกอบกับเอกสารอ้างอิงเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อราต่อไป

4. การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลของตัวอย่างลงในคอมพิวเตอร์ เช่น ข้อมูลที่กำกับตัวอย่าง ข้อมูลภาพถ่ายภาพวาดของเชื้อสาเหตุ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2546
สิ้นสุด กันยายน 2549

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืชจาก จ.เชียงใหม่ เชียงราย ชลบุรี นครราชสีมา สุรินทร์ อุบลราชธานี ขอนแก่น นครนายก ปราจีนบุรี ปทุมธานี นครปฐม ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ ตรัง และสงขลา ระหว่าง เดือนตุลาคม 2548-กันยายน 2549 ได้ตัวอย่างโรคพืชจำนวน 258 ตัวอย่าง บันทึกข้อมูลของตัวอย่างจากแปลงทดลอง และถ่ายภาพลักษณะอาการของโรคในแปลง ห่อตัวอย่างด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ โดยแยกห่อแต่ละพืชแต่ละอาการ ใส่ในถุงพลาสติกเก็บไว้ในถังเก็บความเย็นเพื่อนำไปทำตัวอย่างแห้งและจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ

2. การจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ผลการจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช ได้อัดแห้งตัวอย่างโรคพืชทั้ง 258 ตัวอย่าง และใส่ตัวอย่างแห้งที่ได้ลงในซองกระดาษใสพร้อมแผ่นบันทึกข้อมูลของพืช ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากแหล่งที่เก็บ รวมทั้งข้อมูลของพืชที่ได้จากการสืบค้น (สุรชัย,2538 ; สะอาด และคณะ, 2523) ให้ลำดับหมายเลขของตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่บรรจุในซองเรียบร้อยแล้วไปเก็บในตู้แช่แข็ง –20 องศาเซลเซียสเพื่อกำจัดแมลง เป็นเวลา 7 วัน ก่อนจะนำไปเก็บในตู้เก็บตัวอย่างในห้องที่ปรับอุณหภูมิ

3. การจำแนกชนิดสาเหตุโรค

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างจากจ.เชียงใหม่ เชียงราย ชลบุรี นครราชสีมา สุรินทร์ อุบลราชธานี ขอนแก่น นครนายก ปราจีนบุรี ปทุมธานี นครปฐม ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ ตรัง และสงขลา ระหว่าง เดือนตุลาคม 2548-กันยายน 2549 ได้ตัวอย่างที่มีลักษณะอาการใบจุดสาหร่าย (Algal spot) จากพืช 16 ชนิด 23 isolate คือ ลองกอง หน้าวัว มะกรูด สุพรรณิการ์ อบเชยลำไย ชมพู่ป่า มะม่วง จำปี เงาะ อะโวกาโด พริกไทย ฝรั่ง เล็บมือนาง หางกระรอก และ ทองมาลี ลักษณะอาการของบนใบพืชคล้ายกันคือเป็นจุดแผลสีสนิมนูนขึ้นมาจากผิวใบพืช เมื่อเขี่ยเชื้อตรวจดูด้วยกล้อง microscope พบว่าเป็น algae ชนิด *Cephaleurose virescence* (ตารางที่ 1)

ตัวอย่างจากการสำรวจที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียจากพืช 7 ชนิด 14 isolate คือ หน้าวัว สะบู่ดำ คะน้า มะนาว มะกรูด ส้มเขียวหวาน และมันสำปะหลัง จากการตรวจลักษณะอาการ แยกเชื้อและตรวจสอบทางชีวเคมีสามารถจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุได้ดังนี้ แบคทีเรียที่แยกจากหน้าวัวแสดงอาการ leaf blight พบว่าเป็นแบคทีเรียชนิด *Xanthomonas campestri* pv. *campestri* แบคทีเรียที่แยกจากคะน้าแสดงอาการ leaf spot พบว่าเป็นแบคทีเรียชนิด *Xanthomonas campestri* pv. *differenbachai* แบคทีเรียที่แยกจากมะนาว ส้มเขียวหวาน และมะกรูด ซึ่งแสดงอาการ canker พบว่าเป็นแบคทีเรียชนิด *Xanthomonas campestri* pv. *citr*i แบคทีเรียที่แยกจากมันสำปะหลังแสดงอาการ leaf blight พบว่าเป็นแบคทีเรียชนิด *Xanthomonas campestri* pv. *manihotis* ส่วนสบู่ดำแสดงอาการ leaf spot ยังไม่สามารถจำแนกเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 1)

ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อสาเหตุที่เป็นเชื้อราได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรค 159 ชนิด 225 isolate ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราสนิม (rust) 27 ชนิด 44 isolate ได้แก่ มะเฟือง สร้อยทอง หญ้าขน พุทธรักษา ผักปลาบ หญ้าแพรก หญ้าตุ้มหู หญ้าแห้วหมู หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู น้ำนมราชสีห์ ถั่วเหลือง หญ้าคา ขาไก่ *Paspalum* sp.มะยม พลู ถั่วลันเตา ลีลาวดี อ้อย สักถั่วฝักยาว องุ่น ข้าวโพด ขจรจบ สร้อยสายเพชร และ Song of India จากการเขี่ยเชื้อจากตัวอย่างและตรวจด้วยกล้องจุลทัศน์โดยสามารถจำแนกชนิดของเชื้อราสนิมบนพืชได้ 6 ชนิดพืช คือ ราสนิมของถั่วเหลืองเกิดจากรา *Phakopsora pachyrhizi* ราสนิมบนขาไก่เกิดจากรา *Puccinia* sp. ราสนิมของลีลาวดีเกิดจากรา *Coleosporium plumeriae* ราสนิมของอ้อยเกิดจากรา *Puccinia* sp. ราสนิมบนข้าวโพดเกิดจากรา *Puccinia polysora* ราสนิมของถั่วฝักยาวเกิดจากรา *Uromyces phaseoli* นอกจากนี้ยังอยู่ในระหว่างจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 1)

ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราแป้ง (Powdery mildew) 21 ชนิดพืช 34 isolate ได้แก่ ฟัก พริก ตำลึง แคนตาลูป ชมพู่ หญ้ายาง น้ำนมราชสีห์ หญ้างวงช้าง กระเจี๊ยบเขียว หม่อน ยาสูบ ถั่วเขียว มะยม ลูกใต้ใบ กุหลาบ แค สร้อยทอง มะขาม ถั่วฝักยาว องุ่น และฟักแม้ว จากการเขี่ยเชื้อจากตัวอย่าง และตรวจด้วยกล้องจุลทัศน์สามารถจำแนกชนิดเชื้อราแป้งบนพืชได้ถึงสกุลจำนวน 5 ชนิดพืชคือ ลูกใต้ใบ ถั่วเขียว ตำลึง มะขาม และหญ้ายาง พบว่าเกิดจากรา *Oidium* sp. (ตารางที่ 1)

จากการสำรวจได้ตัวอย่างพืชเป็นโรคราน้ำค้าง (Downy mildew) 7 ชนิดพืช 12 isolate ได้แก่ คะน้า ผักกาดเขียวกวางตุ้ง แตงกวา บวบเหลี่ยม ถั่วผี องุ่น และข้าวโพด จากการเขี่ยเชื้อจากตัวอย่างพืชที่แสดงอาการ พบว่าราน้ำค้างบวบเหลี่ยมเกิดจากเชื้อรา *Pseudoperonoapora cubensis* ราน้ำค้างองุ่นเกิดจากเชื้อรา *Plasmopara viticola* ข้าวโพด เกิดจากเชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* ส่วนราน้ำค้างของคะน้า และถั่วผี ยังไม่ได้จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ (ตารางที่ 1)

นอกจากนี้พบโรค Tar spot ของหญ้า 4 ชนิด และใบโพธิ์ 6 isolae ยังไม่ได้จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

อาการใบไหม้ (Leaf blight) ได้ตัวอย่างจากพืช 6 ชนิด 7 isolate ได้แก่ หน้าวัว บอน เผือก Cape lily มะเขือเทศ สะระแหน่ และข้าว จากการแยกเชื้อจากตัวอย่างที่ได้พบว่าสาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ได้แก่ โรคใบไหม้ของหน้าวัว และสะระแหน่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. อาการใบไหม้บนใบเผือกเกิดจากเชื้อรา *P. colocasiae* ใบไหม้ของมะเขือเทศเกิดจากเชื้อรา *P. infestan* ส่วนอาการใบไหม้ของข้าวเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* (ตารางที่ 1)

อาการโรคใบจุด (Leaf spot) ได้ตัวอย่างมากที่สุดจาก 69 ชนิดพืช 88 isolae ส่วนใหญ่ยังอยู่ในระหว่างการจำแนกชนิดเชื้อซึ่งเป็นงานที่จะต้องดำเนินการต่อไปอย่างต่อเนื่อง

โรค Scab จาก 2 พืช ได้แก่ส้มเขียวหวาน การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ Scabบนส้มเขียวหวานเกิดจากเชื้อรา และ Scab บนองุ่นเกิดจากเชื้อรา

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้ตัวอย่างโรคพืชจำนวน 258 ตัวอย่าง ซึ่งได้อัดแห้งตัวอย่างโรคพืชทั้งหมดเก็บเข้าไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จากตัวอย่างตัวอย่างที่แสดงอาการใบจุดสาหร่าย (Algal spot) จากพืช 16 ชนิด พืช 23 isolate พบว่าเป็น algae ชนิด *Cephaleurose virescence* ตัวอย่างที่มีสาเหตุจากแบคทีเรียจากพืช 7 ชนิด 14 isolate ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อสาเหตุที่เป็นเชื้อราได้ตัวอย่างพืชที่เป็นโรค 159 ชนิด 221 isolate ได้แก่ โรคราสนิมพบบนพืช 28 ชนิด 44 isolate โรคราแป้ง (powdery mildew) พบบนพืช 21 ชนิด 34 isolate โรคราน้ำค้างพบบนพืช 7 ชนิด 12 isolate นอกจากนั้นพบอาการโรคใบจุด โรคใบไหม้ Tar spot เป็นต้น

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. ดรรชนีโรคพืชในปรเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 285 หน้า.

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2538. วัชพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์แพร่พิทยา กทม. 200 หน้า

สะอาด บุญเกิด จเร สดากร และทิพย์พรรณ สดากร. 2523. ชื่อพรรณไม้ในเมืองไทย. บริษัทอนิเมท พริ้นท์ แอนด์ ดีไซน์ จำกัด กรุงเทพฯ. 672 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 ชื่อวิทยาศาสตร์ของพืช ลักษณะอาการ เชื้อสาเหตุ และจำนวน isolate ของตัวอย่างโรคพืชที่จัดทำเป็นตัวอย่างแห้งเก็บในพิพิธภัณฑ์ระหว่าง ตุลาคม 2548- กันยายน 2549

พืช:ชื่อวิทยาศาสตร์	พืช	อาการ	สาเหตุ	isolate
Algae				
Aglaia dookkoo Griff.	ลองกอง	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	2
Anthurium andraeanum L.	หน้าวัว (Anthurium)	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
Citrus hystrix DC.	มะกรูด (Leeh lime)	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	2
Cochlospermum religiosum (L.) Alston	สุพรรณิการ์ (Yellow silk cotton)	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
Cinnamomum iners Blume.	อบเชย (Cinnamon)	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
Dimocarpus longan Lour.	ลำไย (Longan)	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	3
Eugenia sp.	ชมพู่ป่า	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
Mangifera indica Linn.	มะม่วง (Mango)	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	4
Michelia longifolia Bl. *syn. M.alba* DC.	White chempaka) (จำปี)	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
Nephelium lappaceum Linn.	เงาะ (Rambutan)	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	2
Persea americana Mill.	Avocado	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	
Piper nigrum L.	พริกไทย (Black Pepper)	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
Psidium guajava Linn.	ฝรั่ง (Guava๗	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
Quisqualis conferta Exell.	เล็บมือนาง	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
Uraria sp.	หางกระรอก	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
	ทองมาลี	Algal spot	*Cephaleurose virescence*	1
Bacteria				
Andraeanum L.	หน้าวัว (Anthurium)	Leaf blight	*Xanthomonas campestris* pv.*differenbachai*	3
Azadirachta indica A. Juss., var. *siamensis* Valeton	Neem tree (สบู่ดำ)	Bacterial leaf spot		1
Brassica alboglabra Bail	คะน้า (Kale)	Leaf spot	*Xanthomonas campestris* pv. *citri*	1

พืช:ชื่อวิทยาศาสตร์	พืช	อาการ	สาเหตุ	isolate
Citrus aurantifolia (Christm.&Panz.)Swing.	มะนาว (Lime)	Canker	*Xanthomonas campestris*	3
Citrus hystrix DC.	มะกรูด (Leeh lime)	Canker	*Xanthomonas campestris* pv*. Citri*	4
Citrus reticulate Blanco	ส้มเขียวหวาน (Tangerine)	Canker	*Xanthomonas campestris* pv*. citri*	1
Manihot esculenta Crantz	มันสำปะหลัง (Cassava)	Leaf blight	*Xanthomonas campestris* pv.*manihotis*	1
Fungi				
Averrhoa carambola Linn.	มะเฟือง (Carambola)	Rust		1
Azadirachta indica A. Juss., var. *siamensis* Valeton	สร้อยทอง (Golden rod)	Rust		1
Brachiaria mutica (Forsk) Stapf.	หญ้าขน (Buffalo grass)	Rust		1
Canna indica Linn.	พุทธรักษา (Indian Shot)	Rust		2
Commelina sp.	ผักปลาบ	Rust		2
Cynodon dactylon (L.) Pers.	หญ้าแพรก (Bermuda grass)	Rust		1
Cyperus kyllingia Endl.	หญ้าตุ้มหู	Rust		1
Cyperus rotundus L.	Nut grass	Rust		3
Digitaria adscendens	หญ้าตีนนก	Rust		2
Euphobia hirta L.	น้ำนมราชสีห์	Rust		1
Glycine max (L.) Merr.	ถั่วเหลือง (Soybean)	Rust	*Phakopsora pachyrhizi*	1
Imperata cylindrical Raeuschel	หญ้าคา	Rust		1
Justicia sp.	ขาไก่	Rust	*Puccinia* sp.	1
Paspalum sp.	หญ้า	Rust		1

พืช:ชื่อวิทยาศาสตร์	พืช	อาการ	สาเหตุ	isolate
Phyllanthus acidus Skeels	มะยม (Star Gooseberry)	Rust		3
Piper betle L.	พลู (Betel Vine)	Rust		1
Pisum sativum L.	ถั่วลันเตา (Pea)	Rust		1
Plumeria aculifolia Poir.	ลีลาวดี (Frangipani)	Rust	*Coleosporium plumeriae*	8
Saccharum officinarum L.	อ้อย (Sugarcane)	Rust	*Puccinia* sp.	1
Tectona grandis L.	สัก (Teak)	Rust		2
Vigna unguiculata (L.)Walp., subsp. Sesguipedalis (L.)	ถั่วฝักยาว (Long bean)	Rust	*Uromyces phaseoli*	1
Vitis vinifera Linn.	องุ่น (Grape)	Rust		4
Zea mays L.	ข้าวโพด (Corn)	Rust	*Puccinia polysora*	2
Pennisetum pedicellatum Trin.	หญ้าขจรจบ	Rust		1
	สร้อยสายเพชร	Rust		1
	Song of India	Rust		1
Benincasa hispida Cogn.	ฟัก (Wax Gourd)	Powdery mildew		1
Capsicum sp.	พริก (Peper)	Powdery mildew + sooty mold		1
Coccinia grandis (L.)Solms.	ตำลึง	Powdery mildew	*Oldium* sp.	4
Cucumis melo var. *cantalupensis* Naud.	Cantaloup	Powdery mildew		1
Eugenia javanica Lamk.	ชมพู่	Powdery mildew		1
Euphobia heterophylla	หญ้ายาง	Powdery mildew	*Oidium* sp.	2
Euphobia hirta L.	น้ำนมราชสีห์	Powdery mildew		2
Heliotropium indicum L.	หญ้างงวงช้าง (Indian Heliotrope)	Powdery mildew		2
Hibiscus esculentus Moench	กระจี๊ยบเขียว (Okra)	Powdery mildew		1

พืช:ชื่อวิทยาศาสตร์	พืช	อาการ	สาเหตุ	isolate
Morus alba L.	หม่อน (Mulberry)	Powdery mildew		1
Nicotiana tabacum L.	ยาสูบ (Tobacco)	Powdery mildew	*Erysiphe* sp.	1
Phaseolus radiate (L.)	ถั่งเขียว (Mungbean)	powdery mildew	*Oidium* sp.	1
Phyllanthus acidus Skeels	มะยม (Star Gooseberry)	Powdery mildew		1
Phyllanthus amarus Schum & Thonn.	ลูกใต้ใบ	Powdery mildew	*Oidium* spp.	3
Rosa chinensis Jacq.	กุหลาบ (Rose)	Powdery mildew		1
Sesbania grandiflora (L.) Poir	แค	Powdery mildew		2
Solidago polyglossa DC.	สร้อยทอง (Golden rod)	Powdery mildew		1
Tamanindus indica Linn.	มะขาม (Tamarind)	Powdery mildew	*Oidium* sp.	3
Vigna unguiculata (L.)Walp., subsp. Sesguipedalis (L.)	ลำไย (Long bean)	Powdery mildew		1
Vitis vinifera Linn.	องุ่น (Grape)	Powdery mildew		2
	ฟักแม้ว	Powdery mildew		2
Brassica alboglabra Bail	คะน้า (Kale)	Downy mildew	*Peronospora parasitica*	2
Brassica chinensis L. var. *parachinensis* (Bail.)	ผักกาดเขียวกวางตุ้ง(Choy Sum)	Downy mildew		1
Cucumis sativus L.	แตงกวา (Cucumber)	Downy mildew		1
Luffa acutangula Roxb.	บวบเหลี่ยม	Downy mildew	*Pseudoperonospora cubensis*	1
Pueraria phaseoloides Benth.	ถั่วผี	Downy mildew		1
Vitis vinifera Linn.	องุ่น (Grape)	Downy mildew	*Plasmopara viticola*	4
Zea mays L.	ข้าวโพด (Corn)	Downy mildew	*Peronosclerospora sorghi*	2
Cynodon dactylon (L.) Pers.	หญ้าแพรก (Bermuda grass)	Tar spot		2
Ficus religiosa Linn.	โพธิ์ (Papal tree)	Tar spot		1

พืช:ชื่อวิทยาศาสตร์	พืช	อาการ	สาเหตุ	isolate
	หญ้า	Tar spot		1
	หญ้าข้าวนก	Tar spot		1
Digitaria adscendens	หญ้าตีนนก	Tar spot		1
Anthurium andraeanum L.	หน้าวัว (Anthurium)	Leaf blight	*Phytophthora* sp.	1
Colocasia autiquorum Schott	บอน	Leaf blight		1
Colocasia esculenta (L.) Schott	เผือก (Taro)	Leaf blight	*Phytophthora colocasiae*	2
Crinum asiaticum L.	Cape Lily	Leaf blight		1
Lycopersicon esculentum Mill.	มะเขือเทศ (Tomato)	Late blight	*Phytophthora infestan*	1
Mentha arvensis L.	สะระแหน่	Leaf blight	*Phytophthora* sp.	1
Oryza sativa L	ข้าว (Rice)	Blast	*Pyricularia grisea*	1
Capsicum sp.	พริก (Peper)	Leaf spot	*Cercospora* sp.	2
Cyperrus sp.	Sedge	Leaf spot		1
Draceana sp.	วาสนา	Leaf spot		1
Solanum aculeatissimum Jacg.	มะเขือเปราะ	Leaf spot		1
Coccinia grandis (L.)Solms.	ตำลึง	Leaf spot		2
Carica papaya Linn.	มะละกอ (Papaya)	Leaf spot		1
Punica granatum L.	ทับทิม (Pomegranate)	Leaf spot	*Phyllosticta* sp.	1
Crinum asiaticum L.	บ่วงนาคบาศ (Cape Lily)	Leaf spot		1
Vigna unguiculata (L.)Walp., subsp. Sesguipedalis (L.)	ถั่วฝักยาว (Long bean)	Leaf spot	*Pseudocercospora cruenta*	1
Anthurium andraeanum L.	หน้าวัว (Anthurium)	Leaf spot		2
Apium graveolens L.	Celery	Leaf spot	*Cercospora apii*	2
Arachis hypogaea L.	ถั่วลิสง (Peanut)	Leaf spot		1
Areca catechu L.	หมาก (Areca nut)	Leaf spot		1

พืช:ชื่อวิทยาศาสตร์	พืช	อาการ	สาเหตุ	isolate
Aristolochia indica Linn.	กระเช้าสีดา	Leaf spot		1
Averrhoa carambola Linn.	มะเฟือง (carambola)	Leaf spot		2
Azadirachta indica A. Juss., var. *siamensis* Valeton	สะเดา (Neem tree)	Leaf spot		1
Basella rubra Linn. *syn. B. alba* Linn.	ผักปลัง (Malabar nightshade)	Leaf spot		1
Brassica alboglabra Bail	คะน้า (Kale)	Leaf spot		1
Brassica pekinensis Rupr., var *laxa* Tsen & Lee	ผักกาดขาว (Celery cabbage)	Leaf spot		1
Bouea burmanica Griff.	มะปราง (Plum Mango)	Leaf spot		1
Bougainvillea spectabilis Willd. syn. *B. speciosa* Lindl.	เฟื่องฟ้า (Bougainvillea)	Leaf spot	*Cercospora* sp.	3
Capsicun sp.	พริก (Peper)	Leaf spot		3
Celosia cristata	หงอนไก่ (Cockscomb)	Leaf spot		1
Celosia sp.	หงอนไก่ป่า	Leaf spot	*Cercospora* sp.	1
Cocos nucifera L.	มะพร้าว (Coconut)	Leaf spot		1
Cucumis melo L.	Muskmelon	Leaf spot		1
Cucumis sativus L.	แตงกวา (Cucumber)	Leaf spot		1
Cucurbita moschata Poir.	ฟักทอง (Pumpkin)	Leaf spot		1
Cucurbita moschata Poir.	ฟักทอง (Pumpkin)	Leaf blight		1
Dimocarpus longan Lour.	ลำไย (Longan)	Leaf spot		3
Echinochoa colonum (L.)Link.	หญ้าข้าวนก	Leaf spot		1
Elaeis guineensis Jacq.	ปาล์มน้ำมัน (Oil palm)	Leaf spot	*Curvularia eragostidis*	1

พืช:ชื่อวิทยาศาสตร์	พืช	อาการ	สาเหตุ	isolate
Eugenia caryophyllata Thumb.	Clove	Leaf spot		1
Eupatorium odoratum L.	สาบเสือ	Leaf spot		2
Ficus sp.	ไทร	Leaf spot		1
Gomphrena globosa L.	Globeamaranth	Leaf spot		2
Gracinia mangostana L.	Mangosteen	Leaf spot	*Pestalotiopsis* sp.	4
	หญ้า	Leaf spot		1
Heliconia psittacorum Linn. F.	Heliconia	Leaf spot		1
Hevea brasiliensis (Willd. Ex A. Juss.) Muell. Arg.	ยางพารา (Pararubber)	Leaf spot		1
Hibiscus esculentus Moench	กระเจี๊ยบเขียว (Okra)	Leaf spot		1
Hibiscus rosa-sinensis Linn.	ชะบา (Shoe flower)	Leaf spot		1
Ipomoea reptans Poir.	ผักบุ้งจีน (Chinese convolvulus)	Leaf spot		1
Ixora sp.	เข็ม	Leaf spot		1
Jatropha curcas Linn.	สบู่ดำ (Physic nut)	Angular leaf spot		1
Litchi chinensis Sonn.	ลิ้นจี่ (Litchi)	Leaf spot		1
	ผักกาดหวาน (ใบเขียว)	Leaf spot		1
Luffa acutangula Roxb.	บวบเหลี่ยม (Sponge Gourd)	Angular leaf spot		
Lycopersicon esculentum Mill.	มะเขือเทศ (Tomato)	Leaf spot		1
Malus sylvestris Mill.	Apple	Leaf spot		1
	ผักปรัง	Leaf spot		1
Mangifera indica Linn.	มะม่วง (Mango)	Leaf spot		1

พืช:ชื่อวิทยาศาสตร์	พืช	อาการ	สาเหตุ	isolate
Manihot esculenta Crantz	มันสำปะหลัง (Cassava)	Leaf spot		4
Momordica charantia L.	มะระ (Bitter Cucumber)	Leaf spot		1
Musa sapientum Linn.	กล้วย (Banana)	Leaf spot		4
Nelumbo nucifera Gaertn	บัว (Lotus)	Leaf spot	*Cercospora nymphaeacea*	2
Nicotiana tabacum L.	ยาสูบ (Tobaaco)	Frogeye leaf spot	*Cercospora nicotianae*	1
Oryza sativa L.	ข้าว (Rice)	Brown spot	*Helminthosporium oryzae*	1
Passiflora flavicarpa	กระทกรก	Leaf spot		1
Piper nigrum L.	พริกไทย (Black peper)	Leaf blight	*Phytophthora sp.*	1
Piper sarmentosum Roxb. & Hunter	ชะพลู	Leaf spot		1
Rosa chinensis Jacq.	กุหลาบ (Rose)	Black spot	*Doplocarpon* sp.	5
Solanum melongena L.	มะเขือยาว (Egg plant)	Leaf spot		1
Zea mays L.	ข้าวโพด (Corn)	ใบไหม้แผลใหญ่	*Bipolaris turcica*	3
Zea mays L.	ข้าว (Corn)	ใบไหม้แผลเล็ก	*Bipolaris maydis*	1
Zingiber officinale Rosc.	ขิง (Ginger)	Leaf spot		2
	คฑาทอง	Leaf spot		1
	รางทอง	Leaf spot		1
Zinnia elegans Jacg.	บานชื่น (Zinnia)	Leaf spot	*Cercospora zinniae*	1
Aparagus officinalis L.	หน่อไม้ฝรั่ง (Asparagus)	Anthracnose		1
Citrus reticulate Blanco	ส้มเขียวหวาน (Tangerine)	Anthracnose		1
Mangifera indica Linn.	มะม่วง (Mango)	Anthracnose	*Colletotrichum gloeosporiodes*	5
	ว่านสี่ทิศ	Anthracnose		1

พืช:ชื่อวิทยาศาสตร์	พืช	อาการ	สาเหตุ	isolate
Citrus reticulate Blanco	ส้มเขียวหวาน (Tangerine)	Scab		1
Vitis vinifera Linn.	องุ่น (Grape)	Scab		1
Aparagus officinalis L.	หน่อไม้ฝรั่ง (Asparagus)	Stem blight		1
Citrus reticulate Blanco	ส้มเขียวหวาน (Tangerine)	melanose		1
Cynodon dactylon (L.) Pers.	หญ้าแพรก (Bermuda grass)	Ergot		1
Lycopersicon esculentum Mill.	มะเขือเทศ (Tomato)	รากำมะหยี่		1
Phoenix dactylifera L.	อินทผาลัม (Date palm)	False smut	*Graphiola* sp.	3
Portulaca portulacastrum	ผักเบี้ยหิน	White rust		1

สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

Survey, Culture Collection and Identification of Entomopathogenic Nematodes

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี เชียงใหม่ นครราชสีมา สกลนคร และกำแพงเพชร จำนวน 10 10 25 20 20 และ 15 ตัวอย่าง ตามลำดับ รวม 100 ตัวอย่าง สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Heterorhabditidae จากจังหวัดเพชรบุรี (PRh isolate) จัดอยู่ในสกุล *Heterorhabditis* sp. และวงศ์ Steinernematidae จากจังหวัดกำแพงเพชร (KPs isolate) จัดอยู่ในสกุล *Steinernema* sp. เมื่อนำ *Heterorhabditis* sp. มาจำแนกชนิดโดยใช้เทคนิคการผสมข้ามสายพันธุ์กับไส้เดือนฝอย *H. bacteriophora* และ *Heterorhabditis* sp. REh isolate (แยกจากจังหวัดร้อยเอ็ด) พบว่าสามารถผสมพันธุ์ได้กับ *Heterorhabditis* sp. REh isolate แต่ไม่ผสมข้ามสายพันธุ์กับ *H. bacteriophora* และเก็บรักษาให้คงความมีชีวิตในน้ำกลั่นนาน 2 เดือน ในสภาพอุณหภูมิห้อง (27$\pm$2°ซ) และนาน 4 เดือน ที่อุณหภูมิ 15°ซ มีศักยภาพในการฆ่าหนอนกินรังผึ้ง หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และปลวกตาย 100 % ในเวลา 48 ชม. และในแมลงนูนหลวงตาย 100% ในเวลา 72 ชม. นำไส้เดือนฝอย PRh isolate มาทดสอบเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลว พบว่าเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสูตรไตหมู+น้ำมันหมู+น้ำ (อัตราส่วน 7 : 1 : 2) ได้ผลผลิต 8.5 ล้านตัว/อาหารน้ำหนัก 30 กรัม

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

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) ไส้เดือนฝอยมีรูปร่างลำตัวกลม ยาวคล้ายเส้นด้าย (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) ไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืช (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 เรียก

การผสมพันธุ์แบบนี้ว่า 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) ได้ รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์ที่จะพัฒนาศัตรูธรรมชาติของแมลงชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ 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 นอกจากนั้นยังมีรายงานใน

ประเทศออสเตรเลีย 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*) และหนอน เจาะสมอฝ้าย (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* จำแนกได้ 37 ชนิดคือ ***S. kraussei*** Steiner, 1923 syn. *Aplectana kraussei* Steiner, 1923; ***S. arenarium*** (Artyukhovsky, 1967) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982; ***S. aciari*** Qiu, Yan, Zhou, Nguyen & Pang, 2005; ***S. akhursti*** Qiu, Hu, Zhou, Pang & Nguyen, 2005; ***S. apuliae*** Triggiani, Mracek & Reid, 2004; ***S. affine*** (Bovien, 1937) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982 syn. *Neoaplectana affinis* Bovien, 1937; ***S. bicornutum*** Tallosi, Peters & Ehlers, 1995; ***S. beddingi*** Qiu, Hu, Zhou, Pang & Nguyen, 2005; ***S. carpocapsae*** (Weiser, 1955) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding,1982 syn. *Neoaplectana carpoca*psae Weiser, 1955; ***S. caudatum*** Xu, Wang & Li, 1991; ***S. ceratophorum*** Jian, Reid & Hunt, 1997; ***S. cubanum*** Mracek, Hernandez & Boemare, 1994; ***S. diaprepesi*** Nguyen & Duncan 2002; ***S. feltiae*** (Filipjev, 1934) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982; ***S. glaseri*** (Steiner, 1929) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982 syn. *Neoaplectana glaseri* Steiner, 1929; ***S. guangdongense*** Qiu, Fang, Zhou, Pang & Nguyen, 2004; ***S. intermedium*** (Poinar, 1985) Mamiya, 1988 syn. *Neoaplectana intermedia* Poinar, 1985; ***S. karii*** Waturu, Hunt & Reid, 1997; ***S. kushidai***

Mamiya, 1988; ***S. longicaudum*** Shen & Wang, 1992; ***S. loci*** Phan, Nguyen & Moens, 2001; ***S. monticolum*** Stock, Choo & Kaya, 1997; ***S. neocurtillae*** Nguyen & Smart, 1992; ***S. oregonense*** Liu & Berry, 1996; ***S. pakistanense*** Shahina, Anis, Reid, Rowe & Maqbool. 2001; ***S. puertoricense*** Romin & Figueroa, 1994; ***S. rarum*** (de Doucet, 1986) Mamiya, 1988 syn. *Neoaplectana rara* de Doucet, 1986; ***S. riobrave*** Cabanillas, Poinar & Raulston, 1994; ***S. ritteri*** de Doucet & Doucet, 1990; ***S. scapterisci*** Nguyen & Smart, 1990 syn. *Neoaplectana carpocapsae* 'Uruguay strain' of Nguyen & Smart, 1988; ***S. saimkayai*** Stock, Somsook & Kaya, 1998; ***S. tami*** Luc, Nguyen, Reid & Spiridonov, 2000; ***S. thanhi*** Phan, Nguyen & Moens, 2001; ***S. thermophilum*** Gangula & Singh, 2000; ***S. websteri*** Cutler & Stock, 2003; ***S. weiseri*** Mracek, Sturhan & Reid, 2003; ***S. yirgalemense*** Nguyen, Tesfamariam, Gozel, Gaugler & Adams, 2004 (Nguyen, 1993)

ในสกุล *Heterorhabditis* จำแนกได้ 8 ชนิด คือ ***H. bacteriophora*** Poinar, 1976; ***H. brevicaudis*** Liu, 1994; ***H. downesi*** Stock, Griffin & Burnell, 2002; ***H. indica*** Poinar, Karunaka & David, 1992 syn. *H. hawaiiensis* Gardner, Stock & Kaya, 1994; ***H. marelatus*** Liu and Berry, 1996 syn. *H. hepialius* Stock, Strong & Gardner, 1996; ***H. megidis*** Poinar, Jackson & Klein 1987; ***H. mexicana*** Nguyen, Shapiro-Ilan, Stuart, James, McCoy & Adams, 2004; ***H. zealandica*** Poinar, 1990 (Nguyen, 1998) นอกจากนั้นในปี 1994 Nguyen & Smart ได้ค้นพบไส้เดือนฝอยสกุลใหม่ คือ *Neosteinernema* และจำแนกเป็น ***N. longicurvicauda*** Nguyen & Smart, 1994

การค้นหาจุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เพื่อนำขึ้นมาพัฒนาและนำกลับไปใช้ควบคุมศัตรูพืช ได้เพิ่มความสำคัญและมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ด้าน โดย เฉพาะงานวิจัยขั้นพื้นฐาน 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 เพื่อนำสายพันธุ์พื้นเมืองมาใช้ควบคุมศัตรูพืชในท้องถิ่นที่มีสภาพแวดล้อมเดิมจึงเป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยได้เริ่มมีการสำรวจเก็บ

รวบรวมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2539 สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงจำนวน 9 ไอโซเลท จัดอยู่ใน family Steinernematidae จำนวน 8 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสตามจังหวัดที่พบคือ จังหวัดกาญจนบุรี (KBs) พิจิตร (PCs) อยุธยา (AYs) กาฬสินธุ์ (KSs) มหาสารคาม (MKs) ขอนแก่น (KKs) หนองคาย (NKs) และสระแก้ว (SKs) และ family Heterorhabditidae จำนวน 1 ไอโซเลท คือ ร้อยเอ็ด (REh) นำมาเก็บรวบรวมเป็น culture collection ณ กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร (นุชนารถ และคณะ, 2543)

การสำรวจ เก็บรวบรวม และคัดเลือกไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูพืช จึงเป็นงานวิจัยที่สามารถนำไปสู่ผู้ใช้ประโยชน์จากผลงานได้อย่างเป็นรูปธรรม โดยไส้เดือนฝอยที่ค้นพบจากความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศที่แตกต่างและกระจัดกระจายตามถิ่นที่อยู่อาศัย (Habitat) โดยเฉพาะในเขตพื้นที่ป่าของประเทศไทยที่ตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นและยังไม่เคยมีการสำรวจนั้น มีความแตกต่างของชนิดและสายพันธุ์ ทั้งทางชีววิทยา นิเวศวิทยา พฤติกรรมและศักยภาพในการกำจัดแมลงตามสภาพถิ่นที่อยู่อาศัย 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 พร้อมกำหนดรหัสไส้เดือนฝอยเป็น culture collection เพื่อใช้ศึกษาและพัฒนาไปใช้ประโยชน์ในอนาคต จึงเป็นประเด็นสำคัญของการวิจัย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศ จำนวนตัวอย่างดินไม่น้อยกว่าปีละ 100-150 จุดเก็บ นำมาเก็บรวบรวม จัดจำแนก และอนุรักษ์ให้คงความมีชีวิต อย่างน้อยปีละ 1 ไอโซเลท และนำมาคัดเลือกโดยประเมินศักยภาพในการเป็น bio-agent เพื่อนำไปพัฒนาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร อย่างน้อย 1 สายพันธุ์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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. สารเคมีและอาหารที่มีโปรตีนและไขมัน ได้แก่ Hyamine แอลกอฮอล์ ไข่ไก่ ไตหมู โปรตีนเกษตร ไส้ไก่ และน้ำมันหมู เป็นต้น

4. อาหารเพาะเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง ได้แก่ แป้งข้าวจ้าว นมถั่วเหลือง น้ำผึ้ง ฟอร์มาลีน วิตามิน กลีเซอรีน และไขผึ้ง เป็นต้น

5. แมลงทดสอบชนิดต่างๆ ได้แก่ หนอนกระทู้ผัก หนอนกินรังผึ้ง หนอนเจาะสมอฝ้าย ปลวก และแมลงนูนหลวง

วิธีการ

1. การสำรวจและการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1.1 การสำรวจเก็บตัวอย่างดิน

1.1.1 สุ่มเก็บดินในระดับความลึก 10-15 ซม. จำนวน 5 จุดๆ ละประมาณ 300-500 กรัม นำมา คลุกเคล้ารวมกัน ใส่ถุงพลาสติกน้ำหนักประมาณ 1 กก. เท่ากับ 1 ตัวอย่างดิน ในแต่ละตัวอย่าง ครอบคลุมพื้นที่ 10 ตร.ม. ตัวอย่างดินเก็บในถังรักษาความเย็น (20-24°ซ) ขณะนำกลับห้องปฏิบัติการ และนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าจะนำมาแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินต่อไป

1.1.2 การวัดอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดิน ทำการวัดอุณหภูมิดินที่จุดเก็บ 2 ระดับ คือระดับผิวดินและระดับความลึก 10-15 ซม. และนำดินในแต่ละตัวอย่างน้ำหนัก 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น วัดค่า pH บันทึกข้อมูล

1.1.3 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

1.1.4 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

1.1.5 การแบ่งแยกไส้เดือนฝอยในระดับ family และ genus เตรียมไส้เดือนฝอยเพื่อการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยนำไส้เดือนฝอยระยะ IJ ในแต่ละรหัสไส้เดือนฝอยปลูกเชื้อในหนอนกินรังผึ้ง 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>

2.1.1 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 ได้หนอนวัยสุดท้ายก่อนเข้าดักแด้ (late instar larvae) ซึ่งเป็นวัยที่ใช้ในการขยายปริมาณไส้เดือนฝอยเพื่อการจัดเก็บในแต่ละไอโซเลท

2.1.2 การจัดเก็บไส้เดือนฝอยในน้ำกลั่น ไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากดินแต่ละสถานที่เก็บ จัดเก็บในน้ำกลั่นในขวดพลาสติกชนิด culture flask รวบรวมเฉพาะไส้เดือนฝอยระยะ infective juvenile เท่านั้น มีวิธีการเพิ่มปริมาณและจัดเก็บโดยการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในหนอนกินรังผึ้ง โดยนำหนอนจำนวน 25 ตัว วางใน Petri dish (เส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม.) ที่มีกระดาษกรอง (Whatman # 2) วางไว้ ใส่ไส้เดือนฝอยระยะ IJ จำนวน 5,000 $\pm$ 500 ตัว ในน้ำ 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ 25$\pm$2 ° ซ เป็นเวลา 2 วัน นำหนอนมาล้างผ่าน alcohol 75 % และผ่านน้ำกลั่น 3 ครั้ง นำมาวางบน White trap เป็นเวลา 7 วัน ไส้เดือนฝอย IJ รุ่นใหม่จะเคลื่อนที่

ออกจากซากหนอน IJ ที่ได้นำมาล้างด้วย hyamine 0.1 % เป็นเวลา 20 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวของไส้เดือนฝอย ล้างน้ำกลั่น 3 ครั้ง ก่อนเก็บใน culture flask (ขนาด 250 มล.)

บันทึกผล ทำการ mapping พื้นที่เก็บทุกจังหวัด และกำหนดจุดที่มีการค้นพบไส้เดือนฝอยใน family Steinernematidae และ Heterorhabditidae บันทึกชนิดดิน ระดับ pH อุณหภูมิผิวดินและอุณหภูมิที่ ระดับลึก 10-15 ซม. บันทึกรหัสไส้เดือนฝอยและวันที่เก็บลงบน culture flask นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25±2°ซ ไส้เดือนฝอยแต่ละรหัสทำการ reculture ทุก 3 เดือน กับหนอนกินรังผึ้งตามวิธีการเดิม

2. การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงโดยใช้เทคนิคการผสมข้ามสายพันธุ์ (cross breeding Technique)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมน้ำเลือด (haemolymph) ของหนอนกินรังผึ้ง โดยนำตัวหนอนฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 75 % ล้างผ่านน้ำกลั่น 3 ครั้ง ใช้กรรไกรตัดขาคู่ที่สองของหนอนและบีบน้ำเลือดเก็บไว้ในหลอดทดสอบขนาด 1.5 มล. เก็บที่อุณหภูมิ 4°ซ ก่อนใช้ในการทดลอง จากนั้นเตรียมไส้เดือนฝอยระยะ IJ ของ *Heterorhabditis* sp. ไอโซเลทที่แยกได้จาก จ.ร้อยเอ็ด (REh) จ.เพชรบุรี (PRh) และไส้เดือนฝอย *H. bacteriophora* นำทั้งแต่ละชนิดใส่ลงไปในหยดน้ำเลือดของหนอนบนสไลด์หลุม นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. ที่มีกระดาษกรองชุ่มน้ำ ปิดฝาจาน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25±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±2°ซ เป็นเวลา 10 วัน

บันทึกผลการตรวจสอบการผสมพันธุ์และให้ลูกในแต่ละชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด LM งานทดลองปฏิบัติซ้ำ 3 ครั้ง

3. การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเพื่อการใช้ประโยชน์

วิธีปฏิบัติการทดลอง

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) เก็บไว้ที่

อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจนับการตายของแมลงแต่ละชนิดที่เวลา 24 และ 48 ชม. นำไปวิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การตาย (% mortality) ของแมลงโดยใช้ Abbott's formula (1925)

4. การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลว

วิธีปฏิบัติการทดลอง

4.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบด้วยสูตรอาหารดัดแปลงจำนวน 4 สูตร (No.1 – No.4) โดยมีสูตรอาหาร BDM ของ Bedding (1981) เป็นสูตรเปรียบเทียบ (control) แสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้ :-

สูตร	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร
No.1	**ไตหมู** 60 % + **น้ำมันหมู** 20 % + **น้ำกลั่น** 20 %
No.2	**โปรตีนเกษตร** 60 % + **น้ำมันหมู** 20 % + **น้ำกลั่น** 20 %
No.3	**ไส้ไก่** 60 % + **น้ำมันหมู** 20 % + **น้ำกลั่น** 20 %
No.4	**ไข่ไก่** 60 % + **น้ำมันหมู** 20 % + **น้ำกลั่น** 20 %
BDM	**ไตหมู** 70 % + **น้ำมันหมู** 10 % + **น้ำกลั่น** 20 % (**สูตร** Bedding, 1981)

4.2 เลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยระยะ IJ ของ *Heterorhabditis* sp. PRh isolate จากหนอนกินรังผึ้ง (wax moth, *Galleria mellonella*) ตามวิธีการของ Kaya และ Stock (1988) ได้ไส้เดือนฝอย IJ นำมาล้างด้วย 0.1 % hyamine เป็นเวลา 30 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิว จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง เก็บไว้ใน culture flask ที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณในอาหารเทียม

4.3 แยกเชื้อแบคทีเรียจากไส้เดือนฝอยระยะ IJ ของ *Heterorhabditis* sp. PRh isolate ดัดแปลงตามวิธีการของ Aguillera *et al.* (1993) โดยทำการปลูกเชื้อไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายของ PRh ในหนอนกินรังผึ้งเป็นเวลา 48 ชม. จากนั้นนำหนอนที่ถูกเข้าทำลายมาล้างฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 75% และล้างผ่านน้ำกลั่น 3 ครั้ง ใช้กรรไกรตัดส่วนหัวของหนอนและใช้ลูปแตะน้ำเลือด นำมา streak บนอาหาร NBTA (37 g standard-I-nutrient agar, 25 mg bromthymol blue, 1,000 ml distilled water, 4 ml sterile filtrate 1 % 2,3,5 triphenyl-tetrazolium chloride solution) ทุกขั้นตอนทำในสภาพปลอดเชื้อ ทิ้งไว้ 48 ชม. ที่อุณหภูมิ 25°ซ แยกโคโลนีเดี่ยวชนิด primary from ของแบคทีเรียเก็บเป็น stock culture ใน glycerol medium ที่อุณหภูมิ -30 °ซ

4.4 เตรียมอาหารสูตรดัดแปลงชนิดแข็งกึ่งเหลว 5 สูตร และสูตร Bedding (1981) (control) ปริมาตรสูตรละ 150 กรัม ผสมอาหารกับชิ้นฟองน้ำตัดขนาดลูกเต๋า น้ำหนัก 10 กรัม

จากนั้นแบ่งใส่ flask ขนาด 250 มล. จำนวน 4 ใบ (เท่ากับอาหารน้ำหนัก 30 กรัม คลุกฟองน้ำ น้ำหนัก 2.5 กรัมต่อ flask) นำไปอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ เป็นเวลา 20 นาที

4.5 ย้ายโคโลนีของแบคทีเรียจาก stock culture ลงใน flask ขนาด 125 มล. ที่มีอาหารชนิด YS broth ปริมาตร 15 มล. นำไปตั้งบนเครื่องเขย่า 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นนำเซลล์แบคทีเรียที่ได้ไปหยดลงบนอาหารที่อบนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวนแบคทีเรีย 10^7 เซลล์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม. หลังจากนั้นใส่หัวเชื้อไส้เดือนฝอย IJ จำนวน 20,000±5000 ตัวต่อขวด flask ทุกขั้นตอนทำให้สภาพปลอดเชื้อ นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 26±2 ° ซ เป็นเวลา 10 วัน

การบันทึกผลและวิเคราะห์ข้อมูล ตรวจนับผลผลิตไส้เดือนฝอยที่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จำนวน 5 ซ้ำต่อสูตรอาหาร นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติตามแผนการทดลองและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2548 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2549

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการสำรวจและเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี เชียงใหม่ นครราชสีมา สกลนคร และกำแพงเพชร จำนวน 10 10 25 20 20 และ 15 ตัวอย่างดินตามลำดับ รวมทั้งหมด 100 ตัวอย่าง นำมาแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินตามวิธีของ Bedding and Akhurst (1975) สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยจากพื้นที่ จ.เพชรบุรี และกำแพงเพชร รวม 2 ไอโซเลท กำหนดรหัสเป็น PRh และ KPs ตามลำดับ โดย PRh เป็นไส้เดือนฝอยใน family Heterorhabditidae อยู่ใน genus *Heterorhabditis* และ KPs เป็นไส้เดือนฝอยใน family Steinernematidae อยู่ใน genus *Steinernema*

แหล่งอาศัยของไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

Heterorhabditis sp. PRh isolate แยกได้จากดินในแปลงปลูกมะพร้าว เขตพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี ลักษณะของเนื้อดินสีน้ำตาลดำ ร่วนซุย pH 7.0 ความชื้น 21%

Steinernema sp. KPs isolate แยกได้จากดินปลูกมะม่วง ห่างจากถนนประมาณ 100 เมตร ของเขตอำเภอบ่อทอง จังหวัดกำแพงเพชร ลักษณะของเนื้อดินสีน้ำตาลดำ ดินร่วนปนทราย pH 6.8 ความชื้น 18%

ไส้เดือนฝอย PRh isolate เมื่อนำไปเก็บรักษาในน้ำกลั่นที่บรรจุใน tissue culture flask แยกเก็บที่อุณหภูมิห้อง (27±2°ซ) 1 ชุด และที่อุณหภูมิ 15 °ซ 1 ชุด ผลจากการเก็บรักษาให้คง

ความมีชีวิตในน้ำกลั่นพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเก็บรักษา โดยการเก็บในสภาพอุณหภูมิห้อง (27±2°ซ) เก็บได้นาน 2 เดือน แต่นาน 4 เดือน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 15°ซ

2. ผลการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

การจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยสกุล *Heterorhabditis* sp. (PRh isolate) โดยวิธี cross mating กับ *Heterorhabditis* sp. (REh isolate) และ *H. bacteriophora* พบว่าสามารถผสมพันธุ์และเพิ่มปริมาณได้กับ *Heterorhabditis* sp. (REh isolate) ที่แยกได้จาก จ.ร้อยเอ็ด ในปี 2540 จึงจำแนกเป็นชนิด (species) เดียวกัน แต่ *Heterorhabditis* sp. (PRh isolate) ไม่สามารถผสมพันธุ์ได้กับ *H. bacteriophora*

3. ผลการทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยในการกำจัดแมลง

ผลการทดสอบศักยภาพการเป็นสารชีวภัณฑ์ (bio-pesticide) ของไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. ที่แยกได้จากพื้นที่ จ.เพชรบุรี (PRh isolate) ในการกำจัดแมลงชนิดต่างๆ พบว่ามีศักยภาพในการฆ่าหนอนกระทู้ผัก หนอนกินรังผึ้ง หนอนเจาะสมอฝ้าย และปลวก ตาย 100 % ในเวลา 48 ชม. และในแมลงนูนหลวง ตาย 25 และ 100 % ในเวลา 48 และ 72 ชม. ตามลำดับ ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยคำนวณ % การตายของแมลงตามวิธีของ Abbott's formula (1925) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงชนิดต่างๆ ที่ถูกไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. PR เข้าทำลาย เป็นเวลา 48 ชม. ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ไส้เดือนฝอยและชนิดของแมลง	ใส่ไส้เดือนฝอย			ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย			% การตาย [1/]
	แมลงทดสอบ (n)	แมลงตาย (n)	แมลงมีชีวิต (n)	แมลงทดสอบ (n)	แมลงตาย (n)	แมลงมีชีวิต (n)	
1. หนอนกระทู้ผัก	15	15	0	10	3	7	100
2. หนอนกินรังผึ้ง	50	50	0	50	0	50	100
3. หนอนเจาะสมอฝ้าย	8	8	0	8	0	8	100
4. ปลวก	50	50	0	50	5	45	100
5. แมลงนูนหลวง	8	2	6	8	0	8	25

[1/] %การตาย = (แมลงมีชีวิตในกรรมวิธีไม่ใส่ไส้เดือนฝอย - แมลงมีชีวิตในกรรมวิธีใส่ไส้เดือนฝอย) x 100

แมลงมีชีวิตในกรรมวิธีไม่ใส่ไส้เดือนฝอย

4. การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลว

จากการทดสอบเพาะเลี้ยง *Heterorhabditis* sp. PRh isolate ในอาหารชนิดแข็งกึ่งเหลวที่ประกอบด้วยโปรตีนจากไตหมู โปรตีนเกษตร ไส้ไก่ และไข่ไก่ ผสมไขมันจากสัตว์ (น้ำมันหมู) และน้ำกลั่น เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร BDM ของ Bedding (1981) มีสภาพการเลี้ยงแบบ monoxenic culture ที่มี symbiotic bacteria ร่วมด้วย โดยวางเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±2°ซ เป็นเวลา 10 วัน ผลการตรวจนับจำนวนผลผลิตไส้เดือนฝอยที่ได้ในแต่ละสูตรอาหารพบว่า สูตรอาหารดัดแปลง No.1 (ไตหมู 60 % + น้ำมันหมู 20 % + น้ำกลั่น 20 %) ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 4.2 ล้านตัว และต่ำกว่าสูตรอาหาร BDM (ไตหมู 70 % + น้ำมันหมู 10 % + น้ำกลั่น 20 %) ซึ่งให้ผลผลิตเท่ากับ 8.5 ล้านตัวต่ออาหาร 30 กรัมเท่ากัน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลผลิตไส้เดือนฝอย *Heterorhabditis* sp. PRh isolate เมื่อเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารดัดแปลงชนิดแข็งกึ่งเหลว จำนวน 4 สูตร (No.1-4) เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร BDM (Bedding, 1981) ในสภาพการเลี้ยงแบบ monoxenic เป็นเวลา 10 วัน

สูตร	**ส่วนประกอบของสูตรอาหาร**	ผลผลิต (ล้านตัว)ต่ออาหาร 30 กรัม
No.1	ไตหมู 60 % + น้ำมันหมู 20 % + น้ำกลั่น 20 %	**4.2 b**[1/]
No.2	โปรตีนเกษตร 60 % + น้ำมันหมู 20 % + น้ำกลั่น 20 %	**2.2 d**
No.3	ไส้ไก่ 60 % + น้ำมันหมู 20 % + น้ำกลั่น 20 %	**2.9 c**
No.4	ไข่ไก่ 60 % + น้ำมันหมู 20 % + น้ำกลั่น 20 %	**3.9 b**
BDM	**ไตหมู 70 % + น้ำมันหมู 10 % + น้ำกลั่น 20 %**	**8.5 a**

CV. = 8.04 %

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

เมื่อพิจารณาจากผลผลิตไส้เดือนฝอยในแต่ละสูตรอาหารที่ทำการเพาะเลี้ยง แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบของแหล่งอาหารโปรตีน มีผลต่อผลผลิตของไส้เดือนฝอยที่ได้และมีความแตกต่างกันในทางสถิติ โดยพบว่าไส้เดือนฝอยที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารโปรตีนสูง ผลผลิตที่ได้จะสูงขึ้นตามลำดับ โดยเฉพาะแหล่งโปรตีนจากสัตว์ให้ผลผลิตสูงกว่าแหล่งโปรตีนจากพืช ดังนั้น คุณค่าจากแหล่งอาหารโปรตีนที่ได้รับมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและกระบวนการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dunphy and Webster (1989) ซึ่ง

ทำการศึกษาองค์ประกอบของอาหาร (nutritional components) ในการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย พบว่าผลผลิตไส้เดือนฝอยขึ้นกับสารอาหารโปรตีนที่เหมาะสม โดยองค์ประกอบของอาหารในการเพาะเลี้ยง *S. carpocapsae* DD 136 ได้จากแหล่งไนโตรเจน (15 % Tryptic soy broth และ 5 % yeast extract) แหล่งคาร์บอน (14 % D-glucose) และ lipid (1 % sunflower oil) อย่างไรก็ตาม สารอาหารชนิดต่างๆ ยังมีผลต่อผลผลิตไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย โดย culture ที่มี stearic acid จากน้ำมันดอกทานตะวันเพิ่มผลผลิต *S. carpocapsae* และน้ำมันตับปลาเพิ่มผลผลิตให้กับ *H. heliothidis* (Dunphy and Webster, 1989)

การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Heterorhabditis* sp. ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย มีพื้นฐานและเทคนิคจาก Bedding (1981) ซึ่งเป็นผู้ที่พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารแข็งกึ่งเหลวในสภาพ monoxenic culture เป็นผลสำเร็จและเทคนิคการผลิตนี้ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง โดย Bedding ได้ทดสอบเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยสกุล *H. heliothidis* (New Zealand) ในอาหารแข็งกึ่งเหลวที่มีองค์ประกอบของไตหมู 60 % ไขมันสัตว์ 20 % และน้ำ 20 % ให้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเฉลี่ย 210 ล้านตัวต่ออาหาร 1 ลิตร เมื่อนำผลผลิตไส้เดือนฝอยมาเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงสายพันธุ์ไทยในอาหาร 1 ลิตร ของสูตรอาหารเดียวกัน พบว่าสายพันธุ์ไทยให้ผลผลิตเท่ากับ 140 ล้านตัวต่ออาหาร 1 ลิตร ต่ำกว่าเท่ากับ 70 ล้านตัว ดังนั้น ผลผลิตที่ได้จากการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม ยังขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยอีกด้วย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจไส้เดือนฝอยในกลุ่มกำจัดแมลงจากพื้นที่ต่างๆ ในประเทศไทย สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs isolate จากจังหวัดกำแพงเพชร และไส้เดือนฝอย *Heterorhabtidis* sp. PRh isolate จากจังหวัดเพชรบุรี เมื่อนำมาเก็บรักษาให้คงความมีชีวิตพบว่า PRh isolate เก็บได้นานที่สุด 4 เดือน ที่อุณหภูมิ 15°ซ และ PRh isolate เป็นชนิดเดียวกับไส้เดือนฝอย *Heterorhabtidis* sp. REh isolate จากจังหวัดร้อยเอ็ด โดยไม่ mating กับ *H. bacteriophora* เมื่อนำไปทดสอบศักยภาพในการฆ่าแมลงในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าสามารถฆ่าหนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกินรังผึ้ง และปลวก ตาย 100 % ภายในเวลา 48 ชม. และฆ่าแมลงนูนหลวงตาย 100 % ที่เวลา 72 ชม. จากการทดสอบเพาะเลี้ยงขยายปริมาณ PRh isolate ในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลวพบว่า สามารถขยายปริมาณและให้ผลผลิตได้ดีในอาหารสูตรไตหมู+น้ำมันหมู+น้ำ (อัตรา 7 : 1 : 2) เท่ากับ 8.5 ล้านตัวต่ออาหาร 30 กรัม

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2543. ไส้เดือนฝอยที่มีประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช, น. 223-246. *ใน* พัฒนาการเกษตรไทยยุคเทคโนโลยีชีวภาพ, สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2544. อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง STEINERNEMATID. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 63 หน้า.

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 R.J. Akhurst. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. Nematologica 21 : 109-110.

Dunphy, G.B. and J.M. Webster. 1989. The monoxenic culture of *Neoaplectana carpocapsae* DD 136 and *Heterorhabditis heliothidis*. Revue de Nematologie 12 : 113-123.

Glaser, R.W. 1931. The cultivation of a nematode parasite of an insect. *Science* 614.

Gaugler, R. and H.K. Kaya. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc. Florida. 365 p.

Kaya, H.K. and S.P. Stock. 1988. Techniques in Insect Nematology. Department of Nematology, Univ. of California, Davis, California. 100 p.

Nguyen, K.B. 1993. Identification to Entomopathogenic Nematode Species of the Genus Steinernema.

Nguyen, K.B. and G.C. Smart. 1991. Mode of entry and sites of development of *Steinernema scapterisci* in mole crickets. J. Nematol. 23(2) : 267-268.

Steiner, G. 1923. *Aplectana kraussei* n.sp. der Blattwespe *Lyda* sp. parasitierende Nematoden-form, nebst Bemerkungen uber das Steitenorgan der parasitischen

Nematoden. Page 24. In : Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ

Study on Potential of *Bacillus* Genus for Controlling Fungi Causaul agent of Economic Plant Disease

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม*Bacillus*ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ได้แก่ เชื้อรา*Colletrotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของแตงกวา และ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ โดยทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2550 วิธีการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ ใช้วิธี dual plate technique โดยนำแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ที่แยกได้จากดินปลูก ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกจากแหล่งต่างๆ มาคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ผลการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า มี *Bacillus* spp. 18 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก 17 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* 28 ไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราเชื้อรา *F. solani* และ มี14 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ การทดสอบการยับยั้งโรคบนผลพริก พบว่ามี 13 ไอโซเลท ได้แก่ 17G18 20W33 2G7 20W16 20W1 20W8 20W5 1G8 2G23 22W8 19W36 22W10 และ 20W3 ที่สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้ โดยไอโซเลท 20W16 22W8 และ 1G8 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคสูงสุด โดยมีขนาดพื้นที่แผลเฉลี่ยเท่ากับ0.034 0.090 และ 0.179 ซม. ตามลำดับ การทดสอบการควบคุมโรคหอมเลื้อยในระดับเรือนทดลองพบว่ามี 2 ไอโซเลท คือ 22W10 และ 20W8 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้สูงสุดถึง 100เปอร์เซนต์

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี เป็นวิธีหนึ่ง ที่มีความปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม วิธีการโดยการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพ ซึ่งมีอยู่มากมายในธรรมชาติ มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคพืช เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* จัดเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด ซึ่งปัจจุบันทั้งต่างประเทศและในประเทศไทยก็มีการผลิตเป็นการค้าแล้ว เช่น แบคทีเรีย *B. subtilis* ซึ่งในการป้องกันกำจัดโรคข้าว ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้ เป็นกลุ่มที่มักพบเสมอในสภาพธรรมชาติ แบคทีเรียสกุล*Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ รวมทั้ง *B. subtilis* ที่มักจะเจริญปะปนอยู่มากมายทั้งในดิน ตามผิวพืชและแหล่งอาหารที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตสูงและสามารถแยกได้ง่าย

สุปรียาและคณะ (2546) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus spp.* จากตัวอย่างเมล็ดข้าว ดิน และเปลือกผลไม้จำนวน 446 ไอโซเลท พบว่า มี 58 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Didymella bryoniae, Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici, Sclerotium rolfsii* และ *Ralstonia solanacearum*

พราวมาสและคณะ (2548) ได้ทำการทดสอบ *Bacillus* spp. 9 ไอโซเลทเพื่อลดการเกิดโรคราดำบนใบมะเขือเทศ พบว่า สามารถลดการเกิดโรคได้ 48.68-66.65 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่แยกได้จากดินปลูก ปุ๋ยคอกและวัสดุปลูกต่างๆ มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชเศรษฐกิจสำคัญ ที่เกิดจากเชื้อราที่ยังเป็นปัญหาของเกษตรกร ต่อการผลิตพืช เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ เพื่อเกษตรจะได้นำไปใช้เพื่อลดการใช้สารเคมีต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ PDA (Potato dectrose agar) , PSA (Potato sucrose agar)
2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ
3. ดินปลูก
4. กระถางปลูก

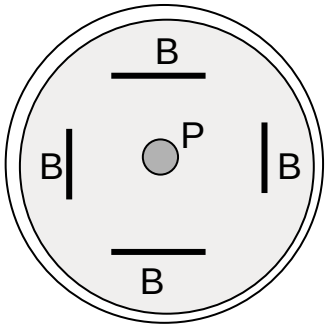
วิธีการ

1. <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ในห้องปฏิบัติการ</u>

   - เชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ทดสอบกับ *Bacillus* spp. จำนวน 64 ไอโซเลท
   - เชื้อ *F.oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ ทดสอบกับ *Bacillus* spp. จำนวน 79 ไอโซเลท
   - เชื้อ *F.solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา ทดสอบกับ *Bacillus* spp. จำนวน 73 ไอโซเลท
   - เชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ ทดสอบกับ *Bacillus* spp. จำนวน 78 ไอโซเลท

   ทดสอบโดยวิธี dual plate technique ปฏิบัติดังนี้

   1. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ทดสอบบนอาหาร PDA และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. แต่ละไอโซเลทลงบนอาหาร PSA จนกระทั่งเส้นใยหรือโคโลนีเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ
   2. ใช้ cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม. เจาะเส้นใยของเชื้อราทดสอบบริเวณขอบโคโลนี วางลงบนกึ่งกลางของจานเลี้ยงเชื้อ
   3. ใช้ Loop ขนาดมาตรฐานแตะเบาๆที่ *Bacillus* spp. ทดสอบ ที่เลี้ยงไว้ นำมาขีดเป็นเส้นตรง ยาวประมาณ 1 ซม. ขนานกับโคโลนีของเชื้อราทดสอบ 4 ด้าน ระยะห่างจากโคโลนีเชื้อราประมาณ 1 ซม. (รูปที่ 1)
   4. ตรวจผลโดยวัดขนาดความกว้างของ Inhibition zone และ ขนาดของโคโลนีของเส้นใยของเชื้อราทดสอบที่ถูกยับยั้ง



รูปที่ 1 แสดงการทดสอบโดยวิธี dual plate technique , P คือโคโลนีเชื้อราทดสอบ, B คือ *Bacillus* spp. ทดสอบ

2. <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก</u>

ปฏิบัติดังนี้ :

1. เลี้ยงเชื้อ *Bacillus* spp. จำนวน 18 ไอโซเลทซึ่งผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการแล้ว ได้แก่ ไอโซเลท 20W16 20W8 19W36 20W5 17G18 20W3 20W4 22W10 2G7 20W1 2G15 17G5 2G4 19G37 22W8 2G23 1G8 และ 20W33 ลงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 24 ชม.

2. นำมาทำเป็น cell suspension โดยใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มล.ต่อ 1 จานเลี้ยงเชื้อ ขูดเอาเซลแบคทีเรียที่เจริญบริเวณผิวหน้าอาหารออก ซึ่งจะได้ cell suspension ที่มีปริมาณเชื้อเข้มข้นประมาณ 10^7 cfu/มล.

3.นำผลพริกที่มีความสุกแก่สม่ำเสมอมาล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำมาเช็ดผิวเพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ผึ่งให้แห้ง

4. นำผลพริกที่เตรียมไว้แช่ลงใน cell suspension ของ *Bacillus* spp. ทั้ง 18 ไอโซเลท เป็นเวลา 5 นาที นำไปบ่มในกล่องพลาสติกเพื่อให้ความชื้นเป็นเวลา 24 ชม.

5. ใช้ cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม.เจาะเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารวุ้นPDA นำมาวางลงบนผลพริกซึ่งทำแผลไว้ โดยให้ส่วนของเส้นใยเชื้อราสัมผัสกับผิวผลพริก ทิ้งไว้ 24 ชม.จึงนำชิ้นส่วนของอาหารวุ้นออก

6. มีกรรมวิธีเปรียบเทียบเป็น positive control (C^+) และ negative control (C^-) ปฏิบัติดังนี้

6.1 การเตรียมC^+ ปฏิบัติเช่นเดียวกับ1-5 แต่ชุบผลพริกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทน cell suspension ของ *Bacillus* spp. แล้วจึงวางด้วยเชื้อ *C. gloeosporioides*

6.2 การเตรียม C^- ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1-5 แต่วางด้วยชิ้นวุ้น PDA ที่ไม่มีเชื้อรา

7. ตรวจผลโดยวัดขนาดของแผลบนผลพริกเปรียบเทียบกับชุด control ที่เวลา 7 วัน หลังทดสอบ

3. <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสสาเหตุโรคหอมเลื้อย ของหอมหัวใหญ่ ในสภาพเรือนทดลอง</u>

1. <u>การเตรียมพืชทดสอบ</u> : คัดเลือกหอมหัวใหญ่ให้มีขนาดใกล้เคียงกัน หัวสะอาด ปราศจากโรคแมลงทำลาย นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการเช็ดด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 10 % นำไปวางในตะกร้าเพื่อให้ความชื้นประมาณ 3-4 วัน จนกระทั่งหอมหัวใหญ่มีรากงอกประมาณ 1-2 ซม.จากนั้นย้ายปลูกลงในกระถาง จนกระทั่งอายุได้ 30 วัน จึงนำมาใช้ทดสอบ

2. <u>การเตรียม cell suspension ของเชื้อรา *C. gloeosporioides*</u> : เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA ประมาณ 7 วัน ล้างสปอร์ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้นของสปอร์ประมาณ 10^4 สปอร์/มล.
3. นำ cell suspension ของเชื้อราที่ได้ฉีดพ่นลงบนต้นและใบหอมใหญ่ ด้วยกระบอกฉีดธรรมดาจนชุ่ม คลุมด้วยถุงพลาสติกใสเป็นเวลา 24 ชม.
4. <u>การเตรียม cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus*</u> : นำแบคทีเรีย Bacillus 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราในห้องปฏิบัติการได้แก่ ไอโซเลท 22W10 20W8 17G18 20W12 และ 20W1 เลี้ยงในอาหาร PSA เป็นเวลา 24 ชม. นำมาทำเป็น cell suspension ให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^7 cfu/มล. นำมาฉีดพ่นลงบนใบและต้นหอมหัวใหญ่ที่ปลูกเชื้อไว้แล้ว (จากข้อ 3) ด้วยกระบอกฉีดธรรมดา โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับการฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides*
5. มีกรรมวิธีเปรียบเทียบดังนี้

กรรมวิธีฉีดพ่นด้วย cell suspension เชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังจากครบ 24 ชม.แล้วฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า

กรรมวิธีฉีดพ่นด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออย่างเดียว

6. ตรวจผลโดยเป็นความรุนแรงของโรคดังนี้

1 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 1-10 % ของพื้นที่ใบ
2 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 11-25 % ของพื้นที่ใบ
3 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 26-50 % ของพื้นที่ใบ
4 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 51-75 % ของพื้นที่ใบ
5 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 76-100 % ของพื้นที่ใบ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2549
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ในห้องปฏิบัติการ

1.1 <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก</u>

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 18 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA โดยแบคทีเรียสร้างสารชนิดหนึ่งขึ้นมายับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่ให้แผ่ขยายบนพื้นผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ปรากฏเป็นพื้นที่ใสๆบนอาหารที่เรียกว่า Inhibition zone (รูปที่ 2) มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.07-1.87 ซม. โดยไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone มากกว่า 1 ซม. ได้แก่ ไอโซเลท 20W16 และ 20 W8 โดยมีค่า เท่ากับ 1.87 และ 1.17 ซม.ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

รูปที่ 2 แสดงลักษณะการเกิด Inhibition zone ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สร้างสารขึ้นมายับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

1.2 <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F.oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ</u>

ผลการทดสอบพบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 17 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *F.oxysporum* โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.03-1.07 ซม. โดยไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone มากกว่า 1 ซม. ได้แก่ ไอโซเลท 2G4 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 1.07 ซม. (ตารางที่ 3)

1.3 <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F.solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา</u>

ผลการทดสอบพบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 28 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *F.solani* โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.1-1.17 ซม.

โดยไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone มากกว่า 1 ซม. ได้แก่ ไอโซเลท 17G15 20W16 20W12 22W10 และ 17G18 โดยมีค่า เท่ากับ 1.01 1.07 1.08 1.12 และ 1.17 ซม.ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

1.4 <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่</u>

ผลการทดสอบ พบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 14 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.04 – 0.85 ซม. โดยไอโซเลท 22W10 สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.85 ซม. (ตารางที่ 5)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก

ผลการทดลองพบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 13 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก โดยมีขนาดของพื้นที่แผลของโรคเท่ากับ 0.9-0.034 ตร.ซม ซึ่งมีขนาดต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ ซึ่งมีขนาดของแผลโรคแอนแทรคโนสเท่ากับ 1.35 ตร.ซม. โดยพบว่า ไอโซเลท 20W16 22 W8 และ 1G8 สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้สูงสุด โดยมีขนาดของพื้นที่แผลของโรคเท่ากับ 0.034 0.09 และ 0.179 ซม. ตามลำดับ ซึ่งเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะมองเห็นเป็นเพียงจุดเล็กๆเท่านั้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า 3 ไอโซเลทดังกล่าวสามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกได้เกือบ 100 % เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบซึ่งปรากฏพื้นที่แผลของโรคถึง 1.35 ตร.ซม. (ตารางที่ 2)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสสาเหตุโรคหอมเลื้อย ของหอมหัวใหญ่ ในสภาพเรือนทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า หลังการทดสอบ 3 วัน ทั้ง 5 ไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคหอมเลื้อยได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 100 % โดยที่ไอโซเลท 22W10 และ 20W8 สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ 100% คือหอมใหญ่ไม่แสดงอาการของโรคเลย (ตารางที่ 6)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* จำนวน 79 ไอโซเลท ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก เชื้อ *F.oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ เชื้อ *F.solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา และเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า มีแบคทีเรีย 35 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในกลุ่มทดสอบดังกล่าว มี 7 ไอโซเลท ได้แก่ 20W16 20W8 2G4

17G15 20W12 22W10 และ 17G18 มีประสิทธิภาพยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด โดยพบว่า ไอโซเลท 17G18 มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชกลุ่มทดสอบดังกล่าวทุกตัว

การทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก พบว่า ไอโซเลท 1G8 22 W8 และ 20W16 สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้สูงสุด

การทดสอบการควบคุมโรคหอมเลื้อยในระดับเรือนทดลอง พบว่า ไอโซเลท 22W10 และ 20W8 สามารถควบคุมการเกิดโรคหอมเลื้อยได้สูงสุด

เอกสารอ้างอิง

พราวมาส เจริญรักษ์ จิระเดช แจ่มสว่าง วรรณวิไล อินทนู และปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์. 2548. การใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ฉีดพ่นใบมะเขือเทศเพื่อลดการเกิดโรคราดำ (*Pseudocercospora fuligena*) ภายใต้สภาพเรือนพลาสติก. *ในบทคัดย่อ* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 7 ระหว่างวันที่ 2-4 พฤศจิกายน 2548 ณ จังหวัดเชียงใหม่.หน้า 40

สุปรียา หมื่นกุล, นิวัฒ เสนาะเมือง, พิศาล ศิริธร และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล . 2546. ประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ของ *Bacillus* spp. จากแหล่งต่างๆ ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิด.*ใน*Annual Agricultural Seminar for Year 2003,27-28 January,KKU. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตารางที่ 1 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 18 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (ซม.)	ค่าเฉลี่ยความกว้างโคโลนีของเชื้อ *C.gloeosporioides*
20W16	1.87	2.62
20W8	1.17	3.08
19W36	0.95	3.33
20W5	0.94	3.80
17G18	0.93	3.84
20W3	0.90	3.90
20W4	0.80	3.92
22W10	0.70	3.95
2G7	0.43	4.60
20W1	0.41	4.68
2G15	0.35	4.65
17G5	0.33	4.69
2G4	0.24	5.32
19G37	0.23	5.38
22W8	0.15	5.71
2G23	0.10	5.79
1G8	0.10	5.96
20W33	0.07	5.99

ตารางที่ 2 พื้นที่แผลโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลพริกที่ถูกยับยั้งโดยแบคทีเรีย*Bacillus* spp. 18 ไอโซเลท

ไอโ.ซเลท	**ค่าเฉลี่ยพื้นที่แผลโรค (ตร.ซม.)**
20W16	0.034
22W8	0.090
1G8	0.179
20W33	0.340
20W5	0.360
20W8	0.380
2G7	0.470
2G23	0.480
20W3	0.520
20W4	0.520
17G18	0.540
20W1	0.540
19W36	0.750
22W10	0.900
2G15	1.620
17G5	2.220
2G4	2.410
19G37	3.080
Control (-)	0.000
Control (+)	1.350

ตารางที่ 3 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 17 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	**ค่าเฉลี่ยความกว้างของ** Inhibition zone (**ซม.**)	**ค่าเฉลี่ยความกว้างโคโลนีของเชื้อ** *C.gloeosporioides*
2G4	1.07	2.87
22W10	0.96	2.84
20W12	0.87	2.80
17G18	0.81	2.81
20W4	0.80	2.81
20W16	0.79	2.83
20W5	0.78	2.87
20W10	0.71	2.97
17G15	0.64	3.06
20W8	0.55	3.22
20W5	0.49	3.69
19W36	0.47	3.73
2G15	0.38	3.93
20W34	0.26	4.09
19W41	0.25	4.15
19G34	0.19	4.54
19W42	0.03	4.82

ตารางที่ 4 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 28 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Fusarium solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของแตงกวาในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (ซม.)	ค่าเฉลี่ยความกว้างโคโลนีของเชื้อ *C.gloeosporioides*
17G18	1.17	2.27
22W10	1.12	2.31
20W12	1.08	2.47
20W16	1.07	2.55
17G15	1.01	2.65
20W5	0.93	2.76
20W4	0.81	3.06
2G4	0.83	3.12
19W42	0.78	3.23
20W8	0.65	3.33
2G15	0.53	3.43
20W17	0.53	3.41
20W31	0.45	3.46
20W33	0.42	3.48
2G7	0.38	3.53
20W1	0.33	3.66
19W36	0.32	3.76
20W34	0.30	3.88
1G8(1)	0.26	4.16
22W8	0.25	4.28
1G8(2)	0.23	4.30
17G11	0.21	4.32
19W37	0.17	4.59
17G5	0.16	4.98
19W41	0.12	5.09
2G24	0.12	5.22
20W32	0.10	6.50
20W28	0.10	6.55

ตารางที่ 5 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 14 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	**ค่าเฉลี่ยความกว้างของ** Inhibition zone (**ซม.**)	**ค่าเฉลี่ยความกว้างโคโลนีของเชื้อ** *C.gloeosporioides*
22W10	0.85	3.13
20W8	0.82	3.17
17G18	0.81	3.46
20W12	0.69	3.48
20W1	0.62	3.74
2G4	0.57	3.85
20W16	0.57	3.87
20W5	0.54	4.85
20W4	0.41	5.85
17G19	0.25	5.53
2G15	0.17	5.85
20W11	0.10	6.13
17G11	0.05	7.03
1G8(1)	0.04	7.88

ตารางที่ 6 เปอร์เซนต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคหอมเลื้อยที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งควบคุมด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลท ที่ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ

แบคทีเรีย/ไอโซเลท	**ประเมินโรคที่ 3 วัน หลังการทดสอบ**	
	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)	**เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)**
22W10	0.0	0.0
20W8	0.0	0.0
17G18	47.5	9.5
20W12	62.5	12.5
20W1	80.0	16.0
Control (+)	100.0	20.0
Control (-)	0.0	0.0

สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม Bacillus ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล บุษราคัม อุดมศักดิ์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดิน และปุ๋ยคอกจำนวน 5 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อ *Bacillus* sp. โดยวิธี dilution serial method นำมา แยกเชื้อบนอาหาร Tryptic Soy Agar คัดเลือกเฉพาะเชื้อ *Bacillus* sp. ได้จำนวน 25 ไอโซเลท นำเชื้อ *Bacillus* sp.มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* จำนวน 5 สายพันธุ์ ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* sp.ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *R.solanacearum* ได้ 7 ไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อ *Bacillus* sp. มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis pv. citri* จำนวน 3 สายพันธุ์ ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อ *Bacillus* sp.ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis pv. citri* ได้ 5 ไอโซเลท

รหัสโครงการ 09- 02-49-01

คำนำ

แบคทีเรียสกุล *Bacillus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีการสร้างสปอร์ที่ทนต่อความร้อน และสามารถสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคพืช (Edwards *et.al*., 1994) แบคทีเรียสกุล *Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ เจริญปะปนอยู่มากมายทั้งในดิน ตามผิวพืชแหล่งอาหารที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตสูง อยู่ในสภาพ epiphytes และ entophytes ในบริเวณรากพืชและส่วนขยายพันธุ์ที่อยู่ในดิน สามารถแยกได้ง่าย (Mundt and Hinckle, 1976) โครงสร้างที่สำคัญของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* คือ endospore ที่ทนทานต่อความแห้งแล้ง ความร้อน รังสี และสารเคมี ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ง่ายต่อการนำมาพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จรูปชนิดผงและผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ทางการค้า (Rhodes, 1990)

สุปรียาและคณะ (2546) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* จากตัวอย่างเมล็ดข้าว ดิน และเปลือกผลไม้จำนวน 446 ไอโซเลต พบว่า มี 58 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Didymella bryoniae, Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici, Sclerotium rolfsii* และ *Ralstonia solanacearum*

แบคทีเรียสกุล *Bacillus* ที่มีรายงานสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด และสามารถควบคุมโรคพืชที่สำคัญได้ ได้แก่ *B. subtilis* มีรายงานสามารถควบคุมโรคโดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม *Rhizoctonia* และ *Fusarium* โดยมีการใช้อย่างแพร่หลายในอเมริกา (Emmert and Handelsman, 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานการขึ้นทะเบียนของเชื้อ *B. subtilis* จาก The United State Environmental Protectio Agency (EPA) ให้จำหน่าย เช่น

: *B. subtilis* Strain QST 713 (006479) ใช้ในการควบคุมโรค เช่น สแคป ราแป้ง รา น้ำค้าง

ใบจุด early blight และ late blight ในพืชตระกูลแตง องุ่น ผัก พริกไทย มันฝรั่ง มะเขือเทศ ฯลฯ

: *B. subtilis* GBO3 (129068) ใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia, Fusarium, Alternaria Aspergillus* และโรคที่เกิดกับระบบรากในฝ้าย ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ฯลฯ (http://www.epa.gov/pesticides/ biopesticides/ingredients/factsheet_)

Celino and Gotllieb (1952) ได้ศึกษาการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* สายพันธุ์ B_3 A โดยการใส่ลงในดินที่มีเชื้อสาเหตุโรคสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้และลดการเกิดโรคจาก 70 เปอร์เซ็นต์ ลงเหลือเพียง 33 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* สายพันธุ์ FU 6 ที่มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและมันฝรั่ง เนื่องจากเชื้อนี้สามารถเจริญที่บริเวณรากของต้น

กล้าได้ดีและสามารถป้องกันการเข้าทำลายของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้ (Aspiras and de la Cruz, 1985)

สุธัญญา (2527) ศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีรายงานว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งหรือกำจัดเชื้อ *R. solanacearum* จากมูลสัตว์และปุ๋ยเทศบาล คือ *B. cereus* และ *P. fluorescens* สามารถทำให้มะเขือเทศแสดงอาการของโรคช้า แต่ไม่สามารถยับยั้งหรือกำจัดเชื้อ *R. solanacearum* ได้

วิธีดำเนินการ

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 และเตรียมอาหารคุณสมบัติทางชีวเคมี
1. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย เมล็ดพันธุ์ข้าว
2. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

<u>การทดลองย่อยที่ 1</u> การเก็บรวบรวมและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

1.1 แยกเชื้อแบคทีเรียจากดิน ปุ๋ยคอกและรากพืชต่างๆ สำรวจและเก็บตัวอย่างของพืชปกติ ดินและปุ๋ยคอก ที่คาดว่าจะมีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในแหล่งปลูกพืช

1.1.1 การแยกเชื้อจากดินและปุ๋ยคอก เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มจากแปลงปลูกพืช (bulk soils) โดยเก็บดินบริเวณรอบราก (rhizosphere soils) ทั้งจากต้นที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างปุ๋ยคอก นำมาผึ่งลมให้แห้งพอหมาด ๆ

- แยกโดยวิธี washing technique โดยทำสารละลายดินหรือปุ๋ยคอก ใช้ดินหรือปุ๋ยคอก 25 กรัม ละลายในอาหาร Nutrient broth (NB) 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

- แยกโดยวิธี Heat treatment นำตัวอย่างดิน ปุ๋ยคอก จากแหล่งต่างๆ มาแยกแบคทีเรีย *Bacillus* โดยการต้มตัวอย่างในน้ำเดือด (100° ซ) นาน 5 นาที ในอัตราส่วนต่างๆ รินเอาน้ำต้มบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง แล้วนำไปแยกเชื้อโดยวิธี dilution plate technique บนอาหาร NGA บ่มไว้ 48 ชั่วโมง

1.1.2 การแยกเชื้อจากรากพืช หลังจากล้างดินบริเวณรากพืชออกหมดทั้งในต้นที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ทำการบดราก 1 กรัม ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 10 มล. แช่ไว้นาน 20 นาที นำมาเจือจาง 10 เท่าเป็นลำดับ และนำไปกระจาย (spread) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ วิธีการเช่นเดียวกับการแยกเชื้อจากดินข้างต้น (อุรัจฉฑา, 2534)

<u>การทดลองย่อยที่ 2</u> การจำแนกชนิดแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

จำแนกชนิดแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ตามวิธีการของ Bradbury (1988) โดยทำการทดสอบ Gram staining, nitrate reductase, oxidation and fermentation of glucose, fluorescent pigment formation, Kovacs oxidase, arginine dihydrolase, levan และ starch hydrolysis

<u>การทดลองย่อยที่ 3</u> การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp.ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช ในห้องปฏิบัติการ

<u>เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช</u>

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว 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 เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ 1) เชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของพืชเศรษฐกิจ 2) เชื้อ *Xanthomonas axonopodis pv. citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้ม 3) เชื้อ *Erwinia carotovora pv. carotovorai* สาเหตุโรคเน่าเละของพืชผัก

โดยเตรียมอาหาร Wakimoto's semisynthetic potato medium (PSA) ในจานเลี้ยงเชื้อทำแบบ double layer ชั้นล่างใช้อาหาร PSA ในปริมาณ 15 มล.ต่อหนึ่งจาน อาหารเลี้ยงเชื้อส่วนชั้นบนใช้เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช อายุ 48 ชั่วโมง ในปริมาณ 10^8 หน่วยโคโลนี ต่อมิลลิลิตร ผสมกับอาหาร PSA ซึ่งหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45° ซ เขย่าให้เข้ากันเททับลงในจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 5 มิลลิลิตรต่อหนึ่งจานเลี้ยงเชื้อแล้วเอียงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ส่วนบนกระจายคลุมทั่วผิวหน้าชั้นล่างที่เทไว้แล้ว เมื่ออาหารแข็งตัวเก็บในตู้เย็น 14° ซ นาน 1 ชั่วโมง

โดยคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลง

การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ในสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้วิธี disc diffusion method ในการทดสอบการยับยั้งในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ micropipette หยดสารละลายของเชื้อ *Bacillus* spp.ที่จะทดสอบลงบนกระดาษแผ่นกลมที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร โดยหยดแผ่นละ 10 ไมโครลิตร แล้วใช้ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อคีบกระดาษวางบนผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 28° ซ เป็นเวลา 24-48 ชม. ตรวจผลโดยการวัดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) จากขอบโคโลนีของเชื้อถึงขอบบริเวณใส

<u>การทดลองย่อยที่ 4</u> การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในสภาพเรือนทดลอง

นำแบคทีเรีย *Bacillus* spp.ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในสภาพเรือนทดลอง โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว PSA ให้มีอายุ 48 ชั่วโมง นำมาทำเป็นสารละลายเชื้อ ให้มีความเข้มข้นประมาณ10^9 cfu/ml โดยวิธีการราดลงไปโคนต้นพืชทดสอบที่ปลูกในดินปลูกนึ่งฆ่าเชื้อที่ผสมเชื้อราสาเหตุในดินปลูก โดยมีกรรมวิธีการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

เวลาและสถานที่

ต.ค.48 - ก.ย.49 ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลอง

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้งของข้าวจากแปลงปลูกข้าวในเขตจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี อุดรธานี และหนองคาย จำนวน 40 ตัวอย่าง และเขตภาคเหนือ ได้แก่ เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ พิษณุโลก แพร่ จำนวน 20 ตัวอย่างรวมตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่าง

2 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

นำมาแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหาร Potato synthetic agar ได้แบคทีเรียโคโลนีกลม สีเหลืองนวล ขอบเรียบเป็นมัน จำนวน 50 ไอโซเลท

3. ทดสอบการเกิดโรคกับพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ (Pathogenicity test)

นำไปทดสอบการเป็นโรคบนต้นกล้าข้าวพันธุ์ NT 1 พบเสามารถทำให้ต้นข้าวแสดงอาการของโรคขอบใบแห้ง จำนวน 45 ไอโซเลท

4. จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์

เมื่อนำมาจำแนกตามคุณสมบัติต่างๆทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย ตามวิธีการของ Bergey (1986) และ Schaad *et al*., 2001 พบว่าเชื้อทั้ง 45 ไอโซเลทมีคุณสมบัติเหมือนกับเชื้อ *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*

ในปี 2550 เป็นการดำเนินการ สำรวจและเก็บตัวอย่างดิน ปุ๋ย และรากพืช เพื่อแยกเชื้อ *Bacillus spp.* และ ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2534. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการหลักสูตร การควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี.หน้า 1-13. ระหว่างวันที่ 13-17 พฤษภาคม 2534 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล,วงศ์ บุญสืบสกุล, อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547 . กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช . (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)

สุธัญญา ฉายาชวลิตร. 2527. การศึกษาโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อบักเตรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

สุปรียา หมื่นกุล นิวัฒ เสนาะเมือง พิศาล ศิริธร และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล . 2546. ประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ของ *Bacillus* spp. จากแหล่งต่างๆต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิด.*ใน*Annual Agricultural Seminar for Year 2003,27-28 January,KKU. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Sanaina,V.,V.Kishore and G.S. Shekhawat. 1997. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and other Bacteria. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Vassana Musa, Aran-H-Kittikun และ Yaowaluk Dissara .1999. Optimization ofculture conditions for production of antagonistic substances against fungal pathogens of rice by *Bacillus subtilis* (http://www.clib.psu.ac.th/ acad_42/mvas1.htm)

Wassana Kittikanokrat, Wairuj Dechmahitkul and Phenjun Mekvijitsaeng Formulation of *Bacillus subtilis* TISTR 001 for Increasing Probiotic Shelf-life (http://www.knowledge.biotec.or.th/docupload/200411495822.doc) (http://www.splammo.net/bact102/102/bacillus.html)

Xu, G.W. and D.C. Gross.1986. Field evaluation of the interaction among fluorescent Pseudomonas, Erwinia calotovora and potato yield. Phytophathology 76 : 423-430.

Vidhyasekaran, P. and M. Huthamilan. 1995. Development of formulations of Pseudomonas fluorescens for control of Chickpea wilt. Plant Dis. 79: 782-786.

การสำรวจและรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และเชื้อไวรัส NPV

Survey, Collection and Identification of *Bacillus thuringiensis* and Nuclear Polyhedrosis Virus

อิศเรส เทียนทัด อัจฉรา ตันติโชดก
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

นำเชื้อ Bt isolate ที่แยกได้จากตัวอย่างดินและทดสอบ insecticidal activity กับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักแล้วจำนวน 48 isolates มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า เชื้อ Bt มีการสร้างเซลล์และสปอร์เป็นรูปแท่ง ซึ่งขนาดของเซลล์และสปอร์ของแต่ละ isolate ส่วนใหญ่จะมีขนาดใกล้เคียงกัน ส่วนผลึกโปรตีน (parasporal inclusion body) ที่ Bt แต่ละ isolate สร้างขึ้นจะมีรูปร่างแบบ bipyramid เพียงรูปแบบเดียว และได้ทำการศึกษาขนาดของผลึกโปรตีนโดยเทคนิค SDS-PAGE โดยใช้เชื้อ *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* และ *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 เป็นเชื้อมาตรฐานในการเปรียบเทียบ และใช้ protein molecular weight marker เป็น standard marker ซึ่งประกอบไปด้วยแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 116, 66.2, 45, และ 35 กิโลดาลตัน จากการศึกษาพบว่า ลักษณะของผลึกโปรตีนของ Bt isolate, *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* และ *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 ประกอบด้วยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาด 130-138 กิโลดาลตัน ซึ่งขนาดน้ำหนักของโมเลกุลดังกล่าวจะเป็นโปรตีนที่อยู่ในกลุ่มโปรตีน Cry1 ซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนที่มีพิษต่อแมลงในอันดับ Lepidoptera

---

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ปัจจุบันทุกฝ่ายได้ตระหนักถึงอันตรายจากสารฆ่าแมลงที่มีต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภค ตลอดจนผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม จากการเข้าเป็นสมาชิกองค์การการค้าโลก ประเทศไทยต้องปฏิบัติตามข้อตกลง ที่ว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phyto-sanitary Measures (SPS) โดยใช้สุขอนามัยผู้บริโภคและปริมาณสารพิษตกค้างของพืชผักและผลไม้เป็นตัวกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ประเทศไทยจึงได้รับผลกระทบโดยตรง เนื่องจากมีการใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืชมาก ปริมาณพิษตกค้างบนผลิตภัณฑ์ มักพบว่าสูงเกินค่าความปลอดภัยอยู่เสมอเป็นผลให้ผลิตภัณฑ์ไม่ได้คุณภาพตามที่ต้องการ ทำให้ไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศได้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ดำเนินการที่จะลดปัญหาดังกล่าวโดยการห้ามการจำหน่ายสารฆ่าแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงและมีฤทธิ์ตกค้างนาน ให้มีการตรวจสอบและออกใบรับรองพืช 12 ชนิดที่พบว่ามีพิษตกค้างสูงก่อนที่จะส่งออกไปต่างประเทศ เพื่อลดปัญหาดังกล่าวการค้นคว้าวิจัยและพัฒนาเพื่อนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทดแทนสารเคมีกำจัดแมลง จึงเป็นสิ่งที่จำเป็น เพื่อให้เกษตรกรได้มีทางเลือกนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เชื้อ *Bacillus thuringiensis* เป็นจุลินทรีย์ที่พบในประเทศไทย มีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมายปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ แมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์และต่อสิ่งแวดล้อม ได้ผ่านการทดสอบจาก US Environmental Protection Agency ประเทศสหรัฐอเมริกาและเป็นที่ยอมรับและนำไปใช้ในประเทศที่พัฒนาแล้ว การนำเชื้อ *Bacillus thuringiensis* จะช่วยแก้ปัญหาผลกระทบของสารเคมีกำจัดแมลงต่อประชาชน ทำให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้เพื่อผลิตพืชที่ได้คุณภาพผลผลิตไม่ลดลงและต้นทุนการผลิตไม่เพิ่มขึ้น

วิธีดำเนินการ

ขั้นตอนที่ 1 ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างดินในแหล่งต่าง ๆ ของประเทศ สำรวจและรวบรวมเชื้อไวรัส SeNPV, HaNPV และ SlNPV ในแหล่งที่มีการระบาดของหนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้ผัก

ขั้นตอนที่ 2 ทำการแยกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* จากตัวอย่างดินที่เก็บได้และนำตัวอย่างไวรัส SeNPV, HaNPV และไวรัส SlNPV มาทำให้บริสุทธิ์ และเก็บรวบรวมไว้

ขั้นตอนที่ 3 ตรวจจำแนกชนิดของ *Bacillus thuringiensis* โดยศึกษาโครงสร้างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติของของ crystal toxin ด้วยวิธี sodium dodecyl sulfate polyacryamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) และ เทคนิค PCR และทำการศึกษารูปร่างลักษณะของผลึกโปรตีนที่ห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (polyhedral inclusion bodies) และอนุภาคไวรัส

(nucleocapsid) ด้วยกล้อง light microscope และ scanning electron microscope ศึกษาโครงสร้างของ polypeptide ของผลึกโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลแหล่งที่เก็บตัวอย่างแมลง ชนิดพืชที่แมลงทำลาย ท้องที่ตำบล อำเภอ จังหวัด

- บันทึกรูปร่างและลักษณะ และขนาดของไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้ผักที่พบจากตัวอย่างหนอนที่เก็บได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกผลของประสิทธิภาพของไวรัส NPV ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์กับหนอนทดลองวิเคราะห์ประสิทธิภาพในรูปของ Median lethal dose

- บันทึกรูปแบบและน้ำหนักโมเลกุลของ crystal toxin ของ Bt แต่ละ isolate พร้อมบันทึกภาพของแถบโมเลกุลและโปรตีนที่แยกได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

นำเชื้อ Bt isolate ที่แยกได้จากตัวอย่างดินและทดสอบ insecticidal activity กับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักแล้วจำนวน 48 isolates มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า เชื้อ Bt มีการสร้างเซลล์และสปอร์เป็นรูปแท่ง ซึ่งขนาดของเซลล์และสปอร์ของแต่ละ isolate ส่วนใหญ่จะมีขนาดใกล้เคียงกัน ส่วนผลึกโปรตีน (parasporal inclusion body) ที่ Bt แต่ละ isolate สร้างขึ้นจะมีรูปร่างแบบ bipyramid เพียงรูปแบบเดียว และได้ทำการศึกษาขนาดของผลึกโปรตีนโดยเทคนิค SDS-PAGE โดยใช้เชื้อ *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* และ *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 เป็นเชื้อมาตรฐานในการเปรียบเทียบ และใช้ protein molecular weight marker เป็น standard marker ซึ่งประกอบไปด้วยแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 116, 66.2, 45, และ 35 กิโลดาลตัน จากการศึกษาพบว่า ลักษณะของผลึกโปรตีนของ Bt isolate, *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* และ *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 ประกอบด้วยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาด 130-138 กิโลดาลตัน ซึ่งขนาดน้ำหนักของโมเลกุลดังกล่าวจะเป็นโปรตีนที่อยู่ในกลุ่มโปรตีน Cry1 ซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนที่มีพิษต่อแมลงในอันดับ Lepidoptera

การสำรวจ รวบรวม ตรวจจำแนกสายพันธุ์ปรสิตโปรโตซัว

Survey and Identification on Coccidian Protozoa Genus *Sarcocystis* in Rats and their Predators

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ดาราพร รินทะรักษ์
กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการศึกษาในปี 2549 พบซาร์โคซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูท้องขาว ที่ดักจับจากแหล่งรกร้าง และสวนสัตว์ ในจังหวัดนครราชสีมา มี 1 สายพันธุ์ แพร่ 1 สายพันธุ์ และจากสุราษฎร์ธานี 1 สายพันธุ์ การศึกษายังไม่สิ้นสุดและดำเนินต่อไป และการทดสอบเชื้อโปรโตซัวระยะสปอร์โรซีสต์จากงูเหลือมหมายเลข 5 ที่เก็บรักษาในตู้เย็นนาน 7 เดือน กับหนูท้องขาว พบว่ายังมีความรุนแรงของการทำให้เกิดโรคสูง(หนูตาย 100%)

คำนำ

Sarcocystis singaporensis Zamen & Colley(1976) เป็นปรสิตโปรโตซัวที่มีความจำเพาะต่อสัตว์อาศัย พบแพร่ระบาดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งค้นพบโดยศาสตราจารย์ Zamen เป็นครั้งแรกในประเทศสิงคโปร์ การขยายพันธุ์แบบมีเพศเกิดขึ้นภายในลำไส้ของงูเหลือม(*Python reticulatus*) สปอร์โรซีสต์(sporocysts) ซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายของการเจริญเติบโตถูกขับปะปนออกมาสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกพร้อมมูลงูให้กับสัตว์อาศัยตัวกลาง คือ หนูหลายชนิดในสกุลท้องขาว(*Rattus* spp.) และสกุลพุก(*Bandicota* spp.) ที่ซึ่งโปรโตซัวชนิดนี้มีการขยายพันธุ์แบบไม่มีเพศ และปรากฏในถุงฝังตามกล้ามเนื้อลำตัวหนู(sarcocysts) ปรสิตโปรโตซัวชนิดนี้มีศักยภาพสูงในการทำให้หนูสกุลท้องขาว(*Rattus*) และสกุลพุก(*Bandicota*)ป่วยและตายทั้งหมด(100%) ในระดับห้องปฏิบัติการ และ 71% - 92% ในระดับแปลงทดลองในฟาร์มไก่ นาข้าว และสวนปาล์มน้ำมัน และไม่มีผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อสัตว์อื่น ๆ ในสภาพแวดล้อม

รหัสโครงการ 09-02-49-01

อย่างไรก็ตาม *S. singaporensis* ที่ได้จากการสำรวจและรวบรวมจากสัตว์อาศัยทั้ง 2 ชนิด ในพื้นที่ทำการเกษตร เขตเมือง ได้แก่ หนู และงูเหลือม เป็นต้น ให้ผลความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคที่แตกต่างกัน เมื่อทดสอบกับหนู อย่างเช่น ปริมาณสปอร์โรซีสต์ที่ได้งูที่กินหนูป่ามาเลย์ติดเชื้อ 2x105 ซีสต์ ทำให้หนูท้องขาวทดลองตาย 80% แต่ในขณะที่สปอร์โรซีสต์ที่ได้จากงูที่กินหนูพุกใหญ่ติดเชื้ออัตรา 2x105 ซีสต์ ทำให้หนูท้องขาวทดลองตาย 100% เป็นต้น จากข้อมูลที่ได้นี้ทำให้เห็นว่าปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในหนูแต่ละชนิดนั้นมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะด้านความรุนแรงของการทำให้เกิดโรคในหนู นอกจากนี้ผลงานทดลองตั้งแต่ปี 2536-2545 ปรสิตโปรโตซัวชนิดนี้ไม่สามารถพัฒนาและเจริญเติบโตได้ในหนูหริ่ง(*Mus* spp.) นั่นคือ เชื้อโปรโตซัวชนิดนี้ไม่สามารถกำจัดหนูหริ่งได้ ดังนั้น การสำรวจและคัดเลือกสายพันธุ์ *S. singaporensis* ที่มีศักยภาพสูง จึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง สำหรับการผลิตสารชีวินทรีย์ชนิดนี้ในเชิงการค้า เพราะหนู ซึ่งเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และสามารถสร้างระบบภูมิคุมกันต่อเชื้อโรคได้เกือบทุกชนิด การใช้เชื้อโปรโตซัวชนิดนี้ไปนานๆ จึงอาจทำให้ประสทธิภาพในการกำจัดหนูลดลง นอกจากนี้การสำรวจชนิดรวบรวม และคัดเลือกปรสิตโปรโตซัวทั้งในหนูและสัตว์อาศัยสุดท้ายเพิ่มมากขึ้น อาจทำได้ได้เชื้อโปรโตซัวที่นำมาใช้ป้องกันกำจัดหนูศัตรูพืชได้ทุกชนิด หรือเฉพาะหนูหริ่ง ซึ่งเป็นศัตรูสำคัญทั่วโลกในการผลิตเมล็ดธัญพืชและพืชไร่หลายชนิด การศึกษาครั้งนี้ จึงต้องการรวบรวมปรสิตโปรโตที่มีประโยชน์ต่อการควบคุมประชากรหนูได้ และวิธีการเก็บรักษาโปรโตซัว เพื่อใช้เป็น stock เชื้อ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงทดสอบหนูเดี่ยว+ขวดน้ำ หนูทดลอง อาหารหนู งูเหลือม อาหารเสริมสำหรับงูและหนู น้ำกลั่น และสัตว์อาศัยสุดท้ายชนิดอื่น ๆ
2. กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบกำลังขยายสูง และแบบสเตอริโอ, TEM, SEM
3. กล่องพลาสติกขนาดใหญ่ สำหรับเป็นที่พักชั่วคราวของงูที่ได้มาจากธรรมชาติ
4. สารเคมีสำหรับ fix เนื้อเยื่อตัวอย่างและสารย้อมสี เช่น ethyl alcohol glutaaldyhide formalin eosin ferric ammonium sulfate, xylene, glycerol, etc.
5. ขวดปั่นสำหรับการปั่นตกตะกอนโปรโตซัว ขวดพลาสติกขนาด 500 มล., ice box slides+coverglass, canada balsam, ether, microtome blades, etc
6. กระดาษทิชชูแบบอเนกประสงค์ ตาชั่งกิโลขนาดใหญ่ ถุงมือยางสำหรับแพทย์ ฯลฯ
7. ถังเก็บตัวอย่างที่ใช้ไนโตรเจนเหลว และไนโตรเจนเหลว

วิธีการ

ทำการดักหนูจากพื้นที่ต่างๆ มาตรวจหาปรสิตโปรโตซัวในทุกส่วนของอวัยวะ และเก็บตัวอย่างมูลงูเหลือมมาตรวจหาสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัว ในห้องปฏิบัติการ และตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างโปรโตซัวที่พบ โดยขบวนการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา ทั้งโดยวิธีตรวจโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบกำลังขยายสูงและ transmission electron microscope และศึกษาหาวิธีเก็บรักษาเชื้อโปรโตซัวที่มีมีศักยภาพสูงในการทำให้เกิดโรคเพื่อใช้เป็น stock เชื้อ ในการผลิตสารชีวินทรีย์กำจัดหนุต่อไป

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกสายพันธุ์ *Sarcocystis singaporensis* ที่ตรวจพบในหนูชนิดต่าง ๆ และแหล่งที่พบ
2. บันทึกลักษณะของโปรโตซัวสกุล *Sarcocystis* ชนิดต่าง ๆที่พบทั้งในสัตว์อาศัยตัวกลางและสัตว์อาสัยสุดท้าย
3. บันทึกปริมาณซาร์โคซีสต์ที่พบในกล้ามเนื้อหนูทดลอง

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2553
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร โรงเรือนเลี้ยงงูเหลือม โรงเลี้ยงหนู
- นาข้าว สวนปาล์มน้ำมัน และพื้นที่ทำการเกษตรอื่นๆ ในภาคต่าง ๆ
- ศูนย์ปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์อีเล็คตรอน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หรือ มหาวิทยาลัยมหิดล หรือ มมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาปี 2549 พบซาร์โคซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูท้องขาว ที่ดักจับจากแหล่งรกร้าง และสวนสัตว์ ในจังหวัดนครราชสีมา มี 1 สายพันธุ์ แพร่ 1 สายพันธุ์ และจากสุราษฎร์ธานี 1 สายพันธุ์ การศึกษายังไม่สิ้นสุดและดำเนินต่อไป และการทดสอบเชื้อโปรโตซัวระยะสปอร์โรซีสต์จากงูเหลือมหมายเลข 5 ที่เก็บรักษาในตู้เย็นนาน 7 เดือน กับหนูท้องขาว พบว่ายังมีความรุนแรงของการทำให้เกิดโรคสูง(หนูตาย 100%)

เอกสารอ้างอิง

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ, วิยะดา สีหบุตร และ เสริมศักดิ์ หงส์นาค. 2539ก. ผลของโปรโตซัว, *Sarcocystis singaporensis* ต่อหนูพุกใหญ่ และหนูนอร์เว. น. 503-515. ใน เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช(ภาคบรรยาย) ครั้งที่ 10, 24-28 มิถุนายน 2539 ณ โรงแรมหัวหินบลูเวฟ บีช รีสอร์ท อ.หัวหิน จ. ประจวบคีรีขันธ์.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และ T. Jaekel, 2539ข. การแพร่ระบาดของ Sarcocystis ในหนูศัตรูพืชในประเทศไทย น.207-214 ใน เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช(ภาคแผ่นภาพ)ครั้งที่ 10, 24-28 มิถุนายน 2539 ณ โรงแรมหัวหินบลูเวฟ บีช รีสอร์ท อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์, เสริมศักดิ์ หงส์นาค, วิยะดา สีหบุตร และ พวงทอง บุญทรง.2540ข. การสำรวจโปรโตซัวที่เป็นปรสิตในหนูศัตรูปาล์มน้ำมัน. ว. กีฏ. สัตว. 19 (3) :158-166.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์, เสริมศักดิ์ หงส์นาค, วิยะดา สีหบุตร และ พวงทอง บุญทรง. 2540ค. การสำรวจโปรโตซัวที่เป็นปรสิตในหนูศัตรูปาล์มน้ำมัน. ว. กีฏ. สัตว. 19(3) :158-166.

Jaekel, T., H.Burgstaller, and W.Frank, 1996. *Sarcocystis singaporensis*, Studies on Host specificity, Pathogenicity and potential use as a biocontrol agent of Rats. J.Parasitol., 82 : 280-287.

Jaekel,T., Y.Khoprasert, I.Sorger, D.Kliemt, V.Seehabutr, K.Suasa-ard and S.Hongnark. 1997. Sarcosporidiasis in rodents from Thailand. J. Wild. Dis., 33(4) : 860-867.

Jaekel,T., Y.Khoprasert, C. Acker -Baumann, S.Endopols, D.Kliemt, K.Suasa-ard, P.Promkerd and S.Hongnark., 1999. Biological control of rodents pests using a parasitic protozoon. Inter. J. of Parasitol. 29: 1321 – 1330.

Paperna,I & Martelli,P.2001. Sarcocystis in rats and pythons on singapore island. In: Advances in Vertebrate Pest Management II(Pelz,H.-J.,Cowan,D.P.and Feare,C.J., eds.) pp 373-380.

อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในสกุล *Bemisia*

Taxonomy of Whiteflies in Genus *Bemisia*

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ
รัตนา นชะพงษ์ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในสกุล *Bemisia* ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มีขนาดเล็กชนิดหนึ่ง อยู่ในอันดับ Homoptera วงศ์ Aleyrodidae ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช และถ่ายมูลเหนียวที่เป็นน้ำหวานซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ใบและผลผลิตของพืชเสียหาย นอกจากนี้แมลงหวี่ขาวยังเป็นพาหะนำโรคไวรัสสู่พืชบางชนิด ทำให้พืชแสดงอาการใบหงิก ลำต้นแคระแกรนและอาจถึงตายได้ ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนเมษายน 2549 โดยทำการสำรวจรวบรวมแมลงหวี่ขาวในพืชสำคัญทางเศรษฐกิจต่างๆ และพืชทั่วๆไปที่อาจเป็นแหล่งอาศัยของแมลงหวี่ขาวในภาคต่างๆ ภาคเหนือได้แก่ เชียงใหม่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้แก่ นครราชสีมา ภาคกลางได้แก่ กรุงเทพฯ กาญจนบุรี นครปฐม นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยตัวเต็มวัยและดักแด้บางส่วนเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงเพื่อเป็นข้อมูลการสำรวจ และนำดักแด้ที่เหลือไปทำสไลด์ถาวร เพื่อตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดต่อไป ผลการศึกษาบางส่วนพบแมลงหวี่ขาว 1 ชนิด คือ *Bemisia tabaci* (Gennadius) ใน Subfamily Aleyrodinae บนพืช กะเพรา และมะเขือเปราะ

คำนำ

แมลงหวี่ขาว (whitefly) เป็นแมลงศัตรูพืชชนิดหนึ่ง มีขนาดเล็ก ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นพืชแล้วถ่ายมูลเหนียวที่เป็นน้ำหวานออกมาตามใบและดอกของพืชที่มันอาศัย ซึ่งมูลเหนียวนี้เป็นอาหารของราดำทำให้ใบพืชสกปรกคุณภาพเสียไป มีรายงานว่าแมลงหวี่ขาวบางชนิด ได้แก่ *Bemisia tabaci* (Gennadius) เป็นพาหะของเชื้อไวรัสใบหด (tabacco leaf curl virus) ซึ่งเป็นโรคสำคัญของใบยาสูบ และยังพบว่าแมลงหวี่ขาวชนิดนี้ก่อให้เกิดความเสียหาย

รหัสโครงการ 09-02-49-01

ในฝ้าย ทำให้ใบและปุยฝ้ายเสียหาย ผลผลิตของฝ้ายลดลง และยังพบในพืชอาหารหลายชนิด ได้แก่ มะเขือ พืชตระกูลแตง มะเขือเทศ มันฝรั่ง และพืชผักต่างๆ รวมถึงวัชพืชหลายชนิด เป็นต้น (สิริวัฒน์, 2526; Ohno, 1992) นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงการทำลายของแมลงหวี่ขาวชนิดต่าง ๆที่สำรวจพบในประเทศไทยโดย Mound และ Halsey (1978) พบแมลงหวี่ขาวที่เป็นศัตรูพืชไม่น้อยกว่า 50 ชนิด ในพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจต่างๆและวัชพืชทั่วไป ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวส่วนใหญ่มีลักษณะรูปร่างภายนอกที่คล้ายคลึงกัน จึงเป็นการยากที่จะระบุชนิดของแมลงหวี่ขาวด้วยลักษณะภายนอก และในแต่ละระยะของตัวอ่อน มีลักษณะที่แตกต่างไม่ชัดเจน จะเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนเมื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ ดังนั้นจึงต้องใช้ดักแด้ของแมลงหวี่ขาวมาจำแนกชนิดและสกุล (Martin,1987) สำหรับการศึกษาแมลงหวี่ขาวในประเทศไทยพบว่ายังขาดข้อมูลด้านอนุกรมวิธานของแมลงหวี่ขาวค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของแมลงหวี่ขาว ซึ่งจะช่วยให้ทราบชนิดของแมลงหวี่ขาวต่าง ๆ ในประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นบานในด้านกีฏวิทยา และยังใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการป้องกันกำจัดและจัดทำ PL/PRA เพื่อการส่งออกและนำเข้าผลิตผลทางการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดดองแมลง ถุงพลาสติก และกรรไกรตัดกิ่ง

2. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดรูปร่างแมลงเพื่อจำแนกชนิด ได้แก่ ตู้อบแมลง เข็มปักแมลง เข็มหมุดขนาดกลาง กระดาษแข็ง และอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บและรักษาแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ การบูร กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบใส่ตัวอย่างแมลง กล่องใส่สไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

3. อุปกรณ์ในการจัดทำสไลด์ถาวร เพื่อการจำแนกชนิด ได้แก่ เข็มเขี่ยแมลง ปีกเกอร์ขนาดต่างๆ แผ่นสไลด์แก้ว cover glass สารเคมีและน้ำยาเมาท์ (mount) ตัวอย่างแมลง เช่น clove oil, KOH 10%, alcohol 70-95%, chloral-phenol, ammonia solution, hydrogen peroxide, acid fuchsin strain และ canada balsam เป็นต้น

4. อุปกรณ์ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสไลด์ ฟิล์มสี

5. พืชสำหรับเป็นอาหารของแมลงศัตรูพืช กระถาง ดิน และปุ๋ย

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงหวี่ขาวศัตรูพืชในแปลงเพาะปลูก โดยตัดใบพืชที่มีดักแด้แมลงหวี่ขาวเกาะอยู่ด้วยกรรไกรตัดกิ่ง นำตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่เก็บรวบรวมพร้อมพืชอาศัยใส่ถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก หากตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน ต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นดักแด้

2. นำตัวอย่างดักแด้แมลงหวี่ขาวจากข้อ 1 มาตรวจลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope ถ่ายภาพแมลงหวี่ขาวแล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่างลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น

3. แล้วนำตัวอย่างดักแด้ที่สำรวจได้ในข้อ 2 บางส่วนมาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Martin (1987) ตัดชิ้นส่วนของพืชอาศัยเฉพาะที่มีดักแด้ติดอยู่ แช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หรือแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์อุ่นๆ ใช้เวลา 10 – 20 นาที จะช่วยให้แยกดักแด้ออกจากพืชอาศัยได้ง่าย โดยไม่ทำให้ตัวอย่างเสียหาย ดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก เติมกรดแกลเซียลอะซิติก แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที แล้วดูดกรดแกลเซียลอะซิติกออก เติมสารละลายคลอรอล-ฟีนอล (chloral-phenol) แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาทีเช่นกัน แล้วดูดสารผสมนี้ออก วิธีนี้นอกจากจะช่วยกำจัดคราบไขมันที่ห่อหุ้มดักแด้แล้วยังช่วยในการย้อมสีทำให้ตัวอย่างติดสีได้ดีขึ้น การย้อมสีแมลงหวี่ขาวปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

3.1 ดักแด้ที่มีสีเข้มหรือสีดำ ให้ล้างตัวอย่างด้วยแอลกอฮอล์ 95% แล้วย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่เป็นส่วนผสมของแอมโมเนีย (ammonia) กับไฮโดรเยนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ในอัตราส่วน 880 : 20 โดยปริมาตร แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที สารละลายนี้จะช่วยทำให้ตัวอย่างที่มีสีเข้มใสขึ้น

3.2 ดักแด้ที่มีสีจางหรือสีซีด ให้ล้างตัวอย่างด้วยกรดแกลเซียลอะซิติก ย้ายตัวอย่างลงในสารละลายแอซิกฟุชซินสเตน ใช้เพียงเล็กน้อยเพื่อย้อมสีตัวอย่าง แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที ดูดสารละลายหรือสีย้อมในข้อ 3.1 หรือ 3.2 ออก ล้างด้วยกรดแกลเซียลอะซิติก และแช่ในกรดแกลเซียลอะซิติก ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที แล้วดูดสารละลายนี้ออก เติมโคลฟอออยหรือไซลีน แช่ทิ้งไว้ 2 –3 นาที เมาท์ตัวอย่างบนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปอบให้แห้งใช้เวลา 5 สัปดาห์

4. นำสไลด์ที่ผ่านการอบจนแห้งแล้วมาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope ที่กำลังขยาย 600 เท่า ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงหวี่ขาว ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ ขนและหนาม (setae & spine) ขอบลำตัว (margin) อวัยวะที่ใช้ในการขับไข เช่น รูชนิดต่างๆ (pores) vesiform orifice lingula และ operculum เป็นต้น

5. บันทึกรายละเอียดของแมลงหวี่ขาวชนิดต่างๆที่สำรวจพบ และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ได้แก่ ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่พบ ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่พบ และชื่อผู้เก็บ บันทึกโดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ และวาดภาพลักษณะต่างๆที่สำคัญของแมลงหวี่ขาว โดยใช้ camera lucida ติดกับกล้อง compound microscope รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับสไลด์แมลงหวี่ขาวแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่จับ และ วัน/เดือน/ปีที่ทำสไลด์ถาวร ชื่อน้ำยาที่ใช้เมาท์ (mount) สไลด์ และจัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของแมลงหวี่ขาวที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

6. จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษา โดยนำตัวอย่างแมลงหวี่ขาวพร้อมตัวอย่างพืชที่มีดักแด้เกาะอยู่และสไลด์ถาวรที่ทำเสร็จแล้ว เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล (เพื่อตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

เวลา : ตุลาคม 2548 – กันยายน 2553

สถานที่ : 1. แหล่งเพาะปลูกทั่วไป

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แมลงหวี่ขาวเป็นแมลงในอันดับ Homoptera วงศ์ Aleyrodida ตัวเต็มวัยส่วนใหญ่มีรูปร่างลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกัน แตกต่างกันเพียงขนาดของลำตัว โดยตัวเต็มวัยจะเป็นแมลงขนาดเล็ก มองดูคล้ายแมลงหวี่หรือผีเสื้อขนาดเล็ก สีขาว มีปีก 2 คู่ ดักแด้ส่วนใหญ่มีรูปร่างกลมแต่แบน ลำตัวแบ่งเป็น 2 ส่วน โดยส่วนหัวและอกรวมเป็นส่วนเดียวกัน (cephalothorax) และส่วนท้อง (abdomen) ที่ส่วนท้องพบว่าส่วนใหญ่มีปล้องท้อง 8 ปล้อง แต่บางชนิดอาจพบเพียง 7 ปล้อง หรือ 3 ปล้อง ขึ้นอยู่กับแมลงหวี่ขาวชนิดนั้นๆ ส่วนการจำแนกชนิดของแมลงหวี่ขาว โดยทั่วไปนักอนุกรมวิธานแมลงจะใช้ดักแด้ของแมลงหวี่ขาวมาตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิด เนื่องจากเป็นระยะที่มีอวัยวะต่างๆที่ค่อนข้างเด่นชัดหลายประการ

การสำรวจนี้พบแมลงหวี่ขาว 1 ชนิด ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง คือ *Bemisia tabaci* (Gennadius) โดยใช้แนวทางวินิจฉัย (key) ที่ปรับปรุงจาก Martin (1987) และมีรายละเอียดของแมลงหวี่ขาว รวมถึงพืชอาศัยและเขตการแพร่กระจาย ดังนี้

Bemisia tabaci (Gennadius), 1936

(ภาพที่ 19)

Aleurodes tabaci Gennadius, 1889

Aleurodes inconspicua Quaintance, 1900

Bemisia tabaci (Gennadius) Takahashi, 1936

ชื่อสามัญ แมลงหวี่ขาวยาสูบ : Tobacco whitefly

Cotton whitefly

Sweetpotato whitefly

ลักษณะที่พบในธรรมชาติ

ตัวอ่อนมีลักษณะแบน คล้ายเพลี้ยแป้ง พบหนามบนลำตัวและปกคลุมด้วยแผ่นไข ขนาดของดักแด้มีความยาว 0.65 มม. กว้าง 0.48 มม. ในระยะนี้จะพบตาแดง 1 คู่อย่างชัดเจน ตัวเต็มวัยเป็นแมลงหวี่ขาวขนาดประมาณ 1 มม. ลำตัวปกคลุมด้วยฝุ่นไข

ลักษณะบนแผ่นสไลด์

โดยปกติปล้องท้องจะปรากฏเห็นเป็น 7 ส่วนระหว่างเส้นลอกคราบทางขวางกับ vasiform orifice ซึ่งปล้องท้องที่ 7 ปรากฏไม่ชัดเจน ท่ออากาศเปิดที่ขอบอย่างธรรมดา vasiform orifice มีรูปร่างค่อนข้างเป็นรูปสามเหลี่ยมเรียวยาวด้านข้างตรง ขนที่ caudal ยาวหนา และยาวกว่า vesiform orifice ขนที่ dorsum ยาวและปลายขนแหลม พบขนที่บริเวณนี้ 7 คู่ ส่วนด้านท้ายของดักแด้จะพบลักษณะเป็นร่อง (caudal furrow) มีขนาดใกล้เคียงกับ vasiform orifice และพบรอยนูนเล็กน้อย 1 คู่อยู่ทั้งสองด้าน (ภาพที่ 20)

ความสำคัญและพืชอาศัย

พบอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบพืช ได้แก่ กะเพรา กุหลาบ และ มะเขือเปราะ (ตารางที่ 1) และจากรายงานพบว่าแมลงหวี่ขาวชนิดนี้มีพืชอาหารหลายชนิด ประมาณกว่า 150 ชนิด อยู่ใน 63 วงศ์ (Mound and Halsey,1978) จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีพืชอาหารมากชนิดหนึ่ง

เขตการแพร่กระจาย

กรุงเทพฯ (ตารางที่ 1) และจากรายงานของ Mound and Halsey (1978) พบว่า แมลงหวี่ขาวชนิดนี้มีการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางในหลายประเทศ เช่น แถบภูมิภาคพาเลอาคติก – อังกฤษ สเปน โมร็อกโค อียิปต์ ไซปรัส อิสราเอล จอร์แดน ซาอุดิอาราเบีย อิหร่าน รัสเซีย และญี่ปุ่น แถบภูมิภาคเอธิโอเปีย – แกมเบีย ไอเวอรี่ กานา คาเมรูน ซูดาน เอเดน, คองโก เคนยา, แทนซาเนีย, ยูกานดา และแองโกลา แถบภูมิภาคมาดากัสแคน- มาดากัสการ์ เมอร์ริเชียส แถบภูมิภาคโอเรียนตอล – ปากีสถาน อินเดีย จีน ไต้หวัน พม่า ศรีลังกา ,และไทย แถบภูมิภาคออสโต-โอเรียนตอล –มาเลเซีย สิงคโปร์ เกาะสุมาตรา อินโดนีเซีย นิวกีนี และฟิลิปปินส์ แถบภูมิภาค

ออสเตรลาเซียน – ออสเตรเลีย แถบภูมิภาคแปซิฟิก- ฟิจิ แถบภูมิภาคนีอาร์กติก – สหรัฐอเมริกา แถบภูมิภาคนีโอโทรปิคอล – จาไมก้า บาบาโดส เปอโตริโก้ บราซิล และอาเจนตินา

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในสกุล *Bemisia* ซึ่งเป็นแมลงอยู่ในอันดับ Homoptera วงศ์ Aleyrodidae ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช และถ่ายมูลเหนียวที่เป็นน้ำหวานซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ใบและผลผลิตของพืชเสียหาย จากการสำรวจพบแมลงหวี่ขาว 1 ชนิด คือ แมลงหวี่ขาวยาสูบ (Tobacco whitefly) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Bemisia tabaci* (Gennadius) โดยสำรวจพบที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร และ กาญจนบุรี บนพืช กระเพรา และมะเขือเปราะ

เอกสารอ้างอิง

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. 2526. แมลงศัตรูพืชทางการเกษตรของประเทศไทย. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 424 น.

Gennadius, P. 1889. Disease of tobacco plantations in the Trikonia. The aleurodid of tobacco. [In Greek]. *Ellenike Georgia* 5 : 1 – 3.

Martin, J. H. 1987. An Identification Guide to Common Whitefly Pest Species of the World (Homoptera: Aleyrodidae). *Tropical Pest Management*. 33(4) : 298-322.

Mound, L. A. and Halsey, S. H. 1978. Whitefly of the World; A systemic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with Host Plant and natural Enemy Data. British Museum (Natural History) and John Wiley & Sons. Chichester. 340 pp.

Ohno, I. 1992. Whiteflies Problem in the United States of America. JAPAN Pesticide Information no. 60 : 19-20.

Quaintance, A. L. 1900. Contribution towards a Monograph of the American Aleurodidae. *Tech. Ser. Bur. Ent. U.S.* 8 : 9-64.

Takahashi, R. 1936. Some Aleyrodidae, Coccidae (Homoptera), and Thysanoptera from Micronesia. *Tenthredo* 1 : 109-120

อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้ง สกุล *Dysmicoccus*

Taxonomy of Mealybug in Genus *Dysmicoccus*

ชลิดา อุณหวุฒิ ศิริณี พูนไชยศรี รัตนา นชะพงษ์
พรรณเพ็ญ ชโยภาส ลักขณา บำรุงศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งในสกุล *Dysmicoccus* ที่มีอยู่ในประเทศไทย ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้ง จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้ไปทำสไลด์ถาวรและตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิดพบเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* จำนวน 1 ชนิด คือ *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley บนผลกล้วย น้อยหน่า และมังคุด การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อในปี 2550

คำนำ

เพลี้ยแป้ง (mealybug) เป็นแมลงปากดูด จัดอยู่ในวงศ์ Pseudococcidae อันดับ Homoptera แต่นักอนุกรมวิธานบางกลุ่มได้จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera แมลงวงศ์นี้มีลักษณะพิเศษ คือตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถผลิตไขแป้ง (mealy wax) สีขาวปกคลุมลำตัวไว้ และสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบไม่ใช้เพศ (parthenogenesis) และแบบใช้เพศ อีกทั้งมีมดบางชนิดอาศัยร่วมอยู่ด้วยและเป็นตัวช่วยแพร่กระจายเพลี้ยแป้งจากส่วนหนึ่งของพืชไปยังอีกส่วนหนึ่ง หรือจากต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่ง เพลี้ยแป้งทำลายพืชโดยดูดน้ำเลี้ยงจากส่วนต่างๆของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่นใบเป็นจุดสีเหลือง และบางครั้งมีลักษณะย่น ผลบิดเบี้ยวและร่วง ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ต้นเหี่ยวชะงักการเจริญ

รหัสโครงการ 09-02-49-01

เติบโตและบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยแป้งยังขับถ่ายของเหลว มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวๆ เรียกว่า มูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ปกคลุมใบและผล ใบจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ สำหรับผลจะสกปรกเนื่องจากมูลน้ำหวานและราดำ ในกรณีผลสกปรกนี้มีผลกระทบโดยตรงต่อไม้ผลนานาชนิด เพราะจะไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ

เพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* เป็นเพลี้ยแป้งที่มีความสำคัญสกุลหนึ่งในวงศ์ Pseudococcidae สามารถทำลายพืชได้หลายชนิดทั้งพืชสวน และพืชไร่ McKenzie (1967) รายงานว่าในเขตทวีปอเมริกาเหนือมีเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccu* ประมาณ 30 ชนิด โดยพบที่รัฐแคลิฟอร์เนีย 10 ชนิด และ Williams and Watson (1988) ได้รวบรวมเพลี้ยแป้ง ในแถบแปซิฟิคตอนใต้พบเพลี้ยแป้งสกุลนี้ 12 ชนิด สำหรับในประเทศไทย ชลิดาและคณะ (2546) รายงานว่าพบเพลี้ยแป้ง *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley เป็นศัตรูมังคุด อย่างไรก็ดีข้อมูลรายละเอียดต่างๆ ของเพลี้ยแป้งสกุลนี้มีน้อยมาก ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง พืชอาหาร เขตแพร่กระจายของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* แต่ละชนิดที่พบในประเทศไทย สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งดังกล่าว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่รวบรวมได้
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ได้แก่ alcohol ขวดดองตัวอย่างแมลง พู่กัน กล่องพลาสติก และถุงพลาสติก
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น potassium hydroxide, alcohol, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิเมตร เตาไฟฟ้า (hot plate) ตู้อบ แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพเพลี้ยแป้ง อุปกรณ์กล้องถ่ายภาพ
5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา Rotring และกระดาษไขเขียนแบบ
6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยแป้ง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยแป้งส่วนหนึ่งใส่ขวดดองตัวอย่างแมลงที่บรรจุ alcohol 70% อยู่ภายในขวด กรณีที่เพลี้ยแป้งกำลังดูดน้ำเลี้ยงบนพืช ปากจะอยู่ที่เนื้อเยื่อพืชจึงได้ตัดตัวอย่างพืชที่มีเพลี้ยแป้งเกาะอยู่ แช่ใน alcohol 70% เช่นเดียวกัน บันทึกสถานที่ วัน เดือน ปีที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนกระดาษไขเขียนแบบใส่ลงในขวดดองตัวอย่างแมลงแต่ละขวด เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งอีกส่วนหนึ่งรวมทั้งพืชอาหารใส่ในกล่องพลาสติกใสที่ฝากล่องบุด้วยลวดตาข่ายตาถี่ พร้อมกับบันทึกรายละเอียดปิดไว้ที่กล่องพลาสติกเช่นเดียวกับที่ใส่ลงในขวดดองตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ถ่ายภาพลักษณะอาการของพืชที่ถูกทำลายในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อจำแนกชนิด และศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด

2. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากข้อ 1 มาตรวจลักษณะภายนอกของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูธรรมชาติภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่างลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น

3. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งเพศเมียจากขวดดองตัวอย่างแมลง (ข้อ 1) มาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงวิธีการของ Williams and Watson (1988) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.1 ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบนของเพลี้ยแป้ง แล้วนำไปใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุด้วยสารละลาย potassium hydroxide 10% จากนั้นนำหลอดทดลองดังกล่าวใส่ในบีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำและตั้งอยู่บนเตาไฟฟ้า ต้มประมาณ 15 นาที นับตั้งแต่น้ำในบีคเกอร์เดือด ระวังไม่ให้สารละลาย potassium hydroxide ที่อยู่ในหลอดทดลองเดือด เพราะจะทำให้ตัวอย่างเสียหาย

3.2 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่ต้มแล้วมาล้างในน้ำกลั่น กดเบาๆ บนลำตัวด้วยเข็มดัดปลายให้โค้ง เพื่อทำให้ไข่หรือตัวอ่อนและของเหลวที่อยู่ในลำตัวหลุดออกมาทางรอยที่เจาะไว้ แต่ถ้ายังมีก้อนไขมันตกค้างอยู่ในลำตัว ต้องกำจัดออกไปโดยนำไปแช่ใน alcohol 95% นานประมาณ 2 – 3 นาที แล้วย้ายไปแช่ใน carbol xylene ประมาณ 10 นาที จนกระทั่งตัวอย่างเพลี้ยแป้งใสดีแล้วจึงนำไปแช่ใน alcohol 95% อีกครั้ง เพื่อล้าง carbol xylene จากนั้นย้ายตัวอย่างเพลี้ยแป้งไปแช่ใน acid alcohol (สารละลายของ glacial acetic acid กับ alcohol 50% อัตราส่วน 1 : 4) ประมาณ 2 – 3 นาที

3.3 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งแช่ในน้ำย้อมสี (สารละลายของ acid fuchsin 0.5 กรัม hydrochloric acid 10% 25 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร) นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้ายไปแช่ใน alcohol 95% ประมาณ 2 – 3 นาที เพื่อให้สีที่เป็นส่วนเกินหลุดออกไป

3.4 ย้ายตัวอย่างเพลี้ยแป้งไปแช่ในสารละลายของ N-butyl alcohol กับ alcohol 95% อัตราส่วน 1:1 นาน 10 นาที จากนั้นย้ายไปแช่ใน N-butyl alcohol อีก 10 นาที และย้ายไปแช่ใน colve oil ประมาณ 20 นาที

3.5 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งขึ้นจาก clove oil วางลงบนแผ่นสไลด์แก้ว ใช้กระดาษกรองซับ clove oil ส่วนเกินออกไป หยด canada balsam 1 หยดบนตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 40^{o}C ประมาณ 14 วัน จากนั้นจึงนำมาตรวจจำแนกชนิดต่อไป

4. ตรวจจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้ง โดยนำตัวอย่างเพลี้ยแป้งบนแผ่นสไลด์แก้วมาตรวจจำแนกชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง 600 เท่า ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ หนวด (antennae) ขน (setae) รู (pores) ท่อ (tubular ducts) กลุ่มอวัยวะที่ผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว (cerarii) ช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัว (ostioles) และวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย (anal ring)

5. วาดรูปแสดงลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด โดยใช้ camera lucida ติดกับกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope โดยวาดรูปเพลี้ยแป้งทางด้านบนครึ่งหนึ่ง และด้านล่างครึ่งหนึ่งให้อยู่ในรูปเดียวกันบนกระดาษไขเขียนแบบ แล้วจัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) ชนิดของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* ที่รวบรวมได้ พร้อมภาพประกอบ

7. บันทึกชื่อชนิดของเพลี้ยแป้งในสกุล *Dysmicoccus* ที่สำรวจพบ พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด และจัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูธรรมชาติที่ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2548 – เดือนกันยายน 2553

สถานที่: 1) แหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 ในเขตภาคกลาง ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร นนทบุรี นครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี ภาคเหนือ ที่จังหวัดเชียงใหม่ ภาคตะวันออก ที่จังหวัดจันทบุรี ระยอง ตราด และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่จังหวัดนครราชสีมา ผลการตรวจจำแนกชนิดพบเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* จำนวน 1 ชนิด คือ *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley บนผลกล้วย น้อยหน่า และมังคุด

การศึกษานี้จะต้องดำเนินต่อในปี 2550 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* จากแหล่งปลูกไม้ผล ผัก ไม้ดอกไม้ประดับ และพืชไร่ให้ครอบคลุมทุกภาคของประเทศ จัดทำแนวทางวินิจฉัยเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* พร้อมกับบันทึกรายละเอียดของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 พบเพลี้ยแป้งสกุลนี้จำนวน 1 ชนิด คือ *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley บนผลกล้วย น้อยหน่า และมังคุด การศึกษายังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อในปี 2550

เอกสารอ้างอิง

ชลิดา อุณหวุฒิ บุปผา เหล่าสินชัย ศิริณี พูนไชยศรี และสมหมาย ชื่นราม. 2546. การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งศัตรูมังคุด, หน้า 723 – 743. ***ใน*** รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม ปี 2546. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

McKenzie, H.L. 1967. Mealybugs of California with taxonomy, biology and control of North American species (Homoptera : Coccoidea : Pseudococcidea). University of California Press, Berkeley and Los Angeles. 534pp.

Williams, D.J. and G.W. Watson. 1988. The scale insects of the tropical South Pacific Region Part 2, The mealybugs (Pseudococcidae). CAB International Institute of Entomology, Wallingford. 260 pp.

อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis*

Taxonomy of Aphids genus *Aphis*

ลักขณา บำรุงศรี ศิริณี พูนไชยศรี
ชลิดา อุณหวุฒิ พรรณเพ็ญ ชโยภาส รัตนา นชะพงษ์
กองกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2548 - กันยายน 2549 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนในสกุล *Aphis* ที่มีอยู่ในประเทศไทย โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* จากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้ไปทำสไลด์ถาวรและตรวจจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติ ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา จากการจำแนกชนิดเบื้องต้นพบเพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae สกุล *Aphis* 2 ชนิด ในบล๊อคเคอรี่ และ ถั่วพู ทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน และจำแนกชนิดต่อไป การทดลองยังไม่สิ้นสุดจะดำเนินการทดลองต่อในปี 2550

คำนำ

เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก วงศ์ Aphididae อันดับ Homoptera แต่นักอนุกรมวิธานบางกลุ่มได้จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera แมลงวงศ์นี้มีลักษณะพิเศษ คือตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบใช้เพศและแบบไม่ใช้เพศ (parthenogenesis) ทำให้เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้งมีมดบางชนิดอาศัยร่วมอยู่ด้วยและเป็นตัวช่วยกระจายเพลี้ยอ่อนจากส่วนหนึ่งของพืชไปยังอีกส่วนหนึ่ง หรือจากพืชต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่ง เพลี้ยอ่อนทำลายพืชโดยดูดน้ำเลี้ยงอยู่ใต้ใบพืช ส่วนอ่อน ๆ ของพืช เช่นยอดอ่อน ดอกอ่อนและผลอ่อน ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบย่น ผลบิดเบี้ยวใบและผลที่ถูกทำลายจะแห้งและร่วงไปในที่สุด ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ชะงักการเจริญเติบโต หรือบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยอ่อนยังขับถ่ายของเหลวมีลักษณะเป็นน้ำเหนียว ๆ เรียกว่ามูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็น

รหัสโครงการ 09-02-49-01

อาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วปกคลุมใบและผล ใบจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ สำหรับผลจะสกปรกเนื่องจากมูลน้ำหวานและราดำ ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ เพลี้ยอ่อนนอกจากจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืชแล้วยังเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชบางชนิด เช่น โรคใบหงิกในฝ้าย โดยเพลี้ยอ่อนที่ดูดกินน้ำเลี้ยงต้นพืชที่เป็นโรค เชื้อไวรัสจากต้นพืชจะเข้าไปอยู่ในตัวเพลี้ยอ่อน เมื่อเพลี้ยอ่อนไปดูดกินพืชต้นอื่นเชื้อไวรัสจะติดไปกับน้ำลายทำให้พืชต้นนั้นเป็นโรคด้วย

ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนในสกุล *Aphis* แต่ละชนิด สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนดังกล่าว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* ที่รวบรวมได้
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อน ได้แก่ ขวดเก็บตัวอย่าง น้ำยาดอง พู่กันและกล่องพลาสติก

ขนาดต่าง ๆ

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่าง ๆ เช่น potassium hydroxide, alcohol, lactic acid, glacial acetic acid, xylene, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิเมตร เตาไฟฟ้า (hot plate) ตู้อบแผ่นสไลด์แก้ว แผ่นสไลด์แก้วและ cover slip
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope อุปกรณ์กล้องถ่ายภาพ และฟิล์ม
5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ดินสอ ยางลบ กระดาษกราฟ ปากกา Rotring และกระดาษเขียนแบบ
6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยอ่อน

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ ใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบางส่วนใส่ขวดดองตัวอย่างแมลงที่บรรจุน้ำยาสำหรับดองเพลี้ยอ่อนซึ่งประกอบด้วย alcohal 80% + lactic acid 75% อัตรา 2 : 1 ส่วน บันทึกสถานที่ วันเดือน ปีที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่างบนกระดาษไขเขียนแบบใส่ลงในขวดดองตัวอย่างแมลงแต่ละขวด เก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนอีกส่วนหนึ่งรวมทั้งพืชอาหารใส่ในกล่องพลาสติกใสที่ฝากล่องบุด้วยลวดตาข่ายตาถี่ พร้อมกับบันทึก

รายละเอียดปิดไว้ที่กล่องพลาสติกเช่นเดียวกับที่ใส่ลงในขวดดองตัวอย่างเพลี้ยอ่อน ถ่ายภาพลักษณะอาการของพืชที่ถูกทำลายในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อจำแนกชนิด และศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิด

2. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากข้อ 1. มาตรวจลักษณะภายนอกของเพลี้ยอ่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่าง ๆ เช่น รูปร่างลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น

3. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากขวดดองตัวอย่างแมลงมาทำสไลด์ถาวร โดยวิธีการของ Blackman and Eastop (1994) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.1 ย้ายเพลี้ยอ่อนจากขวดดองลงในหลอดแก้วที่มีแอลกอฮอล์ 80% นำไปต้มใน water bath นาน 1 – 2 นาที

3.2 ดูดแอลกอฮอล์ออก เติม KOH 10% สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 3 – 5 นาที

3.3 ดูด KOH ออก ล้างตัวอย่างโดยเติมน้ำกลั่นลงไปทิ้งไว้ 5 นาที ทำซ้ำ 5 – 6 ครั้ง

3.4 ดูดน้ำกลั่นออก เติม glacial acetic สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที ดูด glacial acetic ออก ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง

3.5 เติม clove oil ลงไป ทิ้งไว้ 10 – 20 นาที จนตัวอย่างใส ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบนของเพลี้ยอ่อน และรีดเอาของเหลวภายในตัวออก

3.6 หยด canada balsam เพียงเล็กน้อยลงบนกึ่งกลางแผ่นสไลด์แก้วที่สะอาด เขี่ยเพลี้ยอ่อนลงในหยด canada balsam โดยคว่ำหน้าลง จัดหนวดและขาให้เข้าที่ นำ cover slip จุ่มใน xylene ปิดอย่าให้มีฟองอากาศ นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 7 – 15 วัน

4. ตรวจจำแนกชนิดของเพลี้ยอ่อน โดยนำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบนแผ่นสไลด์แก้วมาตรวจจำแนกชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง 600 เท่า ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ หนวด (antennae) cauda siphunculi หรือ cornical

5. วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิด บนกระดาษกราฟ และลอกลงกระดาษไขเขียนแบบ

6. บันทึกชื่อชนิดของเพลี้ยอ่อนในสกุล *Aphis* ที่สำรวจพบ พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิด

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2548 - เดือนกันยายน 2553

สถานที่ : 1. แหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ

2.ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากพืชจำพวก ไม้ดอก ผัก พืชไร่ ในแหล่งปลูกจังหวัดนครปฐม เพชรบุรี กาญจนบุรี และสมุทรปราการ จากการจำแนกชนิดเบื้องต้นพบเพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae สกุล *Aphis* 2 ชนิด ในบล๊อคเคอรี่ และ ถั่วพู ทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน และจำแนกชนิดต่อไป การทดลองยังไม่สิ้นสุดจะดำเนินการทดลองต่อในปี 2550

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้ตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากพืชจำพวก ไม้ดอก ผัก พืชไร่ ในแหล่งปลูกจังหวัดนครปฐม เพชรบุรี กาญจนบุรี และสมุทรปราการ จากการจำแนกชนิดเบื้องต้นพบเพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae สกุล *Aphis* 2 ชนิด ในบล๊อคเคอรี่ และ ถั่วพู ทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน และจำแนกชนิดต่อไป ต้องดำเนินการทดลองต่อในปี 2550

อนุกรมวิธานด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae และAlticinae วงศ์ Chrysomelidae

Taxonomy of the Beetle in Subfamily Hispinae and Alticinae, Family Chrysomelidae

พรรณเพ็ญ ชโยภาส ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ
รัตนา นชะพงษ์ ลักขณา บำรุงศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2549 ทำการสืบค้นข้อมูลจากเอกสารด้วงวงศ์ย่อย Hispinae วงศ์ Chrysomelidae และทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงวงศ์ย่อย Hispinae นำตัวอย่างที่ได้มาจัดรูปร่าง และอบในตู้อบ เพื่อนำมาศึกษาทางอนุกรมวิธาน พบว่าอยู่ในเผ่า Cryptonychini 3 ชนิดคือ แมลงดำหนามมะพร้าวบ่าเหลี่ยม แมลงดำหนามมะพร้าวบ่าลาด และด้วงสิบสองปันนา ซึ่ง 3 ชนิดนี้ได้เคยศึกษาด้านอนุกรมวิธานไปแล้วในปี 2548 และได้เก็บตัวอย่างด้วงวงศ์ย่อย Hispinae ที่ต้นปาล์มสิบสองปันนา และ อินทผาลัม พบว่า คือด้วงชอนใบสิบสองปันนาและอินทผาลัม อยู่ในเผ่า Coelaenomenoderini 1 ชนิด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Javeta* sp. ชอนใบอินทผาลัม ในเขตท้องที่อำเภอ บางละมุง จังหวัดชลบุรี และเขตจตุจักร กรุงเทพฯ พบชอนใบปาล์มสิบสองปันนา ที่เขตจตุจักรและ เขตพญาไท กรุงเทพฯ และได้ทำการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของด้วงชนิดนี้

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ความสำคัญของงานอนุกรมวิธาน ข้อมูลด้านอนุกรมวิธานสามารถช่วยแก้ปัญหาในการระบาดของศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพกล่าวคือ ถ้าได้ทำการศึกษาอนุกรมวิธานศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติไว้ให้มากชนิดที่สุด เมื่อมีการระบาดของศัตรูพืชจะสามารถตรวจสอบได้ทันทีว่าศัตรูพืชนั้นๆ คืออะไร มีชีวประวัติ และพฤติกรรมการทำลายพืชผล /ผลผลิตอย่างไร ซึ่งจะทำให้หาวิธีป้องกันกำจัดได้อย่างเหมาะสม ถูกต้องและรวดเร็ว หรือหากว่าแมลงชนิดนั้นเป็นแมลงที่มีประโยชน์ ก็จะได้นำไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด การเก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่ได้ศึกษาหรือรวบรวม แบ่งเป็นหมวดหมู่และจัดเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์พร้อมบันทึกรายละเอียดไว้อย่างสมบูรณ์ ในการเก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ จำเป็นต้องปฏิบัติให้ถูกวิธีกับชนิดศัตรูพืช เพราะตัวอย่างที่เก็บอยู่ในพิพิธภัณฑ์ จะเป็นเครื่องมือสำคัญในการเปรียบเทียบตรวจสอบความถูกต้องของชนิดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในสินค้าเกษตรที่นำเข้าและส่งออก นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ในด้านการบริการ วิเคราะห์ชนิด / ชื่อวิทยาศาสตร์ ให้แก่นักวิชาการ นักวิจัยในหน่วยงาน หรือ ต่างหน่วยงาน อาจารย์ นิสิต นักศึกษา เกษตรกรและประชาชนทั่วไปอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

พู่กัน แอลกอฮอล์ 75 % กล่องพลาสติกใส เข็มปักแมลง กล้องจุลทรรศน์ เอกสารวิชาการ คอมพิวเตอร์

วิธีการ

1.ตรวจเอกสาร โดยการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูพืชจากเอกสารที่มีการรายงานไว้ในประเทศไทยและต่างประเทศ

2.สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงในวงศ์ย่อยHispinae วงศ์ Chrysomelidae โดยใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่งหรือต้นพืชให้แมลงตกลงมาบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ/กิ่ง/ยอดพืชที่มีแมลงเกาะอยู่ ด้วยกรรไกรใช้พู่กันเขี่ยแมลงบางส่วนใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง หรือนำแมลงพร้อมพืชใส่ถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก หากตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้อยู่ในระยะหนอน / ตัวอ่อน ต้องแบ่งตัวอย่างนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

3. จัดเตรียมตัวอย่าง จัดรูปร่าง (set) นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 – 60 °C

4.ตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดโดยตรวจสอบลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธาน จำแนกและวิเคราะห์ชนิดของด้วง โดยใช้เอกสารแนวทางการวิเคราะห์ชนิดแมลงดังกล่าวของ Gressitt(1960, 1963) ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ และการตรวจวิเคราะห์ใต้กล้องจุลทรรศน์

5.จัดทำป้ายบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน / เดือน / ปีและสถานที่จับ

6. เก็บรักษาตัวอย่างแมลง โดยนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยแล้วเก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

เวลาและสถานที่

เริ่มทำการทดลอง ตุลาคม2548 – กันยายน 2549 แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ และห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ศึกษาอนุกรมวิธาน ด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae วงศ์ Chrysomelidae ผลการศึกษาทำให้ทราบชนิดของแมลงเผ่า Cryptonychini 3 ชนิด และวิธีการจำแนกชนิด(Key to identified)ซึ่ง 3 ชนิดนี้ได้เคยศึกษาด้านอนุกรมวิธานไปแล้วในปี 2548 ทราบความแตกต่างทั้งตัวเต็มวัย และหนอนของแมลงดำหนามบ่าเหลี่ยม และแมลงดำหนามบ่าลาด ซึ่งทำลายทางใบยอดมะพร้าว และด้วงอินทผาลัม ซึ่งทำลายทางใบยอดอินทผาลัม และได้ตัวอย่างเก็บในพิพิธภัณฑ์ มากกว่า 100 ตัวอย่างทำให้เป็นข้อมูลสำหรับนักวิจัยในการศึกษาต่อไป ได้ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae พบด้วงชอนใบที่ไม่เคยสำรวจพบในประเทศไทยมาก่อน อยู่ในเผ่า Coelaenomenoderini 1 ชนิด เมื่อจำแนกชนิดแล้วพบว่าชื่อ *Javeta* sp. หนอนจะชอนอยู่ใต้ผิวใบอินทผาลัม ใบปาล์มสิบสองปันนา ซึ่งมักใช้เป็นไม้ประดับ ใบที่ถูกทำลายจะแห้ง เป็นรอยสีน้ำตาล ได้ทำการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน และแนวทางการจำแนกชนิด เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีรายงาน สันนิษฐานว่าแมลงชนิดนี้อาจติดมากับพืชตระกูลปาล์ม ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

ด้วงชอนใบสิบสองปันนาหรือด้วงชอนใบอินทผาลัมพบชอนใบอินทผาลัม ในเขตท้องที่อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี และเขตจตุจักร กรุงเทพฯ และพบชอนใบปาล์มสิบสองปันนา ที่เขตจตุจักรและ เขตพญาไท กรุงเทพฯ และได้ทำการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของด้วงชนิดนี้ วาดรูปทั้งระยะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย บันทึกภาพลักษณะการทำลาย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการศึกษา ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 – เดือนกันยายน 2549 ได้เก็บตัวอย่างด้วงวงศ์ย่อย Hispinae ที่ต้นปาล์มสิบสองปันนา และ อินทผาลัม จากการวิเคราะห์ชนิดพบว่า คือ ด้วงชอนใบสิบสองปันนาและอินทผาลัม อยู่ในเผ่า Coelaenomenoderini 1 ชนิดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Javeta* sp. ชอนใบอินทผาลัม ในเขตท้องที่อำเภอ บางละมุง จังหวัดชลบุรี และเขตจตุจักร กรุงเทพฯ พบชอนใบปาล์มสิบสองปันนา ที่เขตจตุจักรและ เขตพญาไท กรุงเทพฯ

อนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza*

Taxonomy of the Dipteran Leafminer in Genus *Liriomyza*

รัตนา นชะพงษ์ ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ
พรรณเพ็ญ ชโยภาส สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ลักขณา บำรุงศรี
ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม ยุวรินทร์ บุญทบ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 โดยทำการสืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องทางด้านอนุกรมวิธาน สำรวจ รวบรวมตัวอย่างของแมลงวันหนอนชอนใบในแหล่งปลูกพืช ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นครปฐม เพชรบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี และขอนแก่น และรวบรวมตัวอย่างจากบุคคลที่ส่งมาจำแนกชนิด นำตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบมาจัดรูปร่าง ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานและตรวจวิเคราะห์ชนิด พบแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* 2 ชนิด คือ *Liriomyza sativae* Blanchard บนใบฟักทอง บวบ โหระพา และพิทูเนีย ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี และขอนแก่น และ *L. chinensis* (Kato) บนหอมที่จังหวัดกาญจนบุรี

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

แมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* วงศ์ Agromyzidae อันดับ Diptera เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักและไม้ดอกไม้ประดับ ทั้งในสภาพไร่และโรงเรือน(greenhouse) พบมีมากกว่า 300 กว่าชนิด(species) แต่พบมากได้ทั่วไปในเขตอบอุ่น มีถึง 136 ชนิดที่พบในยุโรป แต่มีเพียง 2 – 3 ชนิด ที่พบในเขตร้อน (Specer,1973) และได้มีการแพร่กระจายไปยังประเทศต่างๆ (Parella, 1987) รวมถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Lim, Sastrontomo & Loke, 1999) สำหรับประเทศไทยแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งที่เป็นปัญหาทั้งในไม้ดอกและไม้ประดับมาตั้งแต่ปี 2529 แต่ระบาดรุนแรงมากขึ้นในปี 2540 (กอบเกียรติและอัมพร, 2544) นอกจากนี้กอบเกียรติและอัมพร(2544) ยังรายงานอีกว่า *L. trifolii* เป็นแมลงวันหนอนชอนใบที่ทำลายพืชผักในเขตภาคใต้ของประเทศไทย *L. sativae* ทำลายมะเขือเทศในเขตภาคกลาง และ *L. huidobrensis* ทำลายไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิดที่พระตำหนักภูพิงคราชนิเวศจังหวัดเชียงใหม่ จะเห็นได้ว่าแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* ในประเทศไทยมีความสำคัญมากขึ้นเรื่อยๆ จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเร่งทำการศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันหนอนชอนใบสกุลนี้ เพราะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญที่จะสนับสนุนการศึกษาค้นคว้าวิจัยด้านอื่นๆ เช่นการแพร่ระบาด และการผันแปรประชากร เป็นต้น ซึ่งความรู้ทางด้านต่างๆเหล่านี้จะเป็นฐานข้อมูลในการวางยุทธศาสตร์และยุทธวิธีในการบริหารจัดการแมลงวันหนอนชอนใบสกุลนี้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ กรรไกร กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ

2. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดรูปร่างแมลงเพื่อการนำไปจำแนก ได้แก่ ตู้อบแมลง เข้มปักแมลง เข็มหมุดขนาดกลาง กระดาษแข็ง

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสี ฟิล์มสไลด์สี

4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงแมลงได้แก่ กล่องพลาสติก โหลพลาสติก สำลี กระดาษเนื้อเยื่อ

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

7. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บ และรักษาแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ ขวดแก้วดองแมลง แอลกอฮอล์ 70 % การบูร กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง และหีบใส่ตัวอย่างแมลง

8. ตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza*

วิธีการ

ตรวจเอกสารเกี่ยวกับแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* ที่มีการรายงานไว้ในประเทศไทยและต่างประเทศ ทำการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบจากนักวิชาการ ผู้มาขอรับบริการ และจากพืชต่างๆในสภาพธรรมชาติ โดยตัดใบที่มีแมลงวันหนอนชอนใบทำลายพร้อมกิ่งพืชใส่ถุงพลาสติก นำกลับมาเลี้ยงต่อจนเป็นตัวเต็มวัยที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช นำตัวเต็มวัยแมลงวันหนอนชอนใบใส่ขวดดองที่มีแอลกอฮอล์ 70 % อยู่ภายใน บางส่วนนำไปติดบนส่วนปลายของกระดาษสามเหลี่ยมขนาดเล็กที่มีเข็มหมุดปักอยู่ที่ด้านตรงข้าม นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 เซลเซียส นำตัวอย่างแมลงที่เตรียมได้นี้ไปจำแนกและวิเคราะห์ชนิด โดยการตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* จัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดของแมลงวันหนอนชอนใบที่พบ พร้อมวาดภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธาน

บันทึกรายละเอียดของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* บนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่จับและชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และบันทึกราย ละเอียดข้อมูลสำคัญ ของแมลงวันหนอนชอนใบ และชนิดของพืชที่พบตัวอย่าง ถ่ายภาพ แมลงที่ได้ศึกษา นำตัวอย่างแมลงที่ได้ศึกษาจัดเก็บเข้าในพิพิธภัณฑ์

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2546 – กันยายน 2550

สถานที่ แปลงปลูกพืชในแหล่งปลูกพืชต่างๆ และห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 โดยทำการตรวจเอกสารด้านอนุกรมวิธานของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* และสำรวจรวบรวมตัวอย่างของแมลงวันหนอนชอนใบในแหล่งปลูกพืช ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นครปฐม เพชรบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี และขอนแก่น นำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย เก็บตัวอย่างแมลงระยะตัวเต็มวัย ไว้ในแอลกอฮอล์ ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานและตรวจวิเคราะห์ชนิด พบแมลงวันหนอนชอนใบ สกุล *Liriomyza* 2 ชนิด คือ *Liriomyza sativae* Blanchard บนใบฟักทอง บวบ โหระพา และพิทูเนีย ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี และขอนแก่น และ *L. chinensis* (Kato) บนใบหอม ที่จังหวัดกาญจนบุรี ทำการบันทึกรายละเอียดของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* ที่ทราบชนิดแล้วบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับ

ตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่จับ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และชนิดของพืชที่พบตัวอย่าง พร้อมถ่ายภาพ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* ในปี 2549 พบแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* 2 ชนิด คือ *Liriomyza sativae* Blanchard บนใบฟักทอง บวบ โหระพา และพิทูเนีย ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี และขอนแก่น และ *L. chinensis* (Kato) บนใบหอม ที่จังหวัดกาญจนบุรี

เอกสารอ้างอิง

Lim G.S, S.S. Sastroutomo, W.H. Loke.1999. Workshop on leafminers of vegetables in Southeast Asia. CABI-SEARC.

Parrella MP. 1987. Biology of *Liriomyza.* Ann Rev Entomol 32: 201 – 224.

Spencer KA. 1973. Agromyzidae (Diptera) of economic importance. Dr. W. Junk.,The Hague. Natherland. 418.

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ และ อัมพร วิโนทัย. 2544. การแก้ไขปัญหาการระบาดของหนอนชอนใบบนพื้นที่สูงภาคเหนือ. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพฯ. 42 หน้า

อนุกรมวิธานของมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae และการเก็บรักษา

Taxonomy of the Bug in Genus *Sycanus* and *Polytoxus* Family Reduviidae and Preservation

รัตนา นชะพงษ์ ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ
พรรณเพ็ญ ชโยภาส สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของมวนสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae โดยทำการสืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องทางด้านอนุกรมวิธาน สำรวจ รวบรวมตัวอย่างมวนสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* ในแหล่งปลูกพืช จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ตาก ชัยภูมิ อุดรธานี หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เพชรบุรี กาญจนบุรี นครปฐม ปทุมธานี จันทบุรี และรวบรวมตัวอย่างจากบุคคลที่ส่งมาจำแนกชนิด นำมาจัดรูปร่าง ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานและตรวจวิเคราะห์ชนิด พบมวนในสกุล *Sycanus* 3 ชนิด คือ *Sycanus versicoler* Dohrn, *Sycanus collaris* Frabicius, *Sycanus croceovittatus* Dohrn และสกุล *Polytoxus* 3 ชนิด คือ *Polytoxus selangorensis* Miller, *Polytoxus fuscovittatus (Stal), Polytoxus vegans* Miller ซึ่งได้จัดทำแนวทางการวิเคราะห์ชนิด พร้อมภาพประกอบลักษณะสำคัญ

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

มวนพวก Reduviid หลายชนิดเป็นมวนตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายหนอนศัตรูพืชและเป็นพวกที่สามารถอดอาหารได้เป็นเวลานานเมื่อไม่มีเหยื่อ มวนอยู่ในอันดับ Hemiptera และมวนที่เป็นศัตรูธรรมชาติพวกแมลงห้ำ ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ Reduviidae และมวนตัวห้ำในวงศ์นี้มีอุปนิสัยขยันและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ในการทำลายแมลงศัตรูพืช (Slater and Baranowski, 1978) Mahr (1980) กล่าวว่ามวนตัวห้ำในวงศ์นี้สามารถเจริญเติบโตอยู่ได้ทั้งในพืชสวน พืชไร่ และสามารถฆ่าแมลงทั้งที่มีขนาดเล็กและกลาง ซึ่งได้แก่ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่น ไข่และหนอนของด้วงที่ทำลายหน่อไม้ฝรั่ง รวมทั้งแมลงศัตรูป่าไม้ Sahayaraj (2001) กล่าวว่ามวนตัวห้ำ Reduviid, *Neohaematorrhophus therasii* Ambrose และ Livingstone สามารถเลี้ยงขยายพันธุ์ได้ดีด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* Stainton โดยสามารถกินหนอนผีเสื้อข้าวสารได้วันละ 8 ตัว/มวน 1 ตัว Grundy (2003) กล่าวว่าตัวอ่อนมวนตัวห้ำ Reduviid, *Pristhesancus piagipenni* สามารถกินหนอนเจาะสมอฝ้ายที่มีขนาดเล็ก - กลาง มากกว่า 160 ตัว/ 9-12 อาทิตย์/ มวน 1 ตัว สามารถเลี้ยงขยายปริมาณ และ นำไปปล่อยเพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในอัตรา 1 ตัว/ แถวยาว 1 เมตร Sahayaraj (2002) กล่าวว่ามวนตัวห้ำ Reduviid, *Rhynocoris marginatus* (F.) เลี้ยงขยายปริมาณได้ด้วยหนอนผีเสื้อข้าวสาร สามารถฆ่าแมลงศัตรูพืชได้เกือบ 25 ชนิด เช่น หนอนกระทู้ผัก และ หนอนเจาะสมอฝ้าย และได้นำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นในแปลงถั่วเหลือง จะเห็นได้ว่ามวนพวก Reduviid มีความสำคัญต่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช และช่วยลดพิษตกค้างของสารเคมีฆ่าแมลงในสภาพ แวดล้อม สำหรับประเทศไทยมีการศึกษาอนุกรมวิธานของมวน Reduviid น้อยมาก จากการขาดข้อมูลพื้นฐานตรงนี้ทำให้การศึกษาการนำมวน Reduviid ไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรู พืชถูกจำกัด จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเร่งทำการ ศึกษาอนุกรมวิธานของมวนวงศ์ Reduviidae โดยเริ่มศึกษามวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus*

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สวิง กล่องพลาสติกใส ถุงพลาสติก กล่องเก็บรักษาความเย็น พู่กัน เข็มปักแมลง เข็มหมุดขนาดกลาง ตู้อบแมลง กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง กล้องถ่ายรูป คอมพิวเตอร์ กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบใส่ตัวอย่างแมลง และตัวอย่างมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae

วิธีการ

ตรวจเอกสารเกี่ยวกับมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae ที่มีการรายงานไว้ในประเทศไทยและต่างประเทศทำการสำรวจและเก็บรวบรวมมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae โดยใช้สวิงโฉบ และมือจับจากแหล่งปลูกพืช นำตัวอย่างมวนที่เป็นตัวเต็มวัยมาจัดรูปร่าง สำหรับมวนที่สำรวจ รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน จะนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย พร้อมทั้งบันทึกรายละเอียดข้อมูลสำคัญของมวน ได้แก่ วัน / เดือน / ปี สถานที่ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และทำการ ถ่ายภาพ นำตัวเต็มวัยที่ได้มาจัดรูปร่างเพื่อเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ นำตัวอย่างที่จัดรูปร่างไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 - 60° เซลเซียส แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ชนิด ตามหลักของอนุกรมวิธาน

การจำแนกและวิเคราะห์ชนิดของมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae ทำโดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล่องจุลทรรศน์ ด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของมวนดังกล่าวประกอบกับเปรียบเทียบตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ จัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดของมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae ที่พบพร้อมทั้งวาดภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธาน

บันทึกรายละเอียดของมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae บนแผ่นป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับตัวอย่างมวนแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน/เดือน/ปี และสถานที่จับ และจัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2546 – กันยายน 2548

สถานที่ แปลงปลูกพืชในแหล่งปลูกพืชต่างๆ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานของมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae พบมวนในสกุล *Sycanus* 3 ชนิด คือ *Sycanus versicolor* Dohrn, *S.collaris* F., *S. croceovittatus* (Stal) และ *Polytoxus selangorensis* Miller, *P. fuscovittatus (Stal), P. vagans Miller* มวนในสกุล *Sycanus* เป็นมวนที่มีขนาดใหญ่มีขนาดลำตัวยาว 1.7 – 2.9 เซนติเมตร มีลักษณะลำตัวยาวรูปไข่ ส่วนหัวยาวโดยมีความยาวเท่ากับความยาวของสันหลังอกปล้องแรก (pronotum) และแผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอก (scutellum) รวมกัน บริเวณส่วนหลังตามีความยาวมากกว่าบริเวณส่วนหน้าของตา ส่วนหัวที่ติดกับอก แคบคล้ายคอ ปากมีลักษณะเป็นแท่งยาวมี 3 ปล้อง ปล้องที่ 2

ยาวที่สุด ปล้องสุดท้ายสั้น ปากมีลักษณะโค้งงอเข้าไปอยู่ในร่อง (groove) ที่แผ่นแข็งของอกปล้องแรก (prosternum) มีหนวด 4 ปล้อง หนวดปล้องแรกยาวเท่ากับต้นขา(femur) ของขาคู่หน้า สันหลังอกปล้องแรกก่อนถึงกึ่งกลางปล้องคอดทำให้สันหลังอกปล้องแรกถูกแบ่งเป็น 2 ส่วน ทั้ง 2 ส่วนมีลักษณะโค้งนูนโดยส่วนหน้า (anterior lobe) จะแคบกว่าส่วนท้าย (posterior lobe) ซึ่งส่วนท้ายจะมีลักษณะเป็นหลุมขรุขระ ขอบลำตัวด้านข้างขยายออกมาจนปีกคลุมไม่มิด (ภาพที่ 1) ส่วนมวนในสกุล *Polytoxus* เป็นมวนที่มีขนาดกลางโดยมีลำตัวยาว 0.7 – 1.1 เซนติเมตร มีลักษณะลำตัวยาวเรียว ลำตัวมีขนอ่อนปกคลุม ส่วนหัวสั้นกว่าความยาวของสันหลังอกปล้องแรก ส่วนหัวที่ติดกับอกแคบคล้ายคอ ปากมีลักษณะเป็นแท่งสั้นมี 3 ปล้อง ปล้องที่ 1 ยาวที่สุดโดยยาวเลยบริเวณตาออกมาเล็กน้อย ปากมีลักษณะโค้งงอเข้าไปอยู่ในร่องที่แผ่นแข็งของอกปล้องแรก มีหนวด 4 ปล้อง หนวดปล้องแรกยาวที่สุดโดยยาวเกือบเท่าต้นขาของขาหลัง ขามีขนปกคลุม โดยเฉพาะบริเวณด้านในของส่วนโคนต้นขาและของส่วนปลายหน้าแข้งของขาคู่หน้าเต็มไปด้วยขนแข็ง สันหลังอกปล้องแรกมีความยาวมากกว่าความกว้าง แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกสั้น ขอบลำตัวด้านข้างไม่ขยายออกมา เมื่อหุบปีก ปีกคลุมลำตัวมิด (ภาพที่ 2) มวนทั้ง 6 ชนิดนี้สามารถจำแนกชนิดโดยใช้การวินิจฉัย (key) และรายละเอียดของมวนแต่ละชนิดที่ปรับปรุงมาจากการศึกษาของ Distant (1904) และ Barrion and Litsinger (1994) โดยตรวจดูลักษณะของตาเดี่ยว หนามที่สันหลังอกปล้องแรกและที่แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอก หนวด ขา ปาก เป็นต้น

แนวทางการวินิจฉัยชนิดมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae

1. - แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอก(scutellum) มีหนาม(spine) 1 อัน มีตาเดี่ยว สันหลังอกปล้องแรก (pronotum) ที่บริเวณตรงกลางของส่วนหน้า (central of anterior lobe of pronotum) ไม่ยกระดับสูงขึ้นเป็นสันนูนแต่จะมีลักษณะโค้งนูน และที่บริเวณส่วนท้าย(posterior lobe) ของสันหลังอกปล้องแรกไม่มีหนาม (ภาพที่ 3.1)

   ……**สกุล** *Sycanus*..... 2

   - แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีหนาม 2 อัน ขนานกัน หนามอันยาวอยู่ที่ฐาน หนามอันสั้นอยู่ที่ส่วนยอด ไม่มีตาเดี่ยว สันหลังอกปล้องแรกที่บริเวณตรงกลางของส่วนหน้ายกระดับสูงขึ้นเป็นสันนูน และที่บริเวณส่วนท้ายมีหนามอยู่ด้านข้างข้างละอัน (ภาพที่ 3.2)

     .....**สกุล** Polytoxus……4

2. - หนามที่แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกยาวตรง ปลายหนามแหลมไม่แยกออกเป็นง่าม (ภาพที่ 4) มีสีแดง บริเวณส่วนหน้าของสันหลังอกปล้องแรกมีสีแดง ปากมีลักษณะเป็นแท่งยาวมี 3 ปล้อง ปากปล้องสุดท้ายมีสีแดง …… *Sycanus versicolor*

   - หนามที่แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกยาวโค้ง ปลายหนามแยกออกเป็นง่ามมีสีดำ บริเวณส่วนหน้าของสันหลังอกปล้องแรกมีสีดำ ……..3

3. - หนามที่แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกเกือบตั้งตรง ปลายหนามแยกออกเป็นง่าม กว้างเห็นชัดเจน (ภาพที่ 5) หนวดมีสีดำและมีสีน้ำตาลลักษณะคล้ายวงแหวนอยู่ที่ปล้องที่ 1 จำนวน 2 วง และที่บริเวณฐานของปล้อง 2 อีก 1 วง ปากมีลักษณะเป็นแท่งยาวมี 3 ปล้อง ปากปล้องสุดท้ายมีสีน้ำตาลอ่อน . .....*S. collaris*

   - หนามที่แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกโค้งไปข้างหลังเล็กน้อย ปลายหนามแยกออกเป็นง่ามไม่กว้าง (ภาพที่ 6) หนวดมีสีดำสีเดียว ปากมีลักษณะเป็นแท่งยาวมี 3 ปล้อง ปล้องสุดท้ายและปล้องถัดมามีสีน้ำตาลอ่อน .....*S. croceovittatus*

4. - หนามที่สันหลังอกปล้องแรกสั้น หนามมีความยาวเท่ากับ 2 ใน 3 ของความยาวสันหลังอกปล้องแรก หนามมีสีเหลือง ยกเว้นบริเวณปลายถึงกึ่งกลางหนามมีสีดำ(ภาพที่ 7) ขามีสีน้ำตาลอมดำ บริเวณส่วนโคนของต้นขามีสีเหลือง ..... *Polytoxus selangorensis*

   - หนามที่สันหลังอกปล้องแรกยาว มีสีเหลือง ยกเว้นส่วนปลายสุดของหนาม มีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 8)..... 5

5. - หนามที่สันหลังอกปล้องแรกยาวเท่ากับสันหลังอกปล้องแรก ขามีสีเหลืองอมน้ำตาลอ่อน ยกเว้นส่วนปลาย 1 ใน 3 ของต้นขามีสีน้ำตาลอมสีโอ๊ค บริเวณปลายสุดมีสีแดงอมส้มอ่อน ..... *P. fuscovittatus*

   - หนามที่สันหลังอกปล้องแรกยาวกว่าสันหลังอกปล้องแรก ขามีสีเหลือง ยกเว้นส่วนปลาย 1 ใน 3 ของต้นขามีสีน้ำตาลอมสีโอ๊ค บริเวณปลายสุดมีสีแดงอมส้มอ่อน.....*P. vagans*

รายละเอียดของมวนเพชฌฆาตแต่ละชนิดที่พบ

Sycanus versicolor Dohrn, 1859

(ภาพที่ 4)

ชื่ออื่น *Sycanus miles* Walker, 1873

ชื่อสามัญ มวนเพชฌฆาต assassin bug

รูปร่างลักษณะ

หัว ส่วนหัวยาว ส่วนหลังตาแคบคล้ายคอ มีตาเดี่ยว 2 ตา หนวดมี 4 ปล้อง สีดำยกเว้นปล้องที่ 4 มีสีโอ๊ค ปากยาวมี 3 ปล้อง ปากปล้องที่ 3 (ปล้องสุดท้าย) มีสีแดงเข้ม

อก สันหลังอกปล้องแรก(pronotum) ไม่มีหนาม แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอก (scutellum) มีสีแดงเข้ม มีหนาม 1 อัน หนามมีขนาดสั้นลักษณะตั้งตรงสีแดงเข้ม ปลายหนามแหลมไม่แยกออกเป็นง่าม ส่วนสันหลังอกปล้องแรกที่บริเวณตรงกลางของส่วนหน้าไม่ยกระดับสูงขึ้นเป็นสันนูนแต่จะมีลักษณะโค้งนูน (anterior lobe of pronotum)) มีสีแดงเข้ม บริเวณ 1 ใน 3

ของส่วนปลายปีกที่เป็นส่วนแข็ง (corium) และบริเวณส่วนฐานของขอบปีกส่วนอ่อน (membrane) มีสีแดงเข้ม

ท้อง ขอบด้านข้างของส่วนท้องขยายใหญ่และโค้งยกขึ้น มุมล่างของขอบท้องปล้องที่ 2 และ 3 ยื่นแหลมออกมาเห็นได้ชัด

ลำตัว มีขนาดยาว 1.7 – 2.2 เซนติเมตร

เขตแพร่กระจาย

ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดขอนแก่น เลย

Sycanus collaris Fabricius, 1785

(ภาพที่ 5)

ชื่ออื่น *Reduvius longicollis* Lepell., (1825)

ชื่อสามัญ มวนเพชฌฆาต assassin bug

รูปร่างลักษณะ

หัว ส่วนหัวยาว ส่วนหลังตาแคบคล้ายคอ มีตาเดี่ยว 2 ตา หนวดมี 4 ปล้อง สีดำ ยกเว้นปล้องที่ 4 มีสีโอ๊ค หนวดปล้องที่ 1 มีวงแหวนสีน้ำตาล 2 วง และหนวดปล้องที่ 2 มีวงแหวนสีน้ำตาล 1 วง อยู่บริเวณใกล้ฐาน ปากมีลักษณะเป็นแท่งยาวมี 3 ปล้อง ปากปล้องที่ 3 มีสีน้ำตาลอ่อน

อก สันหลังอกปล้องแรกไม่มีหนาม แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีดำ มีหนาม 1 อัน ยาวลักษณะเกือบตั้งตรงมีสีดำ ปลายหนามแหลมแยกออกเป็นง่ามกว้างเห็นชัดเจน ส่วนสันหลังอกปล้องแรกที่บริเวณตรงกลางของส่วนหน้าไม่ยกระดับสูงขึ้นเป็นสันนูนแต่จะมีลักษณะโค้งนูนมีสีดำ บริเวณครึ่งหนึ่งทางส่วนปลายของปีกส่วนแข็งและบริเวณส่วนฐานของขอบปีกส่วนอ่อนมีสีฟางข้าว

ท้อง ขอบด้านข้างของส่วนท้องขยายใหญ่มากและโค้งยกขึ้น โดยเฉพาะปล้องที่ 3 และ 4 จะขยายใหญ่ขึ้นมากกว่าปล้องอื่น มุมล่างของขอบท้องปล้องที่ 2 และ 3 มีลักษณะยื่นแหลมออกมา

ลำตัว มีขนาดยาว 2.7 – 2.9 เซนติเมตร

เขตแพร่กระจาย

ภาคกลาง จังหวัดกรุงเทพมหานคร กาญจนบุรี เพชรบูรณ์

ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ แพร่

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดขอนแก่น เลย อุทัยธานี

ภาคใต้ จังหวัดปัตตานี สงขลา ชุมพร

Sycanus croceovittatus Dohrn, (1855)

(ภาพที่ 6)

ชื่อสามัญ มวนเพชฌฆาต assassin bug

รูปร่างลักษณะ

หัว ส่วนหัวยาว ส่วนหลังตาแคบคล้ายคอ มีตาเดี่ยว 2 ตา หนวดมี 4 ปล้อง สีดำ ยกเว้นปล้องที่ 4 มีสีโอ๊ค ปากมีลักษณะเป็นแท่งยาวมี 3 ปล้อง ปากปล้องที่ 2 และปล้องที่ 3 มีสีน้ำตาลแก่ซีดๆ

อก สันหลังอกปล้องแรกไม่มีหนาม แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีดำ มีหนาม 1 อัน ยาวลักษณะโค้งไปข้างหลังเล็กน้อย มีสีดำ ปลายหนามแยกออกเป็นง่ามไม่กว้าง ส่วนสันหลังอกปล้องแรกที่บริเวณตรงกลางของส่วนหน้าไม่ยกระดับสูงขึ้นเป็นสันนูนแต่จะมีลักษณะโค้งนูนมีสีดำ บริเวณครึ่งหนึ่งทางส่วนปลายของปีกส่วนแข็งและบริเวณส่วนฐานของขอบปีกส่วนอ่อนมีสีเหลืองทอง

ท้อง ขอบด้านข้างของส่วนท้องขยายใหญ่มากและโค้งยกขึ้นโดยเฉพาะปล้องที่ 3 และ 4 จะขยายใหญ่กว้างออกมามากกว่าปล้องอื่น มุมล่างของขอบท้องปล้องที่ 2, 3 และ 4 มีลักษณะยื่นแหลมออกมา

ลำตัว มีขนาดยาว 2.2 – 2.9 เซนติเมตร

เขตแพร่กระจาย

ภาคกลาง จังหวัดกาญจนบุรี เพชรบุรี

ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ แพร่

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดขอนแก่น เลย อุทัยธานี

ภาคใต้ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

Polytoxus selangorensis Miller, 1940

(ภาพที่ 7)

ชื่อสามัญ มวนเพชฌฆาต assassin bug, thread-legged bug

รูปร่างลักษณะ

หัว หัวมีสีแดง ส่วนหลังตาแคบคล้ายคอ ไม่มีตาเดี่ยว หนวดมี 4 ปล้อง สีน้ำตาลอมส้ม หนวดปล้องที่ 1 ยาวเรียว ปากสั้นมี 3 ปล้อง

อก แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีดำ มีหนาม 2 อัน ขนานกัน หนามอันยาวอยู่ที่ฐาน หนามอันสั้นอยู่ที่ส่วนปลาย บริเวณส่วนท้ายของสันหลังอกปล้องแรกมีหนามสั้น 2 อัน ข้างละอัน หนามมีสีเหลืองมีความยาวเท่ากับ 2 ใน 3 ของความยาวสันหลังอกปล้องแรก บริเวณส่วนปลายถึงกึ่งกลางหนามมีสีดำ ส่วนหน้าของสันหลังอกปล้องแรกมีสีน้ำตาล ขามีสีน้ำตาลอมดำยกเว้นบริเวณส่วนโคนของต้นขามีสีเหลือง

ท้อง ขอบด้านข้างของส่วนท้องไม่ขยายใหญ่ขึ้น เมื่อหุบปีก ปีกคลุมส่วนท้องมิด

ลำตัว มีขนอ่อนปกคลุม ขนาดลำตัวยาว 0.7 เซนติเมตร

เขตแพร่กระจาย

ภาคกลาง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ภาคเหนือ จังหวัดพิษณุโลก

Polytoxus fuscovittatus (Stal), 1859

(**ภาพที่** 8)

ชื่อสามัญ มวนเพชฌฆาต assassin bug, thread-legged bug

รูปร่างลักษณะ

หัว หัวมีสีแดงอมสีส้ม ส่วนหลังตาแคบคล้ายคอ ไม่มีตาเดี่ยว หนวดมี 4 ปล้อง สีน้ำตาลอมสีส้ม หนวดปล้องที่ 1 ยาวเรียว ปากสั้นมี 3 ปล้อง

อก แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีโอ๊คอมสีแดง มีหนาม 2 อัน ขนานกัน หนามอันยาวอยู่ที่ฐาน หนามอันสั้นอยู่ที่ส่วนปลาย บริเวณส่วนท้ายของสันหลังอกปล้องแรกมีหนามยาว 2 อัน ข้างละอัน หนามมีสีเหลืองมีความยาวเท่ากับความยาวของสันหลังอกปล้องแรก บริเวณส่วนปลายสุดของหนามมีสีน้ำตาลอมสีดำ บริเวณส่วนหน้าของสันหลังอกปล้องแรกมีสีแดงอมสีส้ม ส่วนท้ายของสันหลังอกปล้องแรกบริเวณตรงกลางมีสีโอ๊คและบริเวณขอบสองข้างมีสีแดงอมสีส้ม ขามีสีโอ๊คอ่อนอมสีเหลืองยกเว้นส่วนปลาย 1 ใน 3 ของต้นขามีสีน้ำตาลอมสีโอ๊คและบริเวณปลายสุดของต้นขามีสีแดงอมสีส้มอ่อน หน้าแข้งมีสีเหลืองบริเวณปลายสุดของหน้าแข้งติดกับเท้าและส่วนเท้ามีสีน้ำตาลอมสีโอ๊ค

ท้อง ขอบด้านข้างของส่วนท้องไม่ขยายใหญ่ขึ้น เมื่อหุบปีก ปีกคลุมส่วนท้องมิด

ลำตัว มีขนอ่อนปกคลุม ขนาดลำตัวยาว 1.1 เซนติเมตร

เขตแพร่กระจาย

ภาคกลาง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ภาคเหนือ จังหวัดพิษณุโลก

ภาคตะวันออก จังหวัดจันทบุรี

Polytoxus vagans Miller, 1940

(ภาพที่ 9)

ชื่อสามัญ มวนเพชฌฆาต assassin bug, thread-legged bug

รูปร่างลักษณะ

หัว หัวมีสีเหลืองอมส้ม ส่วนหลังตาแคบคล้ายคอ ไม่มีตาเดี่ยว หนวดมี 4 ปล้องมีสีน้ำตาลอมส้ม หนวดปล้องที่ 1 ยาวเรียว ปากสั้นมี 3 ปล้อง

อก แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีน้ำตาลอมสีโอ๊ค มีหนาม 2 อัน ขนานกัน หนามอันยาวอยู่ที่ฐาน หนามอันสั้นอยู่ที่ส่วนปลาย บริเวณส่วนท้ายของของสันหลังอกปล้องแรกมีหนามสั้น 2 อัน ข้างละอัน หนามมีสีเหลืองมีขนาดยาวกว่าความยาวของสันหลังอกปล้องแรก บริเวณส่วนปลายถึงกึ่งกลางหนามมีสีดำ บริเวณส่วนหน้าของสันหลังอกปล้องแรกมีสีน้ำตาลอ่อนอมสีส้ม ส่วนท้ายของสันหลังอกปล้องแรกบริเวณตรงกลางมีสีโอ๊คและบริเวณขอบสองข้างมีสีเหลืองอมสีส้ม ขามีสีเหลืองยกเว้นส่วนปลาย 1 ใน 3 ของต้นขามีสีน้ำตาลอมสีโอ๊คและบริเวณปลายสุดของต้นขามีสีแดงอมส้มอ่อน หน้าแข้งมีสีเหลืองบริเวณปลายสุดของหน้าแข้งติดกับเท้าและส่วนเท้ามีสีน้ำตาลอมสีโอ๊ค

ท้อง ขอบด้านข้างของส่วนท้องไม่ขยายใหญ่ขึ้น เมื่อหุบปีก ปีกคลุมส่วนท้องมิด

ลำตัว มีขนอ่อนปกคลุม ขนาดลำตัวยาว 1 เซนติเมตร

เขตแพร่กระจาย

ภาคกลาง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ภาคเหนือ จังหวัดพิษณุโลก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของมวนในสกุล *Sycanus* และ *Polytoxus* วงศ์ Reduviidae และการเก็บรักษา พบมวนในสกุล *Sycanus* 3 ชนิด คือ *Sycanus versicolor* Dohrn, *S. collaris* Fabricius, *S. croceovittatus* Dohrn และสกุล *Polytoxus* 3 ชนิด คือ *Polytoxus selangorensis* Miller, *P.fuscovittatus (Stal),P.vagans* Miller ที่ภาคกลางได้แก่จังหวัด กรุงเทพมหานคร กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ ภาคเหนือได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ แพร่ พิษณุโลก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้แก่ จังหวัดขอนแก่น เลย อุทัยธานี ภาคตะวันออกได้แก่ จังหวัดจันทบุรี ภาคใต้ได้แก่ จังหวัด

ปัตตานี สงขลา ชุมพร ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ และน่าสนใจของแมลงศัตรูธรรมชาติประเภทมวนตัวห้ำเพื่อที่จะนำไปศึกษาเพิ่มเติมในการนำมวนตัวห้ำเหล่านี้ไปใช้ควบคุมหนอนศัตรูพืชชนิดที่สำคัญทางเศรษฐกิจต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Barrion At, Litsinger JA. 1994. Taxonomy of rice insect pests and their arthropod parasites and predators. *In*: Biology and management of rice insects. Manila (Philippines): International Rice Research Institute. p 23-362.

Distant W.L. 1904. The Fuana of British India, including Ceylon and Burma. Rhynchota (Heteroptera). Vol. II. 503 p.

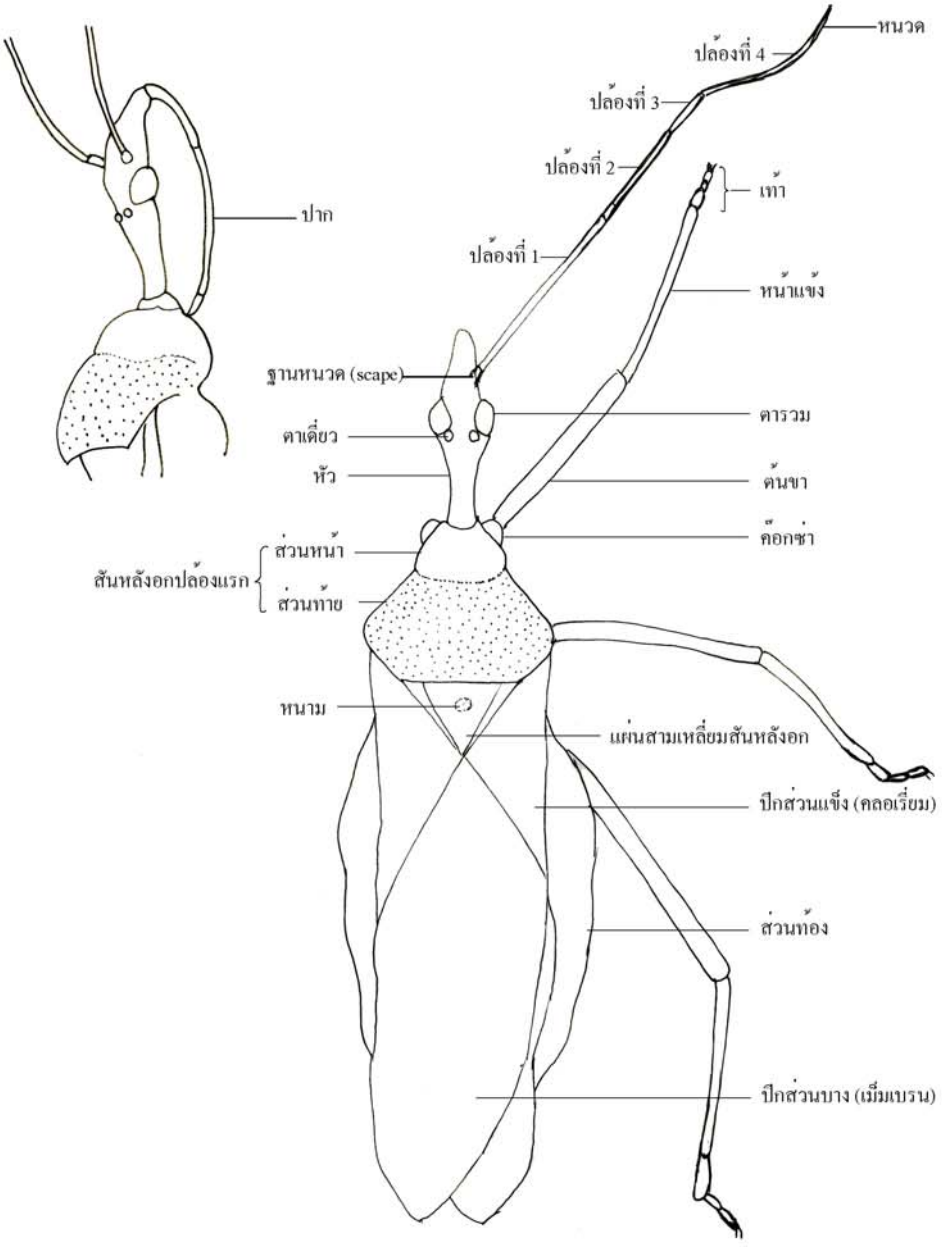
Grundy, P.R. 2003. Towards the on-farm conservation of the assassin bug *Pristhesancus plagipennis* (Walker)(Hemiptera : Reduviidae) during, winter using crop plants refuges. Australian Journal of Entomology in Press.

Sahayaraj, K. 2001. A Qualitative Study of Food Consumption, Growth and Fecundity of a Reduviid Predator in Relation to Pray Density. Entomologia Croatica. 5(1-2): 19-30 pp.

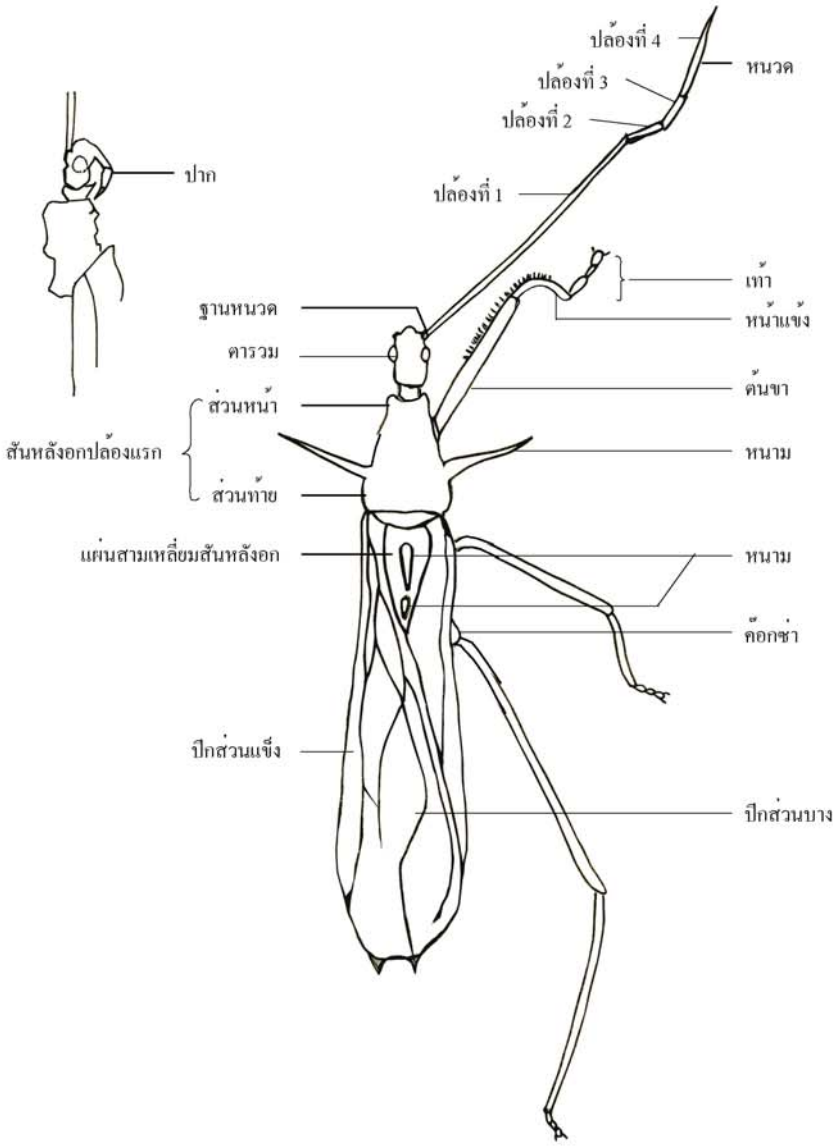
Sahayaraj, K. 2002. Influence of different diets of *Corcyra cephalonica* on life history of a reduviid predator *Rhynocoris marginatus* (Fab). Journal of Central European Agriculture. 3(1) : 1-6.

Siater, J.A. and R.M. Baranowski. 1978. How to Know the True Bugs. Wm. C. Brown, Dubuque, Iowa. 256 p.

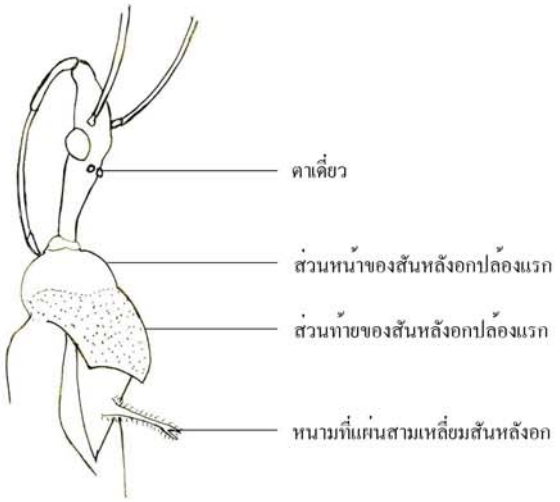
ภาคผนวก



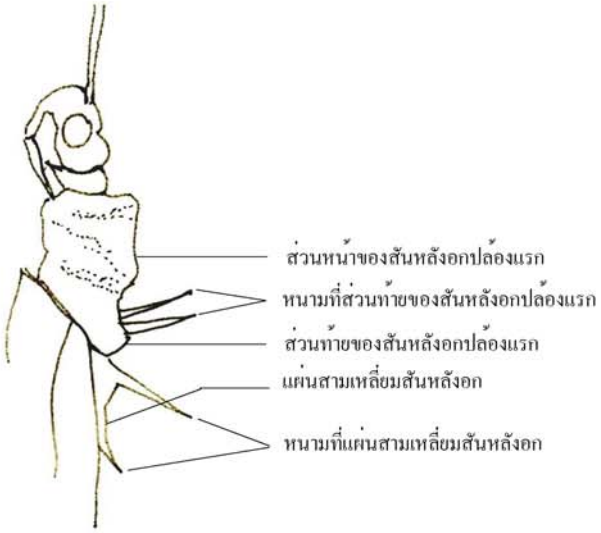
ภาพที่ 1 ลักษณะรูปร่างของมวนสกุล *Sycanus*



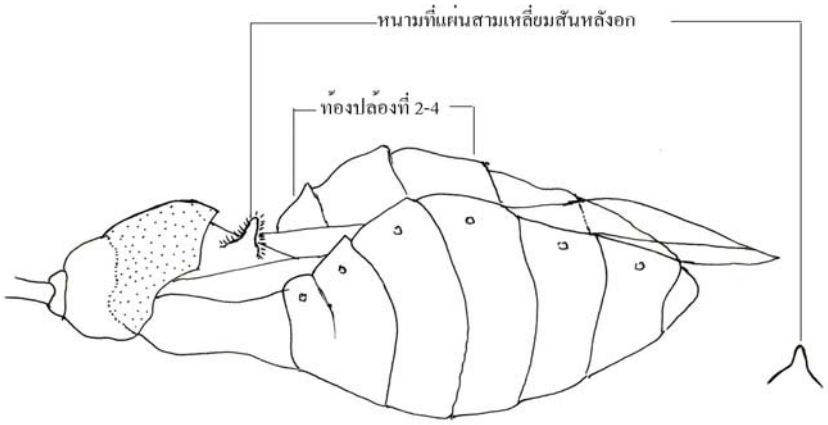
ภาพที่ 2 ลักษณะรูปร่างของมวนสกุล *Polytoxus*



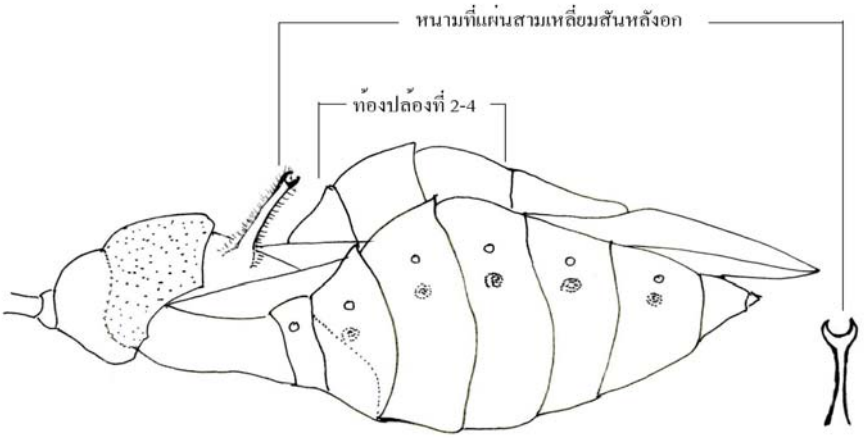
ภาพที่ 3.1 ลักษณะส่วนอกของมวนสกุล *Sycanus*



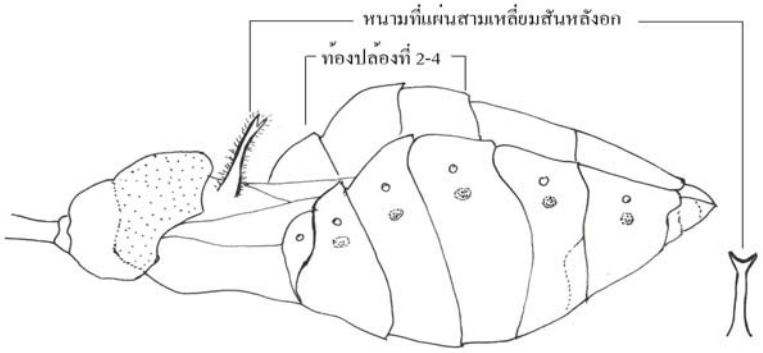
ภาพที่ 3.2 ลักษณะส่วนอกของมวนสกุล *Polytoxus*



ภาพที่ 4 ลักษณะหนามและท้องปล้องที่ 2-4 ของ *Sycanus versicolor* Dohrn

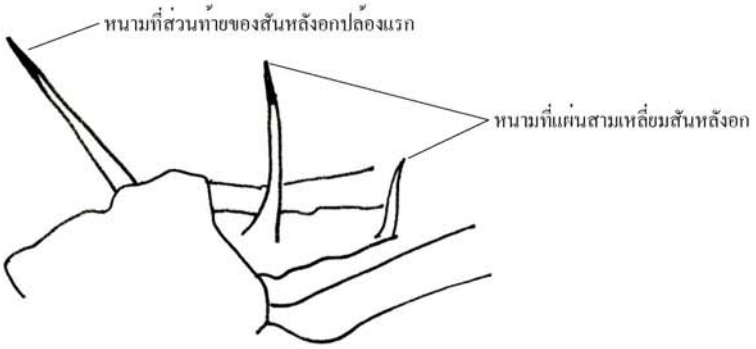


ภาพที่ 5 ลักษณะหนามและท้องปล้องที่ 2-4 ของ *Sycanus colloris* Frabicius



ภาพที่ 6 ลักษณะหนามและท้องปล้องที่ 2-4 ของ *Sycanus croceovittatus* Dohrn

ภาพที่ 7 ลักษณะหนามของ *Polytoxus selangorensis* Miller



ภาพที่ 8 ลักษณะหนามของ *Polytoxus fuscovittatus* (Stal) และ *P. vagans* Miller

อนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้ สกุล *Bactrocera*

Taxonomy of Fruitfly in Genus *Bactrocera*

ยุวรินทร์ บุญทบ ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ
รัตนา นชะพงษ์ พรรณเพ็ญ ชโยภาส ลักขณา บำรุงศรี
สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ที่มีอยู่ในประเทศไทย ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ เช่น กระท้อน ชมพู่ พริก มะเฟือง ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้ไปจัดเซ็ทรูปร่างและตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิดพบแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ ดังนี้ *Bactrocera latifrons*, *B. correcta*, *B.nigrotibialis* และ *B. cucurbitae* การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อในปี 2550

คำนำ

แมลงวันผลไม้หรือแมลงวันทอง (Fruit Flies) เป็นแมลงศัตรูที่มีความสำคัญมากสำหรับผลไม้และผักในเขต tropical และ subtripical โดยตัวเต็มวัยจะเข้าทำลายผลไม้โดยการวางไข่ กับผลไม้ที่มีเปลือกบาง หรืออ่อนนุ่ม จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในผลทำให้ผลไม้เน่าเสียก่อนการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ตัวหนอนของแมลงวันผลไม้บางชนิดตัวหนอนสามารถเจริญเติบโตบนดอกไม้ สกุล Asteraceae และสกุลอื่น ๆได้อีกด้วย และตัวหนอนบางชนิดยัง

รหัสโครงการ 09-02-49-01

สามารถเข้าชอนใบ เนื้อเยื่อหรือรากพืช (White, 1992) และสร้างปมได้อีกด้วย (Ibrahim and Ghani , 1990) จากการศึกษาพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ มนตรี (2544) รายงานว่าพบแมลงวันผลไม้เข้าทำลายพืช 359 ชนิด โดยเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 106 ชนิด และเป็นพืชที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 253 ชนิด ดังนั้นเห็นได้ว่าแมลงวันผลไม้สามารถขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณ จากพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ ได้ตลอดทั้งปี จึงทำให้การป้องกันกำจัดทำได้ยาก ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาต่อพืชผัก โดยเฉพาะผลไม้ที่เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น มะม่วง มังคุด ฝรั่ง ชมพู่ และพริก ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน พืชอาหาร และการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ ทำให้สามารถจำแนกชนิดของแมลงวันผลไม้ได้อย่างถูกต้อง ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ในการควบคุม กำจัด และป้องกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ กับดักแมลงวันผลไม้แบบ Steiner ปากคีบพู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดดองแมลง ถุงพลาสติก และสารเคมี เช่น Cue lure, Methyl Eugenol, lati lure และ alcohol 70-80%

2. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดรูปร่างแมลงเพื่อจำแนกชนิด ได้แก่ ตู้อบแมลง ขวดฆ่าแมลง เข็มปักแมลง เข็มหมุดขนาดกลาง กระดาษแข็ง และอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บและรักษาแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ การบูร กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบใส่ตัวอย่างแมลง กล่องใส่สไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

3. อุปกรณ์ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสไลด์ ฟิล์มสี แผ่นบันทึกข้อมูล

4. กรงเลี้ยงแมลง และยีสต์สำหรับเป็นอาหารของแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัย

5. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในแปลงเพาะปลูกและในสภาพธรรมชาติ โดยใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ Steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 3 ประเภท ได้แก่ Cue lure, Methyl Eugenol และ lati lure รวมทั้ง เก็บรวบรวมผลไม้ที่มีร่องรอยการทำลายของแมลงวันผลไม้ พร้อมพืชใส่ถุงพลาสติกหรือกล่องพลาสติก เพื่อให้ระบายอากาศได้ดี บันทึกวันที่ เดือน พ.ศ. และสถานที่เก็บ และนำกลับมาเลี้ยงยังห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

2. นำส่วนของพืชมายังห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างพืชมาใส่กล่องพลาสติกที่มีตะแกรงรองก้นซึ่งข้างล่างใส่ขี้เลื่อย และนำกล่องพลาสติกใส่ในกรงผ้า เพื่อให้ตัวเต็มวัยเจริญออกมา ให้อาหารคือ น้ำตาลผสมบรีเวอร์ยีสต์ในอัตรา 1 : 4 เพื่อให้สืบนลำตัวพัฒนาได้ดี

3. เตรียมตัวอย่างตัวเต็มวัย เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ โดยใช้ตัวอย่างตัวเต็มวัยที่อบแห้ง หรืออาจฆ่าด้วยเอทิลอาซีเตด หรือเก็บแมลงใส่หลอดแก้ว แช่ในช่องน้ำแข็ง 4 – 5 ชั่วโมง วิธีนี้จะทำให้สีไม่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อได้ตัวอย่างแล้วใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) แทงบริเวณด้านข้างของส่วนอกใต้ปีกให้ไปทางด้านหน้าของลำตัว แล้วจึงเสียบ micropin กับโฟมหรือค๊อกขนาดเล็กที่มีเข็มปักแมลงเสียบอยู่ โดยมีป้ายเล็ก ๆ กับกับโดยบอก สถานที่ วันเดือนปี ผู้เก็บอีกชิ้นเป็นชื่อพืชที่เก็บมา อีกชิ้นเป็นชื่อแมลงที่จำแนกชนิดได้

4. การเตรียมอวัยวะเพศในการทำสไลด์

- ตัดส่วนท้องของแมลงวันผลไม้แช่ในน้ำยาโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 10%
- แช่ส่วนที่ตัดไว้ในน้ำยาโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 คืน
- นำชิ้นส่วนออกจากน้ำยา แช่ในน้ำกลั่นและเขี่ยเอาไขมัน และส่วนที่ไม่ใช้อวัยวะเพศออก โดยใช้เข็มแหลม ๆ ค่อย ๆ เขี่ยเอาเฉพาะอวัยวะเพศออกมาจากส่วนของท้อง และแช่ในแอลกอฮอล์ 75% และ 95% ตามลำดับ นานครั้งละ 5 นาที
- นำส่วนของอวัยวะเพศผู้และเพศเมียแช่ชั่วคราวในน้ำยา citric acid 3 นาที
- เขี่ยอวัยวะเพศผู้หรืออวัยวะวางไข่ของเพศเมีย มาวางบนสไลด์ที่หยดน้ำยาที่จะทำสไลด์ คือ Canada balsam แล้วปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์
- นำไปอบให้แห้งรวม 2 – 6 สัปดาห์ในตู้อบอุณหภูมิ 40-45^{O}C จึงนำออกมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูงๆ และบันทึกภาพโดยการวาดรูปโดยใช้เครื่องมือ camera lucida ช่วยจะทำให้ทราบสัดส่วนที่แท้จริงได้ พร้อมทั้งจัดทำแนวทางในการวินิจฉัยแมลงวันผลไม้ที่พบ

5. นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากข้อ 1 ตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจาก ลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะขนาด และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงวันผลไม้ ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

6. บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาโดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของแมลงวันผลไม้แต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

7. จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของแมลงวันผลไม้ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

8. จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง (แมลงวันผลไม้ทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2548 – เดือนกันยายน 2553

สถานที่: 1) แหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548ถึง เดือนกันยายน 2549 ทำการศึกษาโดยเก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้จากแห่งปลูกผลไม้ เช่น กระท้อน ชมพู่ พริก มะเฟือง ในกรุงเทพมหานคร นครปฐม ปทุมธานี กาญจนบุรี สุราษฎร์ธานี ตรัง นครศรีธรรมราช และชุมพร นั้น พบแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ ดังนี้ *Bactrocera latifrons*, *B. correcta*, *B.nigrotibialis* และ *B. cucurbitae* การศึกษาครั้งนี้จะต้องดำเนินต่อในปี 2550 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* จากแหล่งปลูกไม้ผลผัก ให้ครอบคลุมทุกภาคของประเทศ จัดทำแนวทางวินิจฉัยแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* พร้อมกับบันทึกรายละเอียดของแมลงวันผลไม้แต่ละชนิด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 พบแมลงวันผลไม้สกุลนี้จำนวน 4 ชนิด ดังนี้ *Bactrocera latifrons*, *B. correcta*, *B.nigrotibialis* และ *B. cucurbitae* การศึกษาครั้งนี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อในปี 2550

เอกสารอ้างอิง

มนตรี จิรสุรัตน์. 2544. ฐานข้อมูลแมลงวันผลไม้ในประเทศไทย, 168 – 233. *ใน* แมลงวันผลไม้ในประเทศไทยผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพ. 244 หน้า

Ibrahim, R. and A. B. Ibrahim. 1990. Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropical. University Pertanian Malaysia Press. Malaysia.199 p.

White, Ian M., and Marlene M. Elson – Harris. 1992. Fruit Flies of Economics Significance Their Identification an dBionomics. CAB International In Association with Aciar (Australian Centre for International Agricultureal Research) Printed and bound in the UK by Redwood Press Ltd, Melksham. 601 pp.

อนุกรมวิธานของด้วงในเผ่า Cryptonychini วงศ์ Chrysomelidae และการเก็บรักษา

Taxonomy and Preservation of the Beetle Tribe Cryptonychini Family Chrysomelidae

พรรณเพ็ญ ชโยภาส ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ
ลักขณา บำรุงศรี รัตนา นชะพงษ์ ยุวรินทร์ บุญทบ
ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานด้วงเผ่า Cryptonychini วงศ์ Chrysomelidae ระหว่างเดือนตุลาคม 2547 ถึงเดือนกันยายน 2548 ได้ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงเผ่า Cryptonychini จากพืชตระกูลปาล์มเช่น มะพร้าว ปาล์มประดับ ในจังหวัดต่างๆ ภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ ภาคกลาง ได้แก่ กรุงเทพฯ นนทบุรี นครปฐม ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ลพบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ อุดรธานี ภาคตะวันออก ได้แก่ ชลบุรี จันทบุรี ตราด ภาคใต้ ได้แก่ สงขลา สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ชุมพร กระบี่ ภูเก็ต และพังงา เพื่อนำมาศึกษาด้านอนุกรมวิธาน ด้วงในเผ่านี้เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของมะพร้าวและปาล์มประดับ เมื่อนำมาจัดรูปร่างและทำการวิเคราะห์ชนิด พบว่ามี 3 สกุล 3 ชนิด ได้แก่ *Brontispa longissima* Gestro , *Octodonta subparallela* Spaeth และ *Plesispa reichei* Chapuis และได้จัดทำแนวทางการวิเคราะห์ชนิด

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

การศึกษาข้อมูลด้านอนุกรมวิธานสามารถช่วยแก้ปัญหาในการระบาดของศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพกล่าวคือ ถ้าได้ทำการศึกษาอนุกรมวิธาน เมื่อมีการระบาดของแมลงศัตรูพืช ทำให้สามารถตรวจสอบได้ทันทีว่าแมลงศัตรูพืชนั้นๆ คือชนิดอะไร มีชีวประวัติ และพฤติกรรมการทำลายพืชหรือผลผลิตอย่างไร ทำให้หาวิธีป้องกันกำจัดได้อย่างเหมาะสม ถูกต้องและรวดเร็ว นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ในด้านการบริการ วิเคราะห์ชนิด และชื่อวิทยาศาสตร์ ให้แก่นักวิชาการ ภาครัฐ ภาคเอกชน และเกษตรกร

ด้วงในเผ่า Cryptonychini วงศ์ Chrysomelidae ส่วนใหญ่เป็นแมลงศัตรูพืช ลักษณะโดยทั่วไป คือ สันหลังอกปล้องแรกและปีกจะไม่มีหนาม บางชนิดที่พบระบาด ทำความเสียหายแก่พืชตระกูลปาล์มในประเทศไทย เช่นแมลงดำหนามมะพร้าวเคยพบเป็นแมลงพื้นเมืองของอินโดนีเซีย และปาปัวนิวกินี ปี พ.ศ. 2531 พบแมลงดำหนามมะพร้าวทำลายเปตติโคตปาล์มในเรือนเพาะชำของฮ่องกงซึ่งเป็นปาล์มที่นำเข้ามาจากสาธารณรัฐประชาชนจีน และต่อมาปี พ.ศ. 2534 พบทำลายมะพร้าวต้นสูง(อายุมากกว่า 30 ปี)(CAB, 2003) แมลงชนิดนี้ทำลายพืชตระกูลปาล์มหลายชนิด (Lever ,1969) การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบชนิดหรือชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง รวมทั้งลักษณะความแตกต่างระหว่างชนิด และได้ตัวอย่างด้วงในเผ่า Cryptonychini วงศ์ Chrysomelidae เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ สำหรับเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลและเป็นประโยชน์ในการหาวิธีการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

พู่กัน แอลกอฮอล์ 75 % กล่องพลาสติกใส สำลี กรรไกร เข็มปักแมลง ตู้อบ กล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

ตรวจเอกสารเกี่ยวกับด้วงในเผ่าCryptonychini วงศ์ย่อย Hispinae วงศ์ Chrysomelidae วิธีการรวบรวมตัวอย่างและขั้นตอนการดำเนินงาน

1.สำรวจและเก็บรวบรวม ด้วงในเผ่า Cryptonychini

วิธีการรวบรวมตัวอย่าง

- ใช้มือจับ หรือใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่ถูกทำลาย
- นำไปดองในแอลกอฮอล์ 75 % หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะหนอน แบ่งตัวอย่างนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

- การบันทึกข้อมูล บันทึกรายละเอียดของด้วง บันทึกข้อมูลสำคัญ อาทิ พืช / ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

2.เตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ โดยจัดรูปร่าง นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 - 60°C นำแมลงที่จัดรูปร่าง อบ เรียบร้อยแล้วไปตรวจวิเคราะห์ชนิด ตามหลักของอนุกรมวิธาน

3.จำแนกและวิเคราะห์ชนิดของ ด้วงในเผ่า Cryptonychini โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวิเคราะห์ชนิดของแมลงดังกล่าวของ Gressitt(1960, 1963) ประกอบกับเปรียบเทียบตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ และการตรวจวิเคราะห์ใต้กล้องจุลทรรศน์

4.จัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดของ ด้วงในเผ่า Cryptonychini และวาดภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธาน

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองเดือนตุลาคม 2547 ถึงเดือนกันยายน 2548 ณ แหล่งปลูกพืชตระกูลปาล์มจังหวัดต่างๆ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร ด้วงเผ่า(Tribe) Cryptonychini ในวงศ์ย่อย(Subfamily) Hispinae วงศ์ Chrysomelidae โดยด้วงตัวเต็มวัยในเผ่านี้ จะมีลักษณะแตกต่างจากด้วงเผ่าอื่น คือ ขอบด้านข้างของสันหลังอกปล้องแรก (pronotum) และปีกไม่มีหนาม แตกต่างจาก เผ่าอื่นๆ (ซึ่งมีหนาม) ด้วงตัวเต็มวัยในเผ่าCryptonychini จะมีรูเรียงเป็นแถวตามแนวยาวของปีกคู่แรก ส่วนหัวมีอวัยวะรูปร่างคล้ายมงกุฎ(cephalic process) และมักพบบนพืชตระกูลปาล์ม (Gressitt,1960) จากการศึกษาด้วงเผ่านี้โดยการเก็บตัวอย่างตัวเต็มวัย และหนอน จากพืชตระกูลปาล์มในภาคต่างๆของประเทศไทย นำมาจัดรูปร่างและวิเคราะห์ชนิดตามแนวทางการวิเคราะห์ชนิดของ Gressitt (1960,1963)

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงตัวเต็มวัยในเผ่า Cryptonychini พบชนิดที่มีการระบาดเป็นปัญหารุนแรงแก่มะพร้าวคือ *Brontispa longissima* Gestro ในภาคกลาง เก็บตัวอย่างได้จากมะพร้าว ที่กรุงเทพฯ นนทบุรี นครปฐม เพชรบุรี ราชบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ภาคใต้ พบ *B. longissima* ทำลายมะพร้าวที่จังหวัด สงขลา สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช กระบี่ พังงา ภูเก็ต และชุมพร ชนิดที่สองคือ *Plesispa reichei* Chapuis พบในมะพร้าวที่จังหวัดราชบุรี พังงา และเพชรบุรี

ชนิดที่สามคือ *Octodonta subparallela* Spaeth พบทำลายต้นปาล์มสิบสองปันนา ที่จังหวัดเชียงใหม่ และ ตราด นอกจากนั้นพบทำลายอินทผาลัมที่จังหวัดนครปฐม ลพบุรี อุดรธานี และชลบุรี และพบทำลายต้นจากที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี(ตารางที่1)

การวินิจฉัยชนิดด้วงที่พบดังกล่าว ทำได้โดยตรวจดูความแตกต่างของสันหลังอกปล้องแรก (pronotum) ของตัวเต็มวัย และลักษณะของอวัยวะคล้ายคีมที่ท้องปล้องสุดท้ายของหนอน ตามแนวทางการวินิจฉัยของ Gressitt(1960, 1963)

แนวทางการวินิจฉัยด้วงเผ่า Cryptonychini **วงศ์** Chrysomelidae

ตัวเต็มวัย

1. - ด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก(anterior corner of pronotum) ส่วนที่ต่อจากส่วนหัวขยายเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าไม่ลาดเอียง มุมขอบมนหรือมีรอยหยัก.....2
   - ด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก ส่วนที่ต่อจากส่วนหัวลาดเอียง มีหนามเล็กๆ ส่วนหัวมีอวัยวะคล้ายมงกุฎ(cephalic process) ในเพศผู้มียอดยาวเกือบเท่าหรือยาวกว่าความยาวหนวดปล้องแรก(scape).....*Plesispa reichei*
2. – มุมขอบด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก มน ไม่มีรอยหยัก มุมขอบด้านหลังของสันหลังอกปล้องแรก(posterior corner of pronotum) มีรอยหยักเล็กน้อย ส่วนหัวมีอวัยวะคล้ายมงกุฎ มียอดยาวเท่ากับครึ่งหรือเกินครึ่งเล็กน้อยของความยาวหนวดปล้องแรก .....*Brontispa longissima*
   - มุมขอบด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก มีฟัน 2 ซี่ มุมขอบด้านหลังของสันหลังอกปล้องแรก มีฟัน 2 ซี่ ส่วนหัวมีอวัยวะคล้ายมงกุฎ มียอดยาวเกินครึ่งหรือยาว 2 /3 ของความยาวหนวดปล้องแรก .....*Octodonta subparallela*

หนอน

1. - ด้านข้างลำตัวหนอนมีหนามไม่ยาว อวัยวะที่คล้ายคีม(caliper) ที่ส่วนปลายท้อง ไม่มีหนาม ..... *Brontispa longissima*
   - ด้านข้างลำตัวหนอนมีหนามยาว อวัยวะที่คล้ายคีมที่ส่วนปลายท้อง มีหนาม 2
2. - อวัยวะที่คล้ายคีมที่อยู่ปลายสุดของส่วนท้องของหนอน มีหนามอันใหญ่เห็นได้ชัดจำนวน 5 อัน ปลายคีมจะโค้งเข้าหาลำตัว ด้านบนเป็นรอยหยักทำให้มองคล้ายรูปหัวใจ..... *Octodonta subparallela*
   - อวัยวะที่คล้ายคีมที่อยู่ปลายสุดของส่วนท้องของหนอน มีหนามไม่มาก หนามที่เห็นชัด 1 คู่อยู่ใกล้ปลายคีม..... *Plesispa reichei*

Brontispa longissima Gestro, 1885

ชื่ออื่น *Oxycephala longissima O. longipennis Brontispa froggatti B. javana* (*B. longissima* var. *javana*) *B. selebensis* (*B. longissima* var. *selebensis*) *B. castanea B. simmondsi B. reicherti* (CAB,2003 ; Maulik 1938)

ชื่อสามัญ แมลงดำหนามมะพร้าวบ่าเหลี่ยม Coconut hispine beetle

รูปร่างลักษณะ

ไข่ รูปยาวรีสีน้ำตาล ค่อนข้างแบน ขนาดเฉลี่ย 0.8 x 1.84 มม. วางไข่ทั้งเป็นฟองเดี่ยวๆ และเป็นแถวแถวละ 2-3 ฟอง วางไข่บนใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ บริเวณขอบของไข่จะเป็นขุยสีน้ำตาลอ่อน(ภาพที่ 1 ก) ตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ประมาณ 100 ฟอง

หนอน ตัวหนอนที่ฟักจากไข่ใหม่ๆ สีขาว มีขาจริง 3 คู่ ท้องมี 8 ปล้อง ด้านข้างของลำตัวส่วนท้องทุกปล้องจะมีหนามยื่นออกมา (ภาพที่ 1 ข) ที่ปลายสุดของส่วนท้อง ปล้องที่ 8 จะมีอวัยวะคล้ายคาลิปเปอร์ 1 คู่ มีลักษณะเรียวแหลมโค้งเล็กน้อย ไม่ค่อยมีหนาม(ภาพที่ 1 ค) เมื่อใกล้ลอกคราบ ลำตัวจะมีสีเข้มขึ้นเป็นสีน้ำตาล คราบที่ลอกออกมาจะเห็นส่วนของคาลิปเปอร์ชัดเจน หนอนมี 4 วัย

ดักแด้ หนอนที่เจริญเต็มที่จะหยุดกินอาหาร และเปลี่ยนรูปร่างเป็นดักแด้ โดยเข้าดักแด้บริเวณใบที่อาศัยอยู่ (ภาพที่ 1 ง)

ตัวเต็มวัย เป็นด้วงขนาดลำตัวเฉลี่ย 1.9 x 9.01 มม. (ภาพที่ 1 จ)

ส่วนหัว

หนวดมี 11 ปล้อง ส่วนหัวสีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีส่วนอวัยวะคล้ายมงกุฎ(cephalic process) ยอดแหลมไม่มาก ความยาวของยอดแหลมจะยาวเท่ากับครึ่งหนึ่งหรือเกินครึ่งเล็กน้อยของความยาวหนวดปล้องแรก(scape)

ส่วนอก

มีสีน้ำตาลปนส้ม มุมขอบด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก(anterior corner of pronotum) มน ไม่มีรอยหยัก มุมขอบด้านหลังของสันหลังอกปล้องแรก(posterior corner of pronotum) มีรอยหยักเล็กน้อย (ภาพที่ 2 ก) ปีกคู่แรกสีดำหรือมีสีน้ำตาลปนส้ม ชนิดที่มีสีน้ำตาลอมส้ม จะพบสีของปีกทั่วไปเป็นสีน้ำตาลแก่ บริเวณโคนปีกที่ติดกับส่วนอกมีสีส้มประมาณ 1 ใน 3 ของความยาวปีก ปีกคู่แรกแข็งมีรู(puncture)เล็กๆเรียงเป็นแถวตามยาวของปีก

ตัวเต็มวัยมีอายุนานมากกว่า 3 เดือน มีความว่องไวในช่วงพลบค่ำ(nocturnal insect)

วงจรชีวิต

ระยะไข่	5 - 9 วัน
ระยะหนอน	30 - 40 วัน
ระยะดักแด้	4 - 7 วัน
ตัวเต็มวัย	มากกว่า 3 เดือน

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

มะพร้าวของเกษตรกร ในหลายพื้นที่ เช่น อำเภอทับสะแก จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ อำเภอเกาะพงัน อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี มียอดเป็นรอยแห้งตลอดทางใบ ถ้าทางใบถูกทำลายจำนวนมาก ใบก็จะไม่สามารถปรุงอาหารได้เนื่องจากขาดคลอโรฟิลล์ ย่อมมีผลกระทบต่อผลผลิตของมะพร้าว พบว่า เป็นการระบาดของด้วงชนิดหนึ่ง มีชื่อสามัญว่า แมลงดำหนามมะพร้าวบ่าเหลี่ยม (coconut hispine beetle) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brontispa longissima* Gestro

แมลงชนิดนี้เป็นแมลงพื้นเมืองของอินโดนีเซีย ปาปัวนิวกินี รวมทั้ง บิสมาร์ค อาร์คิปิลาโก นอกจากนั้นยังพบที่ โซโลมอน วานอตู นิวกินี นิวเฮบริดจ์ นิวคาเลโดเนีย ตาฮิติ เวสเทิร์น ซามัว ออสเตรเลียตอนเหนือ และไต้หวัน ที่ฮ่องกงมีการปลูกปาล์มประดับกันมากโดยนำพันธุ์เข้ามาจากมณฑลกวางตุ้ง สาธารณรัฐประชาชนจีน ปี พ.ศ. 2531 พบแมลงดำหนามมะพร้าวทำลายเปตติโคตปาล์มในเรือนเพาะชำในฮ่องกง และปี พ.ศ. 2534 พบทำลายมะพร้าวต้นสูง(อายุมากกว่า 30 ปี) แสดงว่าแมลงชนิดนี้แพร่กระจายมาจากปาล์มประดับของจีน (CABI, 2003)ตัวเต็มวัยและ หนอนอาศัยกินอยู่ในใบย่อยของยอดมะพร้าวที่ยังไม่คลี่ โดยแทะผิวใบทั้งด้านหน้าและหลัง ทำให้พื้นที่สังเคราะห์แสงน้อยลง ใบไหม้แห้ง เคยพบทำลายมะพร้าวต้นสูงในเขตจังหวัดนราธิวาสเมื่อปี พ.ศ. 2543

พืชอาศัย

นอกจากทำความเสียหายรุนแรงต่อมะพร้าวแล้ว ในประเทศไทยยังพบทำลายบนพืชอื่น ได้แก่ปาล์มเยอรมัน ,หมากเหลือง(golden cane palm,*Dypsis lutescens*)ที่จังหวัดนครปฐม, ปาล์มน้ำมัน (Oil palm,*Elaeis guineensis*)ที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ,ปาล์มพัด(Fiji fan palm, *Pritchardia pacifica*) ที่กรุงเทพฯ (ตารางที่ 1)

ในปาปัวนิวกินี พบทำลายมะพร้าว(coconut ;*Cocos nucifera*), หมากสง (areca ; *Areca catechu*),สาคู (sago palm ; *Metroxylon sagu*) ,ปาล์มขวด (royal palm ;*Roystonia regia*)ปาล์มน้ำมัน และปาล์มประดับ ที่ฮ่องกง พบทำลาย Ivory nut palm, Phytelephas,ปาล์ม

เปตติโคต (petticoat palm ; *Washingtonia robusta*), คิงส์ปาล์ม(King palm ; *Archontophoenix alexandrae*), ปาล์มสิบสองปันนา(dwarf date palm ; *Phoenix roebelenii*)

ที่ออสเตรเลียตอนเหนือ พบทำลายหมากสง ,ปาล์มนิโคบา(nicoba palm ; *Bentinckia nicobarica*), ปาล์มน้ำพุ(carpentaria ; *Carpentaria acuminata*),เต่าร้าง(fish tail ; *Caryota mitis*) (CAB,2003)

แมลงชนิดนี้ทำลายพืชตระกูลปาล์มหลายชนิดเช่นปาล์มในสกุล *Areca , Elaeis , Caryota , Latania , Metroxylon , Phoenix , Ptychosperma , Roystonea* และ *Washingtonia* (Lever ,1969)

เขตการแพร่กระจาย

พบที่จังหวัดในเขตภาคกลาง ภาคใต้ ภาคตะวันออก(ตารางที่ 1) ยังไม่พบในเขตจังหวัดภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

เป็นแมลงพื้นเมืองของอินโดนีเซีย, ไอเรียน , จาวา , ปาปัวนิวกินี, บิสมาร์ค อาร์คิปิลาโก ซึ่งไม่เคยก่อปัญหารุนแรง ครั้งแรกสุดพบในปี 1929 ที่ โซโลมอน ไอส์แลนด์(CAB,2003)

ศัตรูธรรมชาติ

ตัวห้ำได้แก่ แมลงหางหนีบ (Earwig ; *Chelisoches morio*)พบในประเทศ Vanuata Risbec ปี1933

ตัวเบียนได้แก่ Chrysonotomyia larvae พบในปาปัวนิวกินี *Hispidophila brontispae* และ *Ooencyrtus pindarus* พบทำลายไข่ในอินโดนีเซีย พบ *Tetrastichus brontispae* ทำลายหนอนและดักแด้ในจาวา อินโดนีเซีย พบ*Trichogramma nana* ทำลายไข่ในปาปัวนิวกินี (CAB,2003)

ที่หมู่เกาะ Celebes มีการใช้แตนเบียนอีกชนิดหนึ่งคือ *Tetrastichus brontispae* (Ferriere) (Hymenoptera: Eulophidae) ซึ่งนำเข้ามาจาก Java ประเทศอินโดนีเซีย ช่วยในการควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าวได้สำเร็จ วงจรชีวิตของ *T. brontispae* 16 - 23 วัน(Lever, 1969)

สำหรับประเทศไทย ได้พบแตนเบียน *T. brontispae* ทำลายหนอนของแมลงดำหนามมะพร้าวที่จังหวัดสงขลา(พรรณเพ็ญ และศิริณี ,2548 ;จรัสศรี,2548)

Plesispa reichei **Chapuis,1875**

ชื่ออื่น *Oxycephala papuana* Gestro,1875a :450(NE NG;Budapest) (Gresitt,1963) *Brontispa sumatrana* Weise(CAB,2003)

ชื่อสามัญ แมลงดำหนามมะพร้าวบ่าลาด Coconut hispine beetle

รูปร่างลักษณะ

ไข่ รูปยาวรีสีน้ำตาล ค่อนข้างแบน ขนาด 0.8 x 1.7 มม. วางไข่ทั้งเป็นฟองเดี่ยวๆ และเป็นแถวแถวละ 2-3 ฟอง วางไข่บนใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ บริเวณขอบของไข่จะเป็นขุยสีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 2 ก) ตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว วางไข่ได้ประมาณ 33 - 96 ฟอง

หนอน ตัวหนอนที่ฟักจากไข่ใหม่ๆ สีขาว มีขาจริง 3 คู่ มีท้อง 8 ปล้อง ด้านข้างของลำตัวส่วนท้องทุกปล้องจะมีหนามยื่นออกมา(ภาพที่ 2 ข)ที่ปลายสุดของส่วนท้องจะมีอวัยวะคล้ายคาลิปเปอร์ 1 คู่มีลักษณะปลายโค้งและมีหนาม (ภาพที่ 2 ค)เมื่อใกล้ลอกคราบ ลำตัวจะมีสีเข้มขึ้นเป็นสีน้ำตาล คราบที่ลอกออกมาจะเห็นส่วนของคาลิปเปอร์ชัดเจน หนอนมี 3 ระยะ หนอนระยะที่ 1 , 2 และ3 คือ 3-9 ,3-6 และ 8 – 18 วันตามลำดับ หนอนโตเต็มที่มีขนาด 2.5 x 9 มม.

ดักแด้ หนอนที่เจริญเต็มที่จะหยุดกินอาหาร และเปลี่ยนรูปร่างเป็นดักแด้ โดยเข้าดักแด้บริเวณใบที่อาศัยอยู่ ส่วนปลายของดักแด้จะมีคราบเก่าสีน้ำตาลเข้มเกือบดำของหนอนติดอยู่เหนือส่วนอวัยวะคล้ายคีม ระยะดักแด้ 5 - 8 วัน (ภาพที่ 2 ง)

ตัวเต็มวัย เป็นด้วงขนาดลำตัว 2.5 x 5 มม. (ภาพที่ 2 จ)

ส่วนหัว

หนวดมี 11 ปล้อง ส่วนหัวสีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีส่วนอวัยวะคล้ายมงกุฎ(cephalic process) ยอดจะกลมมน ไม่แหลมมาก ความยาวของยอดจะยาวเกินครึ่งของความยาวหนวดปล้องแรก หรือเกือบเท่ากับ ความยาวหนวดปล้องแรก (ภาพที่ 2)

ส่วนอก

ด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก(anterior corner of pronotum) ส่วนที่ต่อจากส่วนหัวลาดเอียง มีหนามเล็กๆ ส่วนหัวมีอวัยวะคล้ายมงกุฎ(cephalic process) ในเพศผู้มี ยอดยาวเกือบเท่าหรือยาวกว่าความยาวหนวดปล้องแรก(scape) (ภาพที่ 2 ข) ปีกคู่แรกแข็งมีรู(puncture)เล็กๆเรียงเป็นแถวตามยาวของปีก ตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 102 วัน เพศผู้ 68 วัน

วงจรชีวิต

ระยะไข่		6	- 8	วัน
ระยะหนอน				
	ระยะที่ 1	3	- 9	วัน
	ระยะที่ 2	3	- 6	วัน
	ระยะที่ 3	8	- 18	วัน
ระยะดักแด้		5	- 8	วัน
ตัวเต็มวัย	เพศผู้	68		วัน
	เพศเมีย	102		วัน

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

แมลงดำหนามบ่าลาดชนิดนี้ พบเป็นศัตรูมะพร้าวในประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ. 2520 มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Plesispa reichei* Chapuis หนอนและตัวเต็มวัยเป็นอันตรายกับต้นกล้ามะพร้าว จะแทะผิวใบมะพร้าวที่ยังไม่คลี่ คล้ายกับ *Brontispa* มักมีปัญหากับมะพร้าวต้นเล็กมากกว่าต้นใหญ่ เมื่อใบมะพร้าวเจริญเป็นใบแก่พบรอยไหม้เป็นทาง เข้าทำลายมะพร้าวในระยะกล้า และมะพร้าวต้นเล็ก เมื่อมีการระบาดมากทำให้หน่อมะพร้าวในแปลงเพาะ หรือต้นกล้ามะพร้าวที่เพิ่งลงปลูกใหม่จนถึงอายุ 2-3 ปี ชะงักการเจริญเติบโตและตายได้

เขตการแพร่กระจาย

ในประเทศไทยพบทำลายมะพร้าวที่จังหวัดพังงา สุราษฎร์ธานี เพชรบุรี ราชบุรี ตราด จันทบุรี และชลบุรี (ตารางที่ 1)

ต่างประเทศพบที่มาเลเซีย อินโดนีเซีย (Lever, 1969) มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ นิวกินี นิวบริเทน เคปยอร์คเพนนินซูลา (Gressitt,1960)

พืชอาศัย

มะพร้าว(ตารางที่ 1) ,หมากสง,สาคู (Sago palm; *Metroxylon* sp.), หวาย(rattan palm; *Calamus* sp.), Korthalsia , คิงส์ปาล์ม(king palm ; *Archontophoenix* sp.), Flagellaria (Gressitt,1960) และสามารถเจริญในพืช จำพวกจาก(*Nypa*) และ ปาล์มขวด (*Roystonea*) ด้วย (Lever, 1969)

Octodonta subparallela Spaeth,1936

ชื่ออื่น -

ชื่อสามัญ ด้วงสิบสองปันนา ด้วงอินทผาลัม

รูปร่างลักษณะ

ไข่ รูปร่างยาวรีสีน้ำตาลอ่อน ขนาด 0.7 x 1.58 มม. วางไข่บนใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ บริเวณรอบไข่จะมีขุยสีน้ำตาลอ่อนล้อมเป็นวง(ภาพที่ 4 ก)

หนอน ตัวหนอนที่ฟักจากไข่ใหม่ๆ สีขาว มีขาจริง 3 คู่ ด้านข้างของลำตัวส่วนท้องทุกปล้องจะมีหนามยื่นออกมา มีความยาวกว่าหนามของ หนอน 2 ชนิดแรก(*Brontispa* และ *Plesispa*) ที่ปลายสุดของส่วนท้องจะมีอวัยวะคล้ายคาลิปเปอร์ 1 คู่ ลักษณะง่ามส่วนปลายท้อง มีหนามเห็นได้ชัดเจนกว่าหนอน 2 ชนิดแรก (ภาพที่ 4 ข)

เมื่อใกล้ลอกคราบ ลำตัวจะมีสีเข้มขึ้นเป็นสีน้ำตาล คราบที่ลอกออกมาจะเห็นส่วนของคาลิปเปอร์ชัดเจนหนอนวัยสุดท้ายขนาด 1.82 x 6.29 มม.

ดักแด้ หนอนที่เจริญเต็มที่จะหยุดกินอาหาร และเปลี่ยนรูปร่างเป็นดักแด้ โดยเข้าดักแด้บริเวณใบที่อาศัยอยู่ ขนาด 1.92 x 7.05 มม. (ภาพที่ 4 ง)

ตัวเต็มวัย เป็นด้วงขนาดลำตัว 1.7 x 6.02 มม. (ภาพที่ 4 จ)

ส่วนหัว

หนวดมี 11 ปล้อง ส่วนหัวสีน้ำตาล มีส่วนอวัยวะคล้ายมงกุฎ(cephalic process)มียอดเรียวแหลมกว่า ด้วง 2 ชนิดแรก (ภาพที่ 2 ค) ความยาวของยอดแหลมจะยาวเกินครึ่งของความยาวหนวดปล้องแรก

ส่วนอก

มีสีน้ำตาล ขอบด้านหน้าและด้านหลังของสันหลังอกปล้องแรก(pronotum) เป็นรอยหยักสองรอยตรงมุม(ภาพที่2 ค)ปีกคู่แรกสีน้ำตาลมีร่องเรียงเป็นแถวตามยาวของปีกภายในร่องมีรูเล็กๆ

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

พบหนอนและตัวเต็มวัยกัดแทะผิวใบอ่อนที่ยังไม่คลี่ ทำให้ใบเป็นรอยแห้ง เมื่อเจริญมาเป็นใบที่คลี่แล้วจะมีลักษณะของใบแห้ง ยอดแห้ง

เขตการแพร่กระจาย

ในประเทศไทยพบทำลายต้นจากที่จังหวัด สุราษฎร์ธานี ทำลายต้นปาล์มสิบสองปันนาที่เชียงใหม่ และตราด ทำลายอินทผาลัมที่จังหวัดอุดรธานี ลพบุรี นครปฐม กรุงเทพฯ และชลบุรี และพบทำลายควีนส์ปาล์มที่กรุงเทพฯ (ตารางที่ 1)

ต่างประเทศพบ *O. subparallela* ที่ นิวกินี นิวบริเทน นิวไอร์แลนด์ ทำลายหวาย (rattan ;*Calamus* sp.)(Howard *et al*.,2001)

พืชอาศัย

พบทำลาย อินทผาลัม(date palm; *Phoenix dactylifera*) ต้นจาก(Nypa palm ; *Nypa fruticans*) สิบสองปันนา (dwarf date palm ; *Phoenix roebelenii*) และควีนส์ปาล์ม(Queen Palm ; *Syagrus romanzoffiana*)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ด้วงในเผ่า (Tribe) Crytonychini จัดอยู่ในวงศ์ย่อย (Subfamily) Hispinae ของวงศ์ (Family) Chrysomelidae ลักษณะที่แสดงความแตกต่างจากด้วงเผ่าอื่น คือ ด้านข้าง ส่วนอก และส่วนท้อง ไม่มีหนาม ปีกคู่แรกมีรูเล็กๆ เรียงเป็นแถวตามแนวยาวของลำตัว จากการเก็บรวบรวมตัวอย่าง ชนิดที่พบในประเทศไทย ทำลายพืชตระกูลปาล์มนำมาจำแนกชนิด พบว่ามี 3 สกุล 3 ชนิด คือ *Brontispa longissima* Gestro , *Octodonta subparallela* Spaeth และ *Plesispa reichei* Chapuis ซึ่งพบในพืชสกุลปาล์ม จังหวัดต่างๆ *B. longissima* พบสร้างปัญหาการระบาดรุนแรงแก่มะพร้าวในจังหวัดต่างๆ ของภาคใต้ และภาคกลาง ยังไม่พบเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ นอกจากนั้นเข้าทำลายบนพืชตระกูลปาล์มอื่นๆ ได้แก่ ปาล์มเยอรมัน หมากเหลือง และปาล์มพัด(ปาล์มมงกุฎ) พบ*P. reichei* บนมะพร้าวที่จังหวัด

พังงา สุราษฎร์ธานี เพชรบุรี ราชบุรี ตราด จันทบุรี ชลบุรี ส่วน *O. subparallela* พบที่จังหวัดเชียงใหม่ อุดรธานี นครปฐม ตราด สุราษฎร์ธานี และกรุงเทพมหานคร ในพืชปาล์มสิบสองปันนา อินทผาลัม และต้นจาก ลักษณะที่ใช้ในการจำแนกชนิดด้วงทั้ง 3 สกุล ในตัวเต็มวัย ได้แก่ ขนาดลำตัว ลักษณะของสันหลังอกปล้องแรก (pronotum) ที่มีมุมมีรอยหยัก และลักษณะที่ลาดเอียง (*P. reichei*) ลักษณะที่ไม่ลาดเอียงและเป็นสี่เหลี่ยม ชนิดที่เป็นสี่เหลี่ยมมีรอยหยัก (*O. subparallela*) และไม่มีรอยหยัก (*B. longissima*) ลักษณะที่ใช้ในการจำแนกหนอนวัยสุดท้ายของด้วงทั้ง 3 ชนิด เช่น ลักษณะของส่วนท้องปล้องสุดท้าย ที่มีลักษณะเป็นอวัยวะคล้ายคีม (caliper) บางชนิดมีหนามน้อย และลักษณะของหนามที่ต่างกันเป็นต้น *B. longissima* จะมี caliper ที่เรียวไม่มีหนาม หนามด้านข้างลำตัวส่วนท้องไม่ยาว ส่วน *P. reichei* จะมีหนามที่caliper ไม่มาก มีหนามไม่แหลมคม ต่อจากหนามคู่ปลายสุด ต่างจาก *O. subparallela* ซึ่งจะมีหนามมาก แหลมคม ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณประภาพร ฉันทานุมัติ คุณยุพิน กสินเกษมพงษ์ (ศูนย์วิจัยพืชสวนชุมพร กรมวิชาการเกษตร) ที่ช่วยเก็บตัวอย่างแมลงดำหนามจากจังหวัดต่างๆทางภาคใต้ คุณทวีศักดิ์ ชโยภาส ที่ช่วยเก็บตัวอย่างแมลงจากจังหวัดทางภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่งมาให้ตรวจวิเคราะห์ชนิด

เอกสารอ้างอิง

จรัสศรี วงศ์กำแหง.2548. ปล่อยแตนเบียน(มิตรแท้ของชาวสวนมะพร้าวภาคใต้ตอนล่าง)ทำลายแมลงดำหนาม. กสิกร ปีที่ 78(6):94-101

พรรณเพ็ญ ชโยภาส และ ศิริณี พูนไชยศรี .2548 . แมลงดำหนามมะพร้าว ภัยเงียบที่กำลังคืบคลาน .จดหมายข่าวสมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย สมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย หน้า 3-5

CAB ,2003. Crop Protection Compendium 2003. CAB International,Wallingford,UK.

Gressitt,J.L. 1960. Papuan-West Polynesian Hispine Beetles(Chrysomelidae).Pacific Insects. V.2(1):25

Gressitt,J.L. 1963. Hispine Beetles from new Guinea. Pacific Insects. V.5(3):618

Howard,F.W. , D. Moore , R.M. Giblin-Davis and R.G. Abad. Defoliators of Palms. In Insects on Palms. P. 87. CABI Publishing.400 pp.

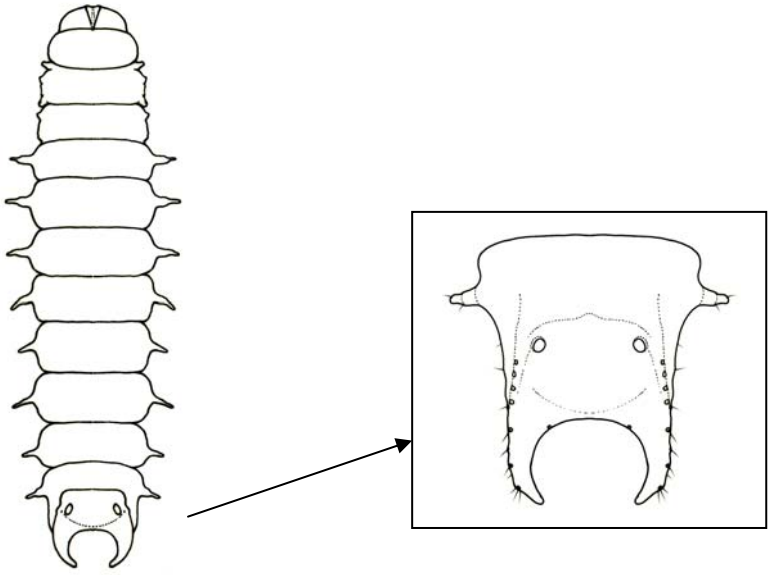
Lever ,R.J.AW. 1969. Pests of Coconut Palm .Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.190 pp.

ภาพที่ 1 ภาพวาดลายเส้น ระยะต่างๆของ *Brontispa longissima*

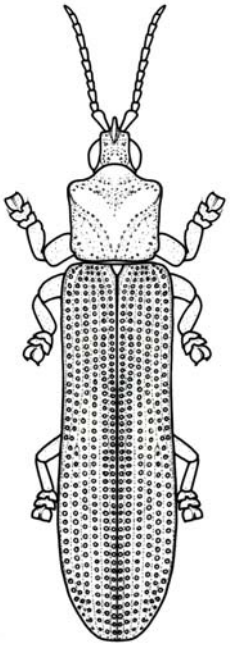
ก. ไข่ ข. หนอนวัยสุดท้าย ค. ปล้องสุดท้ายของหนอน

ง. ดักแด้ จ. ตัวเต็มวัย

ก

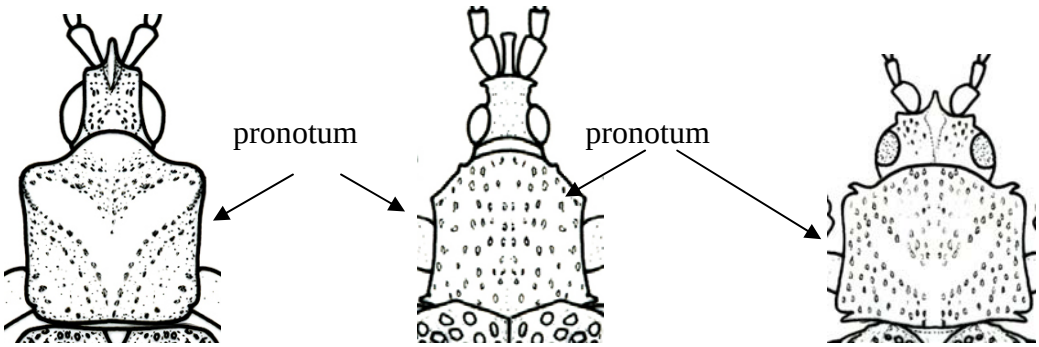


ข ค



ง จ

ภาพที่ 2 สันหลังอกปล้องแรก (pronotum) แสดงความแตกต่างระหว่างชนิด



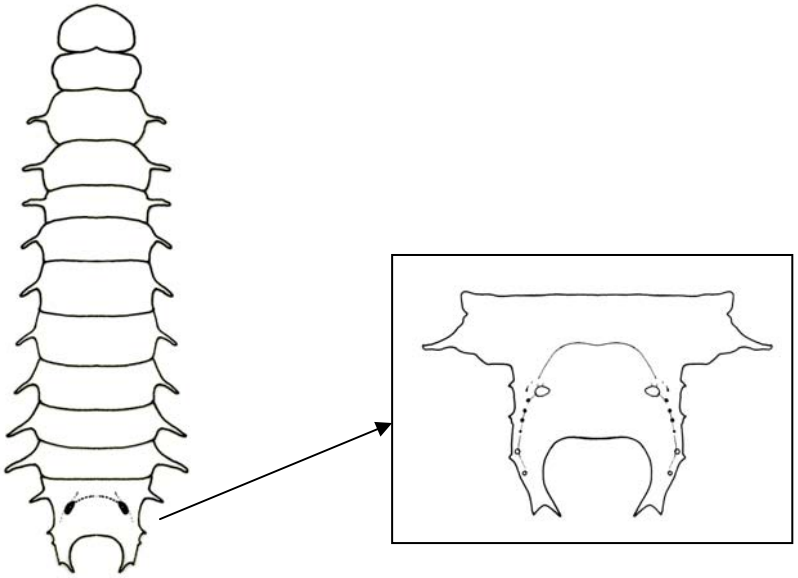
ก. *B. longissima* ข. *Plesispa reichei* ค. *Octodonta* sp.

ภาพที่ 3 ภาพวาดลายเส้น ระยะต่างๆของ *Plesispa reichei*

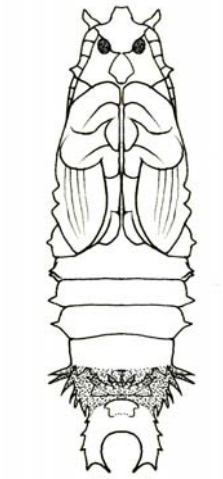
ก. ไข่ ข. หนอนวัยสุดท้าย ค. ปล้องสุดท้ายของหนอน

ง. ดักแด้ จ. ตัวเต็มวัย

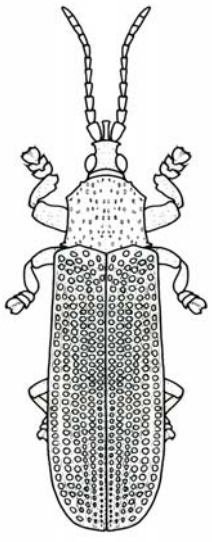
ก



ข ค



ง



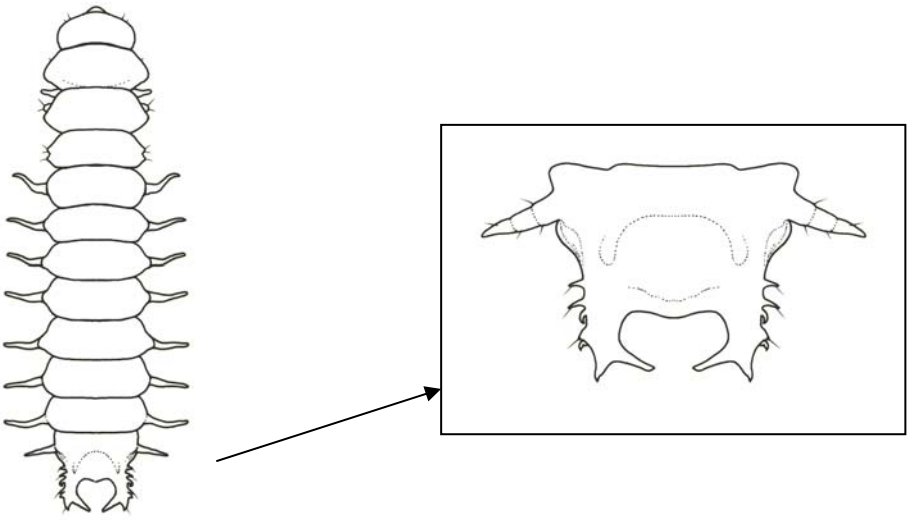
จ

ภาพที่ 4 ภาพวาดลายเส้น ระยะต่างๆของ *Octodonta subparallela*

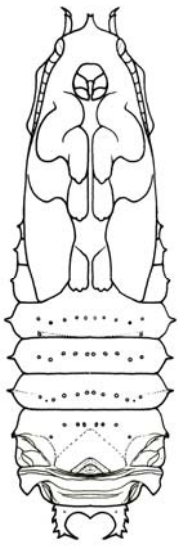
ก.ไข่ ข. หนอนวัยสุดท้าย ค. ปล้องสุดท้ายของหนอน

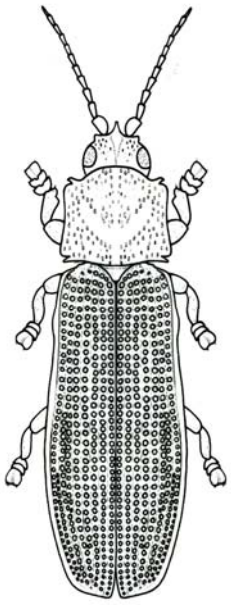
ง. ดักแด้ จ. ตัวเต็มวัย

ก



ข ค





ง จ

ตารางที่ 1 ชนิดของด้วงเผ่า Cryptonychini ที่พบทำลายพืชในแหล่งปลูกต่างๆ

พืช	สถานที่เก็บ	ระยะที่พบ	ชื่อวิทยาศาสตร์
อินทผาลัม	เลคแลนด์ บางละมุง ชลบุรี	ตัวเต็มวัย	*Octodonta subparallela*
ปาล์มเยอรมัน	พุทธมณฑล5 นครปฐม	หนอน ,ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
อินทผาลัม	พุทธมณฑล5 นครปฐม	หนอน ,ตัวเต็มวัย	*Octodonta subparallela*
มะพร้าว	นครชัยศรี นครปฐม	หนอน ,ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
หมากเหลือง	พุทธมณฑล5 นครปฐม	หนอน ,ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
มะพร้าว	บางบัวทอง นนทบุรี	หนอน ,ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
จาก	ต.บางโพธิ อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	ตัวเต็มวัย	*Octodonta subparallela*
มะพร้าว	จ.พังงา	ตัวเต็มวัย	1. *Brontispa longissima* 2.*Plesispa reichei*
มะพร้าว	จ.กระบี่		*Brontispa longissima*
มะพร้าว	จ.กระบี่		*Brontispa longissima*
มะพร้าว	อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช		*Brontispa longissima*
มะพร้าว	อ.ขนอม จ.นครศรีธรรมราช		1.*Brontispa longissima* 2. แมลงหางหนีบ 1 ตัว
มะพร้าว	อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช		1.*Brontispa longissima* 2. แมลงหางหนีบ 1 ตัว
มะพร้าว	อ.ละแม จ.ชุมพร		1.*Brontispa longissima* 2. แมลงหางหนีบ 2 ตัว
มะพร้าว	จ.ภูเก็ต		*Brontispa longissima*
มะพร้าว	อ.ถลาง จ.ภูเก็ต		*Brontispa longissima*
มะพร้าว	อ.ดอนสัก จ.สุราษฎร์ธานี		*Brontispa longissima*
มะพร้าว	อ.กาญจนดิษฐ์ จ.สุราษฎร์ธานี		1.*Brontispa longissima* 2. แมลงหางหนีบ 1 ตัว
มะพร้าว	จ.สุราษฎร์ธานี		1. *Brontispa longissima* 2.*Plesispa reichei*

ตารางที่ 1 (ต่อ) ชนิดของด้วงเผ่า Cryptonychini ที่พบทำลายพืชในแหล่งปลูกต่างๆ

พืช	สถานที่เก็บ	ระยะที่พบ	ชื่อวิทยาศาสตร์
มะพร้าว	จ.สุราษฎร์ธานี	ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
มะพร้าว	บ้านทุ่งประดู่ อ.ทับสะแก จ.ประจวบคีรีขันธ์	ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
มะพร้าว	กม.357 อ.ทับสะแก จ.ประจวบคีรีขันธ์	ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
มะพร้าว	อ.กุยบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์	ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
มะพร้าว	ต.แม่น้ำ อ.เกาะสมุย จ.สุราษฎร์ธานี	ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
มะพร้าว	ต.อ่างทอง อ.เกาะสมุย จ.สุราษฎร์ธานี	ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
มะพร้าว 5 ม.	อ.จตุจักร(สวนรถไฟ) กทม.	ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
ปาล์มสิบสองปันนา	อ.เกาะช้าง จ.ตราด	ตัวเต็มวัย	*Octodonta subparallela*
มะพร้าว	จ.ตราด	ตัวเต็มวัย	*Plesispa reichei*
มะพร้าว	อ.เกาะช้าง จ.ตราด	ตัวเต็มวัย	*Plesispa reichei*
มะพร้าว	อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี	ตัวเต็มวัย	*Plesispa reichei*
มะพร้าว	อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี	ตัวเต็มวัย	*Plesispa reichei*
มะพร้าว	จ.ชลบุรี	ตัวเต็มวัย	*Plesispa reichei*
มะพร้าว	จ.ฉะเชิงเทรา	ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
มะพร้าว	จ.ราชบุรี	ไข่ หนอน ดักแด้ ตัวเต็มวัย	*Plesispa reichei*
ปาล์มพัดหรือปาล์มมงกุฎ	กทม.(ตึกจักรทอง จตุจักร)	ไข่ หนอน ดักแด้ ตัวเต็มวัย	*Brontispa longissima*
อินทผาลัม	อุดรธานี	หนอน ตัวเต็มวัย	*Octodonta subparallela*
อินทผาลัม	จ.ลพบุรี	ตัวเต็มวัย	*Octodonta subparallela*

Brontispa longissima - แมลงดำหนามบ่าเหลี่ยม, *Plesispa reichei* - แมลงดำหนามบ่าลาด *Octodonta subparallela* - ด้วงอินทผาลัม หรือ ด้วงสิบสองปันนา

ภาคผนวก

รายชื่อพืชตระกูลปาล์มและชื่อวิทยาศาสตร์

คิงส์ปาล์ม(King palm ; *Archontophoenix alexandrae*)

ควีนส์ปาล์ม (Queen Palm ; *Syagrus romanzoffiana*)

จาก(Nypa palm ; *Nypa fruticans*)

เต่าร้าง(fish tail ; *Caryota mitis*)

ปาล์มขวด (royal palm ;*Roystonia regia*)

ปาล์มนิโคบา(nicoba palm ; *Bentinckia nicobarica*)

ปาล์มน้ำพุ(carpentaria ; *Carpentaria acuminata*)

ปาล์มน้ำมัน (African Oil palm ; *Elaeis guineensis*)

ปาล์มเปตติโคต (petticoat palm ; *Washingtonia robusta*)

ปาล์มพัด(ปาล์มมงกฎ)(Fiji fan palm ; *Pritchardia pacifica*)

ปาล์มสิบสองปันนา(dwarf date palm ; *Phoenix roebelenii*)

หมากเหลือง(golden cane palm ; *Dypsis lutescens*)

หมากสง (areca ; *Areca catechu*)

หวาย(rattan palm ; *Calamus* sp.)

สาคู (sago palm ; *Metroxylon sagu*)

อินทผาลัม(date palm ; *Phoenix dactylifera*),

เอกสารอ้างอิง(ภาคผนวก)

ปิยะ เฉลิมกลิ่น พัชรินทร์ เก่งกาจ และอนันต์ พิริยะภัทรกิจ. 2548. ปาล์มต่างประเทศในเมืองไทย. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) บริษัทเซเว่นพริ้นติ้งกรุ๊ปจำกัด. 131 หน้า

พูนศักดิ์ วัชรากร .2548. ปาล์มและปรงในป่าไทย. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. 272 หน้า

สุปราณี วนิชชานนท์.2544. ปาล์มประดับ. สำนักพิมพ์เพื่อนเกษตร.127 หน้า

Howard,F.W. , D. Moore , R.M. Giblin-Davis and R.G. Abad. Defoliators of Palms. In Insects on Palms. P. 87. CABI Publishing.400 pp.

แนวทางการป้องกันกำจัด

มะพร้าวเป็นพืชที่มีลำต้นสูงเป็นการยากในการจัดการป้องกันกำจัดด้วงชนิดนี้ การแก้ปัญหาในระยะยาวมีโอกาสเป็นไปได้ในการนำแตนเบียน *Asecodes hispinarum* ชนิดเดียวกันกับที่เวียดนามเคยใช้ในการป้องกันกำจัดสำเร็จมาใช้ ซึ่งขณะนี้ กรมวิชาการเกษตรกำลังดำเนินการจัดทำโครงการเพื่อศึกษาเกี่ยวกับเรื่องการนำแตนเบียนชนิดนี้เข้ามาขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมาก และนำไปปลดปล่อย เพื่อลดการระบาดของแมลงดำหนามมะพร้าว อีกแนวทางหนึ่งคือการจำกัดการเคลื่อนย้ายต้นกล้ามะพร้าวและพืชตระกูลปาล์มจากพื้นที่ที่มีการระบาด ไปยังพื้นที่อื่นๆโดยการพ่นสารฆ่าแมลงก่อน สารฆ่าแมลงที่แนะนำให้ใช้ในการพ่นต้นกล้าดังกล่าวก่อนเคลื่อนย้ายได้แก่ carbaryl (Sevin 85 % WP) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หรือ imidacoprid (Admire 5 % EC) อัตรา 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร

การศึกษาอนุกรมวิธานไรแมงมุมในสกุล *Tetranychus*

Taxonomic Study on Spider mite in Genera *Tetranychus*

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน
เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ วัฒนา จารณศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจตัวอย่างไรตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2548 จนถึง เดือนกันยายน 2549 บนพื้นที่ 6 จังหวัด พบไรรวมทั้งสิ้น 15 ชนิด 3 วงศ์ เป็นไรศัตรูพืช 9 ชนิด ทั้งหมดอยู่ใน Family Tetranychidae และเป็นไรศัตรูธรรมชาติ 6 ชนิด 2 วงศ์ ดังนี้คือ

1. *Tetranychus gloveri* Banks เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจพบจากเขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ บนพืชผักโขม และแตงไทย ส่วนไรศัตรูธรรมชาติที่พบได้แก่ *Amblyseius longispinosus* (Evans) และ *Amblyseius nicholsi* Ehara and Lee

2. *Tetranychus kanzawai* Kishida เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจจากเขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ อ.หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี อ. ฝาง จ. เชียงใหม่ และ อ. เวียงปาเป้า จ. เชียงราย บนพืชปลูก แอปเปิ้ล เชอรี่ กุหลาบ แตงโม ต้อยติ่ง และตำแยแมว สำหรับไรศัตรูธรรมชาติที่พบได้แก่ *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando

3. *Tetranychus macfarlanei* Baker and Prichard เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจพบจาก อ. ไทรโยค จ. กาญจนบุรีและ อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมาพบพืช 3 ชนิดได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว โสน เขียวขี้กา สำหรับไรศัตรูพืชที่พบได้แก่ *A. longispinosus, A. nicholsi, Amblyseius californicus* McGregor และ Family Stigmaeidae (*A. californicus* เป็นไรศัตรูธรรมชาติที่ไม่เคยพบในประเทศไทย จากการตรวจสอบ แปลงกุหลาบที่พบไรชนิดนี้ ได้เคยทดลองปล่อยไร *A. californicus* ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาก่อน เมื่อทำการสำรวจอีกครั้งหลังจากผ่านไปเป็นเวลานานยังสำรวจพบไรชนิดนี้อีก แสดงให้เห็นว่าไรตัวห้ำ *A. californicus* สามารถอยู่รอดได้ในสภาพธรรมชาติ)

รหัสโครงการ 09-02-49-01

4. *Tetranychus neocaledonicus* André เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจพบจากต้นกระดุมเลื้อย (Black eyed susan) ที่ อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่

5. *Tetranychus piercei* McGregor เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจพบจากพืชอัญชัน และตำแยแมว ที่ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

6. *Tetranychus taiwanicus* Ehara เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจพบจาก อ.นครชัยศรี จ. นครปฐม บนพืช ปลูกคือ ส้มโอ และพบไรศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิดได้แก่ *A. cinctus* และ *Phytoseius hongkongensis* Swirski and Shechter

7. *Tetranychus truncatus* Ehara สำรวจพบจากเขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ บนพืช มะรุม

8. *Tetranychus urticae* Koch เป็นไรศัตรูที่พบจากเขตมีนบุรี กรุงเทพฯ และ อ.ฝาง อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่ บนพืชปลูกคือสตรอเบอรี่ และ แตงกวายุโรป

9. *Tetranychus* sp. สำรวจพบที่ อ. บ้านหมี่ จ. ลพบุรี จากต้นจิก เนื่องจากตัวอย่างพืชที่สำรวจพบไรมีจำนวนน้อยและไม่พบไรตัวผู้ ซึ่งจำเป็นต้องใช้ไรตัวผู้ในการจำแนกชนิด จึงไม่สามารถจำแนกไรชนิดนี้ได้ ถึงระดับ species

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ซึ่งปัจจุบันได้ประสบปัญหากับศัตรูพืชหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นโรค แมลง และไร ไรจัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งและเนื่องจากมีขนาดเล็ก ยากแก่การมองเห็นด้วยตาเปล่า อาการที่เข้าทำลายในระยะแรกมักสังเกตได้ยาก เมื่อพบการระบาดรุนแรงจะทำให้ยากแก่การกำจัด โดยเฉพาะไรในวงศ์ Tetranychidae ซึ่งจัดเป็นกลุ่มไรที่มีความสำคัญระบาดทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดยไรจะเข้าทำลายพืชด้วยการดูดกินน้ำเลี้ยง จากใบ ลำต้น ผล และดอก ไรจะอยู่เป็นกลุ่ม และสร้างเส้นใยขึ้นคลุมไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย บริเวณที่ถูกไรดูดกินจะมีลักษณะเป็นจุดปะ ขาวซีด และแผ่ขยายเป็นปื้นเหลือง หรือสีขาว เมื่อระบาดรุนแรงจะทำให้ใบร่วง พืชหยุดชะงักการเจริญเติบโต และมีผลกระทบต่อผลผลิต ไรที่พบในประเทศไทยมีอยู่หลายสกุลเช่น *Eutetranychus Eotetranychus Schizotetranychus Tetranychus* และ *Oligonychus* โดยเฉพาะไรในสกุล *Tetranychus* ซึ่งจัดเป็นกลุ่มไรที่มีความสำคัญ เข้าทำลายพืชปลูกได้กว้างหลากหลายชนิด เช่น ไรในสกุล *Tetranychus* เป็นศัตรูที่สำคัญ มีรายงานการเข้าทำลายพืชปลูกหลายชนิดเช่น ในปี 1986 Raros รายงานพบไรแมงมุมฟิจิในสกุล *Tetranychus* ครั้งแรกบนมะพร้าวในประเทศฟิจิ เป็นศัตรูที่สำคัญของเสาวรส พืชตระกูลปาล์ม และยังพบในพืชตระกูลส้มและสาลี่ ที่ Hawaii ประเทศไอแลนด์ พบไร *Tetranychus*

cinnabarinus เข้าทำลายพืชปลูก และวัชพืชกว่า 100 ชนิด เป็นศัตรูที่สำคัญของถั่ว พริกไทย มะเขือเทศ ผัก มะละกอ เสาวรส และผลไม้อื่น ๆ อีกมากมายนอก จากนี้ยังเข้าทำลายไม้ดอกและไม้ประดับเช่นคาร์เนชั่น ดาวเรือง กุหลาบ แกดิโอลัส (Mau and Martin Kessing,1992)

Cranshaw and Sclar (2004) พบไรสองจุด twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch)เข้าทำลายพืชปลูกได้จำนวนมากประกอบด้วยพืชตระกูลผักแช่น ถั่ว มะเขือม่วง ในไม้ผลเช่น เรสเบอรี่ ลูกเกต ลูกสาลี่ และในไม้ดอก

สำหรับในประเทศไทยพบมีการระบาดของไรในสกุล *Tetranychus* ดังนี้

กองกีฏและสัตววิทยา (2544) ได้รายงานว่าไรหลายชนิดดูดทำลายส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ลำต้น ผล และราก ไรทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใต้ใบอ่อน ทำให้ใบเป็นจุดเล็ก ๆ สีขาวและขยายจนใบเป็นสีเหลือง ทั้งใบและร่วงในที่สุด ถ้าทำลายรุนแรงจะทำให้กุหลาบทิ้งใบ และแห้งตาย เช่นไรแมงมุมคันซาวา *Tetranychus kanzawai* เป็นศัตรูที่สำคัญทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น ฝ้าย มะละกอ สตรอเบอรี่ ฯ

วัฒนาและคณะ (2544) ได้รายงานพบไรในสกุล *Tetranychus* อีกหลากหลายชนิดเช่นไรสองจุด ไรแดงกระเจี๊ยบ ไรแดงหม่อน ฯ

เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีใครได้รวบรวมชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของไรใน 2 สกุลนี้อย่างแท้จริง ดังนั้นในการศึกษาอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Tetranychus* จึงนับว่าเป็นประโยชน์ในการทราบถึงพืชอาศัยได้กว้างขึ้น และเป็นความรู้พื้นฐานในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่มีอยู่แล้ว

1.1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างไร : ได้แก่ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กล่องพลาสติก พู่กันเบอร์ 0, ขวดดองตัวอย่างไร ขนาด 1 แดรม บรรจุแอลกอฮอล์ 70% พู่กัน กล่องพลาสติกรักษาความเย็นขนาด 68 ควอทซ์ แว่นขยาย (กำลังขยาย 20x) และกรวยแยกไร (Berlese Tullgren funnel)

1.2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน : ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope) , ตะเกียงแอลกอฮอล์ โคมไฟ พู่กันเบอร์ 0 เข็มเขี่ย ปลายแหลม และปลายงอ สำลี ตู้อบ/เครื่องอุ่นสไลด์ ตั้งอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส แป้นหมุนสำหรับผนึกขอบสไลด์ น้ำยาผนึกขอบสไลด์

1.3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร : ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ติดอุปกรณ์วาดภาพ (camera lucida) key สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรศัตรูในโรงเก็บ และไรตัวห้ำในวงศ์ต่าง ๆ

1.4. อุปกรณ์วาดภาพ : ได้แก่ กระดาษ ดินสอ ยางลบ ปากกา Rotring หมึกดำ กระดาษลอกลาย กระดาษเขียนแบบ

2 อุปกรณ์การวิจัยที่ต้องการเพิ่มเติม

2.1. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไร ได้แก่ ถุงกระดาษ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ แอลกอฮอล์ 95% และสารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง

2.2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน ได้แก่ แผ่นslide, coverglass, กล่องใส่สไลด์, สารเคมี สำหรับใช้เตรียมน้ำยาเมาท์สไลด์ สำลี น้ำยาสำหรับผนึกขอบสไลด์

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างไรแมงมุม

1.1. โดยเก็บใบ กิ่ง ผล หรือส่วนต่าง ๆ ของพืช ที่แสดงอาการผิดปกติ ลงในกล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษพับปากถุง บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างไร เช่น ชื่อพืช ผู้เก็บ สถานที่ที่เก็บตัวอย่างไร จากนั้นนำตัวอย่างแช่ลงในกระติกน้ำแข็งก่อนนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

1.2. โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างไรออกจากส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แสดงอาการ ผิดปกติ ลงในขวดดองที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70% (ควรเติม glycerine ลงไปในขวดดอง 2-3 หยด เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างแข็ง) ซึ่งไรในสกุล *Tetranychus* จะใช้ไรทั้งตัวผู้และ ตัวเมียในการจำแนก บันทึกข้อมูลชื่อผู้เก็บ สถานที่เก็บ และวันที่ที่เก็บตัวอย่างไร วิธีนี้เหมาะสำหรับการเก็บตัวอย่างไร ในท้องที่ที่ห่างไกล

1.3. การทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Steriomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วน ต่าง ๆ ได้ชัดเจน ส่วนไรตัวผู้ให้จัดท่าทางในลักษณะตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ จากนั้นปิดสไลด์ด้วย coverglass นำสไลด์ขึ้นอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อน เพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ยืดออก และเพื่อไล่ฟองอากาศ นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ coverglass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

2. การศึกษาอนุกรมวิธาน

นำตัวอย่างไรที่ทำสไลด์ถาวรแล้วมาศึกษาลักษณทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง compound microscope จำแนก ชนิด จากตำราต่าง ๆ ทีเกี่ยวข้อง วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่

ใช้ในการจำแนกชนิดพร้อมทั้งทำ key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรแมงมุมในสกุล *Tetranychus* บนพืชต่าง ๆ ในประเทศไทยปิดป้ายบันทึกผลการจำแนกไว้ด้านซ้ายมือของแผ่นสไลด์ก่อนที่จะนำเข้าเก็บในพิพิธภัณฑ์ต่อไป

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจตัวอย่างไรตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2548 จนถึง เดือนกันยายน 2549 บนพื้นที่ 6 จังหวัด พบไรรวมทั้งสิ้น 15 ชนิด 3 วงศ์ เป็นไรศัตรูพืช 9 ชนิด ทั้งหมดอยู่ใน Family Tetranychidae และเป็นไรศัตรูธรรมชาติ 6 ชนิด 2 วงศ์ ดังนี้คือ

1. *Tetranychus gloveri* Banks เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจพบจากเขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ บนพืชผักโขม และแตงไทย ส่วนไรศัตรูธรรมชาติที่พบได้แก่ *Amblyseius longispinosus* (Evans) และ *Amblyseius nicholsi* Ehara and Lee

2. *Tetranychus kanzawai* Kishida เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจจากเขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ อ.หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี อ. ฝาง จ. เชียงใหม่ และ อ. เวียงปาเป้า จ. เชียงราย บนพืชปลูก แอปเปิ้ล เชอรี่ กุหลาบ แตงโม ต้อยติ่ง และตำแยแมว สำหรับไรศัตรูธรรมชาติที่พบได้แก่ *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando

3. *Tetranychus macfarlanei* Baker and Prichard เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจพบจาก อ. ไทรโยค จ. กาญจนบุรีและ อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมาพบพืช 3 ชนิดได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว โสน เขียวขี้กา สำหรับไรศัตรูพืชที่พบได้แก่ *A. longispinosus, A. nicholsi, Amblyseius californicus* McGregor และ Family Stigmaeidae (*A. californicus* เป็นไรศัตรูธรรมชาติที่ไม่เคยพบในประเทศไทย จากการตรวจสอบ แปลงกุหลาบที่พบไรชนิดนี้ ได้เคยทดลองปล่อยไร *A. californicus* ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาก่อน เมื่อทำการสำรวจอีกครั้งหลังจากผ่านไปเป็นเวลานานยังสำรวจพบไรชนิดนี้อีก แสดงให้เห็นว่าไรตัวห้ำ *A. californicus* สามารถอยู่รอดได้ในสภาพธรรมชาติ)

4. *Tetranychus neocaledonicus* André เป็นไรศัตรูพืชที่สำรวจพบจากต้นกระดุมเลื้อย (Black eyed susan) ที่ อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานไรแมงมุมในสกุล *Tetranychus* ยังไม่สิ้นสุดการทดลอง จึงยังไม่สามารถสรุปผลการทดลองได้

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2545. คู่มือตรวจแมลง ไรและสัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจ. กองกีฏและสัตววิทยา, กรม วิชาการ เกษตร, เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ. 275 น.

วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2544. ไรศัตรูพืช และการป้องกันกำจัด. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ. 192 น.

Cranshaw, W.S. and D.S. Sclar (2004). Spider mite. Available: http://www.ext.colostate.edu/pubs/insect/05507.html[2004,Nov30]

Mau, R. F.L. and J.L. Martin Kessing (1992). *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Available: http://www. extento.hawaii. edu/kbase/crop/Type/t_cinnab.htm [2004,Nov12]

Raros, L.C. 1986. Philippine mites. Guide to Philippine Flora and Fauna. Vol. III : 51-204

ชีววิทยาหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude)

Biological Studies of Terrestrial Snail *Ovachlamys fulgens* (Gude)

ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ ปิยาณี หนูกาฬ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการสำรวจและค้นหาแหล่งที่มีหอยเลขหนึ่งในเขตจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี พบว่ามีการระบาดของหอยทากศัตรูพืชตามสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร 4 ชนิด ได้แก่ หอยซัคซิเนีย หอยเจดีย์เล็ก หอยเจดีย์ใหญ่ และหอยเลขหนึ่ง ได้เก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่งจากสวนกล้วยไม้เกษตรกร อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี จำนวน 2 สวน โดยนำหอยเลขหนึ่งที่ได้มาเพาะเลี้ยงในตู้กระจกใสขนาด 25x40x26 เซนติเมตร รองตู้กระจกด้วยกาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และดิน เพื่อปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการมีชีวิตและสามารถผสมพันธุ์ได้ ให้อาหารและใช้สเปรย์ฉีดพ่นน้ำเพื่อให้ความชื้นทุกวัน สามารถเพาะขยายพันธุ์หอยเลขหนึ่งได้สำเร็จ 1 รุ่น (%อยู่รอดไม่น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์) จากนั้นคัดหอยเลขหนึ่งที่แข็งแรง มาปรับสภาพในที่อยู่ใหม่ ซึ่งเป็นกล่องพลาสติกขนาด 15.5x22 ซ.ม.เป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ โดยแยกหอยเลขหนึ่ง 10 ตัว/กล่อง จำนวน 3 กล่อง เพื่อศึกษาชีววิทยา การผสมพันธุ์ พฤติกรรมการวางไข่ การฟักออกจากไข่ สังเกต บันทึกผลการทดลอง และถ่ายภาพ และใช้ descriptive statistics ในการวิเคราะห์ผล จากการสังเกตเบื้องต้น พบว่าหอยเลขหนึ่งมีพฤติกรรมไม่ชอบแสง มักหลบซ่อนใต้เม็ดดินและเศษใบไม้ วางไข่เป็นกลุ่มฝังในรอยแตกของขุยมะพร้าว หรือรอยแยกระหว่างเม็ดดิน โดยเฉลี่ยกลุ่มละ 3-4 ฟอง ไม่มีวุ้นใสปกคลุมกลุ่มไข่ ซึ่งลักษณะดังกล่าวแตกต่างจากหอยซัคซิเนีย (*Succinea* spp.) จึงได้แยกกลุ่มไข่หอยมาเลี้ยงใน petri-dish เพื่อศึกษาและบันทึกระยะเวลาการฟักออกจากไข่ (eclosion time) ขนาดของไข่ (egg diameter) ขนาดของกลุ่มไข่ (clutch size) ลักษณะและขนาดของลูกหอยรวมถึงพฤติกรรมการกินของลูกหอย (juvenile feeding behavior) ขณะอยู่ระหว่างการทดลองในปี 2550

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ประเทศไทยจัดได้ว่าเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง เนื่องจากมีลักษณะทางภูมิประเทศ และภูมิอากาศที่หลากหลาย อุดมสมบูรณ์ แต่การศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในประเทศไทยนั้นมีน้อยมาก มีการศึกษาเพียงบางกลุ่มเท่านั้น ซึ่งส่วนใหญ่มีการศึกษาอยู่ในวงแคบๆ และมักศึกษาในกลุ่มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและทางการแพทย์เท่านั้น ในขณะที่ข้อมูลเกี่ยวกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะหอยทากบก (land snail) ทั้งที่สัตว์กลุ่มนี้เป็นที่รู้จักกันแพร่หลาย สามารถพบเห็นได้ทั่วไป ทั้งตามแหล่งเกษตรกรรม สถานที่ท่องเที่ยวตามธรรมชาติ ป่าไม้ หรือแม้กระทั่งตามบ้านเรือน กลับพบว่าข้อมูลทั้งด้านชนิด ชีววิทยา อนุกรมวิธาน และนิเวศวิทยาของหอยทากในประเทศไทยยังมีความคลุมเครือ เนื่องจากยังไม่มีผู้สนใจศึกษาอย่างจริงจัง ทำให้ไม่ทราบถึงความหลากชนิด ข้อมูลทางชีววิทยา ขอบเขตการแพร่กระจาย รวมถึงข้อมูลที่บ่งบอกลักษณะการเป็นศัตรูพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในปัจจุบัน หอยทาก จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญอันดับต้นๆ ที่พบในสวนไม้ผลและสวนกล้วยไม้ ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย

จากการศึกษาของ Panha (1996) พบว่าประเทศไทยมีหอยทากบก มากถึง 15 ครอบครัว (family) 50 สกุล (genus) และมีจำนวนมากกว่า 136 ชนิด (species) มีทั้งชนิดที่อยู่ตามพื้นและชนิดที่อยู่บนต้นไม้ ชมพูนุท และคณะ (2542) พบว่าหอยทาก ชนิดที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย มีอยู่ 6 ชนิด ซึ่งมีหลายชนิดที่พบเป็นศัตรูกล้วยไม้ ได้แก่หอยทากยักษ์อาฟริกา (Giant African Snail) หอยดักดาน *(Cryptozona simensis)* หอยทากสาริกา (*Sarika* sp.) นอกจากนั้นยังมีหอยทากขนาดเล็ก ได้แก่หอยเจดีย์ *(Lamellaxis gracilis* (hutton) หอยอำพัน, Amber snail (*Succinea* sp.) และหอยเลขหนึ่ง *(Ovachlamys fulgens*)

ดังนั้นจึงมีความจำเป็น ที่จะต้องเร่งทำการศึกษาข้อมูลพื้นฐานของหอยเลขหนึ่ง *O. fulgens* (Gude) ซึ่งเป็นศัตรูสำคัญชนิดหนึ่งในสวนกล้วยไม้ เพื่อทราบวงจรชีวิต ตลอดจนชีววิทยาและนิเวศวิทยา สำหรับเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาและคิดค้นหาเทคโนโลยีการควบคุม และป้องกันกำจัดหอยเลขหนึ่ง ให้ได้ผลสัมฤทธิ์ยิ่งขึ้น และสามารถจัดทำคู่มือ เพื่อการถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ได้ให้แก่ภาคเอกชนและเกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่ง *O. fulgens* (Gude) ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์ฉีดน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย+ ถ่านไฟฉาย กระดาษทิชชู อเนกประสงค์
- อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงหอย ได้แก่ ตู้กระจกขนาดความกว้างxยาวxสูง เท่ากับ 25x40x26 เซนติเมตร และวัสดุสำหรับรองตู้กระจก เช่น กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และดิน
- อุปกรณ์สำหรับแยกหอยเพื่อศึกษาชีววิทยา ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 ซ.ม. และขนาด 6.5x9.5x2 ซ.ม. พร้อมสเปรย์ฉีดน้ำ
- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลาชนิดเม็ด ผักสดชนิดต่างๆ เป็นต้น
- สารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง ไว้ศึกษาอวัยวะภายใน ได้แก่ ethyl alcohol 95% และ formaldehyde 40% เป็นต้น
- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น forcep , beaker , vial, Petri-dish etc.
- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ ฟิล์มสี และกระดาษเช็ดเลนส์กล้องจุลทรรศน์
- อุปกรณ์สำหรับวัดขนาด ได้แก่ เวอร์เนียร์
- เอกสารประกอบการศึกษาชีววิทยาหอยทาก

วิธีการ

1. การเตรียมสถานที่สำหรับเพาะเลี้ยงหอยเลขหนึ่ง

โดยใช้ตู้กระจก ขนาดกว้าง x ยาวxสูง เท่ากับ 25x40x26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจกด้วยดินผสมขุยมะพร้าวให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร และวางกาบมะพร้าวไว้ในตู้กระจกสำหรับให้หอยเลขหนึ่งวางไข่ ให้ความชื้นโดยใช้สเปรย์ฉีดพ่นทุกวันๆละ 1 ครั้ง ในช่วงเย็น

2. การสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่ง

สำรวจ และเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่งจากสวนกล้วยไม้ ในเขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม ราชบุรีและกาญจนบุรี นำมาเลี้ยงเพื่อให้หอยเลขหนึ่งปรับสภาพ ในตู้กระจกของห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

3. การศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ และการวางไข่ของหอยเลขหนึ่ง

3.1 สุ่มเลือกหอยเลขหนึ่งตัวเต็มวัย มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5x9.5x2 ซ.ม. จำนวน 1 ตัว/ กล่อง และเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 ซ.ม. จำนวน 10 ตัว/ กล่อง โดยให้อาหารปลาชนิดเม็ดและผักสดเป็นอาหาร และใช้สเปรย์ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้นทุกวัน

3.2 สังเกตผลการทดลองทุกวัน จนได้ระยะไข่ วัดขนาดไข่ ขนาดของกลุ่มไข่ บันทึกจำนวน และสังเกตลักษณะของไข่หอย พร้อมถ่ายภาพไข่หอยภายใต้กล้อง stereo microscope

3.3 ศึกษาการฟักจากไข่ โดยแยกไข่หอยแต่ละกลุ่มมาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5x9.5x2 ซ.ม. ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าวสูง 1.5 ซ.ม. ใช้สเปรย์ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้น บันทึกระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ วัดขนาดลูกหอยทันทีและถ่ายภาพภายใต้กล้อง stereo microscope

4. การศึกษาพฤติกรรมการกินของลูกหอย (juvenile feeding behavior)

4.1 แยกลูกหอยที่เพิ่งฟักออกจากไข่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง จำนวน 10 ตัว มาวัดขนาดและเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 ซ.ม. ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าวสูง 1.5 ซ.ม. มีผักสดหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ บรรจุอยู่ และ นำลูกหอยอีก 10 ตัว มาเลี้ยงในกล่องขนาดเดียวกัน ที่เพาะเมล็ดผักไว้ 3 วัน

4.2 สังเกต และบันทึกผลการทดลอง เป็นเวลานาน 5 วัน แล้วจึงนำลูกหอยจากทั้ง 2 กล่อง มาศึกษา intestinal content ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

5. การศึกษาวงจรชีวิต (life cycle) ของหอยเลขหนึ่ง

<u>วงจรชีวิต</u> : บันทึกวันที่เริ่มต้น ที่เริ่มสังเกตเห็นระยะไข่ → เก็บกลุ่มไข่หอยรุ่น F1 มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 ซ.ม. → บันทึกวันที่ ที่ลูกหอยรุ่น F1 ฟักออกมาจากไข่ → สังเกต และวัดขนาดลูกหอย → บันทึกวันที่ ที่เริ่มเห็นกลุ่มไข่ รอบใหม่ (รุ่น F2)→ บันทึกอายุ และวัดขนาดของตัวเต็มวัย (รุ่นF1)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกขนาด อายุ และลักษณะของหอยที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
2. บันทึกลักษณะ และจำนวนของไข่หอย/กลุ่ม ขนาดของไข่ และขนาดของกลุ่มไข่
3. บันทึกระยะเวลา ตั้งแต่หอยเริ่มวางไข่จนลูกหอยฟักออกจากไข่ จำนวนและขนาดของลูกหอยที่เพิ่งฟัก และพฤติกรรมการกินของลูกหอยที่เพิ่งฟักจากไข่
4. บันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ในตู้กระจกเลี้ยงหอย เป็นช่วงๆ ตลอดการทดลอง

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2548 - กันยายน 2551 รวม 3 ปี

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

- สวนกล้วยไม้เกษตรกร จังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ.2538. หอยทากศัตรูพืช. เอกสารประกอบการบรรยาย การฝึกอบรมหลักสูตรอารักขาพืช สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 11 หน้า.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ธีรเดช เจริญรักษ์ เสริมศักดิ์ หงส์นาค และปิยาณี หนูกาฬ์.2542. ชีววิทยา การแพร่กระจายและการป้องกันกำจัดหอยทากและทากในไม้ผลส่งออก. . รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2542 . กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Panha, s. 1996. A Checklist and classification of the terrestrial pulmonate snails of Thailand. Walkerana. 8 (19) : p. 31-40.

Solem, A. 1966.Some non- marine mollusks from Thailand ,with notes on classification of the Helicarionidae. Spolia Zoologia Musei Hauniansis. 24 : 114 p.

ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่

Biological Studies of Land Snail *Prosopeas walkeri* (Benson)

ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ได้ทำการสำรวจ พบหอยเจดีย์ใหญ่กัดกินผักในแปลงของเกษตรกร ที่จังหวัดกาญจนบุรี จึงเก็บตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่ จำนวน 100 ตัว มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาชีววิทยา โดยนำหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติในกล่องพลาสติกใสที่รองด้วยขุยมะพร้าวผสมดินและรดน้ำให้ชุ่มอยู่เสมอ ให้ผักกาดหอมและอาหารปลาเป็นอาหาร พบว่าหอยสามารถปรับตัวและกินอาหารได้ดี หอยเจดีย์ใหญ่ที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการชอบหลบแสงอยู่ตามใต้เศษไม้ ใบไม้ ใบผักอาหาร และวางไข่ทีละฟองไว้ตามบริเวณที่หลบแสง การศึกษายังไม่สิ้นสุด

คำนำ

หอยเจดีย์ใหญ่*Prosopeas walkeri* (Benson) เป็นหอยทากบก(Land snail)ที่มีขนาดเล็กและเป็นศัตรูพืชซึ่งทำความเสียหายแก่เกษตรกรมากพอสมควร หอยเจดีย์ใหญ่มีลักษณะเหมือนหอยเจดีย์เล็กมากแต่ต่างกันที่ขนาด หอยเจดีย์ใหญ่พบได้ทั้งในแปลงผัก แปลงไม้ดอก สวนกล้วยไม้ และสวนผลไม้ เป็นต้น โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีความชุ่มชื้นสูงจะพบหอยเจดีย์ใหญ่กัดกินทำลายต้นพืช ทั้งลำต้น ใบ ดอก และราก อาจทำให้เกิดปัญหาตามมาหากพบหอยเจดีย์ใหญ่ติดไปกับพืชส่งออก จึงได้ศึกษาชีววิทยาของของหอยเจดีย์ใหญ่เพื่อเป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดต่อไป

รหัสโครงการ 09-02-49-01

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หอยเจดีย์ใหญ่
2. กล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงหอย
3. ขุยมะพร้าว
4. สเปรย์ฉีดน้ำ
5. แว่นขยาย
6. forcep
7. อาหารปลา ผักสด
8. วัสดุอื่นๆ เช่นกระดาษทิชชู

วิธีการ

1. สำรวจและค้นหาแหล่งที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่
2. เก็บรวบรวมหอยเจดีย์ใหญ่จากสวนกล้วยไม้และสวนผักของเกษตรกรมาศึกษาในห้องห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร
3. นำตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในบ่อพักที่เตรียมไว้
4. คัดเลือกหอยที่แข็งแรงไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกที่รองด้วยขุยมะพร้าวและรดน้ำจนชุ่ม
5. ให้อาหารปลาและผักสดเป็นอาหาร
6. สังเกต และบันทึกข้อมูล

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2553 รวม 5 ปี

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เกษตรกลาง บางเขน กรุงเทพฯ

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ. 2532. หอยเจดีย์ระบาดในแปลงผักกางมุ้ง. กสิกร 62(1). หน้า 57-60.

ชมพูนุท จรรยาเพศ , ทักษิณ อาชวาคม , ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และเกษม ทองทวี. 2537. หอยทากในประเทศไทย. การประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 9. 21-24 มิถุนายน 2537 โรงแรม แกรนด์ จอมเทียนพาเลซ จังหวัดชลบุรี. หน้า 495-522.

ชมพูนุท จรรยาเพศ , ปราสาททอง พรหมเกิด , ปิยาณี หนูกาฬ และธีรเดช เจริญรักษ์. 2542.การป้องกันกำจัดหอยทากศัตรูกล้วยไม้. รายงานผลการวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 244

สำรวจและศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่

Survey on Rat Species in Oil Palm Plantations Ecosystem

กรแก้ว เสือสะอาด พวงทอง บุญทรง
เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจชนิดหนูศัตรูปาล์มน้ำมันในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ1.5-2ปีในเขตภาคตะวันออก คือ อำเภอหนองใหญ่ จังหวัดชลบุรี อำเภอแกลง จังหวัดระยอง อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี และอำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด โดยทำการดักหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ที่ทำการสำรวจจำนวน 100 กรง บริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมัน ต้นละ 1 กรง เดือนละ1 ครั้งๆละ2 วัน ทำการตรวจกรงทุกวัน บันทึกระบบนิเวศของพื้นที่นั้น อายุปาล์มน้ำมันและจำนวนหนูที่ดักได้ หนูที่ดักได้นำมาจำแนกชนิด เพศ บันทึกรายละเอียดต่างๆ พร้อมชื่อวิทยาศาสตร์ โดยใช้ระบบการจำแนกชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในประเทศไทย อาศัยหลักการจำแนกชนิด ในหนังสือ Mammal of Thailand ของ Lekagul,B and McNeedlyปี 1997 และหนังสือ The Mammal of the Indomalayan Region ของ Corbet, G.B.and J.E. Hill ปี 1992 สต๊ัฟหนูและสัตว์ที่ดักได้และจัดเก็บเป็นตัวอย่าง พร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้นไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป ผลการสำรวจและศึกษาพบว่าในเขตตำบลหนองใหญ่ อำเภอหนองใหญ่ จังหวัดชลบุรี ดักและรวบรวมได้หนู 4 ชนิด คือ หนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูท้องขาวบ้าน และหนูจิ๊ด ในเขตตำบลหนองแตงโม อำเภอแกลง จังหวัดระยอง ดักและรวบรวมได้หนู3 ชนิด คือหนูพุกใหญ่ หนูหริ่งนาหางสั้น และหนูหริ่งนาหางยาว ในเขตตำบลหนองตาคง และตำบลทับไทร อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี ดักและรวบรวมได้หนู 4 ชนิด คือหนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูหริ่งนาหางสั้น และหนูหริ่งนาหางยาว ในเขตตำบลบ่อพลอยและตำบลช้างทูล อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด ดักและรวบรวมได้หนู4ชนิด คือหนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูท้องขาวบ้าน และหนูจิ๊ด เนื่องการสำรวจยังไม่เสร็จสมบูรณ์ได้ดำเนินการต่อเนื่องไปในปี2550

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

การทำเกษตรกรรมที่เพาะปลูกพืชเพื่อการค้าเป็นการปลูกพืชเชิงเดี่ยว ทำให้ระบบนิเวศเปลี่ยนไปเกิดการระบาดของศัตรูพืช ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจต่างๆ จากการสำรวจความเสียหายของพืชต่าง ๆในประเทศไทยระหว่าง ปี 2530-2535 พบความเสียหายจากการทำลายของหนูศัตรูปาล์มน้ำมัน 6-36 % และยังมีพืชเศรษฐกิจอีกหลายชนิดที่ถูกหนูทำลาย(กลุ่มงานสัตว-วิทยาการเกษตร,2544) เกษตรกรมักแก้ปัญหาการทำลายของศัตรูพืชเหล่านี้โดยการใช้สารเคมีป้องกันกำจัด ซึ่งมีผลกระทบต่อสภาพนิเวศการเกษตร ทำให้ศัตรูธรรมชาติตายไป สภาพสมดุลทางธรรมชาติเสียไปเมื่อเปรียบเทียบกับสภาพนิเวศธรรมชาติที่มักไม่เกิดปัญหาเหล่านี้ เนื่องจากมีความหลากหลายของสัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ จึงทำให้เกิดการระบาดของสัตว์ศัตรูพืชน้อยมาก

เกรียงศักดิ์ (2540) ศึกษาความหลากชนิด และนิเวศวิทยาของหนูในพื้นที่ริมชายฝั่งแม่น้ำโขง ทีอำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย เป็นพื้นที่ที่หนูเคยอพยพข้ามแม่น้ำโขง จากประเทศลาวในปี 2536 พบว่า มีหนู 8 ชนิด โดยพบหนูท้องขาวชุกชุมมากที่สุด เนื่องจากเป็นที่มีพืช อาหาร พืชปกคลุมดินหมุนเวียนตลอดปี และยังพบศัตรูธรรมชาติของหนู 6 ชนิด มีแมวบ้าน พังพอนธรรมดา งูสิงธรรมดา นกเค้าแมว อีเห็นข้างลาย และงูทางมะพร้าว พวงทอง และคณะ(2532)สำรวจชนิดสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในเขตภาคใต้ ตั้งแต่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ถึงสตูล พบหนู 4 ชนิด และเม่นใหญ่แผงคอยาว, เม่นหางพวง และหมูป่า เมื่อปาล์มน้ำมันอายุ 1 – 3 ปี กัดกินต้นอ่อน และโคนทางใบต้นปาล์ม เมื่อปาล์มน้ำมันอายุตั้งแต่ 4 ปี ขึ้นไป พบหนู 4 ชนิด, กระแตธรรมดา กระรอกปลายหางดำ นกเอี้ยงสาริกา นกปรอดเหลืองหัวจุก, นกปรอดหัวโขนเคราแดง นกแสกเป็นศัตรูธรรมชาติของหนูชนิดหนึ่ง ที่นับว่ามีประสิทธิภาพกำจัดหนูในพื้นที่ปลูกปาล์มในประเทศมาเลเซีย (Duckett และ Karupiah, 1989) และพบว่านกแสกสามารถกินหนูได้ 700 ตัว/ปี มีการศึกษาการเพิ่มประชากรนกแสก ในสวนปาล์มแสงสวรรค์ โดยการสร้างรังให้นกอาศัยทำให้ประชากรหนูลดลง และความเสียหายลดน้อยกว่า 5 % (ประเสริฐ และ เกรียงศักดิ์, 2546) ในการศึกษาทางด้านชีววิทยาของนกแสกพบว่านกแสกมีพฤติกรรมเลี้ยงลูกจนโต อาหารหลักเป็นสัตว์ฟันแทะถึง 76 % (โอภาส,2542 ; Lekunze และคณะ,2001) นอกจากนั้นมีการศึกษาสร้างโพรงเทียมในพื้นที่เกษตรกรรมเพื่อควบคุมหนูศัตรูพืชได้ผลดี อาหารที่นกเค้ากินเกือบทั้งหมดเป็นกลุ่มหนูถึง 99 % (Smal, 1990)

แนวทางการศึกษานี้เพื่อให้ทราบถึงความหลากหลายของสัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันที่เคยปลูกพืชชนิดต่างๆมาก่อนหรือสภาพพื้นที่ที่ไม่เคยปลูกพืชอื่นมาก่อนเลยเพื่อเป็นประโยชน์ในการหาแนวทางจัดการศัตรูพืชไม่ให้เกิดการระบาด รุนแรง ดังนั้นข้อมูลพื้นฐาน เช่น ข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธาน ชนิด จำนวน ชีววิทยา เขตการแพร่กระจายของสัตว์ศัตรูพืช ศัตรูธรรมชาติ ความเสียหายของพืชผล ระยะเวลาการระบาด ความหลากชนิดของสัตว์

เหล่านี้ในสภาพพื้นที่นั้นๆจึงมีความสำคัญ และมีความจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อประโยชน์ในการสืบค้นข้อมูล และเป็นแนวทางในการนำไปใช้วางแผนการจัดการสัตว์ศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งควรใช้ประโยชน์จากศัตรูธรรมชาติในการควบคุมการระบาดของสัตว์ศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชและเป็นการลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ดังนั้นในปี2549 ได้ทำการสำรวจและศึกษาความหลากชนิดของหนูศัตรูปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงดักหนู(Live traps) จำนวน100 กรง กรงเลี้ยงหนู
2. เหยื่อดักหนู เช่น ขี้ไต้ ข้าวโพดหวานและอาหารเลี้ยงหนู
3. สวนปาล์มน้ำมันปลูกใหม่ของเกษตรกรในเขตภาคตะวันออก เช่น จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดจันทบุรี และจังหวัดตราด
4. เครื่องชั่งน้ำหนักสนาม เชือก สำลี ลวด บอร์แร็ก เวอร์เนียร์ ไม้บรรทัด ไฟฉาย สายวัด ถุงผ้าดิบ สมุดบันทึกข้อมูล เครื่องมือผ่าตัด ขวดดองสัตว์ บิ๊กเกอร์ petridish ฟอร์เซ็บ
5. สารเคมี เช่น แอลกอฮอล์ ฟอร์มาลิน ไดเอทิลอีเทอร์ เป็นต้น
6. อุปกรณ์สำหรับสต๊ัฟสัตว์ เช่น ใบมีดผ่าตัด กรรไกรตัดกระดูก ผงบอแร็กซ์ ลวด สำลี
7. กล้องจุลทรรศน์ แว่นขยาย กล้องถ่ายรูป ฟิลม์สี และฟิลม์สไลด์
8 ตู้เก็บตัวอย่างสัตว์

วิธีการ

1.แผนการทดลอง(Experimental Design): -

2. กรรมวิธี(Treatment) -

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง (Methods or cultural Practice)

1) สำรวจ รวบรวม เก็บตัวอย่างหนูและสัตว์ศัตรูพืชในพื้นที่ปลูกปาล์มที่เลือก โดยทำการดักหนูและสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออกเช่น จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดจันทบุรี และจังหวัดตราด โดยสุ่มวางกรงดักหนู 100 กรงบริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมัน ต้นละ 1 กรง เดือนละ1 ครั้งๆละ2 วัน ทำการตรวจกรงทุกวัน บันทึกระบบนิเวศของพื้นที่นั้น อายุปาล์มน้ำมันและจำนวนหนูที่ดักได้ หนูที่ดักได้นำมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

2) ตัวอย่างหนูมีชีวิตและหนูตายดองในขวดบรรจุฟอร์มาลินหรือแอลกอฮอล์ 70% เพื่อนำมาวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์ลักษณะความแตกต่าง ตามระบบอนุกรมวิธานของในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร โดยนำมาจำแนกชนิด เพศ น้ำหนัก และรายละเอียดของสัตว์ที่ดักได้

เช่น สีขนด้านหลัง สีขนท้อง ความยาวของหัว ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวหู ความยาวตีนหลัง ลักษณะของกระโหลก ฟัน เป็นต้น

3) สต๊ัฟหนูและสัตว์ที่ดักได้ และจัดเก็บเป็นตัวอย่าง พร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้น ไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป

การบันทึกข้อมูล(Observation or Measurements)

1. บันทึกสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ทำการสำรวจ
2. บันทึกลักษณะความเสียหายของปาล์มน้ำมันที่ถูกหนูทำลายในพื้นที่ทำการสำรวจ
3. บันทึกจำนวน ชนิด เพศ น้ำหนัก ลักษณะสีขน ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวตีนหลัง ความยาวใบหู ของหนูที่ดักได้
4. บันทึกลักษณะสำคัญของตัวอย่างทีเก็บรวบรวมได้นำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ เช่น ลักษณะของกะโหลก ฟัน สีขน ความยาวอวัยวะต่างๆ สภาพนิเวศวิทยาพื้นที่ที่ดักหนูได้ เพื่อจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2553 รวม 5 ปี

สถานที่ดำเนินการ : สวนปาล์น้ำมันของเกษตรกรในเขตจังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์. 2540. ความหลากชนิดและนิเวศวิทยาของหนูในพื้นที่ป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรมริมชายฝั่งแม่น้ำโขง อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย. วิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ. 70 หน้า.

กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร. 2544. เอกสารวิชาการ : หนูและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด จตุจักร กรุงเทพฯ 10900. 136 หน้า.

ประเสริฐ อวภาค และเกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์. 2546. ประสบการณ์และแนวทางการป้องกันกำจัดหนูของเอกชน. จดหมายข่าวปาล์มน้ำมัน. 4(2) : 9-11.

พวงทอง บุญทรง พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ กรแก้ว เสือสะอาด ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ชมพูนุท จรรยาเพศ และ วิรัตน์ ธรรมบำรุง. 2532. การสำรวจชนิดสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมัน. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 126-136

โอภาส ขอบเขตต์. 2542. นกในเมืองไทย. สำนักพิมพ์สารคดี.กรุงเทพฯ.227 หน้า.

Corbet, G.B. and J.E. Hill. 1992. The mammals of the Indomalayan region : a systematic review. Oxford university press, New York.488 p.

Duckett, J. E. and S., Karuppiah. 1989. A guide to the planter in utilizing barn owls(*Tyto alba*) as a effective biological control of rats in mature oil palm plantations. Proceeding 1989 PORIM International palm oil, development conference 5 -9 September, 1989. Kuala Lumpur, Malaysia. 15 p.

Lekakul, B. and J.A. McNeedley. 1977. Mammals of Thailand. Association for the conservation of wildlife,Bangkok. Kurusapha press, Bangkok. 758 p.

Lekunze, L.M., A.U. Ezealor, T. Aken Ova. 2001. Prey groups in the pellets of the barn owls *Tyto alba* (Scopoli) in the Nigerian savanna. East Africa wildlife society. Afr. J. Ecol. 39 : 38-44.

Smal,C.M. 1990. Research on the use of barn owls *Tyto alba* for biological control of rats in oil palm plantation. Proceedings of 1989 International palm oil development conference agriculture. Palm oil research institute of Malaysia, Kuala Lumpur. 588 p.

ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช

Biodiversity of Land Snail and Slug in Biosphere Reserve Sakaerat

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด
ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ตรวจเอกสารและสืบค้นข้อมูลของแหล่งชีวมณฑลสะแกราช ที่เกี่ยวกับลักษณะภูมิประเทศ และลักษณะป่าดิบแล้ง และป่าเบญจพรรณ เพื่อนำข้อมูลมาวางแผนการสำรวจชนิดของหอยทากและทาก รวมทั้งติดต่อหาแหล่งที่จะส่งตัวอย่างไปจำแนกทั้งในและนอกประเทศ สำรวจหอยทากและทากในบริเวณป่าดิบแล้ง พบหอยทาก (snail) 9 ชนิด ได้แก่ หอยขมิ้น, *Amphidromus artricallosus* , A. *areolatus* , A. *semiesselatus* , หอยดักดาน *Cryptozona simensi* ,หอยเดื่อ *Hemiplecta distincta* , *Hemiplecta* spp. หอยหอม *Cyclophorus speciosus* , *Cyclophorus* sp. หอยเปลือกไข่ *Rhiostoma housei*

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

มวนพวก Reduviid หลายชนิดเป็นมวนตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายหนอนศัตรูพืชและเป็นพวกที่สามารถอดอาหารได้เป็นเวลานานเมื่อไม่มีเหยื่อ มวนอยู่ในอันดับ Hemiptera และมวนที่เป็นศัตรูธรรมชาติพวกแมลงห้ำ ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ Reduviidae และมวนตัวห้ำในวงศ์นี้มีอุปนิสัยขยันและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ในการทำลายแมลงศัตรูพืช (Slater and Baranowski, 1978) Mahr (1980) กล่าวว่ามวนตัวห้ำในวงศ์นี้สามารถเจริญเติบโตอยู่ได้ทั้งใน *(Succinea* spp.) หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* , *Cyclotropis bedaliensis*, *Euconulus* sp. หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gauld) ทาก *Parmarion pupilaris* และทากฟ้า *(Semperula siamensis*) และพบหอยทากที่ไม่ใช่ศัตรูพืชอีกเป็นจำนวนมาก ที่อาศัยอยู่ตามลำต้นหรือใบพืช ตามพื้นดินในสวนไม้ผลต่างๆ ดังนั้นจึงสมควรศึกษาชนิดอื่นๆในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช(biosphere reserve Sakaerat) ซึ่งเป็นแหล่งสงวนชีวมณฑลของโลกโดยได้รับการรับรองจากองค์การยูเนสโก เป็นแหล่งสงวนหนึ่งในสามแห่งในประเทศไทย ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง โดยมีชนิดพันธุ์พืชจำนวนมาก ทั้งมีป่า 2 ชนิด ได้แก่ ป่าดิบแล้ง(ต่อกับป่าเต็งรังอย่างกลมกลืน ซึ่งนับวันก็จะถูกบุกรุกทำลายกลายเป็นชุมชน ป่าลดน้อยลง พันธุ์พืชสัตว์ก็จะค่อยสูญสิ้นไป จึงสมควรสำรวจและศึกษาชนิดพันธุ์หอยทากไว้เสียก่อน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ตู้กระจก
- กล่องและถุงพลาสติกขนาดต่างๆ
- เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์
- เวอร์เนียร์ คาลิปเปอร์
- กระดาษเช็ดมือ(paper towel)
- ดินขุยมะพร้าว
- แว่นขยาย (hand lens)
- กล้องจุลทรรศน์
- กล้องถ่ายภาพ

วิธีการ

สำรวจชนิดทากและหอยทากในบริเวณป่าดิบแล้ง และป่าเต็งรัง โดยแบ่งพื้นที่แต่ละป่าแห่งละ 3 ตารางกิโลเมตร จำนวน 4 พื้นที่ ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่างหอยที่มีชีวิตเพื่อนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และศึกษาชีววิทยาบางประการ ศึกษาและจำแนกชนิด รวมทั้งเก็บตัวอย่างเปลือกหอย นำมาทำความสะอาดและจัดเก็บเป็นหมวดหมู่ในตู้เก็บตัวอย่างหอยทาก

บันทึกภาพหอยทากขณะยังมีชีวิตและเปลือกหอย บันทึกข้อมูลนิเวศวิทยาบริเวณแหล่งที่เก็บ และวันที่ ความกว้าง ยาวเปลือกหอย ลักษณะรูปร่างเปลือก ความกว้างยาวและลักษณะรูปร่าง mouth ลักษณะรูปร่าง lip ผิวของเปลือกหอย จำนวนวงเปลือก(whorl)

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2553

แหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช นครราชสีมา

ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจและศึกษาชนิดของทากและหอยทาก ในปี 2549 เก็บตัวอย่างเปลือกหอยได้ 200 ตัวอย่าง 9 ชนิด(species) ได้แก่

Subclass Pulmonata

Order Stylommatophora

Superfamily Camaenoidea

Family Camaenidae

หอยนกขมิ้น, *Amphidromus artricallosus* (Gould)

A. *areolatus* (Pfeiffer)

A. *semitesselatus* (Morelet)

Superfamily Helicarionnoidea

Family Arionphantidae

หอยดักดาน *Cryptozona simensis* (Tomlin)

หอยเดื่อ *Hemiplecta distincta* (Pfeiffer)

Hemiplecta spp.

Prosobranchia

Superfamily Cyclophoroidaea

Family Cyclophoridae

หอยหอม *Cyclophorus speciosus* (Philippi)

Cyclophorus spp.

หอยเปลือกไข่ *Rhiostoma housei* (Haines)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษายังไม่เสร็จสิ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นายทักษิณ อาชวาคม หัวหน้าสถานีสะแกราช ตำบลอุดมทรัพย์ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ที่อนุเคราะห์เจ้าหน้าที่มาช่วยนำทางในการสำรวจทุกครั้ง รวมทั้งให้ความสะดวกในด้านยานพาหนะเดินทางภายในบริเวณสถานีวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ, ทักษิณ อาชวาคม, ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และเกษม ทองทวี. 2537. หอยทากในประเทศไทย. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2537 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 9 ณ โรงแรมแกรนด์จอมเทียนพาเลซ ชลบุรี 21-24 มิถุนายน 2537. หน้า 495-522.

ชมพูนุท จรรยาเพศ . 2538 . หอยทากศัตรูพืช . เอกสารประกอบการบรรยายการฝึกอบรมหลักสูตรอารักขาพืช สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ณ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 19-29 มิถุนายน 2538. 11 หน้า

ชมพูนุท จรรยาเพศ . 2542. หอยทากศัตรูกล้วยไม้. เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จังหวัดราชบุรี. สำนักงานเกษตรจังหวัดราชบุรี, 3 มิถุนายน 2542. 5 หน้า.

Gordon , David G. 1994. Field guide to the Slugs. Western Society of Malacologists. Sasguatch Books , Seattle USA. 48 pp.

Kerney , M.P. and R.A.D. Cameron. 1987. A Field Guide to the Land Snail of Britain and North-West Europe. Collins, London. 288 pp.

Solem Alan. 1966. Some Non-Marine Mollusks from Thailand, with Notes on Classfication of the Helicarionidae. Spolia Zool. Mus. Haun., Copen.

Somsak Panha. 1996. A checklist and Classification of the Terrestrial Pulmonate Snails of Thailand. Walkerana, 1995 – 1996, 8(19) : 31 – 40 .

สำรวจและศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่

Survey on Natural Enemies of Rats in Oil Palm Plantation Ecosystem

พวงทอง บุญทรง เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์
ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 9 เดือน-2 ปีในภาคตะวันออกและภาคใต้ ในเขตตำบลหนองเสือช้าง ตำบลหนองใหญ่ อำเภอหนองใหญ่ จังหวัดชลบุรี และตำบลมาบใหญ่ อำเภอแกลง และกิ่งอำเภอนิคมพัฒนา จังหวัดระยอง พบ พังพอนธรรมดา ในเขตตำบลบางสวรรค์ อำเภอพระแสง จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตำบลไชยราช อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร พบ นกแสก พังพอนธรรมดา เป็นศัตรูธรรมชาติของหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ การศึกษายังไม่เสร็จสิ้น ต้องเก็บข้อมูลเพิ่มเติมจากแหล่งปลูกปาล์มใหม่ในภาคต่างๆของประเทศ

คำนำ

ในธรรมชาติมีสัตว์ที่กินหนูเป็นอาหารอยู่หลายชนิด สัตว์เหล่านี้เรียกว่าสัตว์ผู้ล่า จะทำหน้าที่ควบคุมประชากรหนูไม่ให้เพิ่มขึ้นมากเกินไป เมื่อจำนวนของสัตว์ผู้ล่ามีความสมดุลกับจำนวนหนูที่เป็นเหยื่อ กลไกการควบคุมกันเองตามธรรมชาติจะเกิดขึ้น ประชากรหนูศัตรูพืชจะไม่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ในระบบนิเวศของพื้นที่เกษตรกรรม กลไกการควบคุมกันเองตามธรรมชาติถูกรบกวน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพที่อยู่อาศัย การรบกวนหรือล่าโดยคน รวมทั้งการได้รับผลกระทบจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช จำนวนของสัตว์ผู้ล่าในพื้นที่เกษตรกรรมจึงเหลืออยู่น้อย ไม่เพียงพอที่จะควบคุมหนูซึ่งมีอยู่มากกว่า และเพิ่มจำนวนได้เร็ว แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีสัตว์ผู้ล่าอีกหลายชนิดที่อยากเข้ามาอยู่อาศัยในพื้นที่เกษตรกรรม และทำหน้าที่เป็นผู้คอยควบคุมหนูศัตรูพืชให้แก่เกษตรกร ถ้าหากได้รับความช่วยเหลือในด้านแหล่งอาศัย หลบภัยในที่ปลอดภัย สถานที่สร้างรังวางไข่ และเลี้ยงดูลูก รวมทั้งลดปัจจัยคุกคามที่เป็นอันตราย เช่น การล่าโดยคนและสัตว์เลี้ยง การใช้สารเคมีกำจัดหนูที่จะส่งผลกระทบไปถึงสัตว์ผู้ล่า สัตว์ผู้ล่าที่มีศักยภาพในการควบคุมประชากรหนูในพื้นที่เกษตรกรรม ได้แก่ นกแสก นกเค้าแมว เหยี่ยว นกกะปูด พังพอนชะมด อีเห็น แมวดาว แมวป่า งูสิง และงูทางมะพร้าว เป็นต้น ได้มีการศึกษาบทบาทของสัตว์ศัตรู

รหัสโครงการ 09-02-49-01

ธรรมชาติในการควบคุมประชากรหนูในเกาะฮาวายโดยใช้พังพอนธรรมดา(*Herpestes javanicus*) ซึ่งพังพอนที่นำไปปล่อยสามารถกำจัดหนูจนหมด แต่เนื่องจากพื้นที่บนเกาะมีจำกัดเมื่อหนูซึ่งเป็นอาหารในธรรมชาติหมดไป พังพอนได้เข้าไปขโมยกินไก่ของเกษตรกร ทำให้เกิดปัญหาติดตามมา Lekagul(1977)ได้กล่าวว่าหากประชากรของหนูและพังพอนอยู่ในภาวะสมดุลตามธรรมชาติแล้วจะสามารถควบคุมประชากรหนูได้ดีและเกิดประโยชน์มากกว่าโทษ ส่วนในประเทศมาเลเซียเจ้าของสวนปาล์มน้ำมันสร้างรังให้นกแสกเข้ามาอาศัย วางไข่ และเลี้ยงดูลูก เพื่อให้นกแสกช่วยกำจัดหนูศัตรูของปาล์มน้ำมัน โดยเฉพาะหนูบ้านท้องขาวที่เป็นศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งในระยะปาล์มให้ผลผลิตแล้ว นกแสก 1 ตัว สามารถกำจัดหนูได้วันละ 1-2 ตัว ถ้าเป็นช่วงที่พ่อแม่เลี้ยงลูกนกแสกจะจับหนูเพิ่มมากขึ้นอีกตามจำนวนลูกที่มันเลี้ยงอยู่ขณะนั้น (Lenton, 1980) การศึกษาในประเทศไทยสุภาพ(2525)ได้จำแนกเศษอาหารที่นกแสกสำรอกออกมาในพื้นที่จังหวัดอ่างทองพบว่าร้อยละ95.34โดยน้ำหนักของเศษอาหารเป็นชิ้นส่วนของกระดูก กะโหลก และขนหนูชนิดต่างๆ ได้แก่ หนูนาใหญ่ร้อยละ 61.90 หนูท้องขาวร้อยละ 5.05หนูหริ่งร้อยละ 4.32หนูพุกเล็กร้อยละ 4.04และอื่นๆที่จำแนกไม่ได้อีกร้อยละ19.04 กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ได้เก็บข้อมูลในลักษณะเดียวกันในท้องที่จังหวัดสิงห์บุรีพบชิ้นส่วนของกระดูก กะโหลก และขนหนูหริ่งร้อยละ33.90 หนูท้องขาวร้อยละ6.70 หนูพุกเล็กร้อยละ1.70 ที่เหลือเป็น นกและค้างคาวอีกเล็กน้อย(พวงทองและคณะ,2540) บุษบง(2543)ได้ศึกษาการกินอาหารของชะมดแผงหางปล้องในสวนยางพารา จังหวัดสุราษฎร์ธานีระหว่างปี 2541-2542จากมูลของชะมดแผงหางปล้องจำนวน 158กองพบว่าประกอบด้วย ผลไม้ร้อยละ 44.2 สัตว์มีกระดูกสันหลังร้อยละ27.2สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังร้อยละ 19.8 หญ้าร้อยละ 8.0 และ อื่นๆ ร้อยละ 0.9 โดยเฉพาะ ในส่วนที่เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมร้อยละ77.02 คือ สัตว์จำพวกหนู กระรอก และ อ้น

จุดประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อสำรวจ รวบรวมตัวอย่างสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในสภาพนิเวศปาล์มปลูกใหม่ของประเทศไทยเพื่อการศึกษาทางอนุกรมวิธานและชีววิทยาของสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในสภาพนิเวศปาล์มปลูกใหม่ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์และนำมาใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดหนูต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. กรงดักสัตว์ ตาข่ายดักนก
2. เหยื่อดักสัตว์ เช่น เนื้อปลาสด ข้าวโพดหวานฯลฯ
3. สวนปาล์มน้ำมันปลูกใหม่ของเกษตรกรในเขตภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
4. เครื่องชั่งน้ำหนักสนาม เชือก สำลี ลวด บอร์แร็ก เวอร์เนียร์ ไม้บรรทัด ไฟฉาย

สายวัด ถุงผ้าดิบ สมุดบันทึกข้อมูล เครื่องมือผ่าตัด ขวดดองสัตว์ ปีกเกอร์ petridish ฟอร์เซ็บ

5. สารเคมี เช่น alcohol , formalin , diethyl ether
6. กล้องจุลทรรศน์ แว่นขยาย กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสี และฟิล์มสไลด์
7. อุปกรณ์สำหรับสตั๊ฟสัตว์ เช่น ใบมีดผ่าตัด กรรไกรตัดกระดูก ผงบอแร็ก ลวด สำลี
8. ตู้เก็บตัวอย่างสัตว์

วิธีการ

สำรวจ รวบรวม เก็บตัวอย่างในพื้นที่ปลูกปาล์มที่เลือก โดยทำการดักสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูศัตรูปาล์มน้ำมันในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออก เช่น อำเภอเขาสมิง และอำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด และพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดหนองคาย จังหวัดอำนาจเจริญ โดยสุ่มวางกรงดักสัตว์ 100 กรงบริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมัน ต้นละ 1 กรง เดือนละ1 ครั้งๆละ3 วัน ทำการตรวจกรงทุกวัน วิธีการจับนกแสก นกเค้าโมง นกเค้ากู่ ใช้วิธีดักด้วยตาข่ายดักนก โดยดักตาข่ายขวางทิศทางการบินจากโพรง รัง หรือที่เกาะพักนอนของนกที่สำรวจพบและต้องการจับตัวมาเป็นตัวอย่างหรือนำมาเลี้ยงทดลอง จับนกที่ติดตาข่ายใส่ในถุงผ้าขนส่งกลับมายังห้องปฏิบัติการ บันทึกระบบนิเวศของพื้นที่ที่ดักสัตว์ศัตรูธรรมชาติได้ อายุปาล์มน้ำมันและจำนวนสัตว์ที่ดักได้ นำมาจำแนกชนิด เพศ น้ำหนัก และรายละเอียดของสัตว์ที่ดักได้ เพื่อนำมาวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะความแตกต่างตามระบบอนุกรมวิธานของสัตว์ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรและจัดเก็บตัวอย่างสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนู พร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้นไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกจำนวน ชนิด เพศ น้ำหนัก ลักษณะสีขน ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวตีนหลัง ความยาวใบหู ของสัตว์ที่ดักได้
2. บันทึกลักษณะความเสียหายของปาล์มน้ำมันที่ถูกหนูทำลายในพื้นที่ทำการสำรวจ
3. บันทึกสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ที่ทำการสำรวจสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนู
4. บันทึกลักษณะสำคัญของตัวอย่างที่เก็บรวบรวมมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ เช่นลักษณะกะโหลก ฟัน สีขน น้ำหนักและความยาวอวัยวะต่างๆ สภาพนิเวศวิทยาพื้นที่ที่ดักสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูได้ เพื่อจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเก็บเป็นตัวอย่างเพื่อการวิจัยต่อไปของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรและหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

เวลาและสถานที่ทดลอง

สถานที่ทดลอง

1.ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. พื้นที่สวนปาล์มน้ำมันที่ปลูกใหม่ในเขต ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก

เวลาที่ดำเนินการ ตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

ผลการทดลองและวิจารณ์

<u>รายงานความก้าวหน้า</u>

การสำรวจชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 9-24เดือนในภาคตะวันออกและภาคใต้ ในเขตตำบลหนองเสือช้าง ตำบลหนองใหญ่ อำเภอหนองใหญ่ จังหวัดชลบุรี และตำบลมาบใหญ่ อำเภอแกลง และกิ่งอำเภอนิคมพัฒนา จังหวัดระยอง พบ พังพอนธรรมดา ในเขตตำบลบางสวรรค์ อำเภอพระแสง จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตำบลไชยราช อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร พบ นกแสก พังพอนธรรมดา เป็นศัตรูธรรมชาติของหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ การศึกษายังไม่เสร็จสิ้น ต้องเก็บข้อมูลเพิ่มเติมจากแหล่งปลูกปาล์มใหม่ในภาคต่างๆของประเทศ

เอกสารอ้างอิง

บุษบง กาญจนสาขา .2543.อาหารของชะมดแผงหางปล้องในสวนยางพารา จังหวัดสุราษฎร์ธานี. วารสารสัตว์ป่าเมืองไทย. 8(1) :133-143

พวงทอง บุญทรง.เสริมศักดิ์ หงส์นาค.เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์.ปราสาททอง พรหมเกิด.และธีระเดช เจริญรักษ์ .2540.การศึกษาพื้นที่หากินของนกแสก (*Tyto alba* Scopoli) ในพื้นที่เกษตรกรรม.รายงานผลการวิจัยปี 2540 กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 237:1-2

สุภาพ นิยมแสง .2525.อุปนิสัยการกินอาหารของนกแสก (*Tyto alba* Scopoli) วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

Lenton,G.M.1980. The ecology of barn owls (*Tyto alba*) in the Malay Penninsula with reference to their use in rodent control.Ph.D.thesis,University of Malaya,Kuala Lumpur.

Lekagul, B.and J.A.McNeely. 1977.Mammals of Thailand. Ladprao Press,Bangkok.758p.

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์

Study on the Rare and Endangered Insect Species

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ รัตนา นชะพงษ์
พรรณเพ็ญ ชโยภาส ลักขณา บำรุงศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548-ตุลาคม 2549 โดยการออกสำรวจแมลงหายาก จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ ในประเทศไทย ดังนี้ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าซับลังกา จ.ลพบุรี เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าถ้ำธารลอด จ.กาญจนบุรี อุทยานแห่งชาติออบขาน จ.เชียงใหม่ อุทยานแห่งชาติเขาสก และอุทยานแห่งชาติใต้ร่มเย็น จ.สุราษฎร์ธานี สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จ.นครราชสีมา และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ เช่น เชียงใหม่ สุราษฎร์ธานี ตรัง กาญจนบุรี ร้อยเอ็ด นครราชสีมา นครศรีธรรมราช ชุมพรนั้น พบแมลงหายากจำนวน 10 ชนิด ดังนี้ ผีเสื้อในวงศ์ Papilionidae จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อหางติ่งปารีส ; *Papilio paris* และผีเสื้อหางมังกร ; *Lamproptera curius* และวงศ์ Nymphalidae ได้แก่ ผีเสื้อไกเซอร์สีน้ำเงิน ; *Penthema darlisa* มวนเขา ; *Amissus testaceus*วงศ์ Pentatomidae หิ่งห้อย 2 ชนิด ได้แก่ *Diaphanes* sp. และ *Lamprigera* sp. วงศ์ Lymphylidae หิ่งห้อยเทียม ในวงศ์ Drilidae ด้วงดินปีกแผ่น *Mormolyce phylloides* วงศ์ Carabidae แมลงทับนางพญาหัวทับทิม ; *Chrysochroa bugueti rugicollis* และแมลงทับนางพญาหัวมรกต *Chrysochroa sauhdersii* ในวงศ์ Buprestidae การศึกษายังไม่เสร็จสิ้นต้องดำเนินการต่อในปี 2550

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

แมลงเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทั้งจำนวนและชนิด จากรูปร่างที่มีความสวยงามและแปลกตาของแมลงนั้นเองทำให้เป็นที่ต้องการของนักสะสมแมลง ก็ให้เกิดการล่าและการค้าขายแมลง ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาด้านความหลากหลายทางชีวภาพตามมา เนื่องจากมีแมลงบางชนิดที่สูญพันธุ์และอีกหลายชนิดที่ใกล้จะสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย องุ่น (2540) ได้รายงานว่าในประเทศไทยมีการค้าขายแมลงกันมาก จึงควรมีการอนุรักษ์แมลงที่หายากและสวยงาม และได้ร่วมกับกรมป่าไม้กำหนดชนิดแมลงที่ต้องมีการอนุรักษ์ 13 ชนิด เป็นแมลงด้วงปีกแข็ง 4 ชนิด และผีเสื้อ 9 ชนิด เข้าไว้ใน พ.ร.บ.สงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า ปี พ.ศ.2535 เพื่อป้องกันการล่าและค้าแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ และองุ่น (2543) รายงานว่า พบแมลงอนุรักษ์ 19 ชนิด ในประเทศไทย ในจำนวนนี้มี 13 ชนิด เป็นสัตว์คุ้มครอง ซึ่งประกาศอยู่ในบัญชีท้ายกฎกระทรวงฉบับที่ 4 (2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 และประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 111 ตอนที่ 31 ก ลงวันที่ 16 พฤศจิกายน 2537 ดังนั้นการศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ รวมทั้งแหล่งที่อยู่อาศัยของแมลงหายากชนิดต่างๆ ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ให้สามารถดำรงอยู่ในธรรมชาติได้อย่างยั่งยืน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ขวดดองแมลง (Vial) กล่องรักษาความเย็น ขวดฆ่าแมลง ถุงพลาสติก กับดัก ตู้ควบคุมอุณหภูมิ สารเคมี ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70-80 % ฯลฯ

2. อุปกรณ์สำหรับจัดรูปร่างแมลง เพื่อจัดรูปร่างแมลงเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ ปากคีบ เข็มปักแมลง ขวดฆ่าแมลง ตู้อบแมลง กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope พร้อมอุปกรณ์วาดภาพ

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสี ฟิล์มสไลด์สี

4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงแมลง ได้แก่ ต้นพืชและอุปกรณ์ในการปลูกเพื่อเป็นอาหารสำหรับแมลง กล่องพลาสติก โหลพลาสติก กรง สำลี กระดาษเนื้อเยื่อ

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

7. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บ และรักษาแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ การบูร กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบใส่ตัวอย่างแมลง กล่องใส่สไลด์ถาวร

8. ตัวอย่างแมลง

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างแมลงทุกชนิดจากสภาพธรรมชาติ ซึ่งในสภาพธรรมชาติสามารถรวบรวมได้โดยวิธีการต่อไปนี้

- ใช้สวิงโฉบ (ผีเสื้อ ด้วงปีกแข็ง ฯลฯ) ใช้มือจับ (หนอนผีเสื้อ หนอนด้วง ฯลฯ) หรือใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่สัตว์เหล่านี้เข้าทำลาย

- นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ

- ตัวอย่างหนอนหรือตัวอ่อนแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโต เมื่อหนอนหรือตัวอ่อนแมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัย นำไปจัดรูปร่างและอบให้แห้ง

- นำแมลง ที่จัดรูปร่าง และอบแห้ง หรือทำสไลด์เรียบร้อยแล้วไป

2. ตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลงแต่ละชนิด

- บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และบันทึกรายละเอียดข้อมูลสำคัญของแมลงและชนิดของพืชที่พบตัวอย่าง ถ่ายภาพ แมลงที่ได้ศึกษา

3. จัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์

- นำตัวอย่างแมลง จัดใส่กล่อง เก็บเรียงใส่ในลิ้นชักและเรียงตามลำดับตัวอักษรภาษาอังกฤษ

4. การดูแลรักษาตัวอย่างแมลง

- ใส่สารป้องกันแมลง (การบูรหรือลูกเหม็น) เพื่อป้องกันแมลงขนาดเล็กที่สามารถเข้าทำลายตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ได้ทั้งในหีบไม้และในแต่ละลิ้นชักของแต่ละตู้เก็บ และเติมสารป้องกันแมลงเข้าทำลายตัวอย่างทุก 1 – 2 เดือน

- รมสารป้องกันกำจัดแมลง เช่น เมทิลโบร์ไมด์ (Methy bromide) ทุก 6 เดือน

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2549

สถานที่ จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงกันยายน 2549 โดยการออกสำรวจแมลงจากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ ในประเทศไทย ดังนี้ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าซับลังกา จ.ลพบุรี เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าถ้ำธารลอด จ.กาญจนบุรี

อุทยานแห่งชาติออบขาน จ.เชียงใหม่ อุทยานแห่งชาติเขาสก และอุทยานแห่งชาติใต้ร่มเย็น จ.สุราษฎร์ธานี สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จ.นครราชสีมา และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ เช่น เชียงใหม่ สุราษฎร์ธานี ตรัง กาญจนบุรี ร้อยเอ็ด นครราชสีมา นครศรีธรรมราช ชุมพรนั้น พบแมลงหายากจำนวน 10 ชนิด ดังนี้ ผีเสื้อในวงศ์ Papilionidae จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อหางติ่ง-ปารีส ; *Papilio paris* และผีเสื้อหางมังกร ; *Lamproptera curius* และวงศ์ Nymphalidae ได้แก่ ผีเสื้อไกเซอร์สีน้ำเงิน *Penthema darlisa* มวนเขา ; *Amissus testaceus* วงศ์ Pentatomidae หิ่งห้อย 2 ชนิด ได้แก่ *Diaphanes* sp. และ *Lamprigera* sp. วงศ์ Lymphylidae หิ่งห้อยเทียม ในวงศ์ Drilidae ด้วงดินปีกแผ่น *Mormolyce phylloides* วงศ์ Carabidae แมลงทับนางพญาหัวทับทิม ; *Chrysochroa bugueti rugicollis* และแมลงทับนางพญาหัวมรกต *Chrysochroa sauhdersii* ในวงศ์ Buprestidae

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ รวมทั้งจากแมลงป่าไม้ที่มีความอุดมสมบูรณ์ในประเทศไทยนั้นพบแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์จำนวน 10 ชนิด จากโครงการวิจัยครั้งนี้มีระยะสิ้นสุดงานวิจัยในปี 2553 แต่จากการศึกษาครั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการศึกษาเพียงแค่ 1 ปี จึงทำให้งานวิจัยยังไม่ครอบคลุม ซึ่งหากใช้เวลาในการสำรวจมากกว่านี้จะทำให้พบแหล่งที่อยู่อาศัย และพืชอาหารของแมลงหายากและสามารถนำความรู้ที่ได้มาเป็นความรู้พื้นฐานเพื่อช่วยในการอนุรักษ์รักษาแหล่งที่อยู่อาศัยรวมทั้งแหล่งอาหารของแมลงหายากเหล่านี้ให้สามารถขยายจำนวน และดำรงชีวิตอยู่ในธรรมชาติได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545 พิพิธภัณฑ์นิทรรศการแมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545 พิพิธภัณฑ์แมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2547. การเก็บตัวอย่างแมลงเพื่อการศึกษาวิจัย. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด,กรุงเทพฯ. 32 หน้า

การศึกษาเทคโนโลยีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในธนาคารเชื้อพันธุ์ (Gene bank)

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล พรพิมล อธิปัญญาคม นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด
ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ศุภชัย ลีละจีรจำเนียร

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

ตรวจสอบคุณภาพของเชื้อพันธุกรรมจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่เก็บภายใต้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและภายใต้น้ำมันทำการตรวจสอบคุณภาพทุก 3 เดือน วิธีเก็บใน glycerol 50% ที่อุณหภูมิ -20°C และ glycerol 15% ที่อุณหภูมิ -80°C ทำการตรวจคุณภาพทุก 6 เดือน จำนวนเชื้อรวม 300 ไอโซเลท พบว่าเชื้อทั้ง 300 ไอโซเลท ที่เก็บไว้ภายใต้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและภายใต้น้ำมันเป็นเวลา 12 เดือนยังคงมีชีวิตและมีคุณสมบัติต่างๆ เหมือนเดิม และเชื้อทั้ง 300 ไอโซเลท ที่เก็บใน glycerol 50% ที่อุณหภูมิ -20°C และ glycerol 15% ที่อุณหภูมิ -80°C ยังคงมีชีวิตและมีคุณสมบัติต่างๆ เหมือนเดิมเช่นกัน

การทดสอบระยะเวลาของการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* sp. รหัส REs และ KPs isolate และสกุล *Heterorhabditis* sp. รหัส REh และ PRh isolate โดยทำการเก็บในน้ำกลั่น สารโพลิเมอร์ และขี้เลื่อยอบนึ่งฆ่าเชื้อ ในสภาพอุณหภูมิห้อง (27±2°C) และนำมาตรวจนับอัตราการตายที่ระยะเวลาเก็บรักษา 4 เดือน พบว่า ไส้เดือนฝอย REs, KPs, REh และ PRh มีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 25 20 45 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ทดสอบการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* จำนวน 10 ไอโซเลท และ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* จำนวน 5 ไอโซเลท โดยเทคนิค Rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ Eric และ Box พบว่าปฏิกิริยาการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอเกิดค่อนข้างต่ำ และบางครั้งไม่พบแถบดีเอ็นเอ ทำการตรวจเอกสารเพิ่มเติมเกี่ยวกับเทคนิค Rep-PCR เตรียมบัฟเฟอร์ใหม่ เพื่อทดสอบปฏิกิริยา Rep-PCRสำหรับจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

รหัสโครงการ..09-02-49-02

คำนำ

ปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพเป็นไปอย่างรวดเร็ว ทำให้โอกาสในการค้นพบมูลค่าทางเศรษฐกิจในจุลินทรีย์มีมากขึ้น ความต้องการใช้จุลินทรีย์เพื่อการศึกษาค้นคว้าวิจัยมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น แหล่งเก็บจุลินทรีย์จึงมีบทบาทสำคัญในการทำหน้าที่รวบรวมเก็บรักษาและดูแลจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยและพัฒนาการศึกษาด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีของประเทศ การใช้ประโยชน์จากการมีแหล่งอนุรักษ์พันธุกรรมจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชและจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตร จะเป็นแหล่งสนับสนุนการศึกษาวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพ ตลอดจนแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญในการใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาวิจัยงานด้านการปรับปรุงพันธุ์ เช่น การประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคของสายพันธุ์เชื้อสาเหตุโรคพืชในประเทศไทย เป็นฐานข้อมูลในการวางแผนการควบคุมการแพร่ระบาด และการจัดการโรคที่มีประสิทธิภาพ และได้ข้อมูลสายพันธุ์เชื้อและแหล่งเชื้อที่มีความรุนแรง เพื่อการคัดพันธุ์ต้านทานโรค และมีฐานข้อมูลในการวิเคราะห์ความเสี่ยงการนำเข้าพันธุ์พืช เพื่อป้องกันเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ที่มีความรุนแรงในการเกิดโรค การศึกษาการแพร่ระบาดของโรคทำให้สามารถพยากรณ์ เตือนภัย และเฝ้าระวังการระบาดของโรคพืชได้ งานด้านการเตือนภัย และพยากรณ์การแพร่ระบาดโรคของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ปัจจุบันได้มีเทคโนโลยีสมัยใหม่เข้ามาช่วยในการศึกษามากขึ้น การนำเทคโนโลยีกำหนดพิกัดภูมิศาสตร์บนพื้นผิวโลกมาประกอบการสำรวจ สามารถทำให้ทราบจุดที่พบเชื้อจุลินทรีย์นั้นๆ ได้อย่างแม่นยำขึ้น จากข้อมูลการสำรวจรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ สามารถนำมาจัดทำแผนที่การแพร่กระจายตัวของเชื้อสาเหตุโรคพืชและการระบาดโรคได้ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตร เมื่อนำข้อมูลด้านอื่นๆ ประกอบ เช่น สภาพอุณหภูมิ ความชื้น ความสูงของพื้นที่ จะสามารถพยากรณ์ได้ว่าแหล่งใดและช่วงเวลาใดที่มีแนวโน้มจะพบเชื้อจุลินทรีย์เหล่านั้น และข้อมูลที่นำมาประกอบนั้นหากเป็นข้อมูลที่เป็นปัจจุบัน เช่น ข้อมูลทางอุตุนิยมวิทยา ยิ่งทำให้สามารถใช้ไปประกอบการวิเคราะห์เพื่อการเตือนภัยล่วงหน้าได้ อันจะลดความเสียหายได้

นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งรวบรวมข้อมูลเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ทราบชนิด แหล่งระบาด ความรุนแรง สามารถจัดทำรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) ที่สำคัญในประเทศได้ เพื่อรองรับเมื่อประเทศไทยเปิดตลาดการค้าเสรีหรือส่งพืชผลไปขายยังต่างประเทศ และสามารถวิเคราะห์ความเสี่ยงของจุลินทรีย์ศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ที่อาจติดเข้ามากับพืชผลที่นำเข้า ทำให้สามารถสร้างมาตรการนำเข้าพืชเหล่านั้นไม่ให้โรคที่ร้ายแรงระบาดเข้าสู่ประเทศไทย

ในปัจจุบันกลุ่มวิจัยโรคพืชได้มีการเก็บรวบรวมและรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชในหน่วยเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และศูนย์เก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตร เป็นจำนวนกว่า 2,500 ไอโซเลท ซึ่งเป็นแหล่งข้อมูลที่สำคัญ ที่สามารถ

ให้รายละเอียดของเชื้อสาเหตุโรคพืชและจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตรได้ โดยระบุได้ถึงชนิดและเขตการแพร่กระจายในประเทศไทย สามารถนำไปใช้ประกอบการวิเคราะห์เพื่อการพยากรณ์ เตือนภัย หาแนวทางการป้องกันกำจัดและใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ตลอดจนการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชเพื่อการส่งออก รวมทั้งเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตรให้คงความมีชีวิตและคงศักยภาพในการนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

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 และเตรียมอาหารคุณสมบัติทางชีวเคมี
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย เมล็ดพันธุ์ข้าว
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

1. ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ

ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ บันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้อง เช่น สถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่ เขตการ แพร่กระจาย พิกัดทางภูมิศาสตร์ และจัดเก็บข้อมูลอย่างเป็นระบบ พร้อมภาพประกอบ และรวบรวมและเก็บรักษาเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชใน แหล่งเก็บเชื้อพันธุ์ Culture Collection และเก็บรักษาตัวอย่างแห้งชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคในพิพิธภัณฑ์ (Plant Disease Herbarium)

2. ศึกษาวิธีการและเทคนิคการเก็บรักษาในสภาพที่มีชีวิตด้วยวิธีการต่าง ๆ

2.1 ศึกษาวิธีการและเทคนิคการเก็บรักษาให้เชื้อพันธุกรรมจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชมีชีวิตโดยที่คุณสมบัติ ต่างๆ ไม่เปลี่ยนแปลง ด้วยวิธีการต่างๆที่เหมาะสมต่อชนิดของเชื้อจุลินทรีย์นั้นๆ ตาม Dhingra and Simclair (1985) ได้แก่

วิธีการเก็บรักษาราสาเหตุโรคพืช

1.แยกสปอร์เดี่ยวของราสาเหตุโรคพืช บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 7-14 วัน

2. ทำการเก็บรักษาด้วยวิธีการต่างๆ 4 วิธี คือ

- เก็บในสภาพแห้งใน silica gel
- เก็บในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง
- เก็บในสภาพเย็นยิ่งยวด (cryopreservation)
- เก็บในสภาพแห้งสุญญากาศ (freeze-dry หรือ lyophilization)

3. ตรวจสอบความบริสุทธิ์ (purity) การมีชีวิต (viability) ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA ภายหลังการเก็บรักษาทุก 2 เดือน

การเก็บข้อมูล

1. บันทึกและถ่ายภาพลักษณะการเจริญ ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราบนอาหาร ก่อนทำการเก็บรักษา

2. บันทึกการมีชีวิต (viability)และอัตราการเจริญ ภายหลังการเก็บรักษาด้วยวิธีการต่างๆ ทุก 2 เดือน

3. บันทึกและถ่ายภาพลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 2 เดือน ภายหลัง การเก็บรักษา โดยเลี้ยงเชื้อในสภาพเดียวกันกับก่อนทำการเก็บรักษา

วิธีการเก็บรักษาแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

1.เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA, KB, NA และ TTC medium ให้ได้โคโลนีเดี่ยว อายุ 24-48 ชั่วโมง ทำการเก็บโดยวิธีการต่างๆ 4 วิธี ได้แก่

- น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำโคโลนีเดี่ยว จำนวน 1 loop แช่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่เตรียมไว้ในหลอด vial 1 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและ อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส
- ภายใต้น้ำมัน นำโคโลนีเดี่ยว เลี้ยงในอาหาร PSA เอียง ประมาณ 48 ชั่วโมง เททับด้วย paraffin oil เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องและ อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส
- เก็บโดยวิธีการเยือกแข็งโดยเติมสารป้องกันความเย็น (cryopreservation) นำโคโลนีเดี่ยว เลี้ยงในอาหารเหลว LB ประมาณ 48 ชั่วโมง นำมา 0.9 ml ลงใน หลอด vial ขนาด 1 ml เติมสารป้องกันความเย็น 0.1 ml ให้ได้ความเข้มข้น 10% เก็บไว้ที่อุณหภูมิ-80 องศาเซลเซียส
- เก็บโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็งLyophillization นำโคโลนีเดี่ยว จำนวน 1 loop ละลายใน 1% Skim milk ดูดใส่หลอดแก้ว lyophilize ใส่เข้าไปในเครื่อง Lyophillization เก็บหลอดที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส

2. ตรวจสอบความบริสุทธิ์และการมีชีวิตรวมถึงลักษณะทางพันธุกรรมที่ถูกต้องของสายพันธุ์ภายหลังการเก็บรักษา ทุก 3 –6 เดือน

การเก็บรักษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

1. การเตรียมแมลงอาศัยระยะตัวหนอน (หนอนกินรังผึ้ง : *Galleria mellonella*) ในอาหารเทียมเพื่อใช้ขยายปริมาณไส้เดือนฝอย โดยทำการเพาะเลี้ยงแมลงระยะตัวหนอนในอาหารเทียมสูตรดัดแปลง 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. นำไข่ของหนอนกิน รังผึ้งประมาณ 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 ได้หนอนวัยสุดท้ายก่อนเข้าดักแด้ (late instar larvae) น้ำหนักประมาณ 2.0-2.5 กรัม ซึ่งเป็นวัยที่ใช้ในการขยายปริมาณไส้เดือนฝอย เพื่อการจัดเก็บในแต่ละไอโซเลท

2. การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในหนอนกินรังผึ้ง โดยนำหนอนจำนวน 25 ตัว วางในจานเลี้ยงเชื้อ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม.) ที่มีกระดาษกรอง (Whatman # 2) วางไว้ ใส่ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะเข้าทำลาย (infective-stage juvenile, IJ) จำนวน 1,000 $\pm$ 100 ตัวที่อยู่ในน้ำกลั่น 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ 25$\pm$2°ซ เป็นเวลา 2 วัน นำหนอนมาล้างผ่าน alcohol 75 % และน้ำกลั่น 3 ครั้ง นำมาวางบน White trap เป็นเวลา 7 วัน ไส้เดือนฝอย IJ รุ่นใหม่ เคลื่อนที่ออกจากซากหนอน จากนั้นนำ IJ ที่ได้มาล้างด้วย hyamine 0.1 % เป็นเวลา 30 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิว ล้างน้ำกลั่น 3 ครั้ง และเก็บในขวดชนิด culture flask ขนาด 250 มล. จำนวน 50,000$\pm$5,000 ตัว ในน้ำกลั่น 25 มล. บันทึกรหัสไส้เดือนฝอยและวันที่/เดือน/ปี ที่จัดเก็บ นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25$\pm$2°ซ ไส้เดือนฝอยแต่ละรหัส ทำการถ่ายเชื้อใหม่ทุกๆ 3 เดือน กับหนอนกินรังผึ้งตามวิธีการเดิม

3. ทดสอบระยะเวลาการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยระยะ IJ ในวัสดุอุ้มความชื้นชนิดต่างๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 10 ซ้ำ ประกอบด้วยชนิดของวัสดุอุ้มความชื้น 3 ชนิด คือ โพลิเมอร์ ขี้เลื่อย และน้ำกลั่น ทำการทดสอบกับไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* sp. รหัส REs และ KPs isolate และ*สกุล* *Heterorhabditis* sp. รหัส REh และ PRh isolate

วิธีปฏิบัติการทดลอง ทำการเก็บไส้เดือนฝอยแต่ละรหัสในวัสดุต่างๆ จำนวน $5x10^6$ ตัว/ถุง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27$\pm$2°ซ ตามกรรมวิธีกำหนด จากนั้นทำการตรวจนับจำนวนและทดสอบศักยภาพในการฆ่าแมลงทดสอบ (หนอนกินรังผึ้ง) ทุกๆ 1 เดือน เป็นเวลา 4 เดือน คำนวณ

เปอร์เซ็นต์ไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตและเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงทดสอบ นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติตามแผนการทดลอง

3. จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชตามลักษณะทางพันธุกรรม

1. จำแนกเชื้อด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา เปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอนเอของเชื้อจัดกลุ่มเชื้อตามลักษณะทางพันธุกรรม โดยใช้เทคนิค Amplified Fragment Length Polymorphism (Vos et al. 1995) repetitive sequence based polymerase chain reaction (rep PCR) (Rademaker and Bruijn , 1997). และ rRNA gene restriction patterns (Berthier et al. 1993)

2. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อจุลินทรีย์โรคพืชจากพืชอาศัยชนิดเดียวกันและจากพืชอาศัยต่างชนิดกัน

3. เปรียบเทียบการจัดกลุ่มเชื้อ โดยวิเคราะห์ พืชอาศัย สถานที่เก็บเชื้อ คุณสมบัติ ทางสรีรวิทยา สัณฐานวิทยา และลักษณะทางพันธุกรรม

เวลาและสถานที่

ต.ค.48 - ก.ย.49 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลอง

การเก็บรักษาเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ทำการตรวจสอบความมีชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในศูนย์เก็บรวบรวมจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยทำการตรวจเช็คทั้ง หมด 200 ไอโซเลท นำราจากแหล่งเดิมมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ว่ามีการเจริญเติบโตหรือไม่ พบว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตดี เตรียมราสาเหตุโรคพืชจำนวน 200 สายพันธุ์ เพื่อส่งให้ศูนย์เก็บรวบรวมเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

การเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

ตรวจเช็คคุณภาพของเชื้อพันธุกรรมจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่เก็บภายใต้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและภายใต้น้ำมันทำการตรวจเช็คคุณภาพทุก 3 เดือน วิธีเก็บใน glycerol 50% ที่อุณหภูมิ -20°C และ glycerol 15% ที่อุณหภูมิ -80°C ทำการตรวจเช็คคุณภาพทุก 6 เดือน จำนวนเชื้อทั้งสิ้นที่ทำการตรวจเช็ค 100ไอโซเลท พบว่าเชื้อทั้ง 100 ไอโซเลทที่เก็บไว้ภายใต้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อและภายใต้น้ำมันเป็นเวลา 6 เดือนยังคงมีชีวิตและมีคุณสมบัติต่างๆเหมือนเดิม และเชื้อทั้ง 100 ไอโซเลทที่

เก็บใน glycerol 50% ที่อุณหภูมิ -20°C และ glycerol 15% ที่อุณหภูมิ -80°C ยังคงมีชีวิตและมีคุณสมบัติต่างๆเหมือนเดิมเช่นกัน

การเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

การทดสอบระยะเวลาของการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* sp. รหัส REs และ KPs isolate และ*สกุล Heterorhabditis* sp. รหัส REh และ PRh isolate โดยทำการเก็บในน้ำกลั่น สารโพลิเมอร์ และขี้เลื่อยอบนึ่งฆ่าเชื้อ ในสภาพอุณหภูมิห้อง (27±2°C) และนำมาตรวจนับอัตราการตายที่ระยะเวลาเก็บรักษา 4 เดือน พบว่า ไส้เดือนฝอย REs, KPs, REh และ PRh มีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 25 20 45 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การเก็บรักษาเชื้อราสนิมของพืชเศรษฐกิจ

ดำเนินการทดลองโดยวิธีการนำตัวอย่างใบกาแฟที่เป็นโรคราสนิมมาขูดสปอร์ใส่หลอดทดลองแล้วนำไปเก็บในถังเก็บเชื้อเหนือระดับไนโตรเจนเหลว หลังจาก 1 สัปดาห์ นำสปอร์ของเชื้อสนิมออกมาตรวจหาการมีชีวิต พบว่าเชื้อราไม่งอกแสดงว่าสปอร์ที่เก็บด้วยวิธีนี้ตายหมด จึงดำเนินการด้วยวิธีที่ 2 โดยเก็บเชื้อในเนื้อเยื่อของพืชอาศัย ในน้ำตาล 10% แต่ต้องทำการแช่แข็งตัวอย่างหรือลดอุณหภูมิตัวอย่างลงให้ต่ำกว่า -40 °C โดยใช้น้ำแข็งแห้งและถาดสแตนเลสที่อยู่ในกล่องเก็บความเย็น (ice box) เป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 4 ชั่วโมง ก่อนนำเก็บในถังเก็บเชื้อเหนือระดับไนโตรเจนเหลว ซึ่งยังอยู่ในขั้นตอนการจัดซื้ออุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

การจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

ทดสอบการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* จำนวน 10 ไอโซเลท และ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* จำนวน 5 ไอโซเลท โดยเทคนิค Rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ Eric และ Box พบว่าปฏิกิริยาการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอเกิดค่อนข้างต่ำ และบางครั้งไม่พบแถบดีเอ็นเอ ทำการตรวจเอกสารเพิ่มเติมเกี่ยวกับเทคนิค Rep-PCR เตรียมบัฟเฟอร์ใหม่ เพื่อทดสอบปฏิกิริยา Rep-PCRสำหรับจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอของเชื้อแบคทีเรีย วัดปริมาณ และคุณภาพของดีเอ็นเอ สกุล Xanthomonads จำนวน 3 species อย่างน้อย 50 ไอโซเลท วางแผน และจัดเตรียมการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Amplified Fragment Length Polymorphism

ในปี 2550 เป็นการดำเนินการ ทดสอบวิธีการเก็บรักษาของเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง และจัดจำแนกเชื้อตามลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคพืชต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2545. ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง Steinernema thailandense และการกำจัดศัตรูพืช. วารสารโรคพืช 16(1-2) :61-70.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2546. การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงอย่างง่าย. เอกสารประกอบการฝึกอบรม. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 20 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2547. การใช้ไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ไทยกำจัดปลวก. ใน งานประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 21-22 พ.ค. 2547, จ.เชียงใหม่.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2547. การพัฒนากระบวนการผลิตไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงอย่างง่ายเพื่อถ่ายทอดสู่เกษตรกร. ใน รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สกว. กรุงเทพฯ. 181 หน้า.

CABI/EPPO, 1998. *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. Distribution Maps of Quarantine Pests for Europe No. 282. Wallingford, UK, CAB International.

Crop Protection Compendium. 2003. Data Sheet of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. 2003 edition. Wallingford, UK, CAB International.

Hayward AC, 1972. A bacterial disease of Anthurium in Hawaii. Plant Disease Reporter, 56:904-908.

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอและความหลากหลายทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว โดยเทคนิค Rep-PCR

Genetic Variability of *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* the Causal Agent of Bacterial Blight of Anthurium Using Rep-PCR

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

Xanthomonas axonopodis pv. *dieffenbachiae* (Xad.)สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศยุโรป สามารถติดไปกับต้นพันธุ์และแพร่ระบาดทำความเสียหายกับพืชในแหล่งปลูกใหม่ๆ ปัจจุบันมีการนำเข้าต้นหน้าวัวพันธุ์ใหม่ๆ จากต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศเนเธอร์แลนด์ การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรม จะเป็นฐานข้อมูลทางพันธุกรรมของแบคทีเรียเพื่อตรวจสอบการติดเข้ามาของเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ในการทดลองนี้ได้จัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* จำนวน 49 ไอโซเลท จากแหล่งปลูกหน้าวัวทั่วประเทศ ที่เก็บรวบรวมตั้งแต่ปี 2534 ถึง 2549 โดยเทคนิค Rep-PCR ไพรเมอร์ ERIC จากส่วน enterobacteria repetitive intergenic consensus พบรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 13 รูปแบบ โดยมีความต่างของแถบดีเอ็นเอ 56 แถบ มีช่วงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 20-100 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดย NTsys 2.01 จัดแบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 5 กลุ่มย่อย ไอโซเลทของเชื้อที่แยกหน้าวัวต่างพันธุ์ แต่จากสวนเดียวกัน มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกัน แต่ไม่พบกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อที่ชัดเจน เช่นกลุ่มย่อย B ที่ความเหมือนกันของลักษณะทางพันธุกรรมมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยเชื้อ Xad. จาก 10 จังหวัด คือ กระบี่ ชุมพร นนทบุรี สมุทรสงคราม ชลบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ ภูเก็ต ตรัง และ สุราษฎร์ธานี ส่วนลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ BOX จากส่วน interspersed repetitive Box sequence มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 9 รูปแบบ โดยมีความต่างของแถบดีเอ็นเอ 31 แถบ มีช่วงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่กว้างมาก

รหัสโครงการ 09-02-49-02

คือ 5-100 เปอร์เซ็นต์ จัดแบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 6 กลุ่มย่อย พบความต่างของข้อมูลทางพันธุกรรมจากรูปแบบดีเอ็นเอโดย Rep-PCR คือ ไอโซเลท จากสวนเดียวกันในจังหวัดสมุทรสงคราม แยกออกเป็น 2 กลุ่มที่มีความแตกต่างกัน จากการรูปแบบและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม เทคนิค Rep-PCR โดยไพรเมอร์ Eric และ Box พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ค่อนข้างสูง

คำนำ

แบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* (McCulloch & Pirone 1939) Vauterin et al. 1995 (Syn. *Xanthomonas campestris* pv. *diffenbachiae*) เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว และพืชในตระกูล Araceae เช่น อะโกรนีมา คาลาเดียม ฟิโลเดนดรอน และซินโกเนียม เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* พบรายงานครั้งแรกในมลรัฐฮาวาย สหรัฐอเมริกา โดย Hayward (1972) ทำความเสียหายกับบริษัทผู้ผลิตพืชสกุลหน้าวัว (anthurium) ในปี 1989 เป็นมูลค่ากว่า 600,000 บาทต่อเฮกเตอร์ และมูลค่ารวมความเสียหายนับ 100 ล้านบาท เป็นเชื้อที่เป็นข้อจำกัดในการผลิตพืชในสกุลหน้าวัว ของอเมริกาเหนือและใต้ พบการแพร่ระบาดทำความเสียหายกับพืชในสภาพอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส เข้าทำลายพืชทางบาดแผลและช่องเปิดธรรมชาติ นอกจากการเข้าทำลายพืชบนใบแล้ว (epiphytically) ยังสามารถเจริญแฝงอยู่ในท่อลำเลียงพืชได้ (latent infection) สามารถแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วไปในพื้นที่ปลูกใหม่ โดยติดไปกับส่วนขยายพันธุ์พืช และแพร่กระจายโดยการกระเด็นติดไปกับน้ำฝนหรือน้ำในระบบการปลูกพืช ปนเปื้อนไปกับเครื่องมือเครื่องใช้ทางการเกษตร ติดไปกับดิน และไส้เดือนฝอย ในขั้นตอนการตัดแต่งกิ่งหรือการเก็บเกี่ยวผลผลิต (Nishijima and Fujiyama, 1985) จัดแบ่งกลุ่มของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ได้อย่างน้อย 3 กลุ่ม ตามการเข้าทำลายพืชอาศัย กลุ่มที่ 1 เป็นสายพันธุ์เชื้อที่เข้าทำลายพืชอย่างรุนแรงในกลุ่มหน้าวัว (anthurium) มีพืชอาศัยกว้าง กลุ่มที่ 2 เป็นสายพันธุ์ที่เข้าทำลาย syngonium และเข้าทำลายรุนแรงพืชในกลุ่มหน้าวัว และมีความสัมพันธุ์ทางเซรุ่มวิทยากับเชื้อในกลุ่มหน้าวัว มีพืชอาศัยแคบกว่ากลุ่มแรก กลุ่มที่ 3 เป็นสายพันธุ์จากพืชตระกูล Araceae อื่นๆ รวมถึงสายพันธุ์จาก syngonium อื่นๆ นอกจากกลุ่มข้างต้น (CPC, 2003)

ในประเทศไทย พบการแพร่ระบาดของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ในโรงเรือนที่มีความชื้นสูง การระบายน้ำและการถ่ายเทอากาศไม่ดี (นิยมรัฐ, 2544) การศึกษาปฏิกิริยาของหน้าวัว ต่อแบคทีเรีย *X. campestris* pv.*dieffenbachiae* พบว่าทุกพันธุ์อ่อนแอต่อการเกิดโรค และสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค คือสารประกอบคอปเปอร์ (นิยมรัฐ

และคณะ, 2536ab) การศึกษาประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ จะเป็นข้อมูลสำหรับการเลือกสายพันธุ์แบคทีเรีย เพื่อคัดพันธุ์พืชต้านทานโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เชื้อ *Xanthomonas axonopidis* pv. *dieffenbachiae* และการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

แยกตัวอย่างอาการโรค บริเวณใบ (ใบจุด หรือใบไหม้) อาการท่อลำเลียงของก้านใบ หรือลำต้นช้ำเป็นสีน้ำตาล (อาการที่แสดงออก ใบเหี่ยวเนื้อใบเป็นสีเหลืองเส้นใบเขียว) อาการที่จานรองดอก เป็นจุดช้ำ และอาการไหม้

เลือกตัดชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการ โดยตัดบริเวณที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5x 0.5 มิลลิเมตร 1-2 ชิ้น จุ่มแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบชิ้นส่วนพืชดังกล่าว วางบนหยดน้ำ 10-20 ไมโครลิตร ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 3-5 นาที แล้วใช้ลูปที่ฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำ นำมาลาก (streak) บน Nutrient glucose agar (NGA) และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) วางจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก คว่ำจานลง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) 1-2 วัน จากนั้นเลือกโคโลนีของเชื้อที่เจริญ มีลักษณะนูนเยิ้มสีเหลือง เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหารจนได้เชื้อบริสุทธิ์

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

ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ครั้งนี้ได้ทำการแยกเก็บแบคทีเรียสาเหตุโรค จากการสำรวจรวบรวมจากแปลงของเกษตรกร และรวบรวมเชื้อจาก Culture collections ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *Xanthomonas axonopidis* pv. *dieffenbachiae*

ทำการสกัดดีเอ็นเอ โดยเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรีย บนอาหาร YDC ใช้ลูปลนไฟฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยว 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) ที่

ความเร็วรอบ 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 ใส่หลอดใหม่ที่บรรจุ 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)

3. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ โดย BOX และ ERIC PCR

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 ประกอบด้วย 5x Gitschier Buffer[1] 5 ไมโครลิตร, 20 mg/ml BSA0.2 ไมโครลิตร, 100%DMSO 2.5 ไมโครลิตร, 25mM dNTP’s 1.25 ไมโครลิตร, ไพรเมอร์ BOXA1R (25pM) 1 ไมโครลิตร (*เฉพาะ ERIC-PCR ไพรเมอร์ ERIC1R และ ERIC2 ชนิดละ 1 ไมโครลิตร) Taq DNA

polymerase (5 U/ ul) 0.4 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ (50 นาโนกรัม) 0.5 ไมโครลิตร และ น้ำ 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	30 รอบ
3.เริ่มต้นจับคู่ไพเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing)	53	1	
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 และตรวจสอบแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ 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

เวลาและสถานที่ 1ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2548– กันยายน 2549
ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

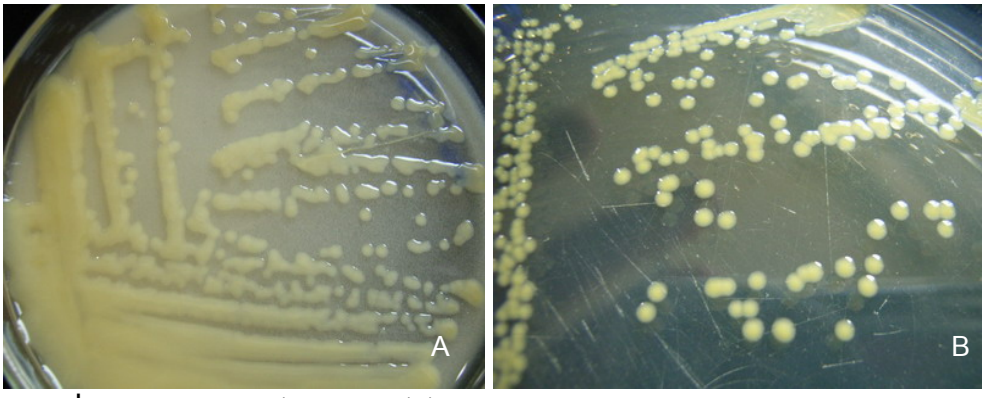
1. เชื้อ *Xanthomonas axonopidis* pv. *dieffenbachiae* และการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

ทำการแยกแบคทีเรียสาเหตุโรคจากตัวอย่างอาการโรคใบไหม้หน้าวัว ที่เก็บรวมรวมจากแปลงของเกษตรกร และรวบรวมเชื้อจาก Cultures collection จำนวนทั้งสิ้น 49 ไอโซเลท ซึ่งรวบรวมได้จากแหล่งปลูกหน้าวัวใน 18 จังหวัดทั่วประเทศ (ตารางที่ 1)

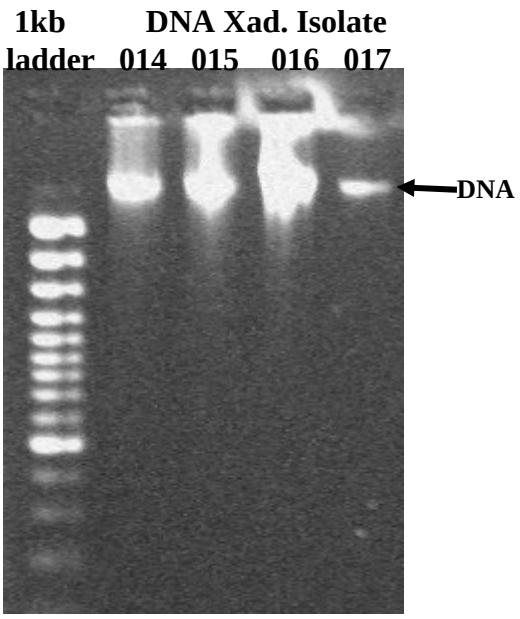
ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient glucose agar (NA) มีโคโลนีสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม โคโลนีกลมนูน ผิวมัน ลักษณะโคโลนีบนอาหาร Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ agar โคโลนีเจริญอย่างรวดเร็วสีเหลืองเข้มชัด รูปร่างกลมนูน ผิวมัน (ภาพที่ 1) ทั้งนี้แบคทีเรีย *X. axonopidis* pv. *dieffenbachiae* สามารถเจริญได้ดีและสร้างเมือกมากบนอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสสูง

2. การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *Xanthomonas axonopidis* pv. *dieffenbachiae*

ดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดมีปริมาณความเข้มข้น โดยเฉลี่ยตั้งแต่ 0.2-0.5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร (ภาพที่ 2) ปริมาตร 50 ไมโครลิตรต่อตัวอย่าง โดยคุณภาพของดีเอ็นเอ จากคำนวณด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ A260/A280 เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.6-1.7 ซึ่งมีคุณภาพดีเพียงพอสำหรับจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ



ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนี ของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae*
A เจริญบนอาหาร Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ อายุ 36 ชั่วโมง
B เจริญบนอาหาร NA อายุ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 2 Genomic DNA ของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae*

บน agarose gel 0.8 % ย้อมด้วย Ethydium Bromide

แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ด้วย UV transiluminator

3. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ โดย BOX และ ERIC PCR

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดย ERIC primer พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดตั้งแต่ 200-2000 bp มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 13 รูปแบบ (ภาพที่ 3A) มีแถบดีเอนเอที่ปรากฏแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 56 แถบ ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบแถบดีเอ็นเอ แบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 5 กลุ่มย่อย (ภาพที่ 4) จัดแบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 5 กลุ่มย่อย ไอโซเลทของเชื้อที่แยกหน้าวัวต่างพันธุ์ แต่จากสวนเดียวกัน มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกัน แต่ไม่พบกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อที่ชัดเจน เช่นกลุ่มย่อย B ที่ความเหมือนกันของลักษณะทางพันธุกรรมมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยเชื้อ Xad. จาก 10 จังหวัด คือ กระบี่ ชุมพร นนทบุรี สมุทรสงคราม ชลบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ ภูเก็ต ตรัง และ สุราษฎร์ธานี เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับเชื้อใน pathovars อื่น แบคทีเรีย *X. axonpodis* pv.*dieffenbachiae* มีความแตกต่างพันธุกรรม และมีความสัมพันธ์ 30 -45 เปอร์เซ็นต์ กับแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดมะเขือเทศ และพริก และ *X. campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำคะน้า

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ BOX พบว่าเชื้อแต่ละสายพันธุ์แสดงแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดตั้งแต่ 200-2000 bp มีรูปแบบแตกต่างกัน 9 รูปแบบ (ภาพที่ 3B) พบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 31 แถบ เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบแถบดีเอนเอ สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 6 กลุ่มย่อย (ภาพที่ 5) มีช่วงความสัมพันธ์กันกว้างตั้งแต่ 5-100 เปอร์เซ็นต์ มีข้อสังเกตว่าไอโซเลทของแบคทีเรีย ที่แยกจากหน้าวัวต่างพันธุ์ จากสวนหน้าวัว อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม มีรูปแบบลายพิมพ์และความแตกต่างกันทางพันธุกรรมเป็น 2 กลุ่ม แต่ไม่พบกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อที่ชัดเจนเช่นเดียวกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ Eric ทั้งนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งที่มาของเชื้อ และความรุนแรงในการเกิดโรค ไม่พบความสัมพันธ์ เช่นเดียวกับการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* โดยเทคนิค RAPD ซึ่งพบความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างสูง ทั้งนี้มีการพบความสัมพันธุ์ของรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอกับการจัดกลุ่มโดยเซรุ่มวิทยาในบางกลุ่ม (Khoodoo และ Jaufeerally-Fakim, 2004)

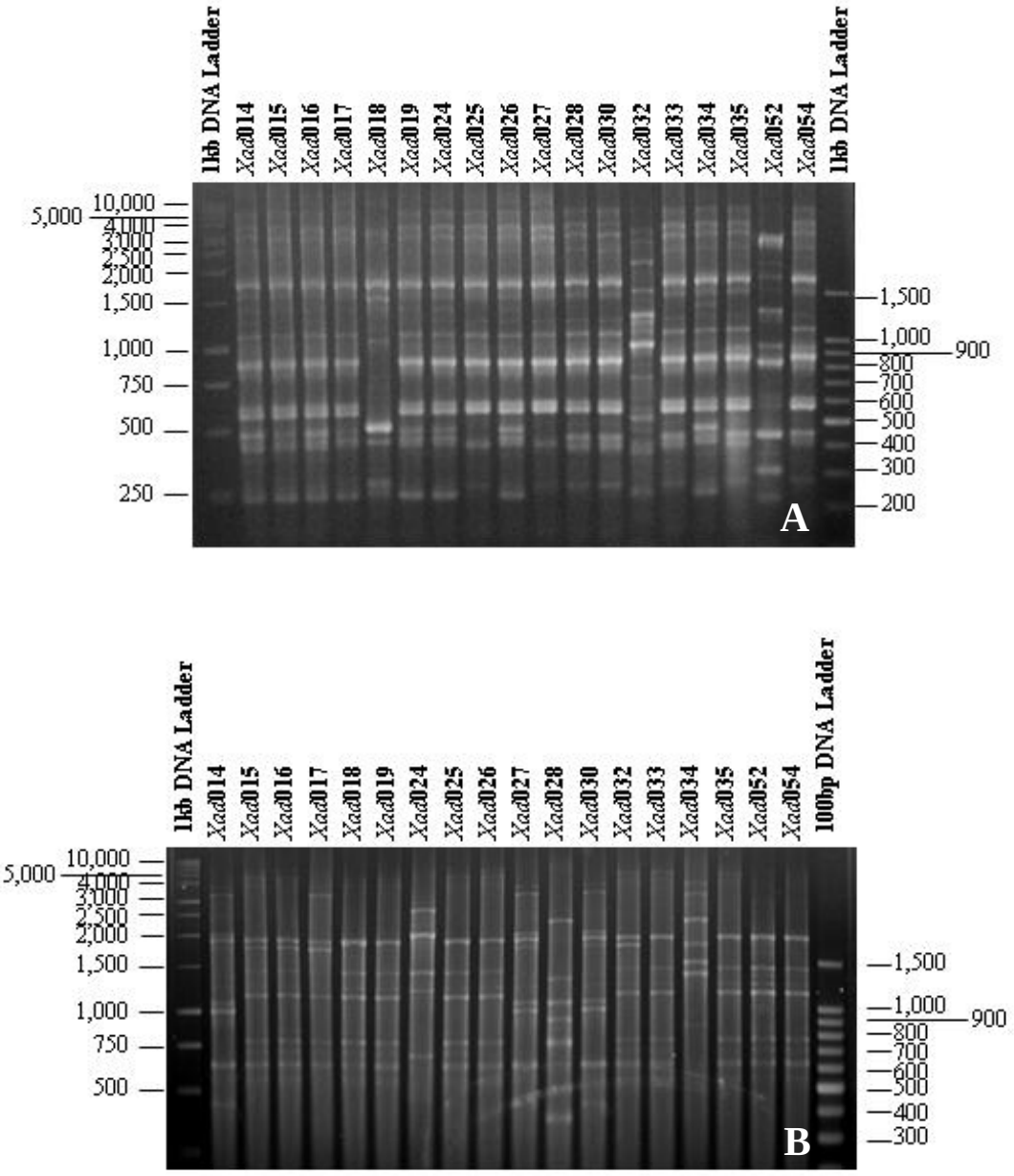
จากการศึกษาของศุทธนา(2542) ในการจำแนกเชื้อ *Ralstonia solanacearum* พบว่าการจัดกลุ่มระดับพันธุกรรมด้วยเทคนิค Rep-PCR ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของเชื้อ แต่ต่างจากการศึกษาของ กุลชนา (2544) ซึ่งพบว่าเทคนิคดังกล่าวสามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อ *X. campestris* pv.*glycines* ที่มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการก่อให้เกิดโรค คือสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อที่เป็นสายพันธุ์อ่อนแอและสายพันธุ์ที่รุนแรงได้ แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่ มาของเชื้อ หรือพันธุ์ของถั่วเหลืองได้

ตารางที่ 1 สายพันธุ์และแหล่งที่มาของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *diffenbachiae* ใช้ในการศึกษา

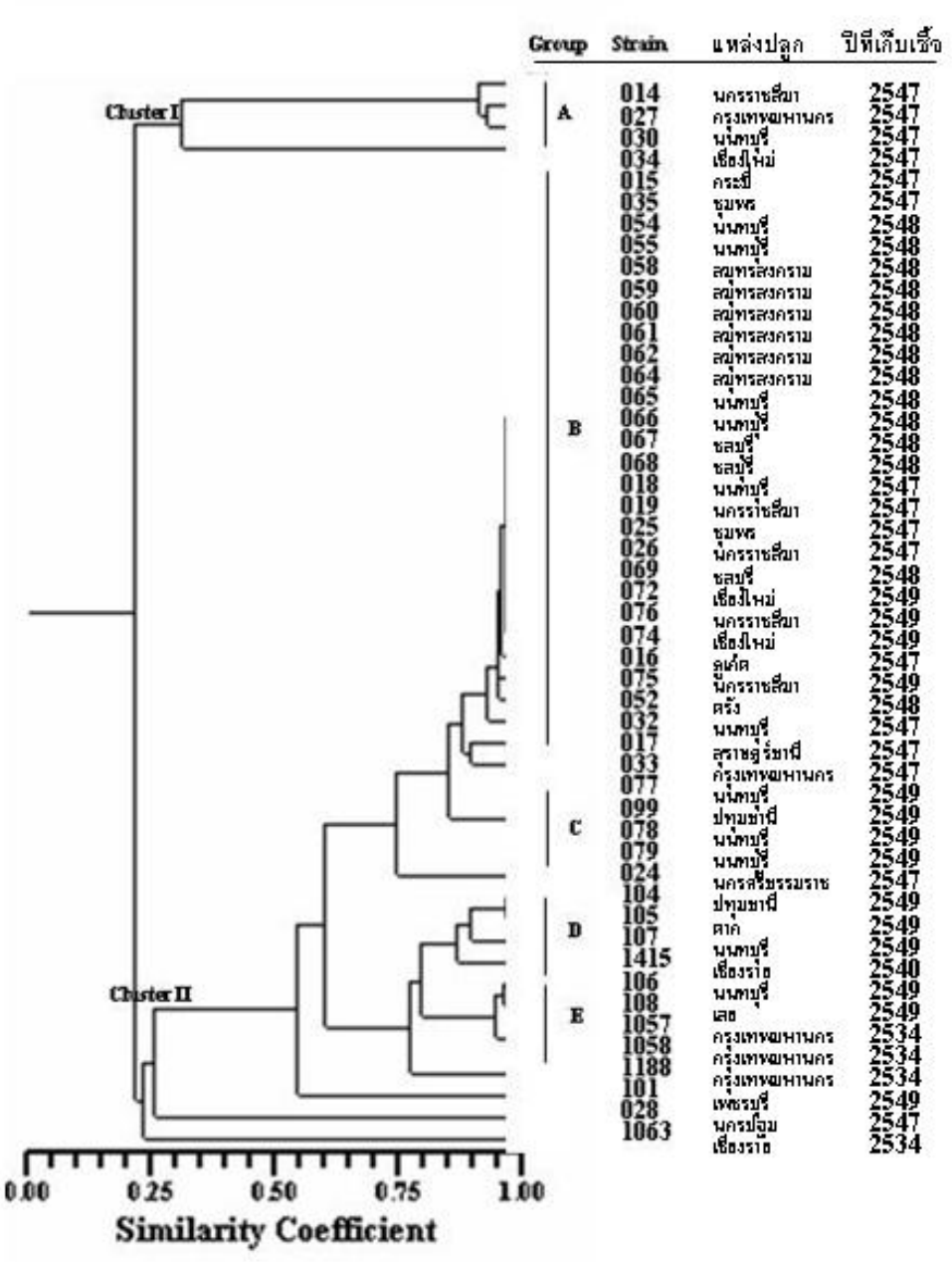
สายพันธุ์	พันธุ์พืช	สถานที่ปลูก	เดือน/ปีที่เก็บ	แหล่งที่มา[1]
014	unknown	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	04-2547	การศึกษานี้
015	unknown	ศูนย์ส่งเสริมพืชสวน จ.กระบี่	09-2547	การศึกษานี้
016	unknown	สถาบันวิจัยยาง จ.ภูเก็ต	09-2547	การศึกษานี้
017	unknown	สวนสุลภัส จ.สุราษฎร์ธานี	09-2547	การศึกษานี้
018	unknown	สวนสมพล อ.ปากเกร็ด จ.นนทบุรี	11-2547	การศึกษานี้
019	unknown	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	07-2547	การศึกษานี้
024	unknown	บ.สตาร์ฟลอร่า จ.นครศรีธรรมราช	07-2547	การศึกษานี้
025	unknown	อ.เมือง จ.ชุมพร	09-2547	การศึกษานี้
026	unknown	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	09-2547	การศึกษานี้
027	unknown	เขตหนองแขม กทม.	09-2547	การศึกษานี้
028	unknown	อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม	09-2547	การศึกษานี้
030	unknown	มหาสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2547	การศึกษานี้
032	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	11-2547	การศึกษานี้
033	unknown	คุณพงษ์เศวต เขตมีนบุรี กทม.	09-2547	การศึกษานี้
034	unknown	ดอยแม่สะป๊อก จ.เชียงใหม่	06-2547	การศึกษานี้
035	unknown	อ.สวี จ.ชุมพร	11-2547	การศึกษานี้
052	unknown	อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง	02-2548	การศึกษานี้
054	unknown	มหาสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	06-2548	การศึกษานี้
055	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	06-2548	การศึกษานี้
058	CHOCO	อ.บางคณฑี จ.สมุทธสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
059	unknown	อ.บางคณฑี จ.สมุทธสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
060	TROPICAL	อ.บางคณฑี จ.สมุทธสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
061	ROSA	อ.บางคณฑี จ.สมุทธสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
062	CHOCO	อ.บางคณฑี จ.สมุทธสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
064	TROPICAL	อ.บางคณฑี จ.สมุทธสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
065	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
066	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
067	unknown	สวนที่ 1 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
068	unknown	สวนที่ 2 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
069	unknown	สวนที่ 2 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
072	unknown	อ.ปางดะ จ.เชียงใหม่	02-2549	การศึกษานี้

074	unknown	อ.ปางดะ จ.เชียงใหม่	02-2549	การศึกษานี้
075	unknown	คุณสุชาดา อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
076	TROPICAL	คุณสุชาดา อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
077	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
078	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
079	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
099	unknown	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
101	unknown	อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	06-2549	การศึกษานี้
104	unknown	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
Unknown	หางหมู	อ.พบพระ จ.ตาก	07-2549	การศึกษานี้
106	unknown	คุณสมชาย อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
107	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
108	TROPICAL	ไร่คลายกังวล อ.ภูเรือ จ.เลย	08-2549	การศึกษานี้
1057	unknown	เขตบางกอกน้อย กทม.	01-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1058	unknown	เขตบางกอกน้อย กทม.	01-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1063	unknown	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1188	unknown	เขตบางกอกน้อย กทม.	10-2535	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1415	unknown	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2540	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา

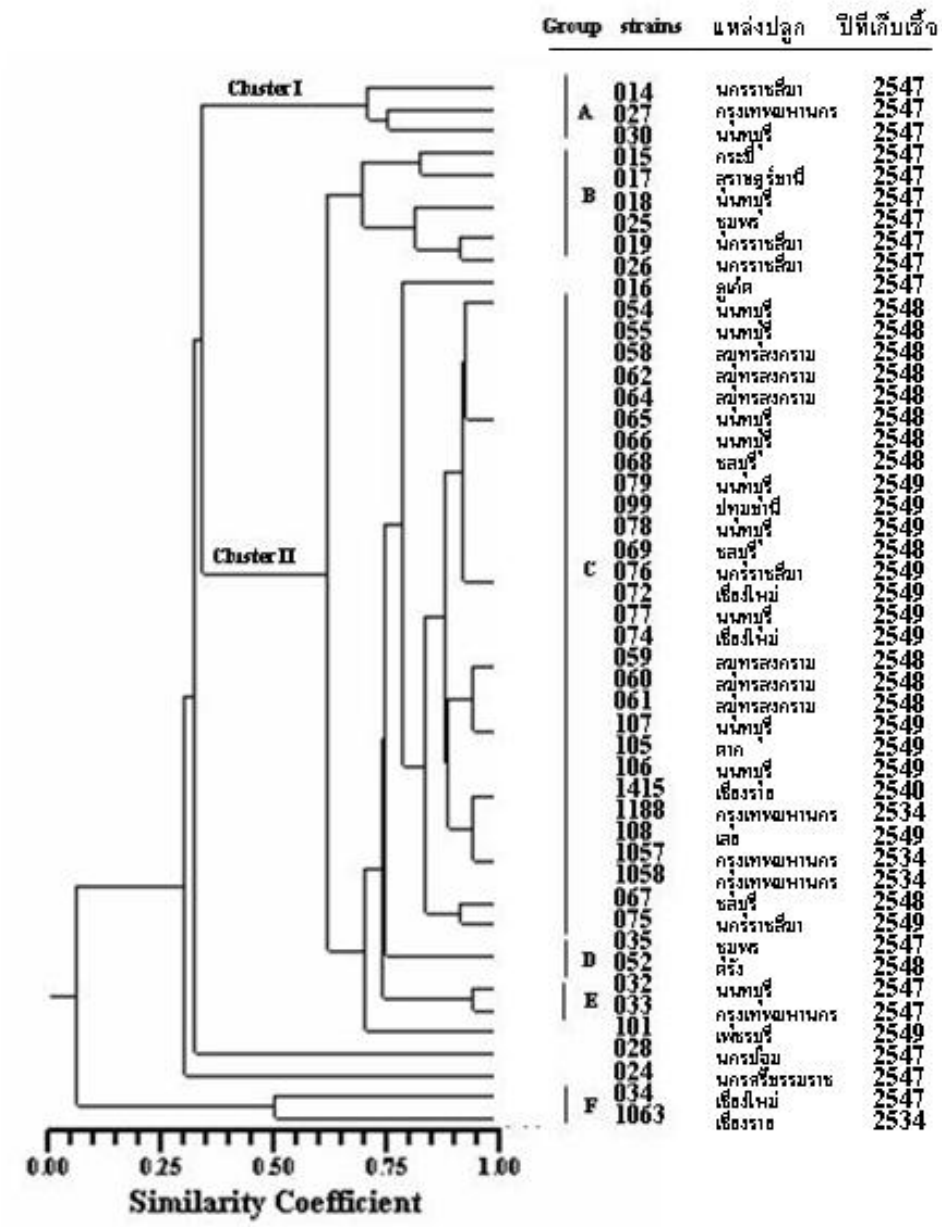
[1/] 1= เชื้อที่รวบรวมในการศึกษานี้ 2= กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 3 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ โดย ERIC-PCR 3A และ BOX-PCR 3B, เลนที่ 1 ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb ladder, เลนที่ 2-19 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Xanthomonas axonpodis* pv. *dieffenbachiae* ไอโซเลทจากหน้าวัว



ภาพที่ 4 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (Xad.) ไอโซเลทจากหน้าวัว ใช้ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอนเอของ Rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ ERIC วิเคราะห์ด้วย NTSYS-pc,version 2.01



ภาพที่ 5 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (Xad.) ไอโซเลทจากหน้าวัว ใช้ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอนเอของ Rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ BOX วิเคราะห์ด้วย NTSYS-pc,version 2.01

สรุปผลการทดลอง

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ ERIC และไพรเมอร์ BOX ให้ความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 13 และ 9 รูปแบบ ตามลำดับ ที่มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน (polymorphic) โดยไพรเมอร์ Eric 56 แถบ แบ่งเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มย่อย และ 5 กลุ่มย่อย และ โดยไพรเมอร์ Box 31 แถบ โดยแบ่งเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มย่อย 6 กลุ่มย่อย และไม่พบกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อ ความรุนแรงในการเกิดโรค หรือพันธุ์ของหน้าวัว ทั้งนี้การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วย Rep-PCR สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อในระดับดีเอ็นเอ ไม่มีความผันแปรทางสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง แสดงถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* ที่ค่อนข้างสูง

เอกสารอ้างอิง

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

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

ศุทธนา คล้ายมงคล 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.

Khoodoo, M.H.R. and Y. Jaufeerally-Fakim. 2004. RAPD-PCR fingerprinting and Southern analysis of *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* trains isolated from different aroid hosts and locations. Plant dis. 88:980-988.

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.

การเก็บรักษาตัวอย่างโรคพืชในพิพิธภัณฑ์

Collecting Plant Disease Samples for Herbarium Collection

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช พรพิมล อธิปัญญาคม ธารทิพย์ ภาสบุตร
ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี พจนา ตระกูลสุขรัตน์ ศรีสุข พูนผลกุล
วุฒิศักดิ์ บุตรธนู เพลินพิศ สงสังข์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างบวบที่เป็นโรค powdery mildew และโรคราสนิมของลีลาวดี จากแหล่งปลูกในจังหวัดนครปฐม ทำการอัดแห้งตัวอย่างและเก็บไว้ในซองกระดาษใส่ตัวอย่างเป็นเวลา 2 เดือน เมื่อตรวจดูพบแมลงที่ทำลายตัวอย่างแห้งในซอง นำซองที่มีแมลงไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะ เวลา 5 7 และ 9 วัน เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าในทุกระยะที่เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิแมลงตายหมด ในขณะที่ตัวอย่างเปรียบเทียบพบว่าแมลงยังมีชีวิตและเพิ่มจำนวนมากขึ้น

คำนำ

พิพิธภัณฑ์โรคพืชเป็นสถานที่รวบรวมตัวอย่างโรคพืช เพื่อใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงการเกิดและการระบาดของโรคพืชในแต่ละประเทศ และใช้ตรวจสอบกลับเมื่อมีปัญหาเกี่ยวกับโรคพืช และเชื้อสาเหตุ ตลอดจนใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อ 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) ในประเทศไทยมีการสำรวจและบันทึกตลอดจน

รหัสโครงการ 09-02-49-02

รายงานถึงโรคของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทย จัดทำเป็นดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย (พัฒนา และคณะ, 2537) และมีเอกสารทางวิชาการรายงานถึงรายละเอียดของโรคพืชที่สำคัญมากมายจากกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และจากสถาบันการศึกษา เช่น คู่มือโรคพืชไร่ (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2545) โรคไม้ผลเขตกึ่งร้อน (นิพนธ์, 2542) เป็นต้น ทางด้านการเก็บตัวอย่างโรคพืชนั้น ทางกลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร ได้จัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชและเก็บรักษาบางส่วนไว้ตั้งแต่เริ่มก่อตั้งหน่วยงานโรคพืชวิทยา โดยเฉพาะตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ แต่ยังไม่ได้จัดตั้งเป็นพิพิธภัณฑ์

ในระหว่างปี 2001-2002 หน่วยงาน Australian Agency for International Development (AusAID) ได้จัดประชุม ASEANET LOOP ครั้งที่ 2 ขึ้นและมีการสนับสนุนให้มีการจัดตั้งศูนย์เก็บรักษาตัวอย่างแมลง และตัวอย่างโรคพืชขึ้นประเทศภูมิภาคเอเชียหลายประเทศ เนื่องจากได้มีการตรวจสอบศูนย์เก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืชในประเทศภูมิภาคเอเชียและพบว่าไม่มีประเทศใดที่สามารถให้ข้อมูลสถานภาพศัตรูพืชได้อย่างครบถ้วน เนื่องจากการเก็บตัวอย่างโรคพืชมีจำนวนน้อยกว่าการเก็บตัวอย่างแมลง กรมวิชาการเกษตรได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากประเทศออสเตรเลีย (Thai-Australia Government Sector Linkages Program (TAGSLP), 2003) สำหรับการดำเนินการโครงการเสริมสร้างสมรรถนะด้านสุขอนามัยพืช : การพัฒนาพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืชและการรวบรวมเชื้อโรคพืชในประเทศ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชได้จัดทำห้องพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างโรคพืชขึ้นที่ตึกอิงคศรีกสิการ ชั้น 2 เพื่อเป็นเพื่อเป็นแหล่งรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่พบในประเทศ

ตัวอย่างแห้งโรคพืชหมายถึงชิ้นพืช และ/หรือราที่เก็บไว้ในซองหรือห่อที่มีการบันทึกข้อมูลตัวอย่างโรคพืชอาจรวมถึงราที่อัดแห้งไว้ สไลด์ตัวอย่าง ภาพถ่ายหรือภาพวาด ซึ่งซองและห่อของตัวอย่าง จะต้องมีรายละเอียดต่าง ๆ ของตัวอย่างอย่างครบถ้วน ตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช สามารถใช้เป็นหลักฐานเพื่อการวินิจฉัยโรค หรือเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ ตัวอย่างแห้งโรคพืชที่สมบูรณ์ควรเป็นตัวอย่างที่สามารถบ่งบอกอาการของโรคและสามารถแยกเชื้อสาเหตุได้ถึงแม้จะเก็บรักษาไว้เป็นเวลานานก็ตาม การที่จะได้ตัวอย่างแห้งที่สมบูรณ์ต้องเริ่มจากการเก็บตัวอย่างจากแปลง ตัวอย่างโรคพืชที่เก็บจากแปลงต้องเป็นตัวอย่างที่เริ่มแสดงอาการของโรค และเชื้อสาเหตุยังมีชีวิต ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคอย่างรุนแรงมักพบว่าไม่สามารถแยกเชื้อสาเหตุได้ เนื่องจากจะพบเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ขึ้นปะปนบนส่วนที่ถูกทำลาย ดังนั้นผู้เก็บตัวอย่างควรมีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับลักษณะอาการ และสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเพื่อความมั่นใจในการเลือกส่วนของพืชที่จะเก็บเป็นตัวอย่าง เช่น โรคเหี่ยวที่อาการปรากฏทางใบ แต่เชื้อสาเหตุเข้าทำลายในระบบท่อน้ำท่ออาหารและส่วนราก ต้องทราบชนิดพืชอาศัยอย่างถูกต้อง

ถ้าไม่ทราบชนิดพืชต้องเก็บส่วนของดอกและผลของพืชปกติเพื่อนำไปจำแนกชนิด แต่ต้องมั่นใจว่าเป็นพืชชนิดเดียวกับพืชที่เป็นโรค

นอกจากการเก็บตัวอย่างที่สมบูรณ์จากแปลงแล้ว ขั้นตอนการทำตัวอย่างสดเป็นตัวอย่างแห้ง ตลอดจนการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งให้อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ก็เป็นส่วนสำคัญเช่นกันที่จะได้ตัวอย่างแห้งที่ดีเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ ปัญหาที่สำคัญในช่วงขั้นตอนการทำตัวอย่างสดเป็นตัวอย่างแห้งตลอดจนการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งคือปัญหาการเข้าทำลายตัวอย่างโรคของแมลงปีกแข็งซึ่งจะพบตั้งแต่ในช่วงการอัดตัวอย่าง การบรรจุตัวอย่างในซองจนกระทั่งการเก็บในพิพิธภัณฑ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสภาพภูมิอากาศในเขตร้อน ซึ่งมีอุณหภูมิและความชื้นสูงเหมาะต่อพัฒนาการและการเข้าทำลายของแมลงอย่างยิ่ง แมลงบางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงปีกแข็งกินใบไม้แห้งและสามารถทำลายตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมไว้ได้อย่างรวดเร็ว การแช่แข็งตัวอย่างแห้งที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า อย่างน้อย 7 วัน เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ที่สุดในการจัดการแมลงศัตรูตัวอย่างพืชอย่างมีศักยภาพ ดังนั้นการศึกษาถึงช่วงเวลาการแช่ตัวอย่างในตู้ ที่มีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสในช่วงเวลาต่างกันเพื่อได้ระยะเวลาที่ดีที่สุดในการแช่ตัวอย่างและสามารถไปใช้ในการดำเนินการในพิพิธภัณฑ์โรคพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างใบบวบเป็นโรคราแป้ง (Powdery mildew) และใบลีลาวดีที่เป็นโรคราสนิม
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส
3. กล้องจุลทรรศน์ Light microscope
4. กรอบไม้อัดตัวอย่างโรคพืช
5. กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์
6. ซองกระดาษใส ซองกระดาษแข็งใส่ตัวอย่าง และกล่องกระดาษ
7. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น กระดาษบันทึกข้อมูล GPS ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯ

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างบวบที่เป็นโรค powdery mildew และใบลีลาวดีเป็นโรคราสนิมจากแหล่งปลูกในจังหวัดนครปฐม ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก และบรรจุลงในกล่องเก็บความเย็น บันทึกรายละเอียดชนิดพืช สถานที่ และวันที่เก็บ

2. การอัดทำตัวอย่างแห้ง

ตัดตัวอย่างใบบวบที่แสดงอาการโรคราแป้ง และใบลีลาวดีเป็นโรคราสนิมออกเป็นชิ้นขนาด 2 x 2 นิ้ว วางตัวอย่างระหว่างกระดาษฟางและวางทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ วางตัวอย่างที่ทำเสร็จแล้วระหว่างกรอบไม้อัดตัวอย่างรัดให้แน่น เปลี่ยนกระดาษหนังสือพิมพ์หรือกระดาษฟางทุกวันสำหรับตัวอย่างใบบวบใช้เวลาอัดแห้ง 7 วัน ส่วนใบลีลาวดีใช้เวลาอัดแห้ง 10 วัน

ใส่ตัวอย่างที่แห้งแล้วลงในซองกระดาษแก้วลอกลายจำนวน 10 ชิ้น/ซอง สอดซองกระดาษแก้วที่บรรจุตัวอย่างลงในซองกระดาษแข็งวางซองตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน

3. กรรมวิธีทดลอง

ดำเนินการทดลองนำตัวอย่างใส่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาต่าง ๆ เป็นแต่ละกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เก็บตัวอย่างในตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน
กรรมวิธีที่ 2 เก็บตัวอย่างในตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน
กรรมวิธีที่ 3 เก็บตัวอย่างในตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วัน
กรรมวิธีที่ 4 วิธีการเปรียบเทียบวางตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน
กรรมวิธีที่ 5 วิธีการเปรียบเทียบวางตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน
กรรมวิธีที่ 6 วิธีการเปรียบเทียบวางตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 9 วัน

บรรจุซองตัวอย่างในถุงพลาสติกจำนวน 10 ซอง/ถุง ใส่ลงกล่องโฟมปิดให้แน่น นำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาเก็บ ที่ 5 7 และ 9 วันตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบเก็บซองตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 5 7 และ 9 วันเช่นกัน

การทดลองดำเนินการเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ใช้ใบบวบเป็นโรคราแป้งในกรทดลอง ในระยะเวลาต่างกัน 6 กรรมวิธี ส่วนการทดลองที่ 2 ใช้ใบลีลาวดีเป็นโรคราสนิมในการทดลองดำเนินการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

4. การบันทึกผล

เมื่อครบกำหนดระยะเวลาที่แช่ตัวอย่างในตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะต่าง ๆ แล้ว นำตัวอย่างเก็บไว้ในห้องเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 2 เดือน นำตัวอย่างใบบวบและลีลาวดีที่บรรจุในซองออกมาตรวจเช็ดจำนวนแมลง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2546
สิ้นสุด กันยายน 2549

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงเกษตรกร

ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบบวบที่แสดงอาการโรคราแป้ง และใบลีลาวดีที่แสดงอาการโรคราสนิม จากสวนเกษตรกร อ.สามพราน จ.นครปฐม โดยเก็บตัวอย่างใบที่แสดงอาการของโรค 50-75% ของพื้นที่ใบ

2. การอัดทำตัวอย่างแห้ง

การตัดตัวอย่างออกเป็นชิ้นขนาด 2x2 นิ้ว โดยให้แต่ละชิ้นตัวอย่างมีโรคประมาณ 50-75% ของพื้นที่ หลังจากอัดตัวอย่างใบบวบและลีลาวดี บรรจุในซองวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน เมื่อนำตัวอย่างมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบแมลงในซองตัวอย่างมากกว่า 50 ตัว ในแต่ละซอง เนื่องจากแมลงซึ่งติดมากับตัวอย่างและอาศัยกินสปอร์ของราแป้งบนในบวบ และสปอร์ของราสนิมบนใบลีลาวดีเป็นอาหารและขยายพันธุ์อยู่บนตัวอย่าง

3. กรรมวิธีทดลอง

นำซองที่บรรจุตัวอย่างใบบวบและใบลีลาวดีที่เป็นโรคที่ตรวจพบแมลงไปใส่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาเก็บ ที่ 5 7 และ 9 วันตามลำดับ

4. ผลการตรวจศัตรูพืช

หลังจากเก็บซองตัวอย่างทั้งใบบวบ และใบลีลาวดีในแต่ละกรรมวิธี นำตัวอย่างออกจาตู้ควบคุมอุณหภูมิ โดยวางตัวอย่างไว้ในที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อให้อุณหภูมิของตัวอย่างปรับตัวลง นำตัวอย่างในแต่ละกรรมวิธีมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าแมลงในแต่ละกรรมวิธีที่ทดลองทั้งบนใบบวบและใบลีลาวดีตายหมดทั้ง ระยะเวลา 5 7 และ 9 วัน ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบวางซองตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องทั้ง 3 ระยะเวลาคือ 5 7 และ 9 วัน พบว่าแมลงยังมีชีวิต

สรุปผลการทดลอง

การอัดแห้งตัวอย่างโรคราแป้ง โรคราสนิมของลีลาวดี บรรจุซองกระดาษเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาเก็บ ที่ 5 7 และ 9 วัน โดยมีกรรมวิธีเปรียบเทียบเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะ เวลา 5 7 และ 9 วัน เช่นกัน ผลการทดลองพบว่าในแมลงในทุกระยะที่เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิตายหมด ในขณะที่ตัวอย่างเปรียบเทียบพบว่าแมลงยังมีชีวิต

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.

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2538. วัชพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์แพร่พิทยา กทม. 200 หน้า

สะอาด บุญเกิด จเร สดากร และทิพย์พรรณ สดากร. 2523. ชื่อพรรณไม้ในเมืองไทย. บริษัทอนิเมท พริ้นท์ แอนด์ ดีไซน์ จำกัด กรุงเทพฯ. 672 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

การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์

Collection and Curating on Insects in Museum

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ รัตนา นชะพงษ์
พรรณเพ็ญ ชโยภาส ลักขณา บำรุงศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาการเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงกันยายน 2549 ดำเนินการสำรวจรวบรวมผีเสื้อชนิดต่างๆ ในแหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ ได้แก่ ภาคเหนือ จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย ตาก กำแพงเพชร ภาคกลางที่จังหวัดเพชรบุรี ลพบุรี กาญจนบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่จังหวัดนครราชสีมา ภาคตะวันออกที่จังหวัดตราด ปราจีนบุรี และภาคใต้ที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตรัง พบว่า การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงพวกผีเสื้อ (Order Lepidoptera) วิธีที่เหมาะสมที่สุด จากการเก็บตัวอย่างในสภาพธรรมชาติ เริ่มด้วยการใช้สวิงโฉบหลังจากนั้นใช้วิธีบีบอกผีเสื้อถ้าเป็นผีเสื้อขนาดเล็ก ถ้าเป็นผีเสื้อขนาดใหญ่ใช้เข็มฉีดน้ำยา ethyl acetate ที่บริเวณอกด้านล่างของผีเสื้อ เพื่อให้ผีเสื้อตายทันที ป้องกันปีกฉีกขาดและหลุดของเกล็ด (scale) บนปีก เมื่อผีเสื้อตายให้เก็บตัวอย่างผีเสื้อใส่ในซองสามเหลี่ยมเพื่อนำมาจัดรูปร่าง และอบที่อุณหภูมิ 50 °C และนำมาจำแนกระดับวงศ์ การศึกษาครั้งนี้พบผีเสื้อกลางวัน 896 ตัวอย่าง 11 วงศ์ ได้แก่วงศ์ Papilionidae, Danaidae, Nymphalidae, Pieridae, Lycaenidae, Hewperiidae, Libythaidae, Riodiridae, Satyridae, Aeraeidae และ Amathusiidae และผีเสื้อกลางคืน 1529 ตัวอย่าง 24 วงศ์ ได้แก่วงศ์ Agaristidae, Euterotidae, Arctiidae, Noctuidae, Yponemetidae, Zygaenidae, Pyralidae, Amatidae, Lymantidae, Geometridae, Drepanidae, Sphingidae, Thyrididae, Uraniidae, Bombycidae, Notodontidae, Cossidae, Limacodidae, Tortricidae, Drepanidae, Lasiocampidae, Hypsidae, Saturniidae, Brahmaeidae นอกจากนี้ยังได้ดูแลรักษาตัวอย่างแมลง โดยทำความสะอาดตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์หมุนเวียนต่อเนื่อง การศึกษายังไม่เสร็จสิ้นต้องดำเนินการต่อไปในปี 2550

รหัสโครงการ 09-02-49-02

คำนำ

การรวบรวมและเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในรูปแบบของพิพิธภัณฑ์นับว่าเป็นงานที่สำคัญและมีประโยชน์อย่างยิ่ง เพราะโดยความหมายของพิพิธภัณฑ์แล้วจะหมายถึงแหล่งที่รวบรวมข้อมูลทั้งตัวอย่างและเรื่องราวต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับพิพิธภัณฑ์นั้นๆ

ดังนั้นในกิจกรรมนี้จะเป็นกิจกรรมที่นำไปสู่ความเป็นรูปธรรมของแหล่งรวบรวมข้อมูลตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่เรียกว่าพิพิธภัณฑ์แมลง

พิพิธภัณฑ์แห่งนี้มีความสำคัญอย่างมากสำหรับงานศึกษาวิจัยทั้งภายในและภายนอกหน่วยงานรวมทั้งในระดับประเทศด้วย พิพิธภัณฑ์นี้จะเป็นแหล่งรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ โดยเฉพาะข้อมูลจากภาคสนาม ที่ได้จากการรวบรวมตัวอย่างในแต่ละครั้ง ซึ่งต้องบันทึกรายละเอียด พืช ส่วนของพืช/สัตว์ ที่ถูกทำลาย สถานที่เก็บ วัน เดือน ปีและชื่อผู้เก็บ กำกับไว้กับตัวอย่างที่รวบรวมได้ ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับผู้ที่สนใจศึกษาวิจัยเกี่ยวกับ แมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ แต่ไม่สามารถออกเก็บรวบรวมตัวอย่างได้ครอบคลุมทุกพื้นที่ก็สามารถนำข้อมูลจากพิพิธภัณฑ์มาประกอบการศึกษาวิจัยโดยเฉพาะการศึกษาวิจัยในระดับชนิด(species) และกระบวนการเกิดชนิดใหม่(speciation) จำเป็นต้องรวบรวมรูปร่างลักษณะหรือสัณฐานวิทยา(morphology) เขตการแพร่กระจาย (distribution area) รวมทั้งลักษณะความแปรปรวน (variation) ของตัวอย่างที่เป็นชนิดเดียวกัน และมีการเก็บรักษาอย่างดีให้ได้จำนวนมากที่สุด ทั้งนี้เพื่อจะได้นำข้อมูลเหล่านั้นมาเปรียบเทียบประกอบการศึกษาวิจัย โดยละเอียด จึงจะทำให้งานวิจัยด้านนี้ประสบความสำเร็จ

พิพิธภัณฑ์มีความสำคัญสำหรับผู้เชี่ยวชาญหรือนักอนุกรมวิธาน (taxonomist) ในแต่ละสาขาได้ใช้เป็นแหล่งศึกษาแลกเปลี่ยนความรู้และแลกเปลี่ยนตัวอย่างซึ่งกันและกัน เพราะผู้เชี่ยวชาญหรือนักอนุกรมวิธานเป็นผู้ที่ต้องการเก็บรวบรวมและเพิ่มจำนวนตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ให้มากยิ่งขึ้น ซึ่งนอกจากจะได้จากการเก็บรวบรวมด้วยตัวเองแล้วยังได้มาจากการแลกเปลี่ยนกับบุคลากรหรือหน่วยงานอื่นทั้งภายในและต่างประเทศ อีกทั้งพิพิธภัณฑ์ยังเป็นแหล่งบริการตรวจวิเคราะห์แมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ เพราะพิพิธภัณฑ์ส่วนมากมีนักอนุกรมวิธานเป็นผู้รับผิดชอบ ซึ่งนักอนุกรมวิธานเหล่านั้นนอกจากมีหน้าที่รวบรวมเก็บรักษาตัวอย่าง และบำรุงรักษาพิพิธภัณฑ์แล้ว ยังให้บริการตรวจวิเคราะห์ชนิดของตัวอย่างแมลงเหล่านั้นด้วย

พิพิธภัณฑ์นอกจากจะให้ความรู้ด้านวิชาการแล้ว ปัจจุบันมีการจัดพิพิธภัณฑ์ในรูปแบบของพิพิธภัณฑ์-นิทรรศการ ทำให้เกิดเป็นพิพิธภัณฑ์รูปแบบใหม่ที่สามารถเข้าไปเยี่ยมชมเพื่อการพักผ่อนหย่อนใจ ได้สาระความรู้และความเพลิดเพลิน เพิ่มพูนพลังทางปัญหาและจิตใจได้เป็นอย่างดี พิพิธภัณฑ์ประเภทนี้สามารถจัดแสดงรูปแบบให้สวยงาม เน้นจุดเด่นและความสำคัญของตัวอย่างที่นำมาจัดแสดงในพิพิธภัณฑ์ เพื่อชี้นำให้ผู้เข้าเยี่ยมชมได้เห็นคุณค่าของการเก็บรวบรวม

ตัวอย่างเหล่านั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการจัดแสดงให้เห็นว่าสรรพสิ่งทั้งหลายในโลกนี้ล้วนต้องพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน อันจะช่วยจูงใจให้ผู้เข้าเยี่ยมชมเกิดความประทับใจ และเกิดแรงบันดาลใจในการที่จะช่วยกันอนุรักษ์สิ่งเหล่านี้ให้อยู่ในธรรมชาติอย่างยั่งยืนต่อไป

กรมวิชาการได้มีการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติมาเป็นเวลานานกว่า 60 ปี ซึ่งเป็นการรวบรวมไว้ในลักษณะห้องเก็บแมลง ไม่ได้มีตึกพิพิธภัณฑ์เฉพาะ แต่ผู้คนส่วนใหญ่ก็เรียกกันว่าพิพิธภัณฑ์แมลง พิพิธภัณฑ์แมลงแห่งนี้เป็นแหล่งที่รวบรวมและเก็บรักษาชนิดของแมลงไว้มากที่สุดในประเทศไทย มีแมลงที่วิเคราะห์ชนิดแล้วกว่า 8,000 ชนิด มีตัวอย่างแมลงทั้งหมดมากกว่า 500,000 ตัวอย่าง ปัจจุบันได้รวบรวมและเก็บรักษาตัวอย่างไร แมง มุม และสัตว์ไว้ในพิพิธภัณฑ์แห่งนี้ด้วย ปัจจุบันพิพิธภัณฑ์แมลงแบ่งเป็น 2 รูปแบบ คือ พิพิธภัณฑ์แมลง-วิชาการ และพิพิธภัณฑ์แมลง-นิทรรศการ ด้วยจำนวนตัวอย่างแมลงที่มีอยู่มากมหาศาล ตัวอย่างหลายชนิดไม่สามารถเก็บมาใหม่ได้อีก ทำให้นักอนุกรมวิธานและผู้ปฏิบัติงานประจำที่พิพิธภัณฑ์แมลงมีภาระรับผิดชอบอันยิ่งใหญ่ ที่จะต้องดูแลรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ ซึ่งผู้ปฏิบัติงานทุกคนตระหนักดีถึงคุณค่าของตัวอย่างเหล่านั้น ว่าเป็นทรัพยากรอันล้ำค่าของประเทศ จึงต้องมีการดูแลรักษาให้ดีที่สุด ไม่ให้เกิดการชำรุด สูญหาย ต้องจัดระเบียบปฏิบัติในการใช้ห้องพิพิธภัณฑ์เช่นเดียวกับระบบรักษาความปลอดภัยของอาคารทั่วๆไป รวมทั้งต้องจัดทำระบบวิธีการสืบค้นข้อมูลให้ทันสมัย ตรวจสอบได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว โดยจะต้องนำข้อมูลของตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ ตลอดจนข้อมูลวิธีการดูแลรักษามาจัดทำเป็นระบบฐานข้อมูลของตัวอย่างแมลงทั้งหมดที่มีอยู่ในพิพิธภัณฑ์แมลง

อย่างไรก็ตามการรวบรวมและเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในพิพิธภัณฑ์ อาจมีวิธีการและขั้นตอนแตกต่างกันบ้าง แต่ก็มีจุดมุ่งหมายเดียวกัน ในการที่จะเก็บรวบรวมตัวอย่างให้มากสุด เพื่อจุดประสงค์ดังที่กล่าวข้างต้นแล้ว และยังต้องการหาวิธีที่ถูกต้องเหมาะสม เพื่อทำให้ตัวอย่างเหล่านั้นคงสภาพสมบูรณ์ ไม่ชำรุดเสียหาย ปัจจัยสำคัญที่จะทำให้งานนี้ประสบความสำเร็จ นอกจากจะได้รับการสนับสนุนอย่างจริงจังจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องแล้ว บุคลากรที่ปฏิบัติงานด้านนี้ต้องมีใจรัก มุ่งมั่นที่จะพัฒนา รักและหวงแหนตัวอย่างทุกตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ มีความตื่นตัว ทันสมัย พร้อมที่จะปรับเปลี่ยนและยอมรับเทคโนโลยีด้านการดูแลรักษาตัวอย่าง เพื่อนำมาปรับปรุงให้เหมาะสมกับ วัน เวลา และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ทั้งนี้เพื่อจุดมุ่งหมายที่มั่งคงในการที่จะอนุรักษ์ตัวอย่างเหล่านั้นให้สมบูรณ์อย่างยั่งยืนสืบต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ สวิง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ขวดดองแมลง กล่องรักษาความเย็น ขวดฆ่าแมลง ถุงพลาสติก กับดัก ตู้ควบคุมอุณหภูมิ สารเคมี ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70-80 % ฯลฯ

2.อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดรูปร่างแมลงเพื่อการนำไปจำแนกและเก็บรักษาได้แก่ตู้อบแมลง ขวดฆ่าแมลง เข็มปักแมลง เข็มหมุดขนาดกลาง บีกเกอร์ แผ่นสไลด์แก้ว coverglass น้ำยาเมาท์ตัวอย่างแมลง เช่น KOH 10% แอลกอฮอล์ 70-80%

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสี ฟิล์มสไลด์สี

4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงแมลง ได้แก่ ต้นพืชและอุปกรณ์ในการปลูกเพื่อเป็นอาหารสำหรับแมลง กล่องพลาสติก โหลพลาสติก กรง สำลี กระดาษเนื้อเยื่อ

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

7. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บ และรักษาแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ การบูร กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบใส่ตัวอยางแมลง กล่องใส่สไลด์ถาวร

8. ตัวอย่างแมลง

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างแมลงทุกชนิดจากสภาพธรรมชาติ รวมทั้งตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการ และผู้มาขอรับบริการทั้งภายในและภายนอกประเทศ ซึ่งได้รับการจำแนกเบื้องต้นแล้ว ซึ่งในสภาพธรรมชาติสามารถรวบรวมได้โดยวิธีการต่อไปนี้

- ใช้สวิงโฉบ (ผีเสื้อ ด้วงปีกแข็ง ฯลฯ) ใช้มือจับ (หนอนผีเสื้อ หนอนด้วง ฯลฯ) หรือใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่สัตว์เหล่านี้เข้าทำลาย รวมทั้งบนผลผลิตการเกษตรในที่ต่างๆ

- ใช้วิธีการเคาะจากต้นพืช (เพลี้ยไฟ) ตัดใบและกิ่งพืชที่มีแมลง (เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง แมลงหวี่ เพลี้ยอ่อน) นำดองในแอลกอฮอล์ หรือน้ำยาที่ใช้ดองเฉพาะชนิด เช่น AGA ใช้ดองเพลี้ยไฟ รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่มีชีวิตด้วย

- นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ

- ตัวอย่างหนอนหรือตัวอ่อนแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโต เมื่อหนอนหรือตัวอ่อนแมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัย นำไปจัดรูปร่างและอบให้แห้ง

- เพลี้ยไฟ เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน และแมลงหวี่ขาว นำไปทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแต่ละชนิด ส่วนแมลงที่ยังมีชีวิตนำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและพฤติกรรมต่าง ๆ

- นำแมลง ที่จัดรูปร่าง และอบแห้ง หรือทำสไลด์เรียบร้อยแล้วไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลงแต่ละชนิด

- บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ บนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และบันทึกรายละเอียดข้อมูลสำคัญของแมลงและชนิดของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย ถ่ายภาพ แมลงที่ได้ศึกษา

2. จัดกลุ่มตัวอย่างแมลง โดยแยกเป็นประเภทดังนี้

- แมลงต้นแบบ (Type specimen)
- แมลงศัตรูพืช (Insect pests)
- แมลงศัตรูธรรมชาติ (Natural enemy)
- แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ (Rare and endanger)

3. จัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์

- ตัวอย่างแมลงต้นแบบ จัดใส่กล่อง เก็บเรียงใส่ในลิ้นชักและเรียงตามลำดับตัวอักษรภาษาอังกฤษ

ตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ที่มีการจัดจำแนกแล้ว มีวิธีจัดเก็บดังนี้

- ตัวอย่างที่จัดทำเป็นสไลด์ถาวร ให้เรียงตามชนิดอักษรของตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ หรือเรียงตามชนิดพืชขึ้นกับผู้ดูแล จัดเก็บในกล่องเก็บสไลด์โดยวางแผ่นสไลด์ขนานกับพื้น

- ตัวอย่างแมลงที่จัดรูปร่างโดยวิธีอื่น ให้จัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับ วงศ์ สกุลและชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลง

- ตัวอย่างแมลงที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ชนิดได้ ให้นำเก็บในหีบไม้แยก อันดับตามอักษร

4. การดูแลรักษาตัวอย่างแมลง

- ใส่สารป้องกันแมลง (การบูรหรือลูกเหม็น) เพื่อป้องกันแมลงขนาดเล็กที่สามารถเข้าทำลายตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ได้ทั้งในหีบไม้และในแต่ละลิ้นชักของแต่ละตู้เก็บ และเติมสารป้องกันแมลงเข้าทำลายตัวอย่างทุก 1 – 2 เดือน

- รมสารป้องกันกำจัดแมลง เช่น เมทิลโบร์ไมด์ (Methy bromide) ทุก 6 เดือน

- ทำความสะอาดตัวอย่างแมลงหมุนเวียนต่อเนื่อง

- จัดทำกุญแจเพื่อล็อคตู้และพิพิธภัณฑ์

- ติดประกาศระเบียบและวิธีปฏิบัติการใช้ห้องพิพิธภัณฑ์ และการขอรับบริการจากพิพิธภัณฑ์

5. จัดทำฐานข้อมูล แมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่มีทั้งหมดในพิพิธภัณฑ์ด้วยระบบคอมพิวเตอร์

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2553

สถานที่ แหล่งปลูกพืชไร่ พืชสวน ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ นาข้าว พื้นที่ป่า แปลงปลูกพืชอื่นตลอดจนแหล่งเก็บผลผลิตทางการเกษตรทั่วทุกภาคของประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงกันยายน 2549 ดำเนินการสำรวจรวบรวมผีเสื้อชนิดต่างๆ ในแหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ ได้แก่ ภาคเหนือ จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย ตาก กำแพงเพชร ภาคกลางที่จังหวัดเพชรบุรี ลพบุรี กาญจนบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่จังหวัดนครราชสีมา ภาคตะวันออกที่จังหวัดตราด ปราจีนบุรี และภาคใต้ที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตรัง จากการศึกษาพบว่า การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงพวกผีเสื้อ (Order Lepidoptera) วิธีที่เหมาะสมที่สุด จากการเก็บตัวอย่างในสภาพธรรมชาติ เริ่มด้วยการใช้สวิงโฉบหลังจากนั้นใช้วิธีบีบอกผีเสื้อถ้าเป็นผีเสื้อขนาดเล็ก ถ้าเป็นผีเสื้อขนาดใหญ่ใช้เข็มฉีดน้ำยา ethyl acetate ที่บริเวณอกด้านล่างของผีเสื้อ เพื่อให้ผีเสื้อตายทันที ป้องกันปีกฉีกขาดและหลุดของเกล็ด (scale) บนปีก เมื่อผีเสื้อตายให้เก็บตัวอย่างผีเสื้อใส่ในซองสามเหลี่ยมเพื่อนำมาจัดรูปร่าง และอบที่อุณหภูมิ 50 °C และนำมาจำแนกระดับวงศ์ พบผีเสื้อกลางวัน 11 วงศ์ 896 ตัวอย่าง ผีเสื้อกลางคืน 24 วงศ์ 1529 ตัวอย่าง โดยจำแนกเป็นผีเสื้อกลางวัน ได้แก่วงศ์ Papilionidae, Danaidae, Nymphalidae, Pieridae, Lycaenidae, Hewperiidae, Libythaidae, Riodiridae, Satyridae, Aeraeidae และ Amathusiidae จำนวน 127, 208, 152, 146, 218, 16, 15, 4, 3, 5และ 2 ตัวอย่างตามลำดับ และผีเสื้อกลางคืน ได้แก่ Agaristidae, Euterotidae, Arctiidae, Noctuidae, Yponemetidae, Zygaenidae, Pyralidae, Amatidae, Lymantidae, Geometridae, Drepanidae, Sphingidae, Thyrididae, Uraniidae, Bombycidae, Notodontidae, Cossidae, Limacodidae, Tortricidae, Drepanidae, Lasiocampidae, Hypsidae, Saturniidae, Brahmaeidae จำนวน 2, 6, 275, 253, 47, 13, 146, 231, 78, 193, 2, 147, 17, 7, 4, 30, 19, 16, 7, 1, 5, 11, 18 และ 1 ตัวอย่างตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้ดูแลรักษาตัวอย่างแมลง และทำความสะอาดตัวอย่างแมลงทั้งหมดในพิพิธภัณฑ์อย่างหมุนเวียนต่อเนื่อง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงพวกผีเสื้อ (Order Lepidoptera)พบวิธีการเก็บรักษาที่เหมาะสมที่สุด 1 วิธีคือการเก็บตัวอย่างในสภาพธรรมชาติ เริ่มด้วยการใช้สวิงโฉบหลังจากนั้นใช้วิธีบีบอกผีเสื้อถ้าเป็นผีเสื้อขนาดเล็ก ถ้าเป็นผีเสื้อขนาดใหญ่ใช้เข็มฉีดน้ำยา ethyl acetate ที่บริเวณอกด้านล่างของผีเสื้อ เพื่อให้ผีเสื้อตายทันที ป้องกันปีกฉีกขาดและหลุดของเกล็ด (scale) บนปีก เมื่อผีเสื้อตายให้เก็บตัวอย่างผีเสื้อใส่ในซองสามเหลี่ยมเพื่อนำมาจัดรูปร่าง และอบที่อุณหภูมิ 50 ^{o}C และนำมาจำแนกระดับวงศ์ พบผีเสื้อกลางวัน 11 วงศ์ 896 ตัวอย่าง ผีเสื้อกลางคืน 24 วงศ์ 1529 ตัวอย่างพร้อมดูแลรักษาตัวอย่างแมลง และทำความสะอาดตัวอย่างแมลงทั้งหมดในพิพิธภัณฑ์อย่างหมุนเวียนต่อเนื่อง

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545 พิพิธภัณฑ์นิทรรศการแมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545 พิพิธภัณฑ์แมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2547. การเก็บตัวอย่างแมลงเพื่อการศึกษาวิจัย. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด,กรุงเทพฯ. 32 หน้า

การปรับปรุงพริกขี้หนูสดใหญ่เพื่อต้านทานโรคแอนแทรคโนส

ศิริพงษ์ คุ้มภัย* นรินทร์ พูนเพิ่ม**
ณรงค์ แดงเปี่ยม อภิรัชต์ สมฤทธิ์* ธารทิพย ภาสบุตร***
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช* ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร**

บทคัดย่อ

ปีงบประมาณ 2549 ได้ทดสอบพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริก จำนวน 20 สายพันธุ์ ทั้งสายพันธุ์ในประเทศ และต่างประเทศ ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรค โดยกรรมวิธีการปฏิบัติของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในระยะแรกไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทานเด่นชัด ในเบื้องต้นพบว่าเกิดจากอุปกรณ์ปลูกเชื้อบกพร่อง และได้พัฒนาอุปกรณ์ปลูกเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส จากเดิมที่ไม่สามารถแยกแยะความต้านทานออกจากอาการอ่อนแอของพริกสายพันธุ์ต่างๆ ได้อย่างชัดเจน และได้ทดสอบอีกครั้ง พบพริกสายพันธุ์ PBC 81 และ PBC 932 มีปฏิกิริยาต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสได้ดีทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ เพื่อถ่ายลักษณะต้านทานโรคจากสายพันธุ์ต้านโรคแอนแทรคโนสให้กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ ผลการทดลองในสภาพโรงเรือน พบว่าสามารถกระทำได้เฉพาะสายพันธุ์ PBC 392 และได้จัดสร้างลูกผสม F1 ของสายพันธุ์ทั้งสอง และนำมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคแอนแทรคโนส และทำการผสมกลับ (back cross) กับลูกผสม F1 ต่อไปในปีต่อไป 2550

รหัสโครงการ 01-16-49-01

คำนำ

ในปัจจุบันพันธุ์พริกที่ปลูกในประเทศไทย สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พริกรับประทานฝักสด และพริกที่ใช้ในอุตสาหกรรม และเนื่องจากการผลิตพริกต้องประสบกับศัตรูพืชหลากหลายชนิดทำให้จำเป็นต้องมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพริกทั้งโรคและแมลงในปริมาณที่สูงมาก ซึ่งสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจะมีผลตกค้างกับผลผลิตพริก สามารถที่จะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporoides* และ *Colletotrichum capsici* เป็นโรคที่สำคัญที่ทำความเสียหายอย่างมากกับการปลูกพริก และได้มีการใช้สารเคมีหลากหลายชนิด และในสภาพที่โรคระบาด สภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงทำให้สารเคมีที่ใช้ในป้องกันกำจัด ไม่สามารถป้องกันกำจัดได้ การสร้างหรือพัฒนาพันธุ์พริกที่สามารถต้านทานโรคได้นั้น นอกจากจะเป็นวิธีการที่ปลอดภัยทั้งกับกสิกรผู้ปลูก และผู้บริโภคลดปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพริกให้ลดลง ยังสามารถที่จะลดต้นทุนการผลิตของผู้ผลิตอีกด้วย และการนำวิธีการทั้งการใช้พันธุ์ต้านทานโรคเข้าร่วมผสมผสานกับการใช้วิธีการอื่นๆ สามารถที่จะจัดการบริหารโรคที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์
2. สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และให้ผลผลิตสูง 1 สายพันธุ์
3. อุปกรณ์ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส
4. เชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง
5. วัสดุปลูกพริก และเพาะกล้าพริก
6. พาชนะปลูก และถาดหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า
7. อุปกรณ์ ผสมดอก
8. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์
9. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

วิธีการ

1 ปลูกสายพันธุ์พริกที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

2. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

3. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริก บนฝักพริกที่ได้จากข้อ 2 จำนวน 20 สายพันธุ์ (ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4. ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) ซ้ำ อีก 1 ครั้งเพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรค เพื่อยืนยันและลดความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้น

5. คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่แสดงอาการ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส เป็นผลจากการทดลองข้อที่ 4 และ5

6. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี โดยให้พันธุ์ที่ต้านทานแอนแทรคโนส จากข้อ 5 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ เป็นสายพันธุ์แม่

(ขั้นตอนการทดสอบการตอบสนองของสายพันธุ์พริกต่อการพัฒนาของโรคแอนแทรคโนส 1-6 แสดง ในรูปที่ 1)

7. สายพันธุ์ที่สามารถผสมข้ามได้ จะนำมาใช้ในโครงการ โดยลูกสมที่ได้ จากข้อ 6 จะเป็น ชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1

8. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้าที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

9. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

10 ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริกบนฝักพริกที่ได้จากต้น ข้อที่ 9 (ใช้วิธีการทดสอบ และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

11. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม F1

12. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

13. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

14. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์แม่เป็นเกณฑ์

15. ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสของลูกผสม BC1 ที่คัดเลือกจาก ข้อ 14 โดยใช้เชื้อราสาเหตุ 2 สายพันธุ์ (isolates) ข้อที่ 13 (ใช้วิธีการทดสอบ ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

16. ปลูกพริกที่ได้คัดเลือกจากข้อ 13 และ 14 ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1

17. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

18. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC2โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1

19. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

20. คัดเลือกต้นพริกลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

21 ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส จากต้นที่คัดเลือก ตามข้อ 20 โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส

22. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC2 ที่คัดเลือก จากข้อที่ 20 และต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC3

23. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC3 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

20. คัดเลือกต้นพริกลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

21 ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสจากต้นที่คัดเลือกจากข้อ 20 โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรคแอนแทรคโนส

22. ปลูกขยายพันธุ์ ลูกผสม BC3 ที่ผ่านการคัดเลือกจาก ข้อ 20 และ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส เพื่อตรวจสอบความสม่ำเสมอ ต่อไป เพื่อการทดสอบลักษณะต่างๆทางพืชสวนต่อไป

23. ปลูกทดสอบในแปลงทดสอบและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิตและต้านทานแอนแทรคโนส

24. ปลูกทดสอบในแปลงเกษตรกรและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิต และต้านทานแอนแทรคโนส

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการดำเนินการ ตุลาคม 2549-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

ปี 2549 ได้ทดสอบปฏิกิริยาของพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริกจากสายพันธุ์ที่ได้เป็นพันธุ์แนะนำที่มีในประเทศ และ สายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ ประเทศไต้หวัน (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์แนะนำที่มีในประเทศ. พิจิตร 06, พิจิตร 05, พิจิตร 1, พิจิตร 007, 05-13-4-5-7, 17-6-10-3-3, 8-6-10-1-2, 14-6-4-4-4, 10-2-8-8-10, สายพันธุ์จาก AVRDC ประกอบด้วย BC3F6, CM 334, PBC 137, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 201232, PI 1201234, PI 1201238 PI 189550, CNPH 703 กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* (C60) *และ C. Capsici* (C56) ที่มีความรุนแรง โดยใช้กรรมวิธีการประเมินความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก ในสภาพห้องปฏิบัติการ และทดลองซ้ำ 2 ครั้ง (ในระยะแรก การปลูกเชื้อโดยใช้เครื่องมือที่ได้รับความช่วยเหลือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ไม่ประสบผลสำเร็จ จึงได้พัฒนาขึ้นใหม่ และสามารถใช้ได้ดี) และเพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองพบว่ามี 2 สายพันธุ์ “PBC 932 และ PBC 81” ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส (ตารางที่ 1) สายพันธุ์ดังกล่าวได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) และได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทาน “PBC 932 และ PBC 81” กับ สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นพันธุ์แนะนำ ซึ่งผลการทดลองพบว่าประสพความสำเร็จ ในการผสมข้ามได้เฉพาะ “PBC 392” และได้ผลิตลูกผสมชั่ว F1 ของ PBC 932 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ เพื่อปลูกที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร เพื่อจะได้ทดสอบปฏิกิริยากับโรคแอนแทรคโนสของลูกผสมในชั่วการเจริญเติบโตที่ 1 (F1) และจัดสร้างลูกผสม BC1 โดยผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ในปีงบประมาณ 2550 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองในปีงบประมาณ 2549 ได้สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส เพื่อที่จะใช้เป็นพ่อพันธุ์เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคแอนแทรคโนส คือ สายพันธุ์ PBC 932 และ PBC 81 แต่จากการทดลองความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคเพื่อสร้างลูกผสมนั้นพบว่า PBC 932 เท่านั้นสามารถกระทำได้ และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ และจะทดสอบคุณสมบัติในการต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส และสร้างลูกผสม BC1 ต่อไปในปีงบประมาณ 2550

คำขอบคุณ

การทดลองได้รับความร่วมมืออย่างดีในการให้คำแนะนำ สายพันธุ์ต้านทานโรค เทคนิคในการวิจัย และความช่วยเหลือแนะนำในการทดลองจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

บุญญวดี จิระวุฒิ 2540. การให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริกและการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช 66 หน้า

สมศิริ จิ๋วสกุล 2521. เซรุ่มวิทยา การถ่ายทอดทางเมล็ดของโรคแอนแทรคโนสของพริกและประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมโรคบนใบ

อรพรรณ วิเศษสังข์ จุมพล สาระนาค วิชิต จรัสเจษฎาและ ลักษณา วรรณภีร์ 2525. ปฏิกิริยาของพริกบางพันธุ์ต่อโรคแอนแทรคโนส รายงานผลการทดลอง สาขาโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

Gniffke P. 2003 Host resistance to antracnose, AVRDC. Progress Report 2002. Shanhua, Taiwan: AVRDC – the World Vegetable Center. pp. 29–30

Jae Bok Yoon 2003 Identification of Genetics Resources, Interspecific Hybridization and Inheritance Analysis for Breeding Pepper (*Capsicum annum*). Dessertation , Graduate School Seoul National University.

Pakdeevaraporn P., S. Wasee, P. W. J. Taylor, O. Mongkolporn 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in Capsicum Plant Breeding 124 (2), 206–208.

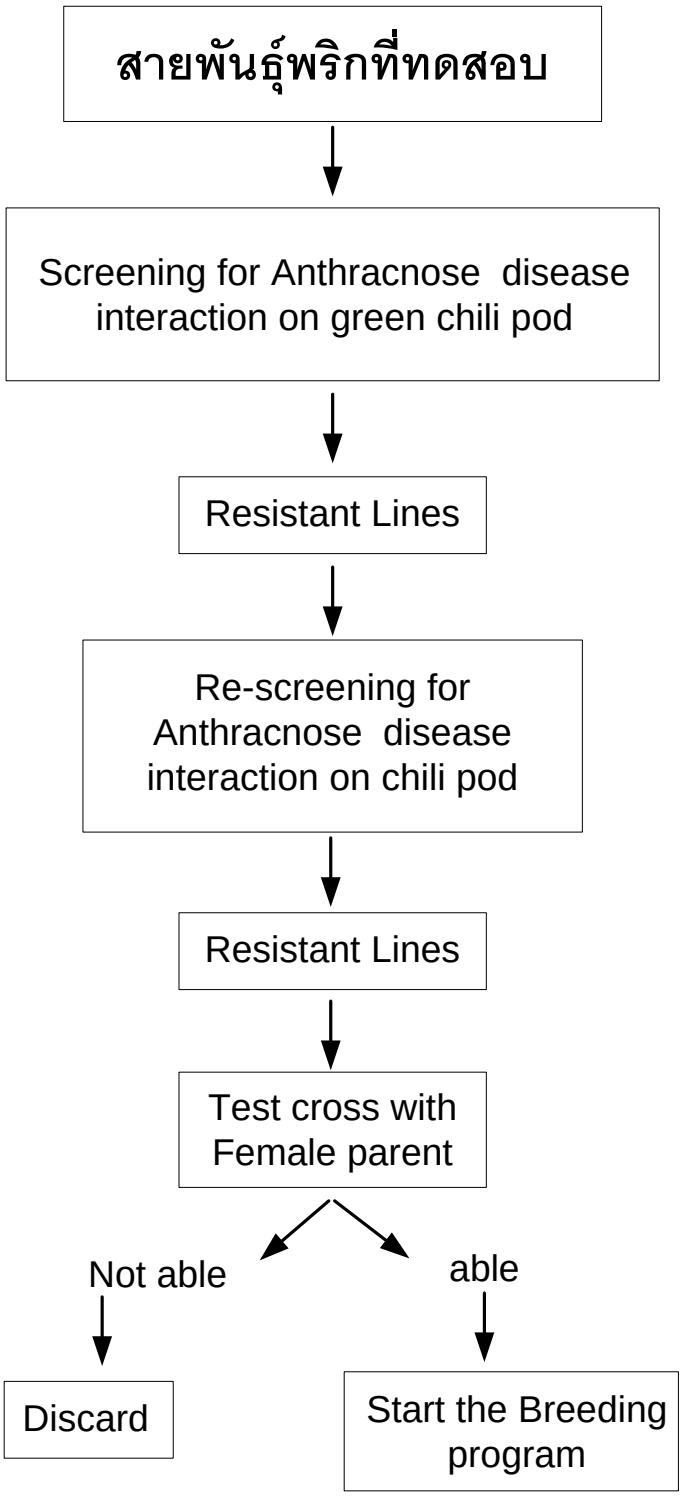
ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาตอบสนองของสายพันธุ์พริก ในการทดสอบความต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส โดยใช้ฝักเขียว กับ เชื้อราสาเหตุ *Colletotrichum. capsici* และ *C. gloeosporioides*

สายพันธุ์		*C. capsici*	*C. gloeosporioides*	แหล่งที่มาของสายพันธุ์
		C56	C60	
1	พิจิตร 06	1.7	2.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
2	พิจิตร 05	1.6	1.4	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
3	พิจิตร 1	2.3	1.9	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
4	พิจิตร 007	1.9	2.0	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
5	05-13-4-5-7	0.5	1.1	กาญจนบุรี
6	17-6-10-3-3	1.3	0.7	กาญจนบุรี
7	8-6-10-1-2	0.9	0.4	กาญจนบุรี
8	14-6-4-4-4	0.6	0.6	กาญจนบุรี
9	10-2-8-8-10	1.2	0.8	กาญจนบุรี
10	BC3F6	0.9	0.9	AVRDC
11	CM 334	0.6	0.8	AVRDC
12	PBC 137	1.9	1.8	AVRDC
13	PI 201232	1.8	1.2	AVRDC
14	PBC 81	0.1	0.1	AVRDC
15	PI 1201234	0.9	0.5	AVRDC
16	PM 331	1.5	1.2	AVRDC
17	PI 189550	1.2	1.4	AVRDC
18	PBC 932	0.1	0.2	AVRDC
19	PI 1201238	0.8	0.5	AVRDC
20	CNPH 703	0.8	0.6	AVRDC

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. ผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ยของแผลของโรคที่เกิดจากการปลูกเชื้อจาก การทดลองซ้ำ 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ขั้นตอนการทดสอบการตอบสนองของสายพันธุ์พริกต่อการพัฒนาของโรคแอนแทรคโนส



รูปที่ 1 ขั้นตอนการทดสอบการตอบสนองของสายพันธุ์พริกต่อการพัฒนาของโรคแอนแทรคโนส

การปรับปรุงพริกขี้หนูสดใหญ่เพื่อต้านทานโรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย

ศิริพงษ์ คุ้มภัย* นรินทร์ พูนเพิ่ม**
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล* อำนวย อรรถลังรอง บูรณี พั่ววงษ์แพทย์***
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช* ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร **

บทคัดย่อ

ได้ทดสอบกล้าพริกจากสายพันธุ์พริก ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคเหี่ยวของพริก ที่เกิดจากเชื้อ แบคทีเรีย ที่ได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) และจากการเก็บรวบรวมจากสายพันธุ์พริกในประเทศ จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ จำนวน 3 isolates และในเรือนปลูกทดลอง ผลการทดลองพบว่ามีเชื้อแบคทีเรีย 1 isolate (RSS) มีความรุนแรงสูงมาก และยังไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทาน isolate ดังกล่าวมีความเฉพาะพื้นที่สูงมาก การทดลองได้ใช้ 2 isolate (1178 และ 1563) เป็นพื้นฐาน พบมีสายพันธุ์ 1 สายพันธุ์ คือ ที่ไม่แสดงอาการคือสายพันธุ์ PBC384 ซึ่งได้ปลูก และทดสอบอีก 2 ครั้งพบว่าไม่แสดงอาการของโรค ซึ่งได้ใช้สายพันธุ์ PBC384 เป็นสายพันธุ์พ่อในโครงการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยว เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานสู่สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ และได้ทดสอบความสามารถในการต้านทานโรค ในสภาพแปลงทดลอง ที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร ผลการทดลองความสามารถในการผสมข้ามของสายพันธุ์ PBC384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ พบว่ามีความเป็นไปได้ และได้สร้างลูกผสม F1 จากการผสมข้าม และเพาะกล้าลูกผสมที่ได้ปลูก ที่โรงเรือนทดลอง สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อนำกล้าพริกที่เกิดจากการผสมตัวเองมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และจะทำการผสมกลับ (back cross) ต่อไปในปีต่อไป 2550

รหัสโครงการ 01-16-49-01

คำนำ

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวที่มีความสำคัญมากกับพริกโรคหนึ่ง เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคมีพืชอาศัยกว้างกับพืชมาก กว่า 200 ชนิดใน 44 วงศ์ ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืช ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย สภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ของเชื้อ (strain) ซึ่งในพื้นที่หนึ่งๆอาจพบสายพันธุ์ของเชื้อมีมากกว่า 1 สายพันธุ์ (Okabe and Goto,1952) แต่ละสายพันธุ์มีระดับความรุนแรงเฉพาะตัวต่างกัน (Digat,1968) การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยาก เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถที่จะคงอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง และที่สำคัญคือไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคนี้ การปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคเหี่ยว ควรจะเป็นเป็นวิธีหนึ่ง แต่จากรายงานผลงานวิจัยบางส่วนพบว่ามีความยุ่งยากและมีรายงานบางครั้งไม่ให้ผลในการควบคุมโรค ซึ่งเหตุผลเนื่องจากพืชพันธุ์ที่ต้านทานคัดเลือกมาจากแหล่งใดแหล่งหนึ่งเพียงแหล่งเดียวอาจจะไม่แสดงความต้านทานเมื่อนำไปปลูกในแหล่งอื่น ซึ่งเนื่อง มาจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุเป็นคนละสายพันธุ์ (Grimsley และ Wang, 1998) นอกจากนี้ยังพบปรากฏการของพริกที่แสดงปฏิกิริยาว่าต้านทานต่อโรคแต่จริงเป็นการทนโรค (tolerance) กล่าวคือเชื้อแบคทีเรียสาเหตุสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณในพืชได้ แต่ไม่ทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยว (นิพนธ์และคณะ ,2542) ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานต่อโรคเหี่ยวจะต้องเพิ่มความเข้าใจและความร่วมมือกันในการทดลองทุกขั้นตอนระหว่างนักวิจัยในสาขาวิชาต่างๆ

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรคเหี่ยวทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ PBC743, PBC535, PBC1347 PBC204, PBC473, PBC1367, PBC385, PBC375, PBC66, PBC631-A, CA 8, PBC631-B, CA8, PBC384, PBC67
2. สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และให้ผลผลิตสูง 1 สายพันธุ์
3. อุปกรณ์ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว
4. เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยว *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* 3 สายพันธุ์ (isolates) (11781, 563 และ RSS) ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง
5. วัสดุปลูก และเฉพาะสำหรับเพาะต้นกล้าพริก
6. พาชนะปลูก ถาดหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า
7. อุปกรณ์ ผสมดอก

8. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์

9. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

วิธีการ

1 ปลูกสายพันธุ์พริกในประเทศ จากแหล่งเก็บพันธุกรรมพริกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพริก สถานีทดลองพืชสวนกาญจนบุรี และจากต่างประเทศที่มีประวัติต้านทานต่อโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

2. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงในถ้วยปลูกในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชเพื่อ ให้กล้าพริกโตเต็มที่

3. ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* 3 สายพันธุ์ (isolates) 1178, 1563 และ RSS ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวระบาดในพื้นที่ปลูกพริก โดยปลูกเชื้อในดินรอบๆกล้าพริกจากข้อที่ 2 และตัดใบด้วยกรรไกรชุบเชื้อแบคทีเรียทั้ง 20 สายพันธุ์ [ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในสภาพโรงปลูกทดลอง

4. ได้ทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวทั้ง 3 สายพันธุ์ (isolates) ซ้ำ กับพันธุ์พริกทั้ง 20 สายพันธุ์ อีก 1 ครั้ง เพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคพริก ทั้ง 20 สายพันธุ์ เพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้น

5. คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่แสดงอาการต้านทานต่อโรคเหี่ยวที่ผ่านการทดสอบ ทั้ง 2 ครั้ง โดยดูจากอาการเหี่ยวที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบกับพันธุ์ที่อ่อนแอ ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรคเหี่ยว

6. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี โดยให้พันธุ์ที่ต้านทานเหี่ยวจากข้อ 5 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ เป็นสายพันธุ์แม่

(ขั้นตอนการทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์พริกกับโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย 1-6 แสดง ในรูปที่ 1)

7. สายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานโรค และสามารถผสมข้ามได้ จะนำมาใช้ในโครงการ โดยลูกผสมที่ได้ จากข้อ 6 จะเป็น ชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 และผสมตัวเอง (selfing)

8. ปลูกเมล็ดพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 จากข้อ 7 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้าที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

9. เมื่อกล้าพริกที่มีอายุ 1 เดือน ส่วนหนึ่งแบ่งมาทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคเหี่ยว ตามข้อที่ 3 เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นทางพันธุกรรม และลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัย

พัฒนาการอารักขาพืช และที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต

10. ผสมตัวเอง และ ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม F1 จากข้อ 9

11. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ self F1 และ BC1 ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

12. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

13. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์แม่เป็นเกณฑ์

14. ทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวของลูกผสม BC1 ที่คัดเลือกจาก ข้อ 13 โดยใช้เชื้อราสาเหตุ 2 สายพันธุ์ (isolates) ข้อ 13 (ใช้วิธีการทดสอบ ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในสภาพเรือนปลูกพืช

15. ปลูกพริกที่ได้คัดเลือกจากข้อ 13 และ 14 ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1

16. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร

17. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC2โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1

18. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร

19. คัดเลือกต้นพริกในชั่ว BC2 ลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

20 ทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยว จากต้นที่คัดเลือก ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค เหี่ยว

21. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC2 ที่คัดเลือก จากข้อที่ 20 และต้านทานต่อโรคเหี่ยว โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC3

22. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC3 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือน ลงแปลงปลูกทดลองที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

23. คัดเลือกต้นพริกในชั่ว BC3 ลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

24 ทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวจากต้นที่คัดเลือกจากข้อ 20 ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรคเหี่ยว

25. ปลูกขยายพันธุ์ ลูกผสม BC3 ที่ผ่านการคัดเลือกจาก ข้อ 20 และ ต้านทานต่อโรคเหี่ยว เพื่อตรวจสอบความสม่ำเสมอ ต่อไป เพื่อการทดสอบลักษณะต่างๆทางพืชสวนต่อไป

26. ปลูกทดสอบในแปลงทดสอบและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิตและต้านทานต้นเหี่ยว

27. ปลูกทดสอบในแปลงเกษตรกรและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิต และต้านทานต้นเหี่ยว

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการดำเนินการ ตุลาคม 2549-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

ได้ทดสอบต้นกล้าพริกจากสายพันธุ์พริกต่างๆ จำนวน 20 สายพันธุ์ ที่ปลูกในประเทศไทย คือ พิจิตร 05, พิจิตร 06, พิจิตร 0047, พิจิตร 0015, พิจิตร 0019, พิจิตร 27-2-1-1, พิจิตร 26-1-1-1 และสายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากต่างประเทศ ศูนย์พืชผักระหว่างประเทศ (AVRDC) PBC743 PBC535 PBC1347, PBC204, PBC473, PBC1367, PBC385, PBC375, PBC66, PBC631-A CA 8, PBC631-B CA8, PBC384, PBC67 ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อ แบคทีเรีย ที่ได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ จำนวน 3 isolates (1178, 1563 และ RSS) กับกล้าอายุ 1 เดือน ในสภาพเรือนปลูกทดลอง ผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรีย isolate (RS-S) มีความรุนแรงสูงมาก และยังไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทาน isolate ดังกล่าวได้เก็บมาจากพื้นที่ปลูกพริก จ. เชียงใหม่ isolate 1178 และ isolate 1563 ซึ่งเป็น isolate พื้นฐาน พบมีสายพันธุ์ 1 สายพันธุ์ ที่แสดงอาการต้านทาน คือสายพันธุ์ PBC384 ซึ่งได้ปลูก และทดสอบอีก 2 ครั้ง พบว่าไม่แสดงอาการเหี่ยว ซึ่งได้ใช้สายพันธุ์ PBC384 เป็นสายพันธุ์พ่อในโครงการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยว เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานสู่สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ และการทดลองความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC 384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ สามารถกระทำได้ และได้สร้างลูกผสม F1 จากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ และเพาะกล้าลูกผสมที่ได้ปลูกที่โรงเรือนทดลอง ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และนำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และจะนำกล้าพริกที่ได้พริกลูกผสม F1 self ทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และจะทำการผสมกลับ (back cross) ต่อไปในปีต่อไป 2550

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อแบคทีเรีย 1 isolate (RS-S) มีความรุนแรงสูงมาก และยังไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทาน isolate ดังกล่าวได้เก็บมาจากพื้นที่ปลูกพริก จ. เชียงใหม่เชื้อ isolate ดังกล่าวมีความเฉพาะพื้นที่สูงมาก ถ้านำมาใช้ในการทดลองอาจจะทำให้ศูนย์เสีย germplasm สำหรับ isolate 1178 และ isolate 1563 ซึ่งเป็น isolate พื้นฐาน พบมีสายพันธุ์ 1 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ PBC384 และจากการทดลองพบว่าสามารถผสมข้าม กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ได้ สร้างลูกผสม F1 จากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ ได้ปลูกที่โรงเรือนทดลอง ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และนำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และจะนำกล้าพริกที่ได้พริกลูกผสม F1 จากการผสมตัวเองมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และจะทำการผสมกลับ (back cross) ในปีงบ ประมาณ 2550 ต่อไป

คำขอบคุณ

การทดลองได้รับความร่วมมืออย่างดีในการให้คำแนะนำ สายพันธุ์ต้านทานโรค เทคนิคในการวิจัย และความช่วยเหลือในการทดลองจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ ทวีชัย,วิชัย โฆสิตรัตน และ ชลิดา เล็กสมบูรณ์ . 2542. ความต้านทานโรคต้นเหี่ยวของพริกและการเข้าทำลายพริกของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* น.45. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่37 สาขาพืช,3-5 กุมภาพันธ์ 2542. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วนิดา ฐิตะฐาน. 2542 . โรคต้นเหี่ยวของพืชที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* . กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ศุทธนา คล้ายมงคล 2543. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในประเทศไทย จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค REP-PCR. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Bassett, M. J. 1986. Breeding Vegetable Crops. AVI Pub. 584pp. Vegetable Breeding

Buddenhagen, I. W., T.A. Elsasser. 1962. An insect-spread bacterial wilt epiphytotic of Bluggoe banana. Nature . 194:164-165.

Cláudia S. da C. Ribeiro1; Osvaldo B. de Souza 2; Daíse Lopes3; Francisco J. B. Reifschneidr, 2002. *Capsicum* Breeding at The Embrapa's Natinnal Research Center for Vegetable Crops Brazil. Proceedings of the 16th International Pepper Conference Tampico, Tamaulipas, Mexico. November 10 –12, 2002

Cook, D., E. Barlow, and L. Sequiera. 1989. Genetic Diversity of *Pseudomonas solanacearum* : detection of restriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and hypersensititive response. Mol Plant-Microbe Inter 2:113-121.

Cook, D., E. Barlow, and L. Sequiera. 1991. DNA probes as tools for the study of host pathogen evolution: the example of *Pseudomonas solanacearum*. In: Hennecke H. and D.P. Verma. (eds) Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions, Vol.1. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 103-108.

Digat, B. 1968. Why and how to distuguish the *Pseudomonas solanacearum* strins, causal agent of the bacterial wilt of Solanaceous and Musaceous crops in the caribbean Zone.6 th Ann. Conf. Caribbean Food Crops. Soc. 1968. Cited in Lum,K.Y. 1973. Cross binoculation studies of *Pseudomonas solanacearum* ginger. MARDI Research Bulletin. 1(1): 15-21.

Grimsley,N. and J.F. Wang. 1998. Chair's perspective:host resistance, pp. 197-199. *In* P.H.Prior, C. Allen and J. Elphinstone (eds.).Bacterial wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects . Springer-verlag, Germany.

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

Hayward, A.C. 1994. Sytemics and phylogeny of *Pseudmonas solanacearum* and related bacteria, pp. 123-135. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (eds.) .Bacterial Wilt; The Disease and Its Causative Agent, *Pseudmonas solanacearum* . CAB international , Wallingford, United Kingdom.

He, L.Y., L. Sequiera and A. Kelman. 1983. Characteristics of strains of *Pseudmonas solanacearum* from China. Plnt Disease. 67: 1357-1361.

Jaunet,T.X., J.F. Wang. 1999. Variation in genotype and aggressiveness of repetitive elements in the genome of Escherichia coli, Salmonella typhimurium and other eubacteria. Mol. Mocribiolol. 59:925-934.

Nelson,R.R.1977. Breeding Plant for Disease Resistance. Pennsylvania State University.398 pp.

Okabe, N. and M. Goto. 1952. Studies on *Bacterium solanacearum* with special reference to the kinds of strains and their classification and with special reference to the pathogenicity of strain, pp. 203-230. *In*, I. W . Buddenhagen and A. Kelman. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudmonas solanacearum* . Ann. Revev. Of Phytopath.2:203-230.

Russell, G. E. 1978. Plant Breeding for Pest and Disease Resistance. Butterworths and co. 485pp.

Welsh,J., M. McClelland. 1991. Genomic fingerprints produced by PCR with consensus t RNA gene primers. Nucleic Acids Res. 19:846-866.

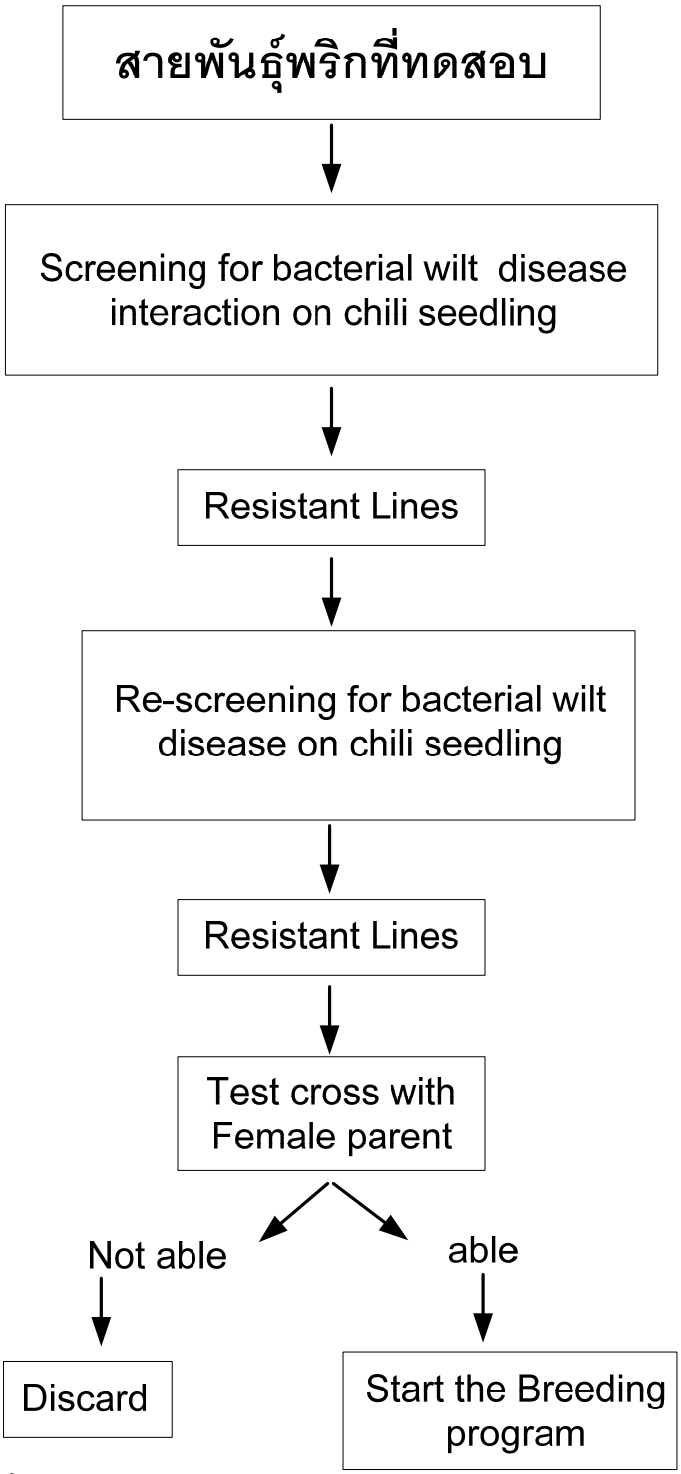
Woese, C.R. 1987. Bacterial Evolution . Microbiological Reviews. 5: 221-271.

ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาตอบสนองของสายพันธุ์พริก ในการทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยว กับเชื้อสาเหตุ *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* 3 isolate

	Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum isolates			
สายพันธุ์	1178	1563	RS-S	แหล่งที่มา
พิจิตร 05	1.6	2.3	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 0019	2.2	1.4	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 0015	3.2	1.6	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 0047	2.4	2.0	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 06	2.7	1.8	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 27-2-1-1	1.5	1.0	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 26-1-1-1	1.1	1.4	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
PBC743	2.1	1.4	5	AVRDC
PBC535	2	1.5	5	AVRDC
PBC1347	1.2	1	5	AVRDC
PBC204	1.8	1.1	5	AVRDC
PBC473	1.5	1.5	5	AVRDC
PBC1367	3.8	3.6	5	AVRDC
PBC385	1.2	1	4.6	AVRDC
PBC375	2	1.9	5	AVRDC
PBC66	1.7	1	4.3	AVRDC
PBC631-A CA 8	1.8	1.2	5	AVRDC
PBC631-B CA 8	2.6	1.3	5	AVRDC
PBC384	1	1	4.4	AVRDC
PBC67	1.6	1.4	5	AVRDC

Note: . วิธีการประเมินการเป็นโรค ใช้ระบบการ rating :ของ AVRDC

ขั้นตอนการทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์พริกกับโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย



รูปที่ 1 ขั้นตอนการทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์พริกกับโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

การปรับปรุงพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ต้านทานโรคใบหงิกเหลือง

Chili Varietal Improvement for Yellow Leaf Curl Disease Resistance

วันเพ็ญ ศรีทองชัย อำนวย อรรถลังรอง เยาวภา ตันติวานิช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ไอโซเลทของพริกใบหงิกเหลืองจาก จังหวัด เพชรบูรณ์ และ ศรีสะเกษ สามารถถ่ายทอดโรคใบหงิกเหลืองไปยังพริกพันธุ์ห้วยสีทน พันธุ์จินดา และมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ โดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ และอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลังการถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-5 สัปดาห์ และผลการตรวจเชื้อด้วยวิธี ELISA พบว่า เป็นไวรัส *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) ซึ่งใช้เป็นแหล่งของเชื้อในทดสอบประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรค โดยทดสอบจำนวนแมลงหวี่ขาว 1, 5, 10, 20, 30 และ 40 ตัว/ต้น จากนั้นทดสอบระยะเวลาในการรับเชื้อไวรัสและระยะเวลาในการถ่ายทอดโรคของแมลงหวี่ขาวที่มีประสิทธิภาพสูงสุดบนพริกพันธุ์ห้วยสีทนซึ่งอ่อนแอต่อโรคนี้ โดยเริ่มจาก 30 นาที, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่า ระยะเวลาในการรับเชื้อไวรัสและระยะเวลาในการถ่ายทอดโรคของแมลงหวี่ขาวต้องอย่างน้อย 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ จึงจะสามารถทำให้พืชทดสอบเกิดโรค 100 % สำหรับจำนวนแมลงที่ใช้ในการถ่ายทอดโรคอย่างมีประสิทธิภาพต้องใช้อย่างน้อย 30 ตัว/ต้น และพริกพันธุ์การค้าค่อนข้างอ่อนแอต่อโรค

รหัสโครงการ 01-01-49-01

คำนำ

โรคใบหงิกเหลืองของพริกที่เกิดจากไวรัส สังเกตพบในประเทศไทยมานานแล้ว เดิมเข้าใจว่าเกิดจากแมลงจำพวกเพลี้ยไฟ ไรขาว และเพลี้ยอ่อนเท่านั้น แต่จากการสำรวจโรคไวรัสของพริกในปี พ.ศ. 2534 (เครือพันธุ์ และ นวลจันทร์, 2534) และตรวจหาไวรัสจำนวน 8 ชนิด โดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) กลับไม่พบไวรัสเหล่านั้น ในตัวอย่างโรคที่แสดงอาการใบด่างขีดหรือหย่อมโปร่งแสงระหว่างเส้นใบ เส้นใบเหลือง ใบเล็ก โค้งงอ หดย่นบิดเบี้ยว ยอดเป็นกระจุกและต้นแคระแกร็น ซึ่งอาการของโรคดังกล่าวพบในทุกแหล่งปลูกแทบทุกแห่งในอัตรา 10-100 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจเอกสารพบว่า มีโรคใบหงิกของพริกแพร่ระบาดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียตะวันออก เช่น ในประเทศอินเดีย (Mishra *et al.*, 1963) และศรีลังกา (Sugiura *et al.*, 1975) โดยเฉพาะในหลายท้องที่ของอินเดียตอนเหนือ โรคนี้ทำให้ผลผลิตเสียหายถึง 80 % อาการของโรคนี้ ได้แก่ ต้นเตี้ยแคระแกรน ใบหงิกย่นม้วนงอและด่างเขียวอ่อนหรือเหลือง ใบแก่มีลักษณะเหมือนหนังและเปราะฉีกขาดง่าย โรคใบหงิกเหลืองพบระบาดในแหล่งปลูกพริกทั่วไปของประเทศ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดกาฬสินธุ์ สกลนคร ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี ซึ่งทำความเสียหายต่อการปลูกพริกอย่างรุนแรงถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะกล้า โดยพริกแสดงอาการใบด่างหงิกเหลือง ต้นแคระแกร็น และผลผลิตลดลงถึง 80% โรคนี้เกิดจากไวรัสใบหงิกเหลืองพริก (Pepper yellow leaf curl virus, PeYLCV) มีอนุภาคเป็นรูปทรงกลม อยู่ติดกันเป็นคู่ๆ ขนาดประมาณ 18 x 30 นาโนเมตร จัดอยู่ในสกุลบีโกโมไวรัส (*Begomovirus*) (เครือพันธุ์ และ วันเพ็ญ, 2545)

ในปัจจุบันพริกที่นิยมปลูกเป็นการค้าในประเทศไทย ค่อนข้างอ่อนแอต่อไวรัสใบหงิกเหลือง โดยเฉพาะพริกที่ปลูกในฤดูหนาว ฉะนั้นควรมีการคัดเลือกสายพันธุ์/พันธุ์พริกที่มีแนวโน้มทนทานหรือต้านทานต่อไวรัส เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคนี้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงหวี่ขาวที่ปลอดไวรัส
2. ต้นมะเขือสำหรับเลี้ยงแมลงหวี่ขาว
3. กรงเลี้ยงแมลง
4. พริกสายพันธุ์/พันธุ์ต่างๆจากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และพิจิตร
5. อุปกรณ์ในการถ่ายทอดไวรัสโดยแมลงหวี่ขาว
6. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

วิธีการ

1. แหล่งของเชื้อไวรัส

เก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการใบหงิกเหลืองจากแปลงเกษตรกร ในจังหวัดเพชรบูรณ์ และ ศรีสะเกษ จากนั้นนำมาถ่ายทอดโรคลงบนพริกและมะเขือเทศ โดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ หลังจากพืชทดสอบแสดงอาการของโรคแล้ว จึงนำมาตรวจสอบชนิดของไวรัสโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา คือ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) กับโมโนคลอนอลแอนติบอดี (Mab) ของเจมินีไวรัส 2 ชนิด ได้แก่ M1 (ทำปฏิกิริยาเฉพาะกับไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ, TYLCV) และ D2 (ทำปฏิกิริยากับเจมินีไวรัสทุกชนิด) ขั้นตอนการตรวจสอบไวรัสโดยวิธี ELISA มีดังนี้

1. เคลือบเพลท (microplate, Nunc) ด้วยโพลีคลอนอลแอนติบอดีของ pumpkin yellow leaf puckering virus (PYLPV) อัตรา 1:5,000 ใน 0.05 M carbonate buffer pH 9.6 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 2 ชั่วโมง

2. ล้างเพลทด้วย washing buffer (phosphate buffer saline, PBS + 0.05% Tween 20) 4 ครั้งๆละ 3 นาที

3. หยอด 2% BSA (Albumin, Bovine Fraction V) ใน washing buffer หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

4. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

5. หยอดน้ำคั้นพืชที่ต้องการตรวจสอบ (บดใบพืช 1 กรัมใน 2.5 มิลลิลิตรของ 0.05 M Tris-HCl, 0.06 M sodium sulphite, pH 8.5 ปั่นที่ 10,000 rpm นาน 5 นาที เก็บน้ำใส) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

6. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

7. หยอดโมโนคลอนอลแอนติบอดี (M1 & D2) อัตรา 1: 200 ใน 0.5% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

8. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

9. หยอด goat anti-mouse conjugate alkaline phosphatase อัตรา 1:2,000 ใน 0.05% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

10. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

11. หยอด substrate (p-nitrophenyl phosphate) ใน diethanolamine buffer อัตรา 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อ่านผลด้วยเครื่องอ่าน ELISA ที่ 405 nm

2. การทดสอบประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรคของแมลงหวี่ขาว

2.1 ทดสอบจำนวนแมลงหวี่ขาวต่อต้น

โดยปล่อยแมลงหวี่ขาวบนต้นพริกที่แสดงอาการใบหงิกเหลืองนาน 3 วัน จากนั้นใช้ aspirator ดูดแมลงหวี่ขาวจำนวน 1, 5, 10, 20, 30 และ 40 ตัว/ต้น ปล่อยบนพริกพันธุ์ห้วยสีทนอายุประมาณ 40 วันหลังปลูก ทดสอบ 10 ต้น/treatment หลังจากนั้น 3 วันพ่นสารกำจัดแมลงก่อนนำไปเก็บในโรงเรือนกันแมลง เพื่อสังเกตอาการหรือไวรัส

2.2 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการรับเชื้อไวรัส (acquisition feeding period)

โดยปล่อยแมลงหวี่ขาวบนต้นพริกที่แสดงอาการใบหงิกเหลืองนาน 30 นาที, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นใช้ aspirator ดูดแมลงหวี่ขาวจำนวน 40 ตัว/ต้น ปล่อยบนพริกพันธุ์ห้วยสีทนอายุประมาณ 40 วันหลังปลูก ทดสอบ 10 ต้น/treatment หลังจากนั้น 3 วันพ่นสารกำจัดแมลงก่อนนำไปเก็บในโรงเรือนกันแมลง เพื่อสังเกตอาการหรือไวรัส

2.3 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส (inoculation feeding period)

โดยปล่อยแมลงหวี่ขาวบนต้นพริกที่แสดงอาการใบหงิกเหลืองนาน 3 วัน จากนั้นใช้ aspirator ดูดแมลงหวี่ขาวจำนวน 40 ตัว/ต้น ปล่อยบนพริกพันธุ์ห้วยสีทนอายุประมาณ 40 วันหลังปลูก นาน 30 นาที, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง ทดสอบ 10 ต้น/treatment หลังจากนั้น พ่นสารกำจัดแมลงก่อนนำไปเก็บในโรงเรือนกันแมลง เพื่อสังเกตอาการหรือไวรัส

3. ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองของพริกพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้แมลงหวี่ขาวในการถ่ายทอดโรคในเรือนทดลอง

เพาะเมล็ดพริกพันธุ์ต่างๆ ที่นิยมปลูกเป็นการค้า หลังจากนั้นประมาณ 40 วัน นำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลือง โดยให้แมลงหวี่ขาวรับเชื้อและถ่ายทอดเชื้อนาน 48 ชั่วโมง จำนวน 40 ตัว/ต้น 20 ต้น/พันธุ์ ถ้าต้นใดไม่แสดงอาการของโรค นำมาตรวจสอบด้วยวิธี ELISA กับโมโนคลอนอลแอนติบอดี M1

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2548 - กันยายน 2549

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. แหล่งของเชื้อไวรัส

ไอโซเลทของพริกใบหงิกเหลืองจาก จังหวัด เพชรบูรณ์ (PCB) และ ศรีสะเกษ (SSK1 และ SSK2) สามารถถ่ายทอดโรคใบหงิกเหลืองไปยังพริกพันธุ์ห้วยสีทน พันธุ์จินดา และมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ โดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ และอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลัง

การถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-5 และผลการตรวจเชื้อด้วยวิธี ELISA พบว่า เป็นไวรัส *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1. ผลการตรวจสอบชนิดของไวรัสสาเหตุโรคใบหงิกเหลืองของพริกจากแหล่งปลูก โดยวิธี ELISA

ตัวอย่างพืช	ค่า Absorbances ที่ 405 nm	
	โมโนคลอนอล M1 (TYLCV)	โมโนคลอนอล D2 (เจมินีไวรัสทั่วไป)
พริก จ. เพชรบูรณ์ (PCB)	0.742	1.577
พริก จ. ศรีสะเกษ (SSK-1)	0.958	2.034
พริก จ. ศรีสะเกษ (SSK-2)	0.826	1.774
มะเขือเทศใบหงิกเหลือง(TYLCV)	0.517	1.321
แตงกวาใบหงิกเหลือง	0.148	1.015
มะเขือเทศปกติ	0.116	0.131
พริกปกติ	0.173	0.178
แตงกวาปกติ	0.118	0.131

2. การทดสอบประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรคของแมลงหวี่ขาว

2.1 ทดสอบจำนวนแมลงหวี่ขาวต่อต้น

พบว่าจำนวนแมลงหวี่ขาวที่เริ่มถ่ายทอดโรคได้ คือ 10 ตัว/ต้น แต่ในการถ่ายทอดโรคอย่างมีประสิทธิภาพต้องใช้แมลงหวี่ขาวอย่างน้อย 30-40 ตัว/ต้น (ตารางที่ 2) โดยแตกต่างจากโรคเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียวที่แมลงหวี่ขาวจำนวน 10 ตัว/ต้น สามารถถ่ายทอดโรคได้ 100%

2.2 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการรับเชื้อไวรัส (acquisition feeding period)

พบว่าระยะเวลาในการรับเชื้อไวรัสของแมลงหวี่ขาวต้องอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จึงจะสามารถทำให้พืชทดสอบเกิดโรค 100 % (ตารางที่ 3)

2.3 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายทอดเชื้อไวรัส (inoculation feeding period)

พบว่าระยะเวลาในการถ่ายทอดโรคของแมลงหวี่ขาวต้องอย่างน้อย 48 ชั่วโมง จึงจะสามารถทำให้พืชทดสอบเกิดโรค 100 %(ตารางที่ 4)

ตารางที่ 2. เปรียบเทียบจำนวนแมลงหวี่ขาวต่อต้น ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรค

จำนวนแมลงหวี่ขาวต่อต้น	อัตราการเกิดโรค (%)
1	0
5	0
10	10
20	20
30	90
40	100

ตารางที่ 3. ระยะเวลาในการรับเชื้อของแมลงหวี่ขาวที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรค

ระยะเวลาในการรับเชื้อ (ชม.)	อัตราการเกิดโรค (%)
0.5	0
6	0
12	40
24	100
36	100
48	100

ตารางที่ 4. ระยะเวลาในการถ่ายทอดเชื้อของแมลงหวี่ขาวที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรค

ระยะเวลาในการถ่ายทอดเชื้อ (ชม.)	อัตราการเกิดโรค (%)
0.5	0
6	0
12	30
24	70
36	90
48	100

4. ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองของพริกพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้แมลงหวี่ขาวในการถ่ายทอดโรคในเรือนทดลอง

พบว่าไวรัส 3 ไอโซเลท มีอัตราการเข้าทำลายพริกพันธุ์ต่างๆคล้ายคลึงกัน พันธุ์ที่ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรค คือ พันธุ์จินดา และ พันธุ์ห้วยสีทน ในขณะที่พริกหนุ่มค่อนข้างต้านทานต่อโรค สำหรับพันธุ์พันธุ์ซุปเปอร์ฮอทค่อนข้างอ่อนแอต่อไวรัสไอโซเลทจาก ศรีสะเกษ แต่ค่อนข้างทนทานต่อไอโซเลทจากเพชรบูรณ์ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5. ปฏิกิริยาของพริกพันธุ์ต่างๆต่อไวรัสใบหงิกเหลืองพริก

พืชทดสอบ	ลักษณะอาการของโรค (จำนวนต้นเป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด)		
	PCB	SSK-1	SSK-2
พันธุ์จินดา	LC, GN, LL (15/19)	LC, CK,YM (14/10)	LC, CK, YM (16/20)
พันธุ์ห้วยสีทน	LC, GN, YM (19/20)	LC, M (18/20)	LC, GN, YM (19/20)
พันธุ์หัวเรือ	LC, YM (5/20)	VY, CK (6/20)	WM, LC (8/20)
พันธุ์ซุปเปอร์ฮอท	CS, Mo, VB (3/20)	VY, VB (12/19)	LC, Mo (14/19)
พริกหนุ่ม	LC (4/18)	Mo, LC (3/17)	LC (5/20)

CK = Crinkle leaf (ใบเป็นคลื่น)

CS = Chlorotic spot (จุดเหลือง)

GN = Green netting (เส้นใบสานเป็นร่างแห สีเขียวอ่อน)

LC = Leaf curl (ใบม้วนงอ)

LL = Little leaf (ขนาดใบเล็กลง)

Mo = Mottle (ด่างไม่ชัดเจน)

M = Mosaic (ด่างชัดเจน)

VB = Vein banding (แถบสีเขียวตามเส้นใบ)

VY = Vein yellowing (เส้นใบเหลือง)

YM = Yellow mosaic (ใบด่างเหลือง)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไอโซเลทของพริกใบหงิกเหลืองจาก จังหวัด เพชรบูรณ์ และ ศรีสะเกษ สามารถถ่ายทอดโรคใบหงิกเหลืองไปยังพริกพันธุ์ห้วยสีทน พันธุ์จินดา และมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ โดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ และอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลังการถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-5 สัปดาห์ และผลการตรวจเชื้อด้วยวิธี ELISA พบว่า เป็นไวรัส *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) ซึ่งใช้เป็นแหล่งของเชื้อในทดสอบประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรค โดยทดสอบจำนวนแมลงหวี่ขาว 1, 5, 10, 20, 30 และ 40 ตัว/ต้น จากนั้นทดสอบระยะเวลาในการรับเชื้อไวรัสและระยะเวลาในการถ่ายทอดโรคของแมลงหวี่ขาวที่มีประสิทธิภาพสูงสุดบนพริกพันธุ์ห้วยสีทนซึ่งอ่อนแอต่อโรคนี้ โดยเริ่มจาก 30 นาที, 6, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่า ระยะเวลาในการรับเชื้อไวรัสและระยะเวลาในการถ่ายทอดโรคของแมลงหวี่ขาวต้องอย่างน้อย 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ จึงจะสามารถทำให้พืชทดสอบเกิดโรค 100 % สำหรับจำนวนแมลงที่ใช้ในการถ่ายทอดโรคอย่างมีประสิทธิภาพต้องใช้อย่างน้อย 30 ตัว/ต้น และพริกพันธุ์การค้าค่อนข้างอ่อนแอต่อโรค ได้แก่ พันธุ์ห้วยสีทน พันธุ์จินดา สำหรับพันธุ์พันธุ์ซุปเปอร์ฮอทค่อนข้างอ่อนแอต่อไวรัสไอโซเลทจาก ศรีสะเกษ แต่ค่อนข้างทนทานต่อไอโซเลทจากเพชรบูรณ์ ฉะนั้นควรพิจารณาก่อนปลูกว่า พริกพันธุ์เหมาะสำหรับแหล่งปลูกใดของประเทศ

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ นวลจันทร์ ดีมา. 2534. การศึกษาโรคไวรัสของพริกในบางแหล่งปลูกของประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2534. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 36-41.

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

Mishra, M.D., S.P. Raychaudhuri and A. Jha.1963. Virus causing leaf curl of chilli (*Capsicum annuum* L.) *Indian J. Microbiol.*2: 73-76.

Sugiura, M, C.M. Bandaranayke and G.H. Hemashandra. 1975. Chilli virus diseases in Sri Lanka. Trop. Agric. Res. Cent. Ministry of Agric. And Forestry, Japn. Tech. Bull. 8: 62.

การผสมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์พริกชี้ฟ้าเป็นซอสพริก เพื่อต้านทานโรคแอนแทรคโนส

ศิริพงษ์ คุ้มภัย* นรินทร์ พูนเพิ่ม**
ณรงค์ แดงเปี่ยม** อภิรัชต์ สมฤทธิ์* ธารทิพย ภาสบุตร*
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช* ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร**

บทคัดย่อ

ปีงบประมาณ 2549 ได้ทดสอบพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริก จำนวน 20 สายพันธุ์ ทั้งสายพันธุ์ในประเทศ และต่างประเทศ ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรค โดยกรรมวิธีการปฏิบัติของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในระยะแรกไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทานเด่นชัด ในเบื้องต้นพบว่าเกิดจากอุปกรณ์ปลูกเชื้อบกพร่อง และได้พัฒนาอุปกรณ์ปลูกเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส จากเดิมที่ไม่สามารถแยกแยะความต้านทานออกจากอาการอ่อนแอของพริกสายพันธุ์ต่างๆ ได้ชัดเจน และทดสอบอีกครั้ง และได้ทดสอบอีกครั้ง พบพริกสายพันธุ์ PBC 81 และ PBC 932 มีปฏิกิริยาต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสได้ดีทั้ง 2 สายพันธุ์ และได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ เพื่อถ่ายลักษณะต้านทานโรคจากสายพันธุ์ต้านโรคแอนแทรคโนสให้กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ ผลการทดลองในสภาพโรงเรือน พบว่าสามารถกระทำได้เฉพาะสายพันธุ์ PBC 392 และได้จัดสร้างลูกผสม F1 เพื่อนำมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคแอนแทรคโนส และทำการผสมกลับ (back cross) กับลูกผสม F1 ต่อไปในปีต่อไป 2550

รหัสโครงการ 01-16-49-01

คำนำ

ในปัจจุบันพริกมีการปลูกพริกพันธุ์ต่างๆ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พริกรับประทานฝักสด และพริกที่ใช้ในอุตสาหกรรม และเนื่องจากการผลิตพริกต้องประสบกับศัตรูพืชหลากหลายชนิดทำให้จำเป็นต้องมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพริก ทั้งสารกำจัดแมลง โรคพืช และวัชพืช ในปริมาณสูงมาก ซึ่งนอกจากกสิกรจะเสียค่าใช้จ่ายที่สูงมากในการผลิต และยังมีผลตกค้างและเป็นอันตรายทั้งต่อผู้ผลิตและบริโภค โรคพืชโดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporoides* และ *Colletotrichum capsici* มีความสำคัญและทำความเสียหายอย่างมากกับผลลิตพริก ปัจจุบันมีการใช้สารเคมีหลากหลายชนิดในการป้องกันกำจัดและไม่ได้ผลอย่างเต็มที่ในการป้องกันกำจัด การสร้างหรือพัฒนาพันธุ์ที่สามารถต้านทานโรค นอกจากจะเป็นวิธีการที่ปลอดภัยและสามารถลดปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดให้มีปริมาณลดลงแล้ว ยังสามารถที่จะลดต้นทุนการผลิตและเพื่อความปลอดภัย ลดอันตรายทั้งกับกสิกรปลูกพริกและผู้บริโภคอีกด้วย และถ้าจะนำวิธีการทั้งการใช้พันธุ์ต้านทานโรค ผสมผสานกับการใช้วิธีการบริหารโรควิธีอื่นๆที่เหมาะสม จะทำให้ได้เทคโนโลยีในการผลิตพริกที่สามารถแก้ปัญหาการผลิตของเกษตรกรได้ในที่สุด

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ พิจิตร 1, พิจิตร 06, พิจิตร 007, พิจิตร 25-1-2-1, พิจิตร 15-1-1-1, พิจิตร 0015, พิจิตร 0019, พิจิตร 18-1-1-1, 14-10-7-4-4, 17-15-9-1-8, BC3F6, CM 334, PBC 137, PI 201232, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 1201234, PI 189550, และ PI 1201238
2. สายพันธุ์พริกชี้ฟ้า ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และให้ผลผลิตสูง 1 สายพันธุ์
3. อุปกรณ์ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส
4. เชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง
5. วัสดุปลูกพริก และเพาะกล้าพริก
6. ภาชนะปลูก กระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า
7. อุปกรณ์ ผสมดอก
8. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์
9. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

วิธีการ

1 ปลูกสายพันธุ์พริกในประเทศ จากแหล่งเก็บพันธุกรรมพริกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพริก สถานีทดลองพืชสวนกาญจนบุรี และจากต่างประเทศที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

2. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

3. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริก บนฝักพริกที่ได้จากข้อ 2 จำนวน 20 สายพันธุ์ (ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) ซ้ำ อีก 1 ครั้งเพื่อยืนยันการทดสอบปฏิกิริยาต่อโรค ลดความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้น

5. คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่แสดงอาการ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส

6. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี โดยให้พันธุ์ที่ต้านทานแอนแทรคโนสจากข้อ 5 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ เป็นสายพันธุ์แม่

7. สายพันธุ์ที่สามารถผสมข้ามได้ จะนำมาใช้ในโครงการ โดยลูกสมที่ได้ จากข้อ 6 จะเป็น ชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1

(ขั้นตอนการทดสอบการตอบสนองของสายพันธุ์พริกต่อการพัฒนาของโรคแอนแทรคโนส 1-6 แสดงในรูปที่ 1)

8. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้าที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

9. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

10 ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริกบนฝักพริกที่ได้จากต้น ข้อที่ 9

(ใช้วิธีการทดสอบ และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

11. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม F1

12. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

13. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

14. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์แม่เป็นเกณฑ์

15. ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสของลูกผสม BC1 ที่คัดเลือกจาก ข้อ 14 โดยใช้เชื้อราสาเหตุ 2 สายพันธุ์ (isolates) ข้อที่ 13 (ใช้วิธีการทดสอบ ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

16. ปลูกพริกที่ได้คัดเลือกจากข้อ 13 และ 14 ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1

17. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

18. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC2โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1

19. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

20. คัดเลือกต้นพริกลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

21 ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส จากต้นที่คัดเลือก ตามข้อ 20 โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส

22. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC2 ที่คัดเลือก จากข้อที่ 20 และต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC3

23. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC3 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

20. คัดเลือกต้นพริกลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

21 ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสจากต้นที่คัดเลือกจากข้อ 20 โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรคแอนแทรคโนส

22. ปลูกขยายพันธุ์ ลูกผสม BC3 ที่ผ่านการคัดเลือกจาก ข้อ 20 และ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส เพื่อตรวจสอบความสม่ำเสมอ ต่อไป เพื่อการทดสอบลักษณะต่างๆทางพืชสวนต่อไป

23. ปลูกทดสอบในแปลงทดสอบและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิต และต้านทานแอนแทรคโนส

24. ปลูกทดสอบในแปลงเกษตรกรและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิต และต้านทานแอนแทรคโนส

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการดำเนินการ ตุลาคม 2549-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

ปี 2549 ได้ทดสอบพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริก จำนวน 20 สายพันธุ์ แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คอ พันธุ์ในประทศที่เป็นพันธุ์แนะนำ และสายพันธุ์ลูกผสมประกอบด้วย สายพันธุ์ พิจิตร 1, พิจิตร 06, พิจิตร 007, พิจิตร 25-1-2-1, พิจิตร 15-1-1-1, พิจิตร 0015, พิจิตร 0019, พิจิตร 18-1-1-1, 14-10-7-4-4, 17-15-9-1-8 และสายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC).BC3F6, CM 334, PBC 137, PI 201232, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 1201234, PI 189550, PI 1201238 กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* (C60) และ *C.capsici* (C56) ที่มีความรุนแรง โดยกรรมวิธีการประเมินความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริกโดยอุปกรณ์ที่ทำโดยเฉพาะ ในสภาพห้องปฏิบัติการ และทดลองซ้ำ 2 ครั้ง (ในระยะแรก การปลูกเชื้อโดยใช้เครื่องมือที่ได้รับความช่วยเหลือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ไม่ประสบผลสำเร็จ จึงได้พัฒนาขึ้นใหม่ และสามารถใช้ได้ดี) เพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองพบว่ามี 2 สายพันธุ์ “PBC 932 และ PBC 81” ที่แสดงลักษณะต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส (ตารางที่ 1) สายพันธุ์ดังกล่าวได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) การทดสอบความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทานที่ได้ กับสายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่เป็นพันธุ์แนะนำ ซึ่งผลการทดลองพบว่าสามารถที่จะผสมข้ามได้เฉพาะสายพันธุ์ PBC 932 และได้ผลิตลูกผสมชั่ว F1 เพื่อทดสอบปฏิกิริยากับโรคแอน

แทรคโนสของลูกผสมในชั่วการเจริญเติบโตที่ 1 (F1) และจัดสร้างลูกผสม BC1 โดยผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกชี้ฟ้า ในปีงบประมาณ 2550 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองในปีงบประมาณ 2549 ได้สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส เพื่อที่จะใช้เป็นพ่อพันธุ์เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคแอนแทรคโนส ไปสู่สายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี แต่ขาดความสามารถในการต้านทานโรค และจากการทดลองความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกขี้ฟ้าที่เป็นพันธุ์แนะนำ ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี พบว่าสามารถกระทำได้ เพียง PBC 932 และได้สร้างลูกผสมซึ่งอยู่ในชั่วของการเจริญเติบโต F1 เพื่อที่จะทดสอบคุณสมบัติในการต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส และสร้างลูกผสม BC1 ต่อไปในปีงบประมาณ 2550

คำขอบคุณ

การทดลองได้รับความร่วมมืออย่างดีในการให้คำแนะนำ สายพันธุ์ต้านทานโรค เทคนิคในการวิจัย และความช่วยเหลือในการทดลองจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

บุญญวดี จิระวุฒิ 2540. การให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริกและการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช 66 หน้า

สมศิริ จิ๋วสกุล 2521. เซรุ่มวิทยา การถ่ายทอดทางเมล็ดของโรคแอนแทรคโนสของพริกและประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมโรคบนใบ

อรพรรณ วิเศษสังข์ จุมพล สาระนาค วิชิต จรัสเจษฎาและ ลักษณา วรรณภีร์ 2525. ปฏิกิริยาของพริก บางพันธุ์ต่อโรคแอนแทรคโนส รายงานผลการทดลอง สาขาโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

Gniffke P. 2003 Host resistance to antracnose , AVRDC. Progress Report 2002. Shanhua, Taiwan: AVRDC – the World Vegetable Center. pp. 29–30

Jae Bok Yoon 2003 Identification of Genetics Resources, Interspecific Hybridization and Inheritance Analysis for Breeding Pepper (*Capsicum annum*). Dessertation , Graduate School Seoul National University.

Pakdeevaraporn P., S. Wasee, P. W. J. Taylor, O. Mongkolporn 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum* Plant Breeding 124 (2), 206–208.

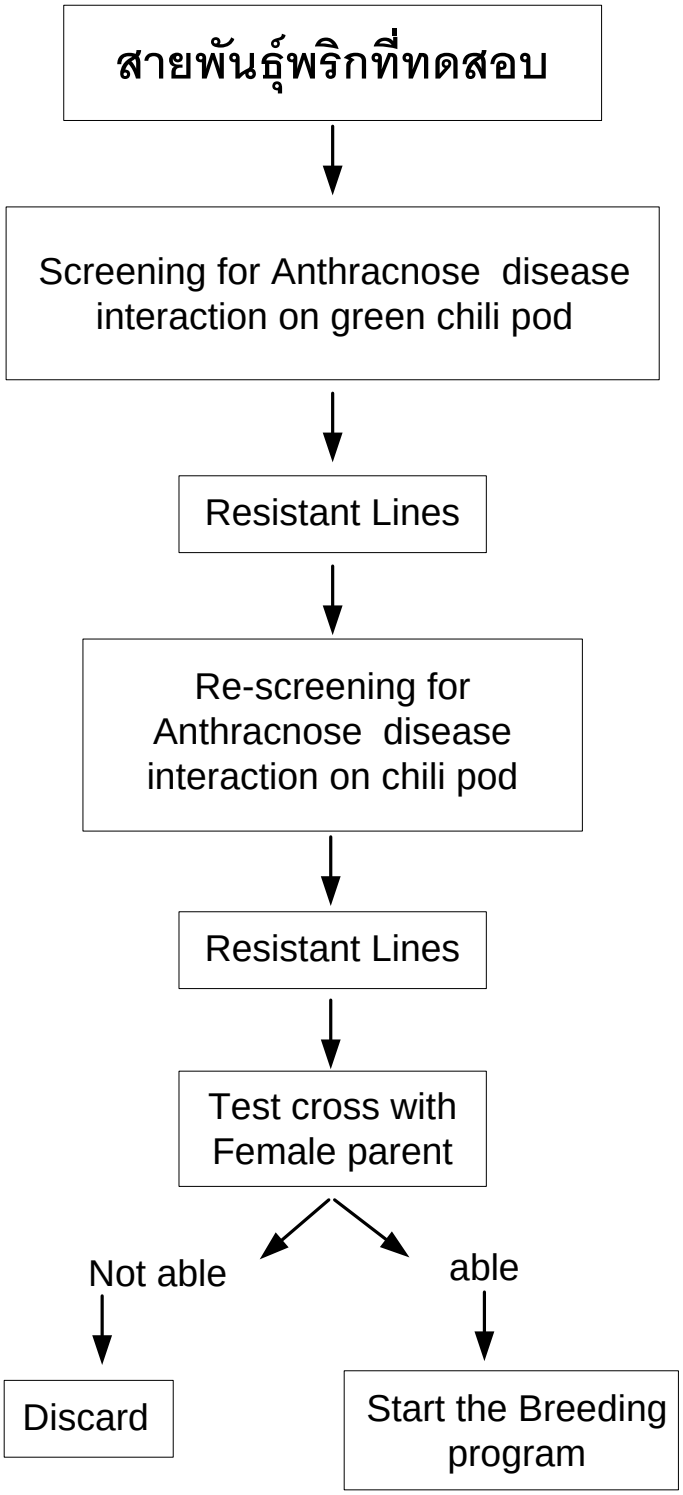
ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาตอบสนองของสายพันธุ์พริก ในการทดสอบความต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส โดยใช้ฝักเขียว กับ เชื้อราสาเหตุ *Colletotrichum. capsici* และ *C. gloeosporioides*

สายพันธุ์		*C. capsici*	*C. gloeosporioides*	Sources
		C56	C60	
1	พิจิตร 06	1.7	2.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
2	พิจิตร 1	2.3	1.9	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
3	พิจิตร 007	1.9	1.6	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
4	พิจิตร 25-1-2-1	0.8	1.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
5	พิจิตร 15-1-1-1	1.2	1.4	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
6	พิจิตร 0015	1.5	0.9	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
7	พิจิตร 0019	1.2	0.3	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
8	พิจิตร 18-1-1-1	1.5	2.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
9	14-10-7-4-4	0.9	0.7	พืชสวนกาญจนบุรี
10	17-15-9-1-8	0.9	1.3	พืชสวนกาญจนบุรี
11	BC3F6	0.9	1.3	AVRDC
12	CM 334	0.1	0.9	AVRDC
13	PBC 137	1.9	1.8	AVRDC
14	PI 201232	1.8	1.2	AVRDC
15	PBC 81	1.1	0.96	AVRDC
16	PM 331	1.4	0.8	AVRDC
17	PI 1201234	1.6	0.9	AVRDC
18	PI 189550	1.2	1.3	AVRDC
19	PI 1201238	1.5	1.2	AVRDC
20	PBC 932	0.3	0.2	AVRDC

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. ผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ยของแผลของโรคที่เกิดจากการปลูกเชื้อจาก การทดลองซ้ำ 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ขั้นตอนการทดสอบการตอบสนองของสายพันธุ์พริกต่อการพัฒนาของโรคแอนแทรคโนส



รูปที่ 1 ขั้นตอนการทดสอบการตอบสนองของสายพันธุ์พริกต่อการพัฒนาของโรคแอนแทรคโนส

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการควบคุมวัชพืชสำคัญในพริกขี้หนูพันธุ์ซูเปอร์ฮอท

Efficacy of Herbicides on Control Serious Weeds in Chilli var. Superhot.

เสริมศิริ คงแสงดาว[1] ปัญญา พุกสุ่น[2]

[1] กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2]ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการควบคุมวัชพืชสำคัญในพริกขี้หนูพันธุ์ซูเปอร์ฮอท ได้ดำเนินการในแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์-กันยายน พ.ศ. 2549 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 13 กรรมวิธี คือการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 8 ชนิดได้แก่ metribuzin, clomazone, oxadiazon, oxyfluorfen, pendimethalin, dimethenamid, alachlor และ trifluralin อัตรา 105, 172.8, 150, 48, 264, 243, 336 และ 360 กรัมai./ไร่ตามลำดับ พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน และใช้ pendimethalin, dimethenamid, alachlor อัตราเดียวกันพ่นทันทีย้ายปลูก เปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 4 ครั้งที่ 15, 30, 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก และการไม่กำจัดวัชพืช ผลการทดลองพบว่าหญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.) Link) และหญ้าตีนนก (*Dgitaria adscendens* (H.B.K.) Henr) เป็นวัชพืชสำคัญในแปลงทดลอง พบ 82.6 เปอร์เซนต์ของพื้นที่ ใช้สาร paraquat พ่นกำจัดก่อนปลูก การทดลองใช้ต้นกล้าพริกพันธุ์ซูเปอร์ฮอท อายุ 55 วัน ตัดยอดก่อนย้ายปลูก พบว่าวิธีการที่ใช้ metribuzin พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน และ pendimethalin พ่นทันทีหลังย้ายปลูก เป็นพิษทำให้ใบพริกผิดปกติเล็กน้อย ผลการควบคุมวัชพืชที่ 30 วันหลังย้ายปลูก dimethenamid พ่นทันทีหลังย้ายปลูก และ clomazone พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน มีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชใบแคบได้ดีที่สุด ควบคุมวัชพืชได้ดีรองลงมาตามลำดับคือ metribuzin, oxadiazon, pendimethalin, alachlor และ trifluralin สำหรับผลผลิตพริกเก็บเกี่ยวพริกแดง พบว่าวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 4 ครั้ง ได้ผลผลิตพริกสูงสุด 2,169 กก./ไร่ สูงกว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืช ซึ่ง pendimethalin พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน ได้ผลผลิตสูงสุด 1,631 กก./ไร่ รองลงมาตามลำดับคือ dimethenamid, pendimethalin, clomazone, alachlor, metribuzin, trifluralin และวิธีไม่กำจัดวัชพืช ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันอยู่ระหว่าง 1,019-1,319 กก./ไร่ การใช้ alachlor พ่นทันทีหลังย้ายปลูกควบคุมวัชพืชได้ดีกว่าใช้พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน ซึ่งได้ผลผลิตต่ำสุด 974 กก./ไร่

รหัสโครงการ 01-16-49-01

คำนำ

การปลูกพริกต้องเพาะกล้าพริกแล้วย้ายปลูก ดูแลต้นจนสมบูรณ์ จึงเริ่มเก็บเกี่ยวผลพริกที่ทะยอยออกดอกติดผล จำเป็นต้องดูแลรักษาแปลงให้สะอาดปราศจากวัชพืช และบำรุงต้นพริกให้สมบูรณ์เพื่อให้เก็บเกี่ยวพริกได้นาน ในช่วงแรกของการปลูกต้นพริกเจริญเติบโตแผ่ทรงพุ่มช้า ค่อนข้างอ่อนแอต่อการแข่งขันกับวัชพืช วัชพืชรบกวนรุนแรงตั้งแต่ 0.7 ถึง 3.2 สัปดาห์หลังย้ายปลูก จึงควรกำจัดวัชพืชในช่วงครึ่งแรกของอายุปลูกพริก เพื่อป้องกันการสูญเสียผลผลิต (Amador-Ramifrez, 2002) วัชพืชที่ขึ้นรบกวนหลังจากนี้กระทบต่อผลผลิตน้อยลง แต่จะรบกวนการเก็บเกี่ยวเป็นที่หลบซ่อนศัตรูพืช ทำให้การป้องกันกำจัดไม่ค่อยได้ผล และวัชพืชผลิตเมล็ดเพิ่มขึ้นรอเป็นปัญหาในฤดูปลูกถัดไป David (2005) รายงานว่าหากไม่กำจัดวัชพืชจะทำให้พริกสูญเสียผลผลิต 90 เปอร์เซนต์ Smith (2005) แนะนำว่าในช่วงก่อนปลูกควรพ่น oxyfluorfen เพื่อคุมการงอกของวัชพืช หากมีวัชพืชงอกพ่นกำจัดโดยใช้ glyphosate หรือ paraquat เมื่อยกร่องแปลงแล้วใช้เปลวไฟพ่นกำจัดวัชพืช หรือใช้ trifluralin พ่นคลุกดินก่อนย้ายปลูก David (2005) แนะนำให้ใช้ clomazone และ trifluralin พ่นก่อนย้ายปลูก Masabni *et al*. (2003) รายงานว่าการใช้ metribuzin พ่นคลุกดินก่อนปลูก เป็นพิษต่อต้นพริก เสริมศิริ และคณะ (2548) ทดลองกับต้นกล้าพริกอายุ 62 วันรายงานว่าการใช้ metribuzin ก่อนย้ายปลูกเป็นพิษปานกลางต่อต้นพริก หลังจากนั้นต้นพริกโตปกติทำให้ได้ผลผลิตสูงกว่าการใช้ oxadiazon, oxyfluorfen, pendimethalin, alachlor และ clomazone ซึ่งไม่เป็นพิษต่อต้นพริก การทดลองนี้ได้ทดลองกับต้นกล้าพริกอายุ 55 วันและพ่น 7 วันก่อนย้ายปลูก และพ่นทันทีหลังย้ายปลูก เพื่อปรับปรุงวิธีการใช้ให้มีประสิทธิภาพดีและปลอดภัยต่อต้นพริกยิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

เมล็ดพริกขี้หนูพันธุ์ซูเปอร์ฮอท สารกำจัดวัชพืช 8 ชนิดได้แก่ metribuzin 70%WP, clomazone 48%EC, oxadiazon 25%EC, oxyfluorfen 23.5%EC, pendimethalin 33%EC, dimethenamid 90%EC, alachlor 48%EC, trifluralin 48%EC, paraquat 27.6%SL และ fluazifop-P-butyl 15 %EC สารกำจัดโรคและแมลงตามความจำเป็น

วิธีการ

ไถตากดิน 3 ครั้ง พรวนย่อยหน้าดิน เตรียมแปลงย่อยขนาด 4.8x5.0 เมตร แปลงย่อยละ 4 แถวคู่ ระยะห่างระหว่างแถว 1.2 เมตร เตรียมดิน 1 ส่วนผสมปุ๋ยคอก 1 ส่วนใช้เพาะกล้าพริกถุงละ 4 เมล็ด ขุดหลุมปลูก ระยะระหว่างแถว 80 ซม. ระยะต้น 50 ซม. พ่นกำจัดวัชพืชทั้งแปลงก่อนปลูกด้วย paraquat อัตรา 226 กรัมai./ไร่ กรรมวิธี 1-8 พ่นสารกำจัดวัชพืชก่อนย้ายปลูก 7 วัน เฉพาะกรรมวิธีที่ 8 คลุกดินให้ทั่วผิวหน้าดินระดับ 3-4 ซม. ทันทีหลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ใช้ต้นกล้าพริก

พันธุ์ซูเปอร์ฮอทอายุ 55 วันปลูกตัดยอดก่อนย้ายปลูกในทุกแปลงย่อย กรรมวิธีที่ 9-11 พ่นสารกำจัดวัชพืชทันทีหลังย้ายปลูก ให้น้ำเข้าตามร่องปลูกทุก 7 วัน แปลง กรรมวิธีที่ 12 กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานเมื่อ 15, 30, 45 และ 60 วันหลังปลูก บันทึกอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริกและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช โดยประเมินด้วยสายตา สุ่มเก็บวัชพืชจากทุกแปลงย่อยละ 2 จุดๆละ 0.5x0.5 เมตร ที่ 40 วันหลังย้ายปลูก ที่ 45 วันหลังย้ายปลูก กำจัดวัชพืชออกทุกแปลงยกเว้นกรรมวิธีที่ 12 ที่ 60 วันหลังย้ายปลูกพ่นกำจัดวัชพืชใบแคบด้วย fluazifop-P-butyl อัตรา 30 กรัมai./ไร่ ทุกแปลงยกเว้นกรรมวิธีที่ 12 เริ่มเก็บเกี่ยวพริกแดง หลังจากนั้นเก็บต่อเนื่องทุก 3 วัน จนถึง 120 วันหลังย้ายปลูก บันทึกจำนวนผลและน้ำหนักสด

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองในช่วงเดือนกุมภาพันธ์-กันยายน พ.ศ. 2549 ที่แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ชนิดและปริมาณวัชพืช

ในแปลงไม่กำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังย้ายปลูก พบวัชพืช 164.6 ต้นต่อตารางเมตร ส่วนใหญ่พบวัชพืชใบแคบ 98.0% ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.) Link), หญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens* (H.B.K.) Henr.) หญ้าหวาย ((L.) Roem.&Schult.), หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.), หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gard .& Hubb.) วัชพืชใบกว้างที่พบได้แก่ ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* Linn.), ผักโขมหิน (*Boerhavia diffusa* L.), ปอวัชพืช (*Corchorus* sp.) และถั่วผี (*Marcroptilium lathyroides* (L.) Urb.)

อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริก

หลังย้ายปลูก 30 วัน พบว่าสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ก่อนย้ายปลูก 7 วัน กล้าพริกอายุ 55 วันตัดยอดพริกก่อนย้ายปลูก clomazone, oxadiazon, oxyfluorfen, pendimethalin, dimethenamid, alachlor และ trifluralin ไม่เป็นพิษต่อต้นพริก ยกเว้น metribuzin ทำให้ต้นพริกเป็นพิษเล็กน้อย มีอาการใบเหลือง ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นทันทีหลังย้ายปลูก พบว่า dimethenamid ไม่เป็นพิษต่อต้นพริก ส่วน alachlor เป็นพิษเล็กน้อย และ pendimethalin ทำให้ใบใหม่พริกมีรูปร่างผิดปกติเล็กน้อย หลังจากนั้นต้นพริกเจริญเติบโตปกติ

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

หลังย้ายปลูก 30 วัน มีแนวโน้มว่า clomazone พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน, dimethenamid และ pendimethalin พ่นทันทีหลังย้ายปลูก มีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชได้ดี ควบคุมวัชพืชใบ

แคบได้ดีและดีกว่าวัชพืชใบกว้าง รองลงมาคือ metribuzin, trifluralin พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน และ alachlor พ่นทันทีหลังย้ายปลูกควบคุมวัชพืชใบแคบได้ปานกลางควบคุมวัชพืชใบกว้างได้ดี pendimethalin และ oxadiazon พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน ควบคุมวัชพืชใบแคบและวัชพืชใบกว้างได้ปานกลาง oxyfluorfen ควบคุมวัชพืชใบแคบได้เล็กน้อยควบคุมวัชพืชใบกว้างได้ดี ส่วน alachlor ควบคุมวัชพืชใบแคบและใบกว้างได้เล็กน้อย

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 40 วันหลังย้ายปลูก

พบว่าจำนวนต้นวัชพืชไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มีแนวโน้มว่ากรรมวิธีที่ใช้ dimethenamid และ pendimethalin พ่นทันทีหลังย้ายปลูก มีจำนวนต้นวัชพืชน้อยที่สุด ไม่แตกต่างกัน 49 และ 61 ต้นต่อตารางเมตร รองลงมาคือ clomazone, oxadiazon, dimethenamid, trifluralin , pendimethalin พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน alachlor พ่นทันทีหลังย้ายปลูก มีจำนวนต้นวัชพืชไม่แตกต่างกันและไม่ต่างจากกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชเฉลี่ย 73-85 ต้น/ตารางเมตร จำนวนต้นวัชพืชมากรองลงมาไม่แตกต่างกันคือ metribuzin, oxyfluorfen และ alachlor พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน เฉลี่ย 103-113 ต้น/ตารางเมตร การไม่กำจัดวัชพืชมีจำนวนต้นวัชพืชมากที่สุด 161 ต้น/ตารางเมตร

น้ำหนักแห้งวัชพืชพบว่าวัชพืชใบแคบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีน้ำหนักแห้งวัชพืชใบแคบน้อยที่สุด 6 กรัม/ตารางเมตร และการไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืชใบแคบสูงสุด 914 กรัม/ตารางเมตร ในกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชพบว่าการใช้ dimethenamid พ่นทันทีหลังย้ายปลูก, clomazone, metribuzin, oxadiazon และ pendimethalin พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน มีน้ำหนักวัชพืชใบแคบต่ำไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 114-351 กรัม/ตารางเมตร รองลงมาคือ alachlor และ pendimethalin พ่นทันทีหลังย้ายปลูก และ trifluralin พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน มีน้ำหนักแห้งวัชพืชใบแคบไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 369-408 กรัม/ตารางเมตร oxyfluorfen และ alachlor พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน มีน้ำหนักแห้งวัชพืชใบแคบ เฉลี่ย 855 และ 593 กรัม/ตารางเมตร สูงรองจากการไม่กำจัดวัชพืช

สำหรับวัชพืชใบกว้างน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน มีแนวโน้มว่า การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีน้ำหนักแห้งวัชพืชใบกว้างต่ำสุด 2 กรัม/ตารางเมตร สารกำจัดวัชพืชที่ให้น้ำหนักแห้งวัชพืชใบกว้างต่ำสุดเท่ากับการไม่กำจัดวัชพืช 4 กรัม/ตารางเมตร คือ oxyfluorfen และ trifluralin พ่นก่อนย้ายปลูก พบว่า alachlor พ่นก่อนย้ายปลูก และ dimethenamid พ่นทันทีหลังย้ายปลูก มีน้ำหนักแห้งวัชพืชใบกว้างสูงสุด 95 และ 86 กรัม/ตารางเมตร

ชนิดและปริมาณวัชพืชที่ 90 วันหลังย้ายปลูก

จากการที่กำจัดวัชพืชที่ 45 วันหลังย้ายปลูก แล้วพ่นสารกำจัดวัชพืช fluazifop-P-butyl อัตรา 30 กรัมai./ไร่ กำจัดเฉพาะวัชพืชใบแคบที่ 60 วันหลังย้ายปลูก เมื่อ **90 วันหลังย้ายปลูก**

วัชพืชในแปลงไม่กำจัดวัชพืช 267 ต้น/ตารางเมตร พบว่ามีปริมาณวัชพืชใบกว้างในพื้นที่เพิ่มขึ้นเป็น 25.4% วัชพืชใบกว้างที่พบได้แก่ ผักโขม (*Amranthus viridis* Linn.), น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta* Linn.), ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* Linn.), ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* Linn.), ผักเบี้ยหิน ผักโขมหินและสร้อยนกเขา (*Mollugo pentaphylla* Linn.)

ถึงแม้ว่าปริมาณวัชพืชไม่แตกต่างกัน แต่แสดงให้เห็นประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชในการควบคุมวัชพืชใบกว้าง ได้เด่นชัดกว่าที่ 40 วันหลังปลูกซึ่งมีวัชพืชใบแคบหนาแน่น มีแนวโน้มว่า การใช้ metribuzin ควบคุมวัชพืชใบกว้างได้ดีที่สุด รองจากการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน รองลงมาตามลำดับคือการใช้ pendimethalin ทั้งแบบพ่นก่อนและหลังย้ายปลูก, oxadiazon, oxyfluorfen และ trifluralin, ส่วน clomazone, dimethenamid และ alachlor มีปริมาณวัชพืชใบกว้างมากที่สุด ถึงมากกว่าการไม่กำจัดวัชพืช

การเจริญเติบโตและผลผลิตของพริก

ความสูงของต้นพริกไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ 60 วันหลังย้ายปลูก มีแนวโน้มว่าการใช้ pendimethalin พ่นหลังย้ายปลูกต้นพริกสูงสุด 73 ซม. รองลงมาคือการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 72 ซม. ส่วนการใช้ alachlor และ oxyfluorfen พ่นก่อนย้ายปลูกพริกต้นเตี้ยที่สุด 60 และ 64 ซม.

ทรงพุ่มต้นพริกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานต้นพริกมีทรงพุ่มกว้างที่สุด 56 ซม. รองลงมาไม่ต่างกันคือการใช้ clomazone และ pendimethalin พ่นก่อนย้ายปลูก ต้นพริกมีทรงพุ่ม 50 และ 48 ซม.ตามลำดับ alachlor และ oxyfluorfen พ่นก่อนย้ายปลูกพริกต้นมีทรงพุ่มเล็กสุด 33 และ 37 ซม.ตามลำดับ

น้ำหนักผลพริกไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีแนวโน้มว่า การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และการใช้ pendimethalin พ่นหลังย้ายปลูก ผลพริกมีขนาดใหญ่ที่สุด 168 และ 167 กรัม/พริก 100 ผล การใช้ alachlor พ่นก่อนย้ายปลูกได้ผลพริกขนาดเล็กสุด 150 กรัม/พริก 100 ผล ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชกรรมวิธีอื่นๆ และการไม่กำจัดวัชพืชผลพริกมีน้ำหนักไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 153-165 กรัม/พริก 100 ผล

ผลผลิตพริกเริ่มเก็บเกี่ยวพริกที่ 60 วันหลังปลูก เก็บผลแดงทุก 3 วันจนถึง 120 วันหลังย้ายปลูก พบว่าผลผลิตพริกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานได้ผลผลิตสูงสุด 2,169 กิโลกรัม/ไร่ สูงกว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืช ซึ่งพบว่าการใช้ pendimethalin พ่นก่อนย้ายปลูก ได้ผลผลิต 1,631 กิโลกรัม/ไร่สูงสุด รองลงมาได้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน คือ dimethenamid และ pendimethalin พ่นหลังย้ายปลูก, clomazone พ่นก่อนย้ายปลูก, alachlor พ่นหลังย้ายปลูก, metribuzin, dimethenamid, trifluralin, oxadiazon, oxyfluorfen พ่นก่อนย้ายปลูก และการไม่กำจัดวัชพืช ได้ผลผลิตพริก 1,549, 1,406, 1,386, 1,319, 1,293, 1,284, 1,251,

1,098, 1,067 และ 1,019 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ การใช้ alachlor พ่นก่อนย้ายปลูกได้ผลผลิตพริกต่ำสุด 974 กิโลกรัมต่อไร่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การควบคุมวัชพืชสำคัญที่เป็นวัชพืชใบแคบที่งอกจากเมล็ดในแปลงพริก พ่นกำจัดวัชพืชก่อนปลูกโดยใช้สาร paraquat ในการทดลองใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกกับพริกขี้หนูพันธุ์ซูเปอร์ฮอท อายุกล้า 55 วันตัดยอดก่อนย้ายปลูก พบว่าวิธีการที่ใช้ metribuzin พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน alachlor และ pendimethalin พ่นทันทีหลังย้ายปลูก เป็นพิษเล็กน้อยต่อต้นพริก ที่ 30 วันหลังย้ายปลูก dimethenamid พ่นทันทีหลังย้ายปลูก และ clomazone พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน มีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชใบแคบได้ดีที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ metribuzin, oxadiazon, pendimethalin, alachlor และ trifluralin การใช้ clomazone และ pendimethalin พ่นก่อนย้ายปลูก ต้นพริกเจริญเติบโตดีที่สุด เก็บเกี่ยวพริกแดงพบว่าวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 4 ครั้งได้ผลผลิตพริกสูงสุด 2,169 กก./ไร่ สูงกว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืช pendimethalin พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน ได้ผลผลิตสูงสุด 1,631 กก./ไร่ รองลงมาตามลำดับคือ dimethenamid, pendimethalin, clomazone, alachlor, metribuzin, trifluralin และการไม่กำจัดวัชพืช ให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันอยู่ระหว่าง 1,019-1,319 กก./ไร่ การใช้ alachlor พ่นทันทีหลังย้ายปลูกควบคุมวัชพืชได้ดีกว่าใช้พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน ซึ่งได้ผลผลิตต่ำสุด 974 กก./ไร่ การทดลองนี้พบว่าการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 4 ครั้งได้ผลควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุด หากมีปัญหาแรงงาน สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกที่มีแนวโน้มควบคุมวัชพืชได้ปานกลางถึงดีและได้ผลผลิตพริกสูงคือ pendimethalin พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน หรือพ่นทันทีหลังย้ายปลูก หรือ dimethenamid พ่นทันทีหลังย้ายปลูก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Stall and Gileath (2003) ว่าแปลงปลูกพริกไม่จำเป็นต้องสะอาดปราศจากวัชพืช เพียงแต่รักษาปริมาณวัชพืชให้อยู่ในระดับที่ต่ำสุดตลอดฤดูปลูก

เอกสารอ้างอิง

เสริมศิริ คงแสงดาว, รักชัย คุรุบรรเจิดจิต และ จีรพรรณ พนาลิกุล. 2548. การศึกษาการใช้สารกำจัดวัชพืชในพริก. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพ. หน้า 653-668.

Amador-Ramifrez, M.D., 2002. Critical period of weed control in transplanted chilli pepper. Weed Research. Volme 42, 203 p.

David, M. 2006. Weed-free pepper fields. American Vegetable Grower. Feb. 2005. 4 p.

Smith, R.F. 2005. Peppers integrated weed management. UC IPM Online, Statewide, University of California, Agriculture and Natural Resources. 5 p.

Stall, W.M. and J.P. Gilreath. 2003. Weed control in pepper. Horticultural Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 7p. http://edis. Ifas.ufl.edu.

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชที่ 30 วันหลังปลูก จำนวนต้น (ต้นต่อตารางเมตร) และน้ำหนักแห้งวัชพืช(กรัมต่อตารางเมตร) ที่ 40 และ 90 วันหลังย้ายปลูก

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	ควบคุมวัชพืช	วัชพืชที่ 40 วันหลังย้ายปลูก			วัชพืชใบกว้างที่ 90 วันหลังย้ายปลูก	
			จำนวนต้นรวม	น้ำหนักแห้งวัชพืช		จำนวนต้น	น้ำหนักแห้ง
				ใบแคบ	ใบกว้าง		
1.metribuzin[1]	105	7.7	113 bc	326 ab	20	20 a	39 ab
2.clomazone[1]	172.8	8.2	79 abc	236 ab	22	96 ab	118 ab
3.oxadiazon[1]	150	7.2	37 a	343 ab	48	68 ab	73 ab
4.oxyfluorfen[1]	48	6.0	103 bc	855 cd	4	28 ab	74 ab
5.pendimethalin[1]	264	7.5	79 abc	351 ab	66	62 ab	66 ab
6.dimethenamid[1]	243	7.0	85 abc	468 a-d	57	79 ab	147 ab
7.alachlor[1]	336	6.5	109 bc	593 bcd	95	120 ab	165 b
8.trifluralin[1]	360	7.5	82 abc	408 abc	4	41 ab	71 ab
9.pendimethalin[2]	264	8.0	61 ab	406 abc	11	30 ab	63 ab
10.dimethenamid[2]	243	8.6	49 ab	114 ab	86	90 ab	101 ab
11.alachlor[2]	336	7.0	73 abc	369 abc	11	132 b	164 b
12.handweeding[3]		9.9	81 abc	6 a	2	20 a	12 a
13.weedy		0	145 c	914 d	4	26 ab	59 ab
C.V. (%)			39.1	62.7	185.0	86.5	84.1
F-test			ns	*	<1	ns	ns

ตัวเลขในคอลัมฯเดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธีDMRT

[1] = 7 Days before transplant, [2] = 0 Days after transplant

[3] = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 4 ครั้งที่ 15, 30, 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก

ระดับคะแนนประสิทธิภาพการควบคุมกำจัดวัชพืช

ประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0 = ควบคุมวัชพืชไม่ได้, 10 = ควบคุมวัชพืชได้สมบูรณ์

ตารางที่ 2 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริกที่ 30 วันหลังย้ายปลูก การเจริญเติบโตของต้นพริกที่ 60 วันหลังย้ายปลูกและผลผลิตพริกเมื่อเก็บเกี่ยวที่ 60 ถึง 120 วันหลังย้ายปลูก

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	ความเป็นพิษ	ความสูง (ซม.)	ทรงพุ่ม (ซม.)	น้ำหนักผลพริก (กรัม/100 ผล)	ผลผลิตพริก (กิโลกรัม/ไร่)
1.metribuzin[1]	105	0.5	67 abc	43 bcd	160 ab	1,293 bc
2.clomazone[1]	172.8	0	69 abc	50 ab	159 ab	1,386 bc
3.oxadiazon[1]	150	0	66 abc	45 bcd	160 ab	1,098 bc
4.oxyfluorfen[1]	48	0	64 bc	37 de	153 ab	1,067 bc
5.pendimethalin[1]	264	0	68 abc	48 abc	157 ab	1,631 ab
6.dimethenamid[1]	243	0	66 abc	45 bcd	165 ab	1,284 bc
7.alachlor[1]	336	0	60 c	33 e	150 b	974 c
8.trifluralin[1]	360	0	68 abc	47 a-d	155 ab	1,251 bc
9.pendimethalin[2]	264	2	73 a	47 a-d	167 a	1,406 bc
10.dimethenamid[2]	243	0	64 bc	44 bcd	160 ab	1,549 bc
11.alachlor[2]	336	0.5	67 abc	46 a-d	158 ab	1,319 bc
12.handweeding[3]		0	72 ab	56 a	168 a	2,169 a
13.weedy		0	65 abc	39 cde	157 ab	1,019 bc
C.V. (%)			7.1	12.3	5.2	24.4
F-test			ns	* *	ns	*

ตัวเลขในคอลัมฯเดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธีDMRT

[1] = 7 Days before transplant, [2] = 0 Days after transplant

[3] = กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 4 ครั้งที่ 15, 30, 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก

ระดับคะแนนอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริก

ประเมินด้วยสายตา 0-10 ; 0 = พริกปกติ, 10 = พริกตาย

การระบาดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในกระเจี๊ยบเขียวภาคกลาง

Epidemiology of Plant Parasitic Nematodes on Okra

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ตรวจแยกไส้เดือนฝอยออกจากตัวอย่างดินปลูกกระเจี๊ยบเขียว จ.นครปฐม จ.กาญจนบุรี และ จ. พิจิตร จำนวน 20 15 และ 17 ตัวอย่างดิน ตามลำดับ สุ่มเก็บรวม 260 จุดเก็บ ตรวจพบไส้เดือนฝอย 6 สกุล และจัดจำแนกได้ 7 ชนิด คือ *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Helicotylenchus dihystera*, *Tylenchorhynchus martini*, *Criconemella* sp., *Hoplolaimus seinhorsti* และ *Rotylenchulus reniformis*

รหัสโครงการ 01-16-49-02

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียว [Okra : Abelmoschus esculentus (L.) Moench.] เป็นพืชที่รู้จักกันมานานแล้วในประเทศไทย บางแห่งอาจเรียกว่า กระเจี๊ยบมอญหรือมะเขือมอญ แต่โดยทั่วไปรู้จักกันดีในชื่อกระเจี๊ยบเขียว เป็นผักที่ใช้ส่วนฝักในการบริโภค ถิ่นกำเนิดเดิมเป็นผักพื้นเมืองของแอฟริกาเหนือ ปลูกง่ายใช้น้ำน้อย โตเร็วและให้ผลผลิตเร็ว สามารถปลูกได้ดีในดินทุกชนิดและปลูกได้ทุกฤดูกาล โดยเฉพาะให้ผลผลิตสูงในฤดูหนาว

ลักษณะโดยทั่วไปของกระเจี๊ยบเขียว เป็นพืชใบกว้างเป็นแฉกคล้ายละหุ่งแต่ก้านสั้นกว่า มีขนตามใบ ต้นและฝัก ฝักยาวเป็นเหลี่ยม 5 เหลี่ยม มีเมล็ดเรียงเป็นแถวอยู่ภายใน 5 แถว ผิวนอกสีเขียว เนื้อในฝักเป็นเมือก เป็นผักที่มีคุณค่าทางอาหารชนิดหนึ่ง ที่ปลูกในประเทศไทยมีทั้งพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ต่างประเทศ พันธุ์พื้นเมืองมีขนมากและเมือกมาก ส่วนพันธุ์ต่างประเทศมีขนและเมือกน้อย (ฐานเกษตรกรรรม, 2529) แหล่งปลูกส่วนใหญ่อยู่รอบๆ กรุงเทพฯ เช่น นครปฐม นนทบุรี ปทุมธานี เป็นต้น การผลิตส่วนใหญ่เป็นการผลิตเพื่อการส่งออก โดยมีตลาดต่างประเทศที่สำคัญคือ ญี่ปุ่น ซึ่งนิยมบริโภคมาก และยุโรปบางประเทศ ปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกไปยังจังหวัดอื่นๆ ซึ่งมีการปลูกเป็นพื้นที่กว้างเพิ่มมากขึ้น เช่น นครราชสีมา เลย และพิจิตร เป็นต้น

ปัญหาที่มีผลกระทบต่อผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียวคือ ปัญหาโรคและแมลงศัตรูพืช โรคพืชที่สำคัญคือ โรครากปม มีสาเหตุจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการปลูกพืชผักและไม้ผลที่สำคัญได้แก่ มะเขือเทศ พืชตระกูลกะหล่ำ แครอท ขิง พริก กระเจี๊ยบเขียว มันฝรั่ง และฝรั่ง พบแพร่ระบาดทั่วทุกภาคของประเทศ โดยความรุนแรงของโรครากปมมีผลให้ต้นพืชเกิดอาการเหี่ยวเฉา แคระแกร็น และผลผลิตลงลด รวมถึงคุณภาพของผลผลิตที่ไม่ได้มาตรฐานตามความต้องการ ความสูญเสียนี้เป็นผลมาจากระบบรากถูกทำลายอย่างรุนแรงเกิดเป็นปุ่มปม ทำให้พืชไม่สามารถดูดน้ำและแร่ธาตุอาหารไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ได้ รวมถึงส่วนของหัวมันฝรั่งและแง่งขิงเสียรูปทรง นอกจากนั้นไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปมมีพืชอาศัยกว้างสามารถทำความเสียให้กับพืชอื่นๆ ได้หลายชนิด โดยเฉพาะในพืชผัก-พืชหัวและไม้ดอก ได้แก่ ถั่วแขก แครอท ผักกาดหอม คะน้า ผักชีฝรั่ง เยอบีร่า และปทุมมา เป็นต้น การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยสามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่เกษตรกรปฏิบัติคือการใช้สารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยโดยใช้รองก้นหลุมหรือใช้สารอบดินก่อนปลูกพืช นอกจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมแล้ว การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น การใช้รา *Paecilomyces lilacinus* ในการควบคุมไส้เดือนฝอย *M. incognita* ที่ทำลายแง่งพันธุ์ขิงและผักกาดหอม ช่วยลดการเกิดปม

ที่ระบบรากได้ การใช้เชื้อราวี-เอไมคอร์ไรซา สามารถลดปริมาณความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยรากปมในมะเขือเทศและยังลดความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยกับผักชนิดอื่นๆ อีกด้วย รวมทั้งการใช้เมล็ดสะเดาบดรองก้นหลุมเพื่อลดประชากรไส้เดือนฝอยในดินปลูกมะเขือเทศ แต่อย่างไรก็ตามวิธีการป้องกันกำจัดเพียงวิธีใดวิธีหนึ่งดังกล่าวมา ยังไม่สามารถควบคุมหรือหยุดการระบาดของไส้เดือนฝอยได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากไส้เดือนฝอยมีวงจรชีวิตสั้นเพียง 20-30 วัน และตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถสร้างไข่และฟักเป็นตัวอ่อนได้ถึง 500 ตัวต่อตัวเมีย 1 ตัว ตลอดจนการปลูกพืชชนิดเดิมในพื้นที่ปลูกตลอดปี ทำให้การควบคุมโรคหรือลดประชากรไส้เดือนฝอยในดินเป็นไปได้ยาก รวมทั้งปัญหาโรคพืชที่เกิดจากเชื้อโรคพืชอื่นๆ ซึ่งอาจทำให้เกิดความรุนแรงร่วมกันในลักษณะที่เรียกว่า Disease complex

ดังนั้น การจัดการโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยในกระเจี๊ยบเขียว จึงควรศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอยในแหล่งปลูกสำคัญ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระจายตัว การระบาด และข้อมูลความเสียหายที่เกิดจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแหล่งปลูกกระเจี๊ยบเขียวของภาคกลาง การศึกษาชนิดและการแพร่ระบาด จะเป็นความรู้พื้นฐานนำไปสู่การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอยต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตะแกรงหยาบ (20-60 mesh) และตะแกรงละเอียด (325-500 mesh)
2. อ่างรับน้ำ กรวยแก้วต่อท่อสายยาง คลิ๊ปหนีบ กระดาษทิชชู และตะแกรงลวด
3. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope และ Compound microscope
5. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย

วิธีการ

1. <u>สำรวจเก็บตัวอย่างดินในแหล่งปลูกกระเจี๊ยบเขียว</u>

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากพืชที่ระดับความลึกประมาณ 6-12 นิ้ว (1 ตัวอย่างดิน เท่ากับ 5 จุดเก็บ ครอบคลุมพื้นที่ประมาณ 200 ตารางเมตร) นำดินมาคลุกเคล้ารวมกัน แบ่งใส่ถุงพลาสติกน้ำหนัก 1 กิโลกรัม/1 ตัวอย่างดิน รวมทั้งเก็บรากของกระเจี๊ยบเขียวที่มีลักษณะเป็นปุ่มปม

2. <u>การแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจากดิน</u>

ขั้นตอนการแยก ชั่งดินน้ำหนัก 500 กรัม ขยำเนื้อดินให้ละเอียดในอ่างน้ำ กวนดินและทิ้งไว้ประมาณ 20 วินาที เพื่อให้เนื้อดินตกตะกอนบางส่วน จากนั้นเทผ่านตะแกรงหยาบ เศษพืชหรือสิ่งอื่นๆ ที่มีขนาดใหญ่และไม่ต้องการจะติดบนตะแกรง ส่วนไส้เดือนฝอยทุกชนิดจะผ่านลงสู่อ่าง

รับน้ำ นำน้ำส่วนนี้ไปผ่านตะแกรงละเอียด ไส้เดือนฝอยทั้งหมดจะติดอยู่บนตะแกรงนี้ ฉีดน้ำเบาๆ ไล่ไส้เดือนฝอยให้รวมอยู่ในตะแกรงด้านหนึ่งแล้วเทเก็บรวมไว้ในบีกเกอร์ จะได้ไส้เดือนฝอยอยู่ในน้ำขุ่น นำไส้เดือนฝอยที่ได้นี้ไปผ่านกระดาษทิชชูที่วางบนตะแกรงลวด ไส้เดือนฝอยทั้งหมดรวมทั้งเม็ดดินละเอียดจะติดอยู่บนกระดาษทิชชู จากนั้นนำไปตั้งบนกรวยแก้วบรรจุน้ำเต็มกรวยและที่ปลายก้านกรวยมีท่อสายยางสวมอยู่พร้อมคลิ๊ปหนีบ ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะเคลื่อนที่ลงสู่ปลายกรวย เปิดคลิ๊ปไขน้ำใส่บีกเกอร์ประมาณ 50 มิลลิลิตร ตรวจนับปริมาณภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope

3. <u>การตรวจนับไส้เดือนฝอย</u>

นับปริมาณไส้เดือนฝอย กวนไส้เดือนฝอยในน้ำให้กระจายสม่ำเสมอ แล้วใช้ pipett ดูดน้ำที่มีไส้เดือนฝอย 5 มิลลิลิตร ใส่ใน Syracuse นำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และเริ่มนับจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูพืช โดยกด counter นับที่ละตัวและสกุลของไส้เดือนฝอยแยกกัน ในทุกช่องตารางของ Syracuse จากนั้นจดบันทึกสกุลของไส้เดือนฝอยและจำนวนตัว ดูดน้ำตรวจนับเช่นเดิมรวม 3 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ยจากการตรวจ 3 ครั้ง และสรุปจำนวนไส้เดือนฝอยศัตรูพืชแต่ละสกุล (genus) ต่อดิน 500 กรัม

4. <u>จำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบ</u>

4.1 ศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามหลักการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอย ทำการเตรียมสไลด์ชั่วคราว เพื่อใช้สำหรับวัดขนาดสัดส่วนต่างๆ ของไส้เดือนฝอยและถ่ายภาพ โดยเขี่ยไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยลงในหยดน้ำกลั่นบนสไลด์หลุมจำนวน 10 ตัว ฆ่าไส้เดือนฝอยด้วยวิธีผ่านเปลวไฟจากตะเกียงแอลกอฮอล์เป็นเวลา 3-5วินาที จากนั้นเขี่ยไส้เดือนฝอยวางบนหยดน้ำกลั่นบนสไลด์แก้ว จัดเรียงตัวให้อยู่กลางหยดน้ำ แล้วเขี่ยใยแก้วท่อนสั้นความหนาประมาณตัวไส้เดือนฝอย วางที่ขอบหยดน้ำ 3 จุด เพื่อเป็นคานรองรับ cover glass ที่ปิดทับแล้วเชื่อมด้วยน้ำยาซิลสไลด์ จากนั้นนำไปวัดขนาดสัดส่วนภายใต้กล้อง Compound microscope ที่ทำการวัดค่า stage micrometer และ ocular เรียบร้อยแล้ว

ค่าต่างๆ ที่ได้นำมาเข้าสูตรการวัดขนาดของไส้เดือนฝอย โดยใช้สูตรของ de Man (1880) ดังนี้ :-

Length (L) = ความยาวทั้งหมดของลำตัว วัดจากส่วนหัวถึงปลายหาง

Width (W) = ความกว้างของลำตัว วัดส่วนที่กว้างที่สุด

Sty (S) = ความยาวหลอดดูดอาหาร วัดจากหัวถึงปลาย knob

Excretory pore (EP) = ตำแหน่งของช่องขับถ่ายทางผิวหนัง วัดจากส่วนหัวถึง EP

Nerve ring (NR) = ตำแหน่งของเส้นประสาท วัดจากส่วนหัวถึง NR

Esophagus (ES) = ความยาวของหลอดอาหาร วัดจากส่วนหัวถึง ES

Tail length (T) = ความยาวหาง วัดจากช่องขับถ่าย (anus) ถึงปลายหาง

Spicule length = ความยาวของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้

Spicule width = ความกว้างของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้

Gubernaculum length = ความยาวของอวัยวะบังคับ spicule

Gubernaculum width = ความกว้างของอวัยวะบังคับ spicule

Vulva % = ตำแหน่งของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของความยาวลำตัว วัดจากส่วนหัวถึง vulva คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของความยาวลำตัว

นำมาคำนวณค่าสัดส่วนต่างๆ

- ratio a = ความยาวลำตัว/ความกว้างลำตัว
- ratio b = ความยาวลำตัว/ความยาว ES
- ratio c = ความยาวลำตัว/ความยาวหาง
- ratio c' = ความยาวส่วนหาง/ความกว้างลำตัวบริเวณช่องขับถ่าย

ค่าขนาดสัดส่วนต่างๆ นำไปเปรียบเทียบกับ key มาตรฐานของ C.I.H. Description of Plant Parasitic Nematode (Luc, 1974)

4.2 การตัดริ้วรอยย่นส่วนก้นตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปม

เขี่ยตัวเต็มวัยเพศเมียจากรากกระเจี๊ยบเขียวลงในหยดน้ำเกลือ 1%ที่หยดบนแผ่นพลาสติกใสชนิดหนา ใช้ใบมีดผ่าตัดอย่างบางตัดบริเวณส่วนก้นของตัวเมียให้เป็นสี่เหลี่ยม เขี่ยเศษอวัยวะออกให้สะอาด นำชิ้นส่วนที่ตัดไปวางบนหยดกลีเซอรีนและปิดทับด้วย cover glass จากนั้นนำไปตรวจใต้กล้อง Compound microscope และจำแนกตาม key ของ Jepson (1987)

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2548 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2549

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินและระบบรากที่แสดงอาการปุ่มปมในพื้นที่ปลูกกระเจี๊ยบเขียว จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี และพิจิตร จำนวน 20 15 และ 17 ตัวอย่างดิน ตามลำดับ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดิน 5 จุด/ 1 ตัวอย่าง รวม 260 จุดเก็บ นำมาแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินและตรวจ

ใต้กล้องจุลทรรศน์พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชจำนวน 6 สกุล คือ *Meloidogyne* sp. *Helicotylenchus* sp., *Tylenchorhynchus* sp. *Criconemella* sp., *Hoplolaimus* sp. และ *Rotylenchulus* sp. แบ่งแยกสกุลและปริมาณที่พบจากพื้นที่ปลูกต่างๆ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สกุลและปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบในแหล่งปลูกกระเจี๊ยบเขียว

สกุลของไส้เดือนฝอย	จำนวนไส้เดือนฝอย/ดิน 500 กรัม (ตัว) ที่แยกได้จากแหล่งปลูกต่างๆ		
	จ.นครปฐม	จ.กาญจนบุรี	จ.พิจิตร
1. *Criconemella* sp.	40[1/]	-	-
2. *Helicotylenchus* sp.	120	140	-
3. *Hoplolaimus* sp.	80	10	20
4. *Meloidogyne* sp.	50	70	130
5. *Rotylenchulus* sp.	220	480	360
6. *Tylenchorhynchus* sp.	360	520	190

[1/]ค่าเฉลี่ยจากจำนวนตัวอย่างที่แยกจาก จ.นครปฐม กาญจนบุรี และพิจิตร เท่ากับ 20 15 และ 17 ตัวอย่าง ตามลำดับ

จากการจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่พบในแหล่งปลูกกระเจี๊ยบเขียวใน 3 พื้นที่ โดยการศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการวัดค่าขนาดสัดส่วนของไส้เดือนฝอยภายใต้กล้อง Compound microscope สามารถจำแนกในระดับชนิด (species) ได้คือ

1. Helicotylenchus dihystera (Cobb, 1983) Sher, 1961

รายละเอียดรูปร่างลักษณะ : ลักษณะการตายจะขดเป็นวงรูปเลขหนึ่งไทย ลำตัวยาวเฉลี่ย 0.68 (0.64-0.71) มิลลิเมตร ลำตัวกว้างเฉลี่ย 26.50 (25-27) ไมครอน ริมฝีปากโค้งนูนไม่แยกออกจากลำตัวพบรอยย่น 4-5 รอยย่น หลอดดูดอาหารยาวเฉลี่ย 26.70 (24-29) ไมครอน stylet knob มีลักษณะด้านหน้าเว้าลง (indented anteriorly) ส่วนของ dorsal esophageal gland orifice (DEGO) วัดจาก stylet knob เฉลี่ย 10.20 (9-11) ไมครอน ส่วนของ median bulb มีลักษณะกลมรี ตำแหน่ง excretory pore วัดจากส่วนหัวมีระยะประมาณ 97 ไมครอน basal bulb ซ้อนทับลำไส้ส่วนหน้าทางด้านท้อง (ventral) มากกว่าด้านหลังลำตัว (dorsal) มีตำแหน่ง vulva ประมาณ 62.02 เปอร์เซ็นต์ ของความยาวลำตัว มีรังไข่ 2 ข้าง เหยียดไปทางส่วนหัวและหาง หาง

ยาวเฉลี่ย 16.90 (15-19) ไมครอน ปลายหางเรียวมีติ่งยื่นออกมาเล็กน้อย ลักษณะหางเป็นแบบ digitate

จากการวัดขนาดสัดส่วนต่างๆ และศึกษารายละเอียดรูปร่างลักษณะของไส้เดือนฝอยชนิดนี้พบว่าใกล้เคียงกับ *Helicotylenchus dihystera* ที่ Siddiqi (1972) รายงาน ซึ่งมีขนาดสัดส่วนต่างๆ ดังนี้ :- L = 0.59-0.79 mm; a = 27.35; b = 5.8-6.9; b'= 4.4-5.9; c = 35-49; c' = 0.8-1.2; V = 60-65%; หลอดดูดอาหาร = 25-28 ไมครอน ดังนั้น จึงจัดจำแนกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็น *Helicotylenchus dihystera*

2. ***Hoplolaimus sienhorsti*** Luc, 1958

รายละเอียดรูปร่างลักษณะ : ลักษณะลำตัวเป็นทรงกระบอก มีความลำตัวยาวเฉลี่ย 1.42 (1.12-1.84) มิลลิเมตร ลำตัวกว้างเฉลี่ย 45.40 (41-60) ไมครอน ริมฝีปากโค้งกลม (rounded annulated) ประกอบด้วย 4 รอยย่น ริมฝีปากแยกออกจากส่วนลำตัว โครงหัวเห็นชัดเจน หลอดดูดอาหารมีขนาดใหญ่ยาวเฉลี่ย 45.60 (43-50) ไมครอน stylet knob มีลักษณะคล้ายกลีบบัว (indented anteriorly) ส่วนของ dorsal esophageal gland orifice (DEGO) อยู่ห่างจาก stylet knob เฉลี่ย 4 (3-5) ไมครอน median bulb กลมเห็นลิ้นชัดเจน basal bulb ซ้อนทับลำไส้ส่วนด้านหลัง (dorsal) ภายในมีต่อมทางเดินอาหารประกอบด้วย 6 nuclei ตำแหน่ง vulva ประมาณ 54.87 เปอร์เซ็นต์ ของความยาวลำตัว บริเวณปาก vulva มีอวัยวะที่เรียกว่า epiptygma มีลักษณะคล้ายเขี้ยวยื่นออกมา มีรังไข่ 2 ข้าง เหยียดไปทางส่วนหัวและหาง หางยาวเฉลี่ย 25 (21-30) ไมครอน หางมีลักษณะกลมมน (cylindrical round) มีเส้นข้างลำตัวเพียงเส้นเดียว

จากการวัดขนาดสัดส่วนต่างๆ และศึกษารายละเอียดรูปร่างลักษณะของไส้เดือนฝอยชนิดนี้พบว่าใกล้เคียงกับ *Hoplolaimus sienhorsti* ที่ Esther Van Den Berg (1976) รายงาน ซึ่งมีขนาดสัดส่วนต่างๆ ดังนี้ :- L = 1.01-1.56 mm; a = 25-34; b = 10.1; c = 38-74; V = 52-60%; หลอดดูดอาหาร = 40-49 ไมครอน ดังนั้น จึงจัดจำแนกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็น *Hoplolaimus sienhorsti*

3. ***Rotylenchulus reniformis*** Linford & Oliveira, 1940

รายละเอียดรูปร่างลักษณะ : ลักษณะการตายโค้งงอหรือเกือบเป็นรูปครึ่งวงกลม (open C-shape) ลำตัวยาวเฉลี่ย 0.47 มิลลิเมตร ลำตัวกว้างเฉลี่ย 15 ไมครอน ริมฝีปากกับส่วนลำตัวต่อเนื่องกันไม่มีรอยแบ่งให้เห็นเป็นสัดส่วน ริมฝีปากกลมมน (rounded low) โครงหัวและปมประสาทเห็นชัดเจน หลอดดูดอาหารยาวเฉลี่ย 17 ไมครอน stylet knob มีลักษณะกลมทางด้านฐานแล้วเรียวขึ้นไปจนถึงหลอดดูดอาหาร ตำแหน่ง dorsal esophageal gland orifice (DEGO)

อยู่ห่างจาก stylet knob เฉลี่ย 15 ไมครอน ไส้เดือนฝอยตัวเมียระยะเริ่มแรก มี esophagus ยาว ส่วนของ median bulb มีลิ้นขนาดใหญ่เห็นชัดเจน basal bulb มีลักษณะเป็นถุง (lobe) ตรง ปลายมนซ้อนทับลำไส้ระหว่างด้านข้างเฉียงไปด้านท้อง (ventral) มีตำแหน่ง vulva ประมาณ 71.28 เปอร์เซ็นต์ ของความยาวลำตัว มีรังไข่ 2 ข้าง รังไข่ของตัวเมียเริ่มแรกมีขนาดเล็ก หางยาว ประมาณ 30 ไมครอน ลักษณะหางเรียวแหลมกว่าตัวอ่อน ลักษณะแบบ acute conoid มีเส้นข้างลำตัว 4 เส้น

จากการวัดขนาดสัดส่วนต่างๆ และศึกษารายละเอียดรูปร่างลักษณะของไส้เดือนฝอยชนิดนี้พบว่าใกล้เคียงกับ *Rotylenchulus reniformis* ที่ Dasgupta *et al.* (1968) รายงาน ซึ่งมีขนาดสัดส่วนต่างๆ ดังนี้ :- L = 0.34-0.42 mm; a = 22-27; b = 3.5-4.3; b'= 2.4-3.5; c = 14-17; c' = 2.6-3.4; V = 68-73%; หลอดดูดอาหาร = 16-18 ไมครอน ดังนั้น จึงจัดจำแนกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็น *Rotylenchulus reniformis*

4. *Tylenchorhynchus martini* Fielding, 1956

รายละเอียดรูปร่างลักษณะ : ลำตัวยาวเฉลี่ย 0.75 (0.68-0.79) มิลลิเมตร ลำตัวกว้างเฉลี่ย 25 (23-26) ไมครอน ริมฝีปากกลม ประกอบด้วย 3 รอยย่น โครงหัวไม่ชัดเจน หลอดดูดอาหารยาวเฉลี่ย 18.80 (18-20) ไมครอน stylet knob กลม ส่วนของ dorsal esophageal gland orifice (DEGO) อยู่ห่างจาก stylet knob เฉลี่ย 5.3 (4-6) ไมครอน ส่วนของ median bulb มีลักษณะกลมรี basal bulb ปลายกลมมนเป็นกระเปาะ (abutting) ติดต่อกับลำไส้โดยไม่ซ้อนทับ เห็นลิ้นรอยต่อระหว่างทางเดินอาหารกับลำไส้ชัดเจน มีตำแหน่ง vulva ประมาณ 54.59 เปอร์เซ็นต์ของความยาวลำตัว มีรังไข่ 2 ข้าง เหยียดไปทางส่วนหัวและหาง หางยาวเฉลี่ย 50 (46-55) ไมครอน ลักษณะหางรูปร่างเกือบเป็นทรงกระบอก (sub-cylindrical round) เส้นข้างลำตัวมี 4 เส้น

จากการวัดขนาดสัดส่วนต่างๆ และศึกษารายละเอียดรูปร่างลักษณะของไส้เดือนฝอยชนิดนี้พบว่าใกล้เคียงกับ *Tylenchorhynchus martini* ที่ Fielding (1956) รายงาน ซึ่งมีขนาดสัดส่วนต่างๆ ดังนี้ :- L = 0.75 mm; a = 31; b = 5; c = 13.8; V = 54% ไมครอน ดังนั้น จึงจัดจำแนกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็น *Tylenchorhynchus martini*

5. *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949

รายละเอียดรูปร่างลักษณะ : ลักษณะของริ้วรอยย่นส่วนก้นหรือ perineal pattern มีรูปร่างกลมรีคล้ายรูปไข่ ด้าน dorsal ยกสูง มีริ้วรอยเป็นเส้นหยัก (wavy striae) เส้นข้างลำตัว

(lateral line) ปรากฏไม่ชัดเจน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่ 6 (oval with high squared dorsal arch) ตาม Key ของ Jepson (1987) ดังนั้น จึงจัดจำแนกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็น *Meloidogyne incognita*

6. ***Meloidogyne javanica*** **(Treub, 1885) Chitwood, 1949**

รายละเอียดรูปร่างลักษณะ : ลักษณะของริ้วรอยย่นส่วนก้นหรือ perineal pattern มีรูปร่างกลมรี ด้าน dorsal ไม่ยกสูง มีริ้วรอยเป็นเส้นหยาบ (coarse striae) เส้นข้างลำตัวปรากฏชัดเจน 2 เส้นคู่ (double lateral lines) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่ 5 (double lateral lines or prominent single lateral lines) ตาม Key ของ Jepson (1987) ดังนั้น จึงจัดจำแนกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็น *Meloidogyne javanica*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแหล่งปลูกกระเจี๊ยบเขียวของเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี และพิจิตร พบไส้เดือนฝอยสกุลที่มีความสำคัญต่อการปลูกกระเจี๊ยบเขียวคือ ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) แบ่งแยกได้ 2 ชนิด คือ *M. incognita* และ *M. javanica* ซึ่งพบในทุกพื้นที่ของการปลูก โดยพบทั้งตัวอ่อนระยะที่สองหรือระยะเข้าทำลายในดินและตัวเต็มวัยในระบบราก แต่พบในปริมาณที่ไม่เกิดความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ อย่างไรก็ตาม การปลูกกระเจี๊ยบเขียวต่อเนื่องตลอดปี ไส้เดือนฝอยรากปมดังกล่าวจะสามารถเพิ่มจำนวนประชากรในดินมากขึ้น และอาจก่อปัญหาต่อการปลูกกระเจี๊ยบเขียวได้ในอนาคต สำหรับไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่นๆ ที่พบ ได้แก่ *Helicotylenchus dihystera, Tylenchorhynchus martini, Criconemella* sp., *Hoplolaimus seinhorsti* และ *Rotylenchulus reniformis* มีปริมาณในดินไม่สูงและไม่ทำให้เกิดปัญหากับพืชได้

เอกสารอ้างอิง

ฐานเกษตรกรรม. 2529. รวมเรื่องผัก. ฐานเกษตรกรรม ฉบับพิเศษ ม.ค.-ก.ย. 2529. หน้า 67-68.

Dasgupta, D.R., D.J. Raski and S.A. Sher. 1968. A revision of the genus *Rotylenchulus* Olivelra, 1940 (Nematoda : Tylenchidae). Proc. Helminth. Soc. Wash. 35 : 169-192.

Esther Van Den Berg. 1976. *Hoplolaimus seinhorsti.* C.I.H. Description of plant-parasitic nematodes, Set 6, No. 76. William Clowes & Son Ltd., London. 3 p.

Fielding, M.J. 1965. *Tylenchorhynchus martini* a new nematode species found in the sugarcane and rice field of Louisiana and Texas. Proc, Helminth. Soc. Was. 23(1) : 47-48.

Jepson, S.B. 1987. Identification of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). C.A.B. International, The Cambrian News Ltd. Aberystwyth. 265 p.

Siddiqi, M.R. 1972. *Helicotylenchus dihystera*. C.I.H. Description of plant- parasitic nematodes, Set 1, No. 9. William Clowes & Son Ltd., London. 3 p.

การจัดการวัชพืชในการผลิตกระเจี๊ยบเขียวฝักสด

Weed Management in Fresh Okra Production

คมสัน นครศรี [1] ปัญญา พุกสุ่น [2]
1 กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2 ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 13 กรรมวิธี ประกอบด้วย การใช้สาร pendimethalin, dimethanamid, alachlor, alachlor+glyphosate, fluazifop-btyl, fenoxaprop-p-ethyl, fluazifop-butyl+fenoxaprop-p-ethyl, fluazifop-butyl+glyphosate, fenoxaprop-p-ethyl+glyphosate, การถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง, การคลุมดินด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง , การคลุมดินด้วยฟางข้าว 2 ครั้ง และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี ระหว่างเดือน กรกฎาคม 2549 พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช pendimethalin, fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว ส่วนสาร alachlor และ dimethanamid มีพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวเพียงเล็กน้อย สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชได้ดี กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชและการคลุมดินด้วยฟางข้าวมีน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกมีแนวโน้มให้ความสูงของกระเจี๊ยบเขียวสูงกว่า การถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้งกระเจี๊ยบเขียวให้ผลผลิตมากที่สุด คือ 3737.5 กก./ไร่ สารกำจัดวัชพืช pendimethalin ให้ผลผลิต 2,486.9 กก./ไร่ ไม่แตกต่างกับการใช้สารกำจัดวัชพืช fluazifop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl, fluazifop-butyl+fenoxaprop-p-ethyl , fluazifop-butyl+glyphosate, fenoxaprop-p-ethyl+glyphosate, การคลุมดินด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง ให้ผลผลิต 2,731.2, 2,655.8, 2,909.1, 2,493.5, 2,618.8, 2,793.8 และ 2,962.3 กก./ไร่ ตามลำดับ ส่วนวิธีไม่กำจัดวัชพืชกระเจี๊ยบเขียวมีผลผลิต 1,900.4 กก./ไร่

รหัสโครงการ 01-16-49-02

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชผักส่งออกชนิดหนึ่งที่ทำรายได้เข้าประเทศ กระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชอายุสั้น แปลงปลูกต้องมีความชื้นมากซึ่งสภาพดังกล่าวจะช่วยส่งเสริมให้เมล็ดวัชพืชบางชนิดงอกและเจริญเติบโตได้เร็ว วัชพืชเหล่านี้จะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตตลอดจนเป็นที่อยู่อาศัยของโรคและแมลงที่จะเข้าทำลายกระเจี๊ยบเขียวในระยะการเจริญเติบโต และระยะติดฝักมีผลเสียหายกับกระเจี๊ยบเขียว ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของฝักกระเจี๊ยบเขียวด้วย การจัดการวัชพืชด้วยแรงงานคนอาจทำได้ช้าและต้นทุนสูง (นิรนาม, 2538) ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชจะทำได้รวดเร็วกว่าและใช้แรงงานน้อยกว่าซึ่งการใช้สารกำจัดวัชพืชจะมีทั้งการใช้ก่อนวัชพืชงอกและการใช้หลังวัชพืชงอก (พรชัย, 2540) เช่น การใช้ alachlor ในคะน้า กว้างตุ้ง ผักกาดหัว และถั่วลันเตา พ่นคลุมดินก่อนปลูกและก่อนวัชพืชงอก หรือการใช้ fluazifop – butyl พ่นหลังวัชพืชงอกแล้วในระหว่างแถวของหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนการควบคุมวัชพืชในปอแก้ว และปอแก้วคิวบา ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกันกับกระเจี๊ยบเขียวนั้น ใช้สาร alachlor, fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl (นิรนาม, 2538) อย่างไรก็ตาม การใช้สารกำจัดวัชพืชสามารถควบคุมวัชพืชได้ในระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น ซึ่ง เสริมศิริและคณะ(2528) รายงานว่า การใช้สาร oxyfluorfen และ oxadiazon สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีในช่วงแรก แต่หลังจากปลูกกะหล่ำปลี 4 สัปดาห์ ความสามารถในการควบคุมลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีวัชพืชงอกขึ้นมาใหม่อีก ดังนั้นจึงได้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ก่อนและหลังวัชพืชงอกกับวิธีการคลุมดิน และการถอนวัชพืชด้วยมือ เพื่อใช้แนะนำให้กับเกษตรกรผู้ปลูกกระเจี๊ยบเขียวเป็นการค้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์การทดลองประกอบด้วย

1. เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
2. สารกำจัดวัชพืช pendimethalin, dimethanamid, alachlor, fluazifop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl และglyphosate
3. ฟางข้าว
4. ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15
5. สารป้องกันกำจัดโรคและแมลง

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ ประกอบด้วยกรรมวิธี 13 วิธี คือ

1. pendimethalin อัตรา 320 กรัม ai/ไร่
2. dimethanamid อัตรา 225 กรัม ai/ไร่
3. alachlor อัตรา 360 กรัม ai/ไร่
4. alachlor + glyphosate อัตรา 360+240 กรัม ai/ไร่
5. fluazifop-butyl อัตรา 50 กรัม ai/ไร่
6. fenoxaprop-p-ethyl อัตรา 30 กรัม ai/ไร่
7. fluazifop-butyl+fenoxaprop-p-ethyl อัตรา 50+30 กรัม ai/ไร่
8. fluazifop-butyl+glyphosate อัตรา 50+240 กรัม ai/ไร่
9. fenoxaprop-p-ethyl+glyphosate อัตรา 30+240 กรัม ai/ไร่
10. กำจัดวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง
11. คลุมด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง
12. คลุมด้วยฟางข้าว 2 ครั้ง
13. วิธีไม่กำจัดวัชพืช

การปฏิบัติการทดลองภายหลังการเตรียมดินทำการยกร่องห่างกัน 50 ซม. ปลูกกระเจี๊ยบเขียว 2 เมล็ดต่อหลุมบริเวณไหล่ร่อง ระยะปลูก 50x50 ซม. หลังปลูกกระเจี๊ยบเขียวพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกทันที ได้แก่ alachlor, pendimethalin และ dimethanamid ตามอัตราที่กำหนด และให้น้ำตามร่อง สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกครั้งที่ 1 ได้แก่ fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl หลังปลูกกระเจี๊ยบเขียว 15 วัน และสารกำจัดวัชพืชที่พ่นครั้งที่ 2 ได้แก่ fluazifop-butyl fenoxaprop-p-ethyl และ glyphosate หลังจากปลูกกระเจี๊ยบเขียว 50 วัน กำจัดวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง หลังปลูกที่ 20 และ 50 วัน และใช้ฟางข้าวคลุมดินครั้งที่ 1 หลังปลูกทันที และครั้งที่ 2 หลังปลูก 45 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กก./ไร่ ที่ระยะหลังปลูก 20 วัน

บันทึกข้อมูลความเป็นพิษและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชหลังพ่นสาร 15 วัน เก็บตัวอย่างวัชพืชและบันทึกความสูงของกระเจี๊ยบเขียวหลังปลูก 30 วัน และผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – กรกฎาคม 2549 ที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชหลังการพ่น 15 วัน พบว่า สาร alachlor และ dimethanamid เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวเล็กน้อย ขณะที่สาร pendimethalin ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวเลย เช่นเดียวกับสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก ได้แก่ fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ที่ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว เนื่องจากสารทั้ง 2 ชนิด เป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทเลือกทำลายวัชพืชใบแคบในพืชปลูกใบกว้าง (พรชัย, 2540) ส่วนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืชทั้งประเภทใช้พ่นก่อนวัชพืชงอกและประเภทใช้พ่นหลังวัชพืชงอก ให้การควบคุมวัชพืชส่วนใหญ่ได้ดี(ตารางที่ 1)

การสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืชหลังปลูก 45 วัน พบว่า กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชและการคลุมดินด้วยฟางข้าวมีน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน ซึ่งการคลุมดินด้วยฟางข้าว 2 ครั้ง มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยที่สุด คือ 17.0 กรัม/ตร.ม. รองลงมาคือ การใช้สาร pendimethalin และการคลุมดินด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 18.6 และ 25.0 กรัม/ตร.ม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2) วัชพืชที่พบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Nees) หญ้าตีนติด (*Brachiria reptans* (L.) Gard.& Hubb.) หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata* Qrt.) ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* Linn.) ผักโขม (*Amaranthus gracilis* Desf.) ปอวัชพืช (*Corchorus aestuans* Linn.) ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pestigridis* Linn.)

ส่วนความสูงของกระเจี๊ยบเขียวที่ระยะอายุ 30 วัน พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก ได้แก่ alachlor, pendimethalin และ dimethanamid มีผลให้การเจริญเติบโตด้านความสูงน้อยกว่า (ตารางที่ 2) อาจเนื่องมาจากสารกำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิดควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 1) ทำให้กระเจี๊ยบเขียวเจริญเติบโตด้านทรงพุ่มได้ดีกว่าเพราะไม่มีวัชพืชเข้ามาเบียดเบียน ส่วนสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก ได้แก่ fenoxaprop-p-ethyl และ fluazifop-butyl พ่นหลังปลูกกระเจี๊ยบเขียว 15 วัน ซึ่งในระยะนี้วัชพืชที่ขึ้นมาแข่งขันกับกระเจี๊ยบเขียวเป็นพวกประเภทใบแคบ เช่น หญ้านกสีชมพู และหญ้าตีนติด ทำให้กระเจี๊ยบเขียวมีการแข่งขันกับวัชพืช จึงทำให้กระเจี๊ยบเขียวมีการเจริญเติบโตด้านความสูงมากกว่า เช่นเดียวกับวิธีการถอนวัชพืชด้วยมือ (ตารางที่ 2)

สำหรับผลผลิต พบว่า การถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง ให้ผลผลิตมากที่สุด คือ 3737.5 กก./ไร่ สารกำจัดวัชพืช pendimethalin ให้ผลผลิต 2,486.9 กก./ไร่ ไม่แตกต่างกับการใช้สาร

กำจัดวัชพืช fluazifop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl, fluazifop-butyl+fenoxaprop-p-ethyl , fluazifop-butyl+glyphosate, fenoxaprop-p-ethyl+glyphosate, การคลุมดินด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง ให้ผลผลิต 2,731.2, 2,655.8, 2,909.1, 2,493.5, 2,618.8, 2,793.8 และ 2,962.3 กก./ไร่ ตามลำดับ ส่วนวิธีไม่กำจัดวัชพืชกระเจี๊ยบเขียวมีผลผลิต 1,900.4 กก./ไร่

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการปลูกกระเจี๊ยบเขียว พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช pendimethalin, fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว ส่วนสาร alachlor และ dimethanamid มีพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวเพียงเล็กน้อย สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชได้ดี กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชและการคลุมดินด้วยฟางข้าวมีน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกมีแนวโน้มให้ความสูงของกระเจี๊ยบเขียวสูงกว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก การถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้งกระเจี๊ยบเขียวให้ผลผลิตมากที่สุด ขณะการใช้สาร pendimethalin, fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ให้ผลผลิตกระเจี๊ยบเขียวไม่แตกต่างกับการคลุมดินด้วยฟางข้าว

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2538. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองกพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 144 หน้า.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540. วัชพืชศาสตร์. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 585 หน้า.

เสริมศิริ คงแสงดาว เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ และ ชัยวัฒน์ วัฒนไชย. 2528. การศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกในกะหล่ำปลี. หน้า 473-479. *ใน* : รายงานผลการค้นคว้าวิจัยกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร.

ตารางที่ 1 คะแนนความเป็นพิษและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชในการปลูกกระเจี๊ยบเขียว 15 วันหลังพ่นสาร ปี 2549

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัมai/ไร่)	ความเป็นพิษ[1/] (คะแนน)	ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช[2/] (คะแนน)
pendimethalin	320	0.0	8.8
dimethanamid	225	3.0	8.2
alachlor	360	1.3	8.1
alachlor+glyphosate	360+240	2.7	8.5
fluazifop-butyl	50	0.0	7.0
fenoxaprop-p-ethyl	30	0.0	7.2
fluazifop+ fenoxaprop	50+30	0.0	8.8
fluazifop+glyphosate	50+240	0.0	7.2
fenoxaprop+glyphosate	30+240	0.0	7.0
ถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง	-	-	-
คลุมด้วยฟาง 1 ครั้ง	-	-	-
คลุมด้วยฟาง 2 ครั้ง	-	-	-
ไม่กำจัดวัชพืช	-	-	-

1/ 0 = ไม่เป็นพิษ
1-3 = เป็นพิษเพียงเล็กน้อย
4-6 = เป็นพิษปานกลาง
7-9 = เป็นพิษรุนแรง
10 = พืชตายหมด

2/ 0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้
1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย
4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง
7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี
10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 น้ำแห้งวัชพืช (45 วันหลังปลูก) ความสูง(อายุ 30 วัน) และผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว ปี 2549

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัมai/ไร่)	น.น.แห้งวัชพืช[1/] (กรัม/ตร.ม.)	ความสูง (ซม.)	ผลผลิต (กก./ไร่)
pendimethalin	320	18.6ab[2/]	17.0bcd[2/]	2,486.9bcd[2/]
dimethanamid	225	45.2b	14.5cd	2,058.3de
alachlor	360	98.0b	16.0bcd	1,981.7cde
alachlor+glyphosate	360+240	99.2b	13.7d	2,268.7e
fluazifop-butyl	50	66.6b	29.6ab	2,731.2bc
fenoxaprop-p-ethyl	30	55.2b	29.0ab	2,655.8bcd
fluazifop+ fenoxaprop	50+30	46.6b	23.3abcd	2,909.1b
fluazifop+glyphosate	50+240	108.6b	27.7abc	2,493.5bcd
fenoxaprop+glyphosate	30+240	48.6b	32.0a	2,618.8cbd
ถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง	-	0.0a	26.8abcd	3,737.5a
คลุมด้วยฟาง 1 ครั้ง	-	25.0b	14.5cd	2,793.8bc
คลุมด้วยฟาง 2 ครั้ง	-	17.0ab	15.8bcd	2,962.3b
ไม่กำจัดวัชพืช	-	372.0c	27.2abcd	1,900.4e
CV (%)		136.3	28.7	12.4

1/ ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งวัชพืช ความสูงและผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียวที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 **%** โดย DMRT

2/ วัชพืชที่พบ

หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Nees)

หญ้าตีนติด (*Brachiria reptans* (L.) Gard.& Hubb.)

หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata* Qrt.)

ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* Linn.)

ผักโขม (*Amaranthus gracilis* Desf.)

ปอวัชพืช (*Corchorus aestuans* Linn.)

ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pestigridis* Linn.)

การประเมินเชื้อพันธุ์เห็ดขอนขาวที่เหมาะสมกับการเพาะในพื้นที่ภาคกลาง

Evaluation on *Lentinus squarrosulus* Strains Suitable for Production in Central Region

นางสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากเชื้อเห็ดขอนขาวจำนวน 10 สายพันธุ์ นำมาทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ดบนอาหารวุ้น 4 ชนิด และบนเมล็ดข้าวฟ่าง ที่อุณหภูมิ 4 ระดับ พบว่า เส้นใยเชื้อเห็ดทดลองทั้ง 10 สายพันธุ์ เจริญได้ดีบนอาหารวุ้น 4 ชนิด และบนเมล็ดข้าวฟ่าง ที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 35 °ซ แต่ที่อุณหภูมิ 40 °ซ เส้นใยเห็ดเจริญช้า และเส้นใยเชื้อเห็ดทดลองเจริญได้ดีบนก้อนอาหารเพาะเห็ดและสามารถออกดอกให้ผลผลิตได้ทั้ง 10 สายพันธุ์ ในการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อนและในฤดูฝน

การเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อนพบว่าเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ที่เพาะออกดอกให้ผลผลิตเฉลี่ยต่อก้อนอาหารเพาะ ดังนี้ LS1 55.02 กรัม/ก้อน , LS2 30.75 กรัม/ก้อน, LS3 49.16 กรัม/ก้อน, LS4 34.08 กรัม/ก้อน , LS5 65.04 กรัม/ก้อน , LS6 45.39 กรัม/ก้อน, LS7 52.74 กรัม/ก้อน, LS8 50.46 กรัม/ก้อน, LS9 47.34 กรัม/ก้อน และ LS10 58.18 กรัม/ก้อน

และการเพาะให้ออกดอกในฤดูฝนพบว่าเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ที่เพาะออกดอกให้ผลผลิตเฉลี่ยต่อก้อนอาหารเพาะ ดังนี้ LS1 78.73 กรัม/ก้อน , LS2 49.77 กรัม/ก้อน, LS3 41.43 กรัม/ก้อน, LS4 44.83 กรัม/ก้อน , LS5 85.02 กรัม/ก้อน , LS6 48.08 กรัม/ก้อน, LS7 60.20 กรัม/ก้อน, LS8 57.80 กรัม/ก้อน, LS9 59.47 กรัม/ก้อน และ LS10 50.78 กรัม/ก้อน

รหัสโครงการ 01-16 -49- 03

คำนำ

เห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulus* Mont.) เป็นเห็ดที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ตามธรรมชาติเห็ดขอนขาวจะขึ้นอยู่บนขอนไม้ตระกูลเต็งรัง ไม้มะม่วง หรือไม้ผุ บางครั้งอาจเรียกว่าเห็ดมะม่วง เห็ดชนิดนี้จะพบมากในช่วงต้นฝน หรือในช่วงที่ฝนตกชุก ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อาจกล่าวได้ว่าเห็ดขอนขาวเป็นเห็ดประจำถิ่น หรือเห็ดพื้นบ้านที่เจริญได้ดี และเป็นที่นิยมบริโภคของชาวอีสาน ทำให้เห็ดชนิดนี้มีมูลค่าทางเศรษฐกิจค่อนข้างสูงในภูมิภาคนี้ ปัจจุบันแม้มีการเพาะเลี้ยงเห็ดชนิดนี้ทั่วทุกภาคของประเทศแล้วก็ตาม เนื่องจากมีความต้องการมากขึ้นในตลาดและเป็นเห็ดที่มีราคาดี แต่การพัฒนาการผลิตเห็ดปัจจัยสำคัญคือการมีสายพันธุ์เห็ดที่ดี และเหมาะสมกับพื้นที่ ซึ่งการผลิตเห็ดขอนขาวยังคงมีข้อจำกัดในเรื่องเชื้อพันธุ์ที่เหมาะสมกับการผลิตและเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมภายในท้องถิ่น การทดสอบสายพันธุ์เห็ดเป็นวิธีการหนึ่งที่จะทำให้ได้สายพันธุ์เห็ดที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้กว้างขึ้น และเป็นวิธีที่ทำให้ได้สายพันธุ์เห็ดที่เหมาะสมโดยใช้เวลาไม่นานเท่ากับการผสมหรือปรับปรุงพันธุ์วิธีอื่น ที่จะนำไปสู่การได้สายพันธุ์เห็ดที่ให้ผลผลิตสูง มีคุณภาพ และเหมาะสมกับพื้นที่ในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์

2. วัสดุและสารเคมีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และวัสดุเพาะเห็ด ได้แก่ขี้เลื่อย, รำ,น้ำตาลทราย และ ปูนขาวหรือยิบซั่ม

3. หม้อนึ่งความดัน, หม้อนึ่งไม่อัดความดัน, เทอร์โมมิเตอร์ , เครื่องชั่งไฟฟ้า, ตู้ควบคุมอุณหภูมิ, ตู้เขี่ยเชื้อ, ตู้อบฆ่าเชื้ออุณหภูมิสูง, อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อพันธุ์เห็ด

4. โรงเรือนบ่มก้อนเชื้อ และโรงเรือนเปิดดอกเห็ด

5. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูเห็ด

วิธีการ

<u>การทดลองที่ 1 ศึกษาปัจจัยด้านอาหารและอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด</u>

วางแผนการทดลองแบบ CRD

1. ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ด 10 เชื้อพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25, 30, 35 และ 40°ซ บนอาหารวุ้นชนิดต่างๆ ได้แก่ อาหาร PDA, อาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco), อาหารสังเคราะห์ (สูตร peptone 2 กรัม, yeast 2 กรัม, glucose 20 กรัม, $MgSo_4 \cdot 7HO_2$ 0.5 กรัม, KH_2PO_4 0.46 กรัม, K_2HPO_4 1 กรัม, วุ้นผง 20 กรัมและน้ำกลั่น 1 ลิตร) และอาหารรำข้าวสาลี 5% เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใย โดยวัดการเจริญของเส้นใยในแนวระดับ

2. ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ด 10 เชื้อพันธุ์บนเมล็ดข้าวฟ่างในแนวดิ่ง ที่อุณหภูมิ 30°ซ โดยใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มม. เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเห็ดเจริญอยู่บนอาหารพีดีเอ เลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อสูงประมาณ ¾ ของหลอดทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 มม. เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใย โดยวัดการเจริญของเส้นใยในแนวดิ่ง

<u>การทดลองที่ 2 ศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน และ ฤดูฝน</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB

1. เตรียมวัสดุอุปกรณ์และโรงเรือนทดลอง เตรียมขยายเชื้อเห็ดในอาหารวุ้นและในเมล็ดข้าวฟ่างใช้เป็นหัวเชื้อทดลอง

2. เตรียมถุงก้อนอาหารเพาะ ประกอบด้วยขี้เลื่อย 100 กก. :รำละเอียด 3 กก. : ดีเกลือ 0.2 กก. : ปูนขาว 1 กก.: น้ำตาล 2 กก.โดยน้ำหนักแห้งปรับความชื้นด้วยน้ำให้มีความชื้น 60% บรรจุลงในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6 ½ x 13 นิ้ว ถุงละ 800 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งชนิดไม่อัดความดันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ใส่เชื้อเห็ด 10 เชื้อพันธุ์ที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่างฆ่าเชื้อ นำถุงก้อนอาหารเพาะบ่มในโรงเรือนในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ เมื่อเส้นใยเจริญเต็มถุงนำไปเปิดดอกในโรงเรือน รักษาอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ด้วยการให้น้ำและระบายอากาศ บันทึกข้อมูลระยะเวลาการเจริญของเส้นใยเต็มถุงอาหาร น้ำหนักผลผลิต อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2550

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรในพื้นที่ภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u> ศึกษาปัจจัยด้านอาหารและอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด พบว่า

ที่อุณหภูมิ 25°ซ บนอาหาร PDA เส้นใยเห็ดขอนขาว LS10 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 45.25 มม., บนอาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco) เส้นใยเห็ดขอนขาว LS2 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 56.18 มม., บนอาหารสังเคราะห์เส้นใยเห็ดขอนขาว LS10 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 48.13 มม. และบนอาหารรำข้าว 5% เส้นใยเห็ดขอนขาว LS2 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 51.00 มม. (ตารางที่ 1)

ที่อุณหภูมิ 30°ซ บนอาหาร PDA เส้นใยเห็ดขอนขาว LS8 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 80.00 มม., บนอาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco) เส้นใยเห็ดขอนขาว LS4 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 76.38 มม., บนอาหารสังเคราะห์เส้นใยเห็ดขอนขาว LS9 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 68.63 มม. และบนอาหารรำข้าว 5% เส้นใยเห็ดขอนขาว LS2 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 68.38 มม. (ตารางที่ 2)

ที่อุณหภูมิ 35°ซ บนอาหาร PDA เส้นใยเห็ดขอนขาว LS5 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 85.88 มม., บนอาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco) เส้นใยเห็ดขอนขาว LS5 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 84.63 มม., บนอาหารสังเคราะห์เส้นใยเห็ดขอนขาว LS8 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 89.38 มม. และบนอาหารรำข้าว 5% เส้นใยเห็ดขอนขาว LS5 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 84.00 มม. (ตารางที่ 3)

ที่อุณหภูมิ 40°ซ บนอาหาร PDA, อาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco), อาหารสังเคราะห์ และอาหารรำข้าว 5% เส้นใยเห็ดขอนขาว LS2 เจริญดีที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 89.38, 86.88, 75.63 และ 88.75 มม. ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

สำหรับการเจริญบนเมล็ดข้าวฟ่าง ที่อุณหภูมิ 30°ซ เส้นใยเห็ดขอนขาว LS4 เจริญดีที่สุดมีการเจริญในแนวดิ่ง 39.44 มม. (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 1 การเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 4 วัน ที่อุณหภูมิ 25°ซ บนอาหาร PDA, อาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco), อาหารรำข้าวสาลี 5%, และ อาหารสังเคราะห์

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย (มม.)			
	อาหาร PDA	อาหาร PDA สำเร็จรูป	อาหารสังเคราะห์	อาหารรำข้าว 5%
LS1	39.88 bc	45.00 de	45.00 ab	49.50 abc
LS2	41.00 bc	56.18 a	42.63 abc	51.00 a
LS3	36.88 cd	44.38 de	46.38 ab	45.75 e
LS4	38.25 cd	48.50 bcd	42.75 abc	48.50 cd
LS5	40.50 bc	47.25 cd	43.88 abc	46.50 de
LS6	39.75 bc	48.50 bcd	38.88 c	50.63 ab
LS7	42.88 ab	53.63 ab	45.75 ab	48.88 bc
LS8	42.63 ab	53.75 ab	42.88 abc	46.13 e
LS9	34.88 d	41.38 e	42.00 bc	35.38 f
LS10	45.25 a	52.25 abc	48.13 a	48.38 cd
ค่าเฉลี่ย	40.19	49.08	43.83	47.06
CV (%)	6.4	7.1	8.3	2.8

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

ตารางที่ 2 การเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 4 วัน ที่อุณหภูมิ 30°ซ บนอาหาร PDA, อาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco), อาหารรำข้าวสาลี 5%, และ อาหารสังเคราะห์

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย (มม.)			
	อาหาร PDA	อาหาร PDA สำเร็จรูป	อาหารสังเคราะห์	อาหารรำข้าว 5%
LS1	79.50 ab	72.13 ab	63.25 abc	63.00 cd
LS2	73.00 abc	75.63 a	60.00 bc	68.38 a
LS3	58.88 e	70.25 ab	66.75 a	61.38 de
LS4	67.63 cd	76.38 a	63.75 ab	66.75 ab
LS5	76.25 ab	72.75 ab	65.00 ab	59.50 e
LS6	64.50 de	68.50 ab	58.38 c	63.63 cd
LS7	72.13 bc	76.13 a	66.13 a	64.00 bcd
LS8	80.00 a	75.75 a	63.75 ab	65.63 abc
LS9	58.88 e	64.88 b	68.63 a	47.38 f
LS10	76.50 ab	73.75 a	66.25 a	62.50 d
ค่าเฉลี่ย	70.72	72.61	64.19	62.21
CV (%)	6.6	7.4	5.2	3.1

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

ตารางที่ 3 การเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 3 วัน ที่อุณหภูมิ 35°ซ บนอาหาร PDA, อาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco), อาหารรำข้าวสาลี 5%, และ อาหารสังเคราะห์

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย (มม.)			
	อาหาร PDA	อาหาร PDA สำเร็จรูป	อาหารสังเคราะห์	อาหารรำข้าว 5%
LS1	70.75 bc	72.63 bc	85.25 ab	68.50 c
LS2	81.00 a	77.88 b	74.75 c	77.38 b
LS3	74.75 b	77.13 b	88.38 ab	68.75 c
LS4	82.38 a	69.38 cd	85.00 ab	75.25 b
LS5	85.88 a	84.63 a	87.50 ab	84.00 a
LS6	69.00 c	68.50 cd	85.25 ab	68.88 c
LS7	69.38 c	73.25 bc	82.00 b	69.50 c
LS8	82.50 a	75.25 b	89.38 a	83.25 a
LS9	85.25 a	67.00 d	85.75 ab	63.50 d
LS10	72.00 bc	66.63 d	89.13 a	70.38 c
ค่าเฉลี่ย	77.29	73.22	85.24	72.94
CV (%)	4.1	4.5	4.9	2.7

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

ตารางที่ 4 การเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 4 วัน ที่อุณหภูมิ 40°ซ บนอาหาร PDA, อาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco), อาหารรำข้าวสาลี 5%, และ อาหารสังเคราะห์

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย (มม.)			
	อาหาร PDA	อาหาร PDA สำเร็จรูป	อาหารสังเคราะห์	อาหารรำข้าว 5%
LS1	13.75 fg	11.50 d	11.38 d	16.63 ef
LS2	89.38 a	86.88 a	75.63 a	88.75 a
LS3	74.75 c	68.50 b	69.63 a	61.38 c
LS4	11.50 g	12.13 d	11.63 d	11.75 g
LS5	15.13 ef	17.25 d	26.75 c	14.50 f
LS6	73.50 c	66.38 b	72.75 a	72.63 b
LS7	75.00 c	71.25 b	71.13 a	74.75 b
LS8	17.00 e	14.50 d	18.50 cd	18.38 e
LS9	56.00 d	38.38 c	52.13 b	50.08 d
LS10	79.88 b	68.38 b	73.50 a	74.75 b
ค่าเฉลี่ย	50.59	45.51	48.30	48.36
CV (%)	4.1	8.7	14.9	3.5

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

ตารางที่ 5 การเจริญในแนวดิ่งของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 5 วัน บนเมล็ดข้าวฟ่าง ที่อุณหภูมิ 30°ซ

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยการเจริญในแนวดิ่งของเส้นใย (มม.)
LS1	32.56 ab
LS2	36.06 ab
LS3	35.50 ab
LS4	39.44 a
LS5	34.31 ab
LS6	35.31 ab
LS7	32.69 ab
LS8	36.94 a
LS9	29.25 b
LS10	29.38 b
ค่าเฉลี่ย	34.14
CV (%)	12.5

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

<u>การทดลองที่ 2</u> ศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน และ ฤดูฝน

การให้ผลผลิตของเส้นใยเห็ดขอนขาว พบว่าเส้นใยเห็ดขอนขาว LS5 ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 65.04 กรัม/ถุง จากการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน และ 85.02 กรัม/ถุง จากการเพาะให้ออกดอกในฤดูฝน (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลผลิตดอกเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ จากการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน และฤดูฝน ที่กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม / ถุง)	
	ฤดูร้อน	ฤดูฝน
LS 1	55.02 ab	78.73 ab
LS 2	30.75 c	49.77 c
LS 3	49.16 abc	41.43 c
LS 4	34.08 bc	44.83 c
LS 5	65.04 a	85.02 a
LS 6	45.39 abc	48.08 c
LS 7	52.74 ab	60.20 bc
LS 8	50.46 abc	57.80 c
LS 9	47.34 abc	59.47 bc
LS 10	58.18 a	50.78 c
ค่าเฉลี่ย	48.82	57.61
CV (%)	26.0	22.6

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เส้นใยเชื้อเห็ดทดลองทั้ง 10 สายพันธุ์ เจริญได้ดีบนอาหารวุ้น 4 ชนิด และบนเมล็ดข้าวฟ่าง ที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 35 °ซ แต่ที่อุณหภูมิ 40 °ซ เส้นใยเห็ดเจริญช้า และเส้นใยเชื้อเห็ดทดลองเจริญได้ดีบนก้อนอาหารเพาะเห็ดและสามารถออกดอกให้ผลผลิตได้ทั้ง 10 สายพันธุ์ ในการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อนและในฤดูฝน

เอกสารอ้างอิง

วสันณ์ เพชรรัตน์. 2538. การเพาะเห็ดป่า : I เห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulus* Mont) ว. สงขลานครินทร์ วทท. 17(1) :43-56

สมพงษ์ อังโขรัมย์ พิมพ์กานต์ อร่ามพงษ์พันธุ์ และสัญชัย ตันตยาภรณ์. 2535. การเพาะเห็ดขอนขาวในวัสดุต่างชนิด. หน้า 113-117. *ใน* รายงานผลงานวิจัยปี 2535 กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

รวบรวม คัดเลือกพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่าง ๆ เพื่อเป็นพันธุ์ทาง การค้า

Collection and Selection the Strains of *Macrocybe crassum* from Various Sources for the Commercial Use

อัจฉรา พยัพพานนท์ [1/]นันทินี ศรีจุมปา และ [2/]อภิญญา สุราวุธ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช [1/]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขต 1 [2/]สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขต 8

บทคัดย่อ

เห็ดตีนแรด เป็นอาหารของมนุษย์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีสรรพคุณทางยา สามารถจะส่งเสริมให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจ ที่มีความปลอดภัยสูงจากสารเคมีได้ แต่ปัจจุบันขาดแคลนเชื้อพันธุ์ที่จะนำไปใช้เป็นเชื้อขยาย ด้วยเชื้อเห็ดตีนแรดที่เหมาะสมแต่ละพื้นที่ ยังไม่มีบริการ จึงได้ทำการ สำรวจ รวบรวม คัดเลือก เห็ดชนิดนี้จากที่ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติพร้อมทดสอบประสิทธิภาพการผลิต โดยดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กทม. และที่ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพานอันเนื่องมาจากพระราชดำริจังหวัดสกลนคร ระยะเวลาระหว่าง ตุลาคม 2548- กันยายน 2549. ปรากฏผล : 1. รวบรวมเชื้อเห็ดตีนแรดได้ 10 สายพันธุ์เมื่อทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ดบนพีดีเอ ที่ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 °ซ พบว่าอุณหภูมิที่ 20 ,25 และ 30 °ซ เส้นใยเจริญดี 2. การทดสอบเพาะเชื้อเห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์ ชุดที่ 1

2.1 ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร ระหว่าง ธันวาคม 2548 - พฤษภาคม 2549 โดยเพาะในก้อนอาหารขี้เลื่อย น้ำหนักก้อนละ 800 กรัม จำนวน 1,000 ก้อน เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารขี้เลื่อย ภายใน 76วัน จึงนำไปเปิดให้เกิดดอก (เดือนมีนาคม 2549) โดยเปลือยถุงลงในตะกร้าและปิดหน้าก้อนเชื้อด้วยดินที่นึ่งด้วยความร้อน 100°ซ นาน 2ชั่วโมง ให้เกิดดอกใน โรงเรือนสภาพธรรมชาติ ที่มีความชื้นแสง และอากาศ สามารถให้ผลผลิตได้ 5 สายพันธุ์ 2.2 ดำเนินการที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพาน จ. สกลนคร ระหว่าง มีนาคม-กันยายน 2549 โดยเพาะในก้อนอาหารฟางข้าวหมัก (ฟาง : มูลวัว : รำละเอียด : ปูนขาว ในอัตราส่วน 100 : 25 : 5 :1) น้ำหนักก้อนละ 800 กรัม จำนวน 1,000 ก้อน เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมัก ภายใน 60 วัน(มีนาคม-พฤษภาคม 2549) จึงนำไปเปิดให้เกิดดอกโดยเปลือยก้อนเชื้อลงตะกร้าจำนวน 10 ถุงต่อตะกร้า และปิดหน้าก้อนเชื้อด้วย ดินที่นึ่งด้วยความร้อนประมาณ100 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้ววางให้เกิดดอก

รหัสโครงการ 01-16-49 -03

ในโรงเรือนสภาพธรรมชาติ ที่มีความชื้น แสง และอากาศถ่ายเทได้ สามารถเกิดดอกทั้ง10 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 82.33-192.63 กรัมต่อก้อน และมี 4 เชื้อพันธุ์ที่ให้ผลผลิตได้มากกว่า 180 กรัมต่อก้อน 3. การทดสอบเพาะเชื้อเห็ดตีนแรด จำนวน 10 สายพันธุ์ ชุดที่ 2 ระหว่างเดือนเมษายน- กันยายน 2549 ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร โดยเพาะในก้อนอาหารขี้เลื่อย น้ำหนัก ก้อนละ800 กรัม จำนวน 1,000 ก้อน เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารขี้เลื่อย ภายใน 90วัน ณ อุณหภูมิห้อง 29-32 °ซ (เมษายน-กรกฎาคม 2549) จึงนำไปเปิดให้เกิดดอก:3.1.โดยวิธีเปิดปากถุงแล้วปิดหน้าก้อนเชื้อแต่ละก้อนด้วยดินที่นึ่งด้วยความร้อนประมาณ100°ซ 2 ชั่วโมง วางให้เกิดดอกในโรงเรือนสภาพธรรมชาติ ที่มีความชื้น แสง และอากาศถ่ายเทได้ กำหนด สายพันธุ์ละ 55 ซ้ำ (ก้อน) ให้ผลผลิตได้ทุกสายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 25 -134.5 กรัม ต่อก้อน 3.2.โดยวิธีเปลือยก้อนเชื้อวางลงบนแปลงดิน คลุมผิวหน้าด้วยดินที่นึ่งด้วยความร้อน100 ° ซ 2 ชั่วโมง และปิดซ้อนชั้นหน้าดินด้วยฟางข้าว ให้ผลผลิตได้ ระหว่าง 26.1-139.8 กรัมต่อก้อน

คำนำ

เห็ดตีนแรด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tricholoma crassum* (Berk.) sacc.ซึ่งปัจจุบันใช้ *Macrocybe crassum* เป็นเห็ดที่พบได้ทุกภาคของประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้านใกล้เคียงจึงมีชื่อเรียกตามแต่ละท้องถิ่นต่าง ๆ กัน เช่นชื่อ เห็นตับเต่าขาว (ภาคกลาง) เห็ดจั่น (ภาคเหนือ) เห็ดตีนแฮดหรือเห็ดใหญ่ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) แหล่งที่พบมักเกิดบนพื้นดินที่มีใบไม้ผุทับถม, ตามทุ่งหญ้าป่าเขา, ป่าโปร่ง, ป่าละเมาะ และเกิดมากในช่วงฤดูฝนที่มีความชื้นสัมพันธ์เฉลี่ยของบรรยากาศประมาณ 70%อุณหภูมิช่วง 28-30°ซ จะเกิดดอกได้ดีแต่ถ้าอากาศเย็นจะชะงักการเจริญเติบโต (พิมพ์กานต์และคณะ 2529)ได้มีการทดลองเกี่ยวกับเห็ดตีนแรดตั้งแต่ปี พ.ศ. 2501 โดยคุณ ณรงค์ มีนะนันท์ (ศูนย์รวบรวมเห็ดบ้าน อรัญญิก, 2542) และคุณเสียงทอง นุตาลัย ได้ส่งตัวอย่างเห็ดตีนแรดไปที่ Kew Botanical Gardent ประเทศอังกฤษจำแนกเชื้อเป็น *T. Crassum* (Berk.) sacc. (ข้อมูลจากคุณสำเภา ภัทรเกษวิทย์ สำนักวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) และได้มีการพัฒนาการเพาะเรื่อยมา (พันธุ์ทวี และคณะ, 2519, ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ, 2519) ทั้งภาครัฐและเอกชน (ปรีชา ลิ่มไชยฤกษ์, 2540) จนปัจจุบันจะมีการเพาะเห็ดตีนแรดทั้งเพาะเลี้ยงในถุงพลาสติก โดยก้อนที่เส้นใยเดินเต็มถุงนำมาเปิดปากถุงแล้วปิดผิวหน้าด้วยดิน จะได้ผลผลิตในช่วงฤดูฝน ประมาณ 80-100 กรัม/น้ำหนักถุง 900 กรัม (ศูนย์รวบรวมเห็ดบ้านอรัญญิก, 2542) และตามรายงานของพิมพ์กานต์ และคณะ (2529) เพาะเห็ดตีนแรดในถุงพลาสติกและใส่ตะกร้าแล้วกลบดินให้ผลผลิต 800 กรัม/ถุง/ 3 เดือน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่

ที่ 30°ซ ความชื้น 80-90% และเพาะเลี้ยงในแปลงเพาะโดยนำก้อนเชื้อที่เส้นใยเดินเต็มฝังลงในดินกลบดินหนา 2 นิ้ว เพาะพร้อมปลูกผัก เห็ดจะออกดอกหลังจาก 20-40 วัน ที่ฝังก้อน ได้ผลผลิตประมาณ 100-200 กรัม/ก้อน

เห็ดตีนแรดมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเช่นเดียวกับเห็ดหลายชนิดโดยมีส่วนประกอบของโปรตีน 2.91 กรัม, คาร์โบไฮเดรต 10.02 กรัม, เยื่อใย 0.486 กรัม, แร่ 1.293 กรัม, น้ำ 84.34 กรัม, แคลเซียม 2.71 มก. , เหล็ก 3.36 มก. และฟอสฟอรัส 115.75 มก. ต่อน้ำหนักเห็ด 100 กรัม (ศูนย์รวบรวมเห็ดบ้านอรัญญิก, 2540) ได้มีรายงานพบสาร α-Trogia ซึ่งเป็นสาร antioxidant ในดอกเห็ดตับเต่าซึ่งมีปริมาณสูงกว่าในเห็ดขอนขาว, บด, นางรม, หูหนู, หูหนูขาว, เห็ดฟาง และอื่น ๆ นอกจากนั้นแล้ว มีคุณค่าทางสมุนไพรที่น่าสนใจแม้ว่ายังไม่มีการศึกษากับเห็ดตีนแรดโดยตรง แต่ในตระกูลเดียวกันเช่น *T. gambosum* และ *T. Matsutake* ว่ามีสารที่มีผลต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็ง, ควบคุมระบบการหมุนเวียนของโลหิต, ลดไข้ และอื่น ๆ (Saosong *etal* , 2003) อัจฉรา (2549) ได้รายงานว่าดอกเห็ดตีนแรดมีสาร ซีลีเนียม (Selenium - Se) อยู่ระหว่าง35 -180 ไมโครกรัม ต่อดอกเห็ด1กิโลกรัม ซึ่ง ซีลีเนียมนี้สามารถป้องกันลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก เห็ดตีนแรดสามารถเก็บรักษาความสดไว้ในตู้เย็นได้ไม่น้อยกว่า 3 วัน นำไปประกอบอาหารได้หลาย ๆ ชนิดและมีแนวโน้มแปรรูปเป็นเห็ดตีนแรดแห้งไว้จำหน่ายต่อไปได้ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ดังนั้นแล้วเห็ดตีนแรดซึ่งเกิดมีอยู่ในประเทศไทยทั่วไปย่อมมีความหลากหลาย ตามสิ่งแวดล้อมหรือทางพันธุกรรม นับเป็นผลดี ต่อการรวบรวมคัดเลือก เพื่อนำมาขยายให้เป็นประโยชน์กับองค์การต่าง ๆ แต่ ณ ปัจจุบันเชื้อพันธุ์เห็ดตีนแรดที่จะบริการแก่เกษตรกรมีน้อยจึงสมควรต้องเร่งสำรวจเก็บรวบรวมเชื้อพันธุ์ไว้ วัตถุประสงค์ในการศึกษาเพื่อให้ได้พันธุ์เห็ดตีนแรดแนะนำที่เหมาะสมกับการเพาะในแต่ละพื้นที่และฤดูกาลที่ให้ผลผลิตสูงและมีลักษณะตามความต้องการของตลาดไว้เป็นเชื้อพันธุ์บริการ และใช้ปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด พีดีเอ

2 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

3 วัสดุสำหรับใช้ในการเพาะเห็ดตีนแรดได้แก่ ฟางข้าว ขี้เลื่อย มูลสัตว์ ดิน ถุงพลาสติกทนร้อน ตะกร้า พลาสติก

4 หม้อนึ่งอัดความดัน หม้อนึ่งไม่อัดความดัน โรงเรือนเปิดดอก

วิธีการ

1.รวบรวมคัดเลือก สายพันธุ์เห็ดตีนแรด

1.1 เก็บตัวอย่างในธรรมชาติ (ภาคกลาง, ภาคใต้, ภาคเหนือ, ภาคตะวันออก, ภาคตะวันตก)

1.2 รวบรวมจากแหล่งต่าง ๆ (ภาคกลาง, ภาคใต้, ภาคเหนือ, ภาคตะวันออก, ภาคตะวันตก)

1.3 ศึกษาลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะ สี ขนาด ดอกเห็ด ที่เก็บจาก จังหวัดต่างๆ ในแต่ละภาค

1.4 ลักษณะภายในโครงสร้างดอกเห็ด จากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ หมวกและครีบดอก ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์

2.ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดบนอาหารพีดีเอ

ทดสอบการเจริญของเส้นใยที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40^{O}ซ บนอาหารพีดีเอ, ข้าวฟ่าง วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวนกรรมวิธี (เชื้อพันธุ์เห็ด) ไม่น้อยกว่า 20 เชื้อพันธุ์

3. ศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะในฤดูร้อน ฤดูหนาว และ ฤดูฝน

3.1 เตรียมวัสดุอุปกรณ์และโรงเรือนทดลอง เตรียมขยายเชื้อเห็ดในอาหารวุ้นและในเมล็ดข้าวฟ่างใช้เป็น

หัวเชื้อทดลอง

3.2 เตรียม ถุงก้อนอาหารเพาะ ประกอบด้วย

สูตร ขี้เลื่อย 100 กก. : รำละเอียด 3 กก. : ดีเกลือ 0.2 กก. : ปูนขาว 1 กก.โดยน้ำหนักแห้ง ปรับความชื้นด้วยน้ำให้มีความชื้น 60% บรรจุลงในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6 ½ x 13 นิ้ว ถุงละ 800 กรัม

สูตร ฟางข้าว : มูลวัว :รำละเอียด : ปูนขาว ในอัตราส่วน 100: 25 : 5 :1 โดยน้ำหนักแห้ง ปรับความชื้นด้วยน้ำให้มีความชื้น 60% บรรจุลงในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6 ½ x 13 นิ้ว ถุงละ 800 กรัม

นำ ก้อนอาหารที่เตรียม ไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งชนิดไม่อัดความดันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ใส่เชื้อเห็ด 10 สายพันธุ์ที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่างฆ่าเชื้อ นำถุงก้อนอาหารเพาะบ่มในโรงเรือนในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ เมื่อเส้นใยเจริญเต็มถุง ย้ายก้อนเชื้อไปเปิดให้เกิดดอกในโรงเรือนที่รักษาอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ด้วยการให้น้ำและระบายอากาศ

4. ทดสอบการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกในปุ๋ยหมัก วางแผนการทดลองแบบ RCB 10 กรรมวิธี (เห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์) เพาะในโรงเรือน และในสภาพแปลงปลูกนอกโรงเรือน

5. บันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูล :บันทึกชนิดและขนาดของ trama, pleurocystidea, chyrocystidea สปอร์และอื่น ๆ ของดอกเห็ดตีนแรด ที่เก็บจาก จังหวัดต่างๆ ในแต่ละภาค

เวลาและสถานที่: ตุลาคม 2548 - กันยายน 2549

: กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

: ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพานอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดสกลนคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.รวบรวมคัดเลือก สายพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่างๆ

ได้ตัวอย่าง 10 ชนิด (ตารางที่ 1) ซึ่งเก็บ ณ โคนต้นประดู่ โคนต้นชมพูพันธุ์ทิพย์ โคนต้นมะขาม ลักษณะดอก เกิดเป็นกลุ่มเล็ก ดอกมีขนาดเล็ก เช่นพบเพียง 2-3 ดอกใต้โคนต้นชมพูทิพย์ โคนกอไผ่ปลูก บ้างจากกองใบสนทะเลซึ่งเป็นกลุ่มดอกขนาดใหญ่มีมากกว่า 10 ดอก น้ำหนักมากกว่า 1 กิโลกรัม บ้างเกิดบนพื้นดิน ลักษณะรูปร่างดอก สีดอก ค่อนข้างคล้ายคลึงกัน จะต่างกันที่ขนาดดอก ตามความหลากหลายของสายพันธุ์ที่มีกระจายทั่วไป แสงมณี (2522) พบว่าสายพันธุ์จากหลายแหล่ง เช่น กาญจนบุรี เชียงใหม่ ดอกเห็ดส่วนมากเกิดเป็นกลุ่ม ขนาดหมวกและก้านมีขนาดปานกลาง เมื่อเทียบกับสายพันธุ์จากชลบุรี และตาก ดอกมักเกิดเป็นดอกเดี่ยวและสายพันธุ์จากชลบุรี ให้ดอกที่มีขนาดใหญ่ที่สุดส่วนสายพันธุ์จากตาก ให้ดอกที่มีขนาดเล็กที่สุด สายพันธุ์ที่มีอยู่ของปี2549 จะได้ศึกษารายละเอียดลักษณะรูปร่าง การใช้ประโยชน์ต่อไปเพิ่มขึ้น ในปี2550

2.ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรดบนอาหารพีดีเอ

ได้ทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ดที่อุณหภูมิ15, 20, 25, 30, 35 และ 40 °ซ บนอาหารพีดีเอพบว่าเจริญได้ดีระหว่าง 20-30 °ซ จำนวน 7- 8 สายพันธุ์ที่เส้นใยเจริญที่30°ซ ได้เร็วกว่า ที่อุณหภูมิ25°ซ (ตารางที่ 2) สายพันธุ์ DOA-2 ,DOA- 3, DOA-5,DOA-6,DOA-7 และ DOA-10

เส้นใยเจริญได้ 3.7-4.1 มม.ต่อวัน (ตารางที่ 3) ส่วนสายพันธุ์ DOA-1และ DOA-9 เส้นใยเจริญเร็วที่สุด ที่ 25 °ซ ไม่พบการเจริญที่ 35 และ40 °ซ (ตารางที่ 2) แต่เมื่อย้ายไปบ่ม ณ อุณหภูมิห้อง เส้นใยเห็ดทุกสายพันธุ์สามารถเจริญได้ ส่วนเส้นใยบ่ม ที่ 15 °ซ นานกว่า 60 วันเมื่อย้ายมาไว้ ณ อุณหภูมิห้อง ทุกสายพันธุ์จะไม่เติบโต

3. ศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะในฤดูร้อน ฤดูหนาว และ ฤดูฝนได้ทดสอบเพาะเชื้อเห็ดตีนแรดให้เกิดผลผลิต 10สายพันธุ์ ชุดที่ 1 ระหว่างธันวาคม 2548-กันยายน2549

3.1 ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร ระหว่างธันวาคม 2548 - พฤษภาคม 2549 โดยเพาะในก้อนอาหารขี้เลื่อย น้ำหนักก้อนละ 800 กรัม จำนวน 1,000 ก้อน เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารขี้เลื่อย ภายใน 76วัน จึงนำไปเปิดให้เกิดดอก (เดือนมีนาคม 2549) โดยเปลือยถุงลงในตะกร้าและปิดหน้าก้อนเชื้อด้วยดินที่นึ่งด้วยความร้อน100°ซ นาน 2 ชั่วโมง ให้เกิดดอกใน โรงเรือนสภาพธรรมชาติ ที่มีความชื้นแสง และอากาศเป็นระยะเวลา 3 เดือน สามารถให้ผลผลิตได้ 5 สายพันธุ์

3.2 ดำเนินการที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพาน จ. สกลนคร ระหว่าง มีนาคม-กันยายน 2549

โดยเพาะในก้อนอาหารฟางข้าวหมัก (ฟาง : มูลวัว :รำละเอียด : ปูนขาว ในอัตราส่วน 100: 25: 5:1) น้ำหนักก้อนละ 800 กรัม จำนวน 1,000 ก้อน เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมัก ภายใน 60 วัน

(มีนาคม-พฤษภาคม 2549) พบว่าสายพันธุ์DOA-1 ไม่พบการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ แต่สายพันธุ์ DOA-8มีการปนเปื้อน 7.5% (ตารางที่ 4) ว่า จึงนำไปเปิดให้เกิดดอกโดยเปลือยก้อนเชื้อลงตะกร้า จำนวน 10 ถุงต่อตะกร้า และปิดหน้าก้อนเชื้อด้วย ดินที่นึ่งด้วยความร้อนประมาณ100 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง แล้ววางให้เกิดดอกในโรงเรือนสภาพธรรมชาติ ที่มีความชื้น แสง และอากาศถ่ายเทได้ เป็นเวลา 3 เดือน สามารถเกิดดอกทั้ง10 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 62.88 -195.38 กรัมต่อก้อนสายพันธุ์DOA-1 และมี 4 เชื้อพันธุ์ที่ให้ผลผลิต 178.50 -195.38 กรัม ต่อก้อน สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4)

ได้ทดสอบเพาะเชื้อเห็ดตีนแรด จำนวน 10 สายพันธุ์ ชุดที่ 2 ระหว่างเดือนเมษายน- กันยายน 2549

3.3 ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร โดยเพาะในก้อนอาหารขี้เลื่อย น้ำหนัก ก้อนละ800 กรัม จำนวน 1,000 ก้อน เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารขี้เลื่อย ภายใน 90 วัน ณ อุณหภูมิห้อง 29-32 °ซ (เมษายน-กรกฎาคม 2549) จึงนำไปเปิดให้เกิดดอก:

3.3.1.โดยวิธีเปิดปากถุงแล้วปิดหน้าก้อนเชื้อแต่ละก้อนด้วยดินที่นึ่งด้วยความร้อนประมาณ100°ซ
2 ชั่วโมง วางให้เกิดดอกในโรงเรือนสภาพธรรมชาติ ที่มีความชื้น แสง และอากาศถ่ายเทได้กำหนด สายพันธุ์ละ 55 ซ้ำ (ก้อน) ให้ผลผลิตได้ทุกสายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 25 -134.5 กรัมต่อก้อน โดยสายพันธุ์ DOA-3 ให้ผลผลิต 134.5 กรัมต่อก้อน สูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ (ตารางที่ 5) และให้ผลผลิตเร็วกว่าด้วยเป็นสายพันธุ์ที่เส้นใยเจริญได้รวดเร็วที่อุณหภูมิ 25-30 °ซ (ตารางที่ 2)

3.3.2.โดยวิธีเปลือยก้อนเชื้อวางลงบนแปลงดิน คลุมผิวหน้าด้วยดินที่นึ่งด้วยความร้อน 100 °ซ 2 ชั่วโมง และปิดซ้อนชั้นหน้าดินด้วยฟางข้าว ให้ผลผลิตได้ ระหว่าง 26.1-139.8 กรัมต่อก้อน โดยสายพันธุ์ DOA-8, DOA-5 และ DOA-2 ให้ผลผลิต 139, 123.9 และ 103 กรัมต่อก้อนตามลำดับ(ตารางที่ 5)

3.4 ลักษณะดอกเห็ดของสายพันธุ์ต่างๆ
ทั้ง 10 สายพันธุ์เพาะแล้ว พบว่าดอกเห็ดที่เกิดขึ้นมีลักษณะรูปร่างแตกต่างกันเด่นชัด 3 กลุ่มซึ่งอยู่ระหว่างจำแนก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการ รวบรวม คัดเลือกพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่าง ๆใน ปี 2549 ได้เชื้อพันธุ์ที่มีแนวโน้มสามารถนำไปใช้เพาะ ช่วงต้นฤดูฝน- ต้นฤดูหนาวแล้วเป็น จำนวน 4 สายพันธุ์ สำหรับเป็นพันธุ์ แนะนำแก่เกษตรกร ไว้ใช้ประโยชน์

เอกสารอ้างอิง

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2519. การทดลองเพาะเห็ดตีนแรดในถุงพลาสติก. เห็ดวิทยา ปีที่ 1(1) : 1-25.

ปรีชา ลิ่มไชยฤกษ์. 2542. ปลูกผักสวนครัวแซมแปลงเห็ดตีนแรด เห็ดถั่งเฉ้าการถนอมอาหารเห็ด ..... และการ แปรรูป. วันที่ 6 พฤศจิกายน 2542. กรมวิชาการเกษตร กทม. หน้า 1-16

พิมพ์กานต์ อร่ามพงษ์พันธุ์ สมพงษ์ อังโขรัมญ์ อุทัย ทองมี และพันธุ์ทวี ภักดีดินแดน. 2529. การเพาะ เห็ดตีนแรดในโรงเรือนและนอกโรงเรือน. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2529 กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ . หน้า 140-145.

พิมพ์กานต์ อร่ามพงพันธ์. 2544. การเพาะเห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดตีนแรด และเห็ดยานาง. หน้า 13-18. *ใน* : ศุภนิตย์ หิรัญประดิษฐ์ และอภิญญา สุราวุธ. การเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา พิมพ์ครั้งที่1. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

วสันณ์ เพชรรัตน์. 2522. 1.การศึกษาสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และการเพาะเห็ดตับเต่าขาว 2.ลักษณะการสืบพันธุ์ของเห็ดตับเต่าขาว วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

แสงมณี ชิงดวง สัญชัย ตันตยาภรณ์ และประเสริฐ วุฒิคัมภีร์. 2529. การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะ ทางสัณฐานวิทยาของเห็ดตับเต่าขาว. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2529. กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 105-111.

อัจฉรา พยัพพานนท์ 2549. ซีลีเนียม ในเห็ดป้องกัน มะเร็งต่อมลูกหมาก. ข่าวสารเพื่อเพาะผู้เห็ด. ปีที่ 11 ฉบับที่ 3 หน้า1-6.

Saosoong ,P. , S. Simma, W. Butlak and C. Pukahuta . 2003. Antioxidant activity of some Thai edible mushroom. p. 57. *In* Abstract Bio Thailand for life. 17-20 July 2003.

ตารางที่ 1 ชนิดและสายพันธุ์เห็ดตีนแรด ทีมา จากแหล่งต่างๆ

ลำดับ	ชนิดพันธุ์เห็ดตีนแรด	สายพันธุ์เห็ดตีนแรด	แหล่ง / วัสดุ	ที่มา (สถานที่)
1	*Macrocybe crassum*	DOA-1	โคนต้นประดู่	กรุงเทพมหานคร
2	*M. crassum*	DOA-2	โคนต้นประดู่	เขตราชบูรณะ กทม.
3	*M. crassum*	DOA-3	โคนต้นข่อย	ฟาร์มเห็ดขจรวิทย์ จังหวัดลพบุรี
4	*M. crassum*	DOA-4	ตอไม้ผุ	บ้านศรีทรายมูล อำเภอ เมือง จังหวัดเชียงราย
5	*M. crassum*	DOA-5	-	จังหวัดสุพรรณบุรี
6	*M. crassum*	DOA-6	โคนต้นชมพูพันธุ์ทิพย์	กรุงเทพมหานคร
7	*M. crassum*	DOA-7	โคนต้นไผ่ปลูก	สมพงษ์ อังโขรัมย์ บ้านเด่นใหญ่ อ.หันคา จ.ชัยนาท
8	*M. crassum*	DOA-8	โคนต้นมะขาม	อำเภอหนองแค จังหวัดสระบุรี
9	*M. crassum*	DOA-9	โคนต้นชมพูพันธุ์ทิพย์	กรุงเทพมหานคร
10	*M. crassum*	DOA-10	ใบสนทะเล	ดร.อุทัยวรรณ แสงวณิช จังหวัด ประจวบคีรีขันธ์

ตารางที่ 2 จำนวนวันที่เส้นใยเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆ เจริญเต็มบนพีดีเอ ที่อุณหภูมิ15-40 ^{O}ซ

สายพันธุ์เห็ดตีนแรด	15 ^{O}ซ (วัน)	20 ^{O}ซ (วัน)	25 ^{O}ซ (วัน)	30 ^{O}ซ (วัน)	35 ^{O}ซ (วัน)	40 ^{O}ซ (วัน)
DOA-1	>90	17	12	18	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-2	>90	20	13	11	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-3	>90	23	11	10	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-4	>90	42	15	14	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-5	>90	28	14	11	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-6	>90	40	12	9	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-7	>90	39	16	10	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-8	>90	44	19	19	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-9	>90	19	12	14	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-10	>90	34	12	11	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ

ตารางที่ 3 อัตราการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆ ต่อวัน บนพีดีเอ ที่อุณหภูมิ15-40 ^{O}ซ

สายพันธุ์เห็ดตีนแรด	15 ^{O}ซ (มม.)	20 ^{O}ซ (มม.)	25 ^{O}ซ (มม.)	30 ^{O}ซ (มม.)	35 ^{O}ซ (มม.)	40 ^{O}ซ (มม.)
DOA-1	ND	2.0	3.3	2.0	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-2	ND	20.	3.1	3.7	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-3	ND	1.8	3.5	4.1	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-4	ND	0.9	2.7	2.9	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-5	ND	1.4	3.1	3.7	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-6	ND	1.0	3.5	4.4	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-7	ND	0.9	2.5	4.1	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-8	ND	0.6	2.1	2.1	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-9	ND	2.1	3.3	2.7	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ
DOA-10	ND	1.1	3.3	3.7	ไม่เจริญ	ไม่เจริญ

ตารางที่ 4 ผลผลิต(เฉลี่ย) เห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์ เพาะทดสอบใน ระบบตะกร้า ที่ จังหวัด สกลนคร

ระยะ เส้นใย 28 มี.ค.- 26 พ.ค. 2549 และ ระยะเปิดดอก 2 มิ.ย.- 25 ต.ค. 2549

สายพันธุ์เห็ดตีนแรด	ผลผลิตดอกเห็ด (เฉลี่ย) กรัม /10ก้อน	%ก้อนเชื้อปนเปื้อน
DOA-1	1,953.8 a	0
DOA-2	1,422.5 ab	2.5
DOA-3	628.8 b	3.6
DOA-4	1,859.3 a	5
DOA-5	1,173.8 ab	3.6
DOA-6	1,343.8 ab	1.25
DOA-7	1,785.0 a	3.6
DOA-8	954.5 ab	7.5
DOA-9	988.8 ab	1.25
DOA-10	1,841.3 a	5

ตารางที่ 5 ผลผลิต(เฉลี่ย) เห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์ เพาะทดสอบใน 1) ระบบถุง 2) แปลงเพาะ ที่ จังหวัด กรุงเทพมหานคร

สายพันธุ์เห็ดตีนแรด	ผลผลิตดอกเห็ด (เฉลี่ย) กรัม / ก้อน	
	ระบบถุง	แปลงเพาะ
DOA-1	33	48.30
DOA-2	25	103
DOA-3	134.5	26.1
DOA-4	85	38.5
DOA-5	47.5	123.9
DOA-6	49	-
DOA-7	33	31
DOA-8	70	139
DOA-9	41	75.5
DOA-10	48	30.3

การจัดระบบการผลิตที่มีผลต่อการให้ผลผลิตเห็ดฟาง

Production Process on the Straw Mushoom for the Central Part Cultivation

อัจฉรา พยัพพานนท์ [1/] เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ [2/] พุฒนา รุ่งระวี

กลุ่มวิจัยโรคพืช [1/] กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]กลุ่มวิจัย และวิเคราะห์สถิติการเกษตร ศูนย์สารสนเทศ

บทคัดย่อ

การผลิตเห็ดฟางในโรงเรือนสามารถดำเนินการได้ตามเทคโนโลยีที่มีอยู่ แต่ยังขาดข้อมูลการจัดระบบช่วงเวลาการผลิตให้เกิดดอกเห็ดฟางได้ผลผลิตในปริมาณตามที่กำหนด สม่ำเสมอคงที่ ทุกวันอย่างต่อเนื่องนั้น จะต้องมีโรงเรือนเพาะจำนวนกี่โรงเรือนต่อชุดในการเข้าสู่ระบบการผลิต ดังนั้นจึงได้ทำการวิจัย จัดระบบการผลิตในโรงเรือนของเกษตรกรที่ผลิตเห็ดฟางเป็นการค้าเพาะในโรงเรือน ขนาดห้อง 5.8x6.8 ตารางเมตร จำนวน 8 โรงเรือน อย่างต่อเนื่อง หมุนเวียนรอบละ 8 ห้องแต่ละห้องเพาะห่างกัน 2- 3 วัน เป็น จำนวน 8 รอบ เก็บผลผลิตทุกวัน ตั้งแต่ เดือนมกราคม-กันยายน 2549 ที่ฟาร์มเพาะเห็ดฟางเกษตรกร อำเภอภาชี จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ผลการทดลอง รวบรวมข้อมูลผลผลิตเห็ดฟางทุกวัน เป็นเวลา 224 วัน ซึ่งจำนวนวันที่เก็บผลผลิต 3 ห้องพร้อมกันใน 1 วัน มีจำนวน 106 วัน รองลงมาคือ เก็บ 2 ห้องต่อวัน มีจำนวน 56 วัน 4 ห้องต่อวัน มี 44 วัน 1ห้องต่อวันมีจำนวน 16 วัน และ5ห้องต่อวันมีเพียง 2วัน

เมื่อพิจารณาผลผลิต ที่ได้ตั้งแต่ 30 กิโลกรัมขึ้นไปมีจำนวน 201 วันคิดเป็นร้อยละ 89.7 และที่เก็บผลผลิตได้น้อยกว่า 30 กิโลกรัมมี ร้อยละ 10.3

เมื่อพิจารณาจำนวนห้องที่สามารถให้ผลผลิตตั้งแต่ 30 กิโลกรัมขึ้นไป คือ จำนวน 4 ห้องขึ้นไป ใน1วันมี จำนวน 47 วัน ในขณะที่เก็บผลผลิต 3 ห้องพร้อมกันให้ผลผลิตมากกว่า 30 กิโลกรัม มีจำนวน 103 วัน คิดเป็นร้อยละ 97 ดังนั้นโอกาสเสี่ยงของเกษตรกรที่เก็บ 3 ห้องพร้อมกันมีอยู่ร้อยละ3 ที่จะได้ผลผลิตน้อยกว่า 30 กิโลกรัม แต่ถ้าเกษตรกรเก็บได้เพียง 2 ห้อง โอกาสเสี่ยงจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ18

รหัสโครงการ 01-16-49-03

คำนำ

ความนิยมบริโภคเห็ดฟางในประเทศไทยมีมานานกว่า 60 ปี และความต้องการได้เพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับ เป็นเห็ดที่มีศักยภาพการผลิตสูงในเขตร้อนชื้น ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ผลิตเห็ดฟางเป็นอันดับหนึ่งของโลกได้ 150,000 ตันรองลงมา คือประเทศไทยผลิตได้ 63,000 ตัน (Chang, 1993 ; 1996) การเพาะเห็ดฟางในประเทศไทย ยังคงใช้วิธีการเพาะทั้งเพาะนอกโรงเรือนและในโรงเรือน ซึ่งการเพาะในโรงเรือนจะให้ผลผลิตได้สูงกว่าการเพาะแบบกองเตี้ยต่อพื้นที่เพาะ และได้มีการเพาะกันอย่างกว้างขึ้น ผลงานวิจัยสำคัญที่ผ่านมา ได้มีการรวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดฟางไว้เป็นเชื้อพันธุ์บริการของศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์แห่งประเทศไทย โดยจำนวนไม่น้อยกว่า 6 สายพันธุ์ สำหรับจำหน่าย เป็นสายพันธุ์ที่คงลักษณะพันธุ์เดิมด้วยมีวิธีการเก็บรักษาที่มีประสิทธิภาพ เช่น เก็บรักษาไว้ระยะสั้นไม่น้อยกว่า 2 ปี ไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (อัจฉรา และคณะ, 2540) หรือเก็บรักษาเชื้อเห็ดฟางไว้เป็นเวลายาวนาน จะเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลว อาหารที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเห็ดฟาง อัจฉรา และสัญชัย (2531) ได้ศึกษาวิธีการหมักปุ๋ยขั้นสุดท้าย รายงานว่า ก่อนการอบไอน้ำอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในระดับ 45 –50 องศาเซลเซียส ซึ่ง *Fermor, et al* . (1985) ได้รายงานว่าระดับอุณหภูมิ 50 – 55 ^{O}ซ จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อราร้อน หรือแอคติโนมายซิท กลุ่มที่เป็นประโยชน์ในการหมักขั้นสุดท้าย *Straastma et al.* (1994) รายงานไว้ว่าจะมีราร้อน *Scytalidium thermophilum* ในปุ๋ยหมัก ผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแชมปิญอง Payapanon *et al* (2003) ได้ใช้เชื้อ *S. thermophilum* ที่แยกจากกองปุ๋ยหมักเติมในกองฟางจะช่วยขบวนการหมัก และเมื่อนำปุ๋ยหมักไปเพาะเห็ดฟางจะได้ผลผลิตมากกว่าการใช้ฟางข้าวที่หมัก โดยไม่เติมราร้อนประมาณ 1- 4% อัจฉรา และสัญชัย (2531 ; 2535) ได้ศึกษาสูตรปุ๋ยเพาะเห็ดฟางจากการใช้วัสดุเพาะต่าง ๆกัน เป็นฟางข้าว ขี้เลื่อยไม้ยางพารา ทะลายปาล์มน้ำมัน ขี้ฝ้าย ซึ่งให้ผลผลิตแตกต่างกัน การอบไอน้ำปุ๋ยหมัก ปุ๋ยหมักเป็นวัตถุที่ผ่านการหมักโดยขบวนการทางชีวเคมีจะเป็นกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่างๆ ซึ่งมีทั้งที่เป็นประโยชน์ และที่เป็นศัตรูเห็ด นอกจากนั้นอาจมีแมลงหรือไข่แมลงปะปนในปุ๋ยหมักจึงต้องใช้ความร้อนจากไอน้ำอบปุ๋ยหมัก Hu *et al.* (1974) ได้รายงานว่าการอบไอน้ำปุ๋ยหมักเพื่อเพาะเห็ดฟางของประเทศไต้หวัน ใช้ความร้อน อุณหภูมิ 60 ^{O}ซ อบปุ๋ยหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ส่วนในประเทศไทย อัจฉรา และคณะ (2532) ได้ศึกษาการอบไอน้ำปุ๋ยหมักโดยหมักฟางข้าวผสมขี้ฝ้าย รำ และปูนเปลือกหอย ในอัตราส่วน 50:45:5:2 เป็นเวลา 10 วัน แล้วอบไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิที่ 60 – 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2,4,6 และ 8 ชั่วโมง ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง เมื่ออุณหภูมิในปุ๋ยหมักลดลงที่ 36–38 ^{O}ซ ใส่เชื้อเห็ดฟางจะได้ผลผลิต 23.57, 25.11, 26.52 และ 24.30% B.E. อย่างไม่มีความแตกต่างทางสถิติและเมื่อตรวจสอบจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักหลังอบไอน้ำพบเชื้อแบคทีเรีย (endospore

– forming bacteria) เช่น *Bacillus* sp. ในปุ๋ยหมักทุกกรรมวิธีและพบ *Bacillus* sp. และรา้อน *Humicola* sp. ปริมาณมากเมื่ออบไอน้ำได้ 2 ชั่วโมง และลดน้อยลงตามลำดับ เมื่ออบไอน้ำนาน 4, 6 และ 8 ชั่วโมง และพบแอคติโนมายซีทบ้าง จากการผลทดลองนี้ อัจฉรา และคณะ (2532) ได้แนะนำให้เกษตรกร อบปุ๋ยหมักด้วยไอน้ำร้อน อุณหภูมิ 60 – 62 ^{O}ซ เป็นเวลา 3 – 4 ชั่วโมง โดยเน้นการเตรียมปุ๋ยหมักให้ดี จะได้ปุ๋ยหมักที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยและเกิดดอกของเห็ดฟาง เทคโนโลยีดังกล่าว ได้มีการถ่ายทอดสู่เกษตรกรนำไปพัฒนาใช้ได้ผลผลิตมากขึ้น ประกอบกับวัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้เพาะมีหลากหลายชนิด เช่น เปลือกฝักถั่วเขียว เปลือกมันสำปะหลัง ซึ่งในปี พ.ศ. 2546 จะมีพื้นที่เก็บเกี่ยวมันสำปะหลังประมาณ 6.76 ล้านไร่ ผลผลิตเพิ่มเป็น 18.74 ล้านตันมากกว่าปี พ.ศ. 2544 ซึ่งก็จะมี เปลือกมันสำปะหลังใช้เพาะเพิ่มขึ้นทำนองเดียวกันทะลายปาล์มน้ำมันก็จะมีมากเช่นกัน โอกาสที่จะเพิ่มปริมาณการผลิตเพื่อเป็นสินค้าส่งออก ย่อมมีโอกาสเกิดขึ้นได้ แต่มีปัญหาความจำกัดในเรื่อง จำนวนปริมาณเห็ดฟางที่ต้องการ ยังไม่มีความต่อเนื่องอย่างสม่ำเสมอทุกวัน จึงควรต้องมีข้อมูลของ ระบบการเพาะที่จะกำหนดปริมาณผลผลิตได้ว่าต้องประกอบกันอย่างไร หากได้ทดสอบการเพาะในพื้นที่ของเกษตรกร ด้วยจำนวนหลาย ๆ โรงเรือนในสภาพเพาะเพื่อเป็นการค้าและ ผลที่เกิดขึ้นเกษตรกรอาจจะนำไปใช้ได้ทันทีหรือต้องมีการแก้ไขในด้านเทคนิควิธีการผลิต เพื่อเป็นประโยชน์กับเกษตรกรมากยิ่งขึ้นวัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อให้ได้เทคโนโลยีในระบบการผลิตเห็ดฟางที่สามารถกำหนดปริมาณผลผลิตได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดฟาง อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดฟาง
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 ^{o}ซ
3. วัสดุสำหรับใช้เพาะเห็ดฟาง ฟางข้าว ขี้ฝ้าย อาหารเสริม รำ แป้ง ข้าวเหนียว ปูนขาว
4. โรงเรือนเพาะเห็ดฟาง

วิธีการ

1 จัดระบบในการผลิต

1.1 เตรียมเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ ทางการค้าเป็นเชื้อเพาะ

1.2 เตรียมหมักปุ๋ย และอบไอน้ำวัสดุเพาะ

โดยหมักวัสดุเพาะ ในสัดส่วนฟางข้าว:ยิปซัม:ปูนเปลือกหอย:ปูนขาว:ยูเรีย:แป้งข้าวเหนียว:รำละเอียด อัตราส่วน 300 : 108 : 1,250 : 12 : 12 : 2 : 2 5 : 40 : 150 โดยน้ำหนัก แล้ว นำขึ้นชั้น

เพาะอบไอน้ำอุณหภูมิ 60-65 °ซ นาน 3 ชั่วโมง เมื่ออุณหภูมิลดลงอยู่ที่ 35 °ซ ใส่เชื้อเห็ดฟางเพาะในระบบโรงเรือน

1.3 โดยจัดช่วงเวลาทำการผลิตด้วยการดำเนินขั้นตอนตามข้อ1.1และ 1.2 แล้วเพาะในโรงเรือนจำนวน 8 โรงเรือน อย่างต่อเนื่อง โดยเพาะให้เวลาห่างกัน ทุก 2 วัน เก็บผลผลิตทุกวัน นำผลตัวเลขวิเคราะห์ทางสถิติ

2. ศึกษาแมลง และจุลินทรีย์ ในขั้นตอนเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน

3. การบันทึกข้อมูล บันทึก การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ในโรงเรือนในปุ๋ยหมักหลังอบไอน้ำ การรบกวนของแมลง อุณหภูมิในโรงเรือน การเจริญเติบโต การให้ผลผลิตทุกวัน

เวลาและสถานที่ : ตุลาคม 2548- กันยายน 2549

: กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

: ฟาร์มเกษตรกร อำเภอภาชี จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1 ผลผลิตเห็ดฟางต่อวันในการเพาะเห็ดฟาง 8 ห้องต่อรอบ

จากการเพาะเห็ดฟางรอบละ 8 ห้อง เป็นจำนวน 8 รอบ อย่างต่อเนื่องกันตั้งแต่เดือนมกราคม-ตุลาคม 2549 โดยรอบที่1 เพาะระหว่าง ม.ค.-ก.พ.49 รอบที่2 ก.พ.-มี.ค.49 รอบที่3 มี.ค.-เม.ย.49 รอบที่4เม.ย.-พ.ค.49 รอบที่5 พ.ค.-มิ.ย.49 รอบที่6 ก.ค.-ส.ค.49 รอบที่7ส.ค.-ก.ย.49 รอบที่8 ก.ย.-ต.ค.49 (ภาพที่1-8) ห้องที่ใช้เพาะและช่วงเวลาเพาะมีอิทธิพลต่อการให้ผลผลิต เช่นห้องเพาะหมายเลข 5 และห้องหมายเลข 8 จะให้ผลผลิตโดยรวมสูงกว่าห้องหมายเลขอื่น (ตารางที่ 3) ซึ่งจะได้เปรียบเทียบเพิ่มเติมกับข้อมูลของการทดลองในปี2550

จากที่ได้รวบรวมข้อมูลผลผลิตเห็ดฟางทุกวันเป็นเวลา 224 วันในปี2549 เมื่อวิเคราะห์จำนวนวันที่เก็บผลผลิตได้ 5ห้องพร้อมกันใน1วันมี เพียง2 วัน 4ห้องพร้อมกันใน1วันมี 44วัน 3 ห้อง พร้อมกันใน1วันมี106 วัน 2ห้อง พร้อมกันใน1วันมี 56วัน และเก็บผลผลิตได้เพียง1 ห้องมีจำนวน 16 วัน (ตารางที่ 1)

2 ผลของจำนวนห้องที่เก็บผลผลิตได้ต่อวัน

จากที่ได้รวบรวมข้อมูลผลผลิตเห็ดฟางทุกวันเป็นเวลา 224 วันในปี2549 เมื่อวิเคราะห์การให้ผลผลิตแต่ละวันแล้วพบว่ามี จำนวนวัน 201วัน ที่ให้ผลผลิตมากกว่า 30 กก.ขึ้นไปต่อวัน คิดเป็นร้อยละ89.7 และที่เก็บผลผลิตได้น้อยกว่า 30กก.มี ร้อยละ10.3 (ตารางที่ 1,2)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลของผลผลิตที่เก็บได้ต่อวันที่เกิดขึ้นจากการเพาะเห็ดทั้ง8ห้อง พบว่าจำนวนห้องที่ให้ผลผลิตสูงกว่า 30 กก.ต่อวันมีความแตกต่างกัน เช่น ได้จากการเก็บเห็ดที่เกิดขึ้นรวมกัน 3 ห้องมีอยู่ 62 วัน จาก4ห้องมี 12 วัน 2ห้องมี 39วัน และ1ห้องมี 2 วัน จำนวนห้องที่ให้ผลผลิตสูงกว่า 50กก.ต่อวัน โดยรวมกัน 3ห้องมี 41วัน รองลงไป 4 ห้องมี 35 วัน 2ห้องมี 7วัน 5ห้องมี 1 วัน และ1ห้องที่ให้ผลผลิตมากกว่า 50กก.มี 4วันเกิดขึ้นช่วงเดือน ก.ค.-ส.ค. และช่วงก.ย.- ต.ค. 49. (ตารางที่ 3) ถ้ามีเพียง 1 ห้อง โอกาศได้ผลผลิต ต่ำกว่า 29.9 กก.ต่อวัน มีอยู่ 10 วัน และเช่นเดียวกันหากเกิดดอกจาก2 ห้องยังเสี่ยง ที่จะมี10 วัน ได้เห็ดน้อยกว่า 29.9 กก. ดังนั้นจะให้ได้ผลผลิตสูงกว่า 30 กก.ต่อวัน พบว่าควรต้องมีเห็ดเกิดดอกมากกว่า 3ห้องต่อวัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้อมูลการทดลองเพาะเห็ดฟางให้ได้ผลผลิตมากกว่า 30 กก.ต่อวัน ของปี2549 เห็นว่าควรมีโรงเรือนเพาะมากกว่า 8 ห้องต่อรอบ เพื่อช่วยการบริหารจัดการได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

อัจฉรา พยัพพานนท์ และสัญชัย ตันตยาภรณ์.2531. ปรับปรุงคุณภาพของวัสดุที่มีอยู่โดยเพิ่มลดปริมาณธาตุอาหารในวัสดุผลิตเห็ดฟาง.หน้า 10-21 *ใน* รายงานผลงานวิจัย.กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2531 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อัจฉรา พยัพพานนท์ สัญชัย ตันตยากรณ์ และพรศักดิ์ สังข์ศักดา. 2535. การใช้มูลหมูเป็นแหล่งไนโตรเจนผลิตปุ๋ยหมักเพาะเห็ดฟางโรงเรือน.หน้า 47-61 *ใน* รายงานผลการวิจัยกองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2535 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 47-61.

อัจฉรา พยัพพานนท์ และสัญชัย ตันตยาภรณ์. 2535.การใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราและขี้ฝ้ายเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน. หน้า 73-84 *ใน* รายงานผลงานวิจัย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2535 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อัจฉรา พยัพพานนท์ สัญชัย ตันตยาภรณ์ และปิยฉัตร ธนพฤฒิบดี. 2539 . ศึกษาระยะเวลาในการหมักเศษเหลือปาล์มน้ำมันเพื่อเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน.หน้า 86-101 *ใน* เห็ดไทย 2539.สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย กรุงเทพฯ.

อัจฉรา พยัพพานนท์. 2541. เอกสารวิชาการเทคโนโลยีการผลิตเห็ดฟางในโรงเรือนกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 65 หน้า.

อัจฉรา พยัพพานนท์. 2541. การเก็บเชื้อเห็ดฟางในน้ำ.หน้า 24-28 *ใน* เห็ดไทย 2540-41. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร.

Chang,S.T., 1993. Mushroom Biology: the impact on mushroom production and mushroom products. P 3-20. In Mushroom Biology and Mushroom Products, ed. By S.T. Chang, J.A. Buswell and S.W. Chiu, The Chinese University Press, Hong Kong.

Hu, K.J , S.f. Song and P.G. Miles. 1976. The camparison of compost made of different raw materials for *Volvariella volvacea* *Mushroom sci.* 9(1) : 687-90

Payapanon , A. and P. Pitukpriwan. 2003. Innoculation of *Scytalidium thermophilum* in straw mushroom compost for promoting the production of *Volvariella volvacea* P. 41 *In* Abstracts Bio Thailand 2003 Technology for life 17-20 July 2003 PEACH, Pattaya ,Thailand

Straatsma, G., R.A. Samson, T.W. Olijinsma, H.J.M. Op Den Camp, J.P.G. Gerrits and L.J.D.

Van Griensven. 1994. Ecology of thermophilic fungi in mushroom compost with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* mycelium. Appl. Environ. Microbiol. 60:454-458.

ตารางที่ 1 จำนวนห้องที่เกิดและเก็บดอกเห็ดฟางได้ ต่อการให้ผลผลิต (กิโลกรัม) ต่อวัน ตลอด 224วัน

จำนวนห้องเกิดดอก	<29.9 กิโลกรัม	30-50 กิโลกรัม	>50 กิโลกรัม	รวม (วัน)
1	10	2	4	16
2	10	39	7	56
3	3	62	41	106
4	0	9	35	44
5	0	1	1	2
รวม	23	113	88	224

ตารางที่ 2 จำนวนห้องที่เกิดและเก็บดอกเห็ดฟางได้ ต่อการให้ผลผลิต(กิโลกรัม) ต่อวัน ตลอดการเพาะทดสอบ 8 รอบระหว่าง มกราคม-ตุลาคม 2549

ครั้งที่	จำนวนห้อง	<29.9 กก.	30-50 กก.	>50.1 กก.	รวม (วัน)
1	2	7	4	0	11
	3	2	7	1	10
	4	0	4	3	7
	5	0	1	0	1
2	2	2	5	2	9
	3	0	5	7	12
	4	0	0	7	7
3	1	1	0	0	1
	2	0	5	3	8
	3	0	8	9	17
	4	0	0	8	8
4	1	1	0	0	1
	2	1	7	1	9
	3	1	10	2	13
	4	0	1	0	1
5	2	-	5	0	5
	3	-	11	3	14
	4	-	0	5	5
	5	-	0	1	1
6	1	1	0	1	2
	2	0	4	1	5
	3	0	10	8	18
	4	0	2	6	8
7	1	7	1	0	8
	2	0	5	0	5
	3	0	2	6	8
	4	0	1	2	3

ครั้งที่	จำนวนห้อง	<29.9 กก.	30-50 กก.	>50.1 กก.	รวม (วัน)
8	1	-	1	3	4
	2	-	4	0	4
	3	-	9	5	14
	4	-	1	4	5
รวม(ครั้งที่ 1-8)	1-5	23	113	88	224

ตารางที่ 3 ผลผลิตเห็ดฟางของแต่ละห้องเพาะ รอบ เดือน เพาะทดสอบที่ จังหวัดพระนครศรีอยุธยาระหว่าง มกราคม-ตุลาคม 2549

รอบที่ / เดือน	ผลผลิต(กิโลกรัม) / ห้องที่								ผลผลิต/ห้อง
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1 / ม.ค.-ก.พ. 2549	106.2	98.2	102.5	121.5	148.1	74.4	252.1	121.2	128.025
2 / ก.พ.-มี.ค. 2549	242.7	218.1	195.2	187.2	143.1	287.3	116.4	184.9	196.86
3 / มี.ค.-เม.ย. 2549	169.3	169.5	279.9	248.9	191.7	200.6	215	174.5	206.175
4 / เม.ย.-พ.ค. 2549	134	196.3	119.8	173.8	158.8	203.6	298.5	143	178.475
5 / พ.ค.-มิ.ย. 2549	102.5	193.5	159.9	159.4	188.3	148.5	185.6	137.7	159.425
6 / ก.ค.-ส.ค. 2549	261.8	156.5	214.9	177.6	197.7	184.5	163.5	196.1	194.075
7 / ส.ค.- ก.ย. 2549	177.6	143.9	176.4	127.1	195.2	193.9	187.2	144.8	168.26
8 / ก.ย.-ต.ค. 2549	177.5	159.6	186.5	138.6	177.3	170.9	143.1	116.2	158.713
ผลผลิต /ห้อง /8 รอบ	1,371.6	1,335.6	1,435.1	1,334.1	1,521.7	1,463.7	1,561.4	1,218.4	

Fig. 1 Straw Mushroom Production per day in 8 rooms(1st.round) on Jan-Feb.2006

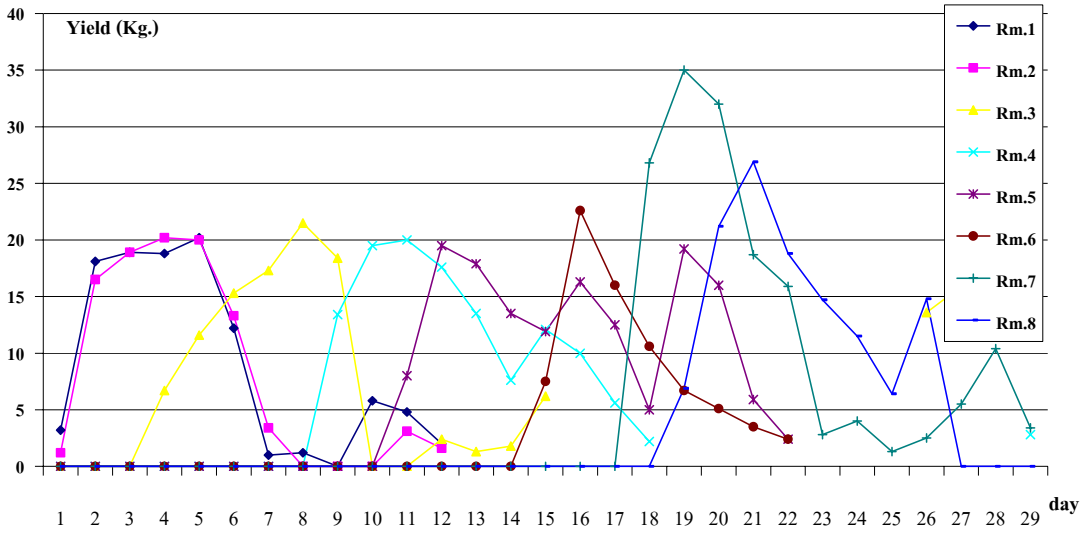


Fig.2 Straw Mushroom Production per day in 8 rooms (2nd.round) on Feb.-Mar.2006 2006

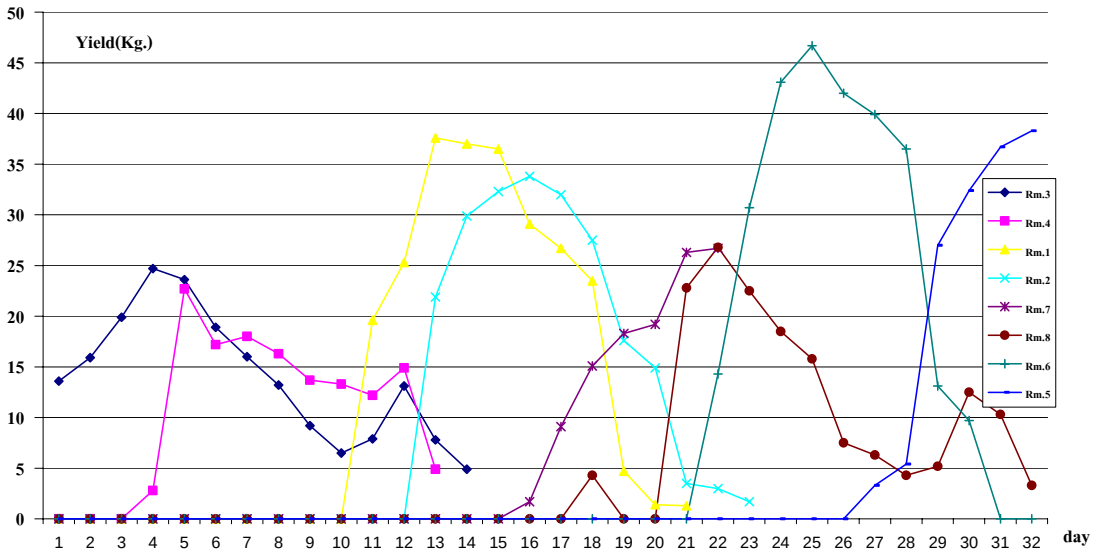


Fig.3 Straw Mushroom Production per day in 8 rooms (3rd.round)on Mar.-April.2006

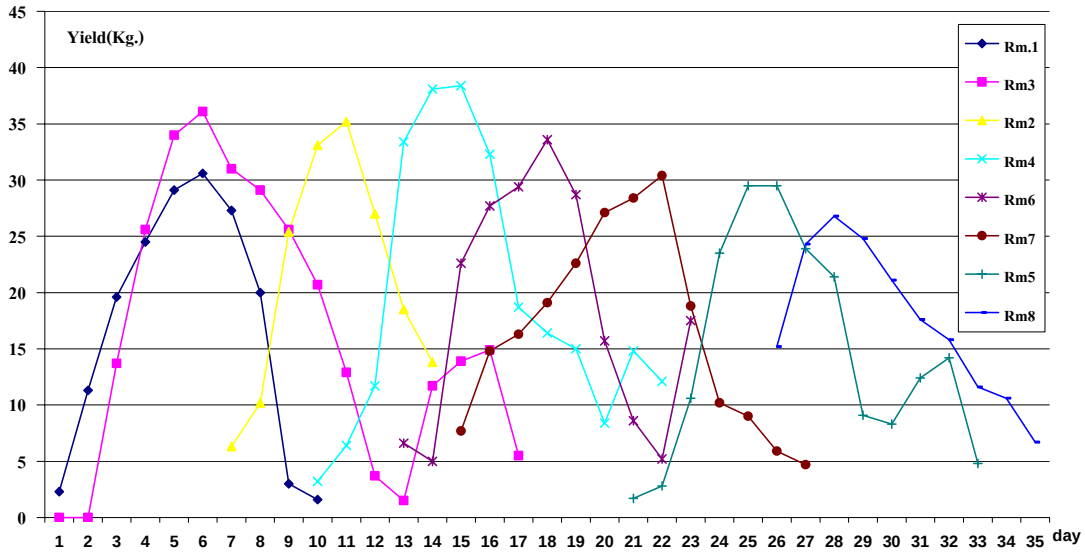


Fig.4 Straw mushroom Production per day in 8 rooms (4th round) on April-May 2006

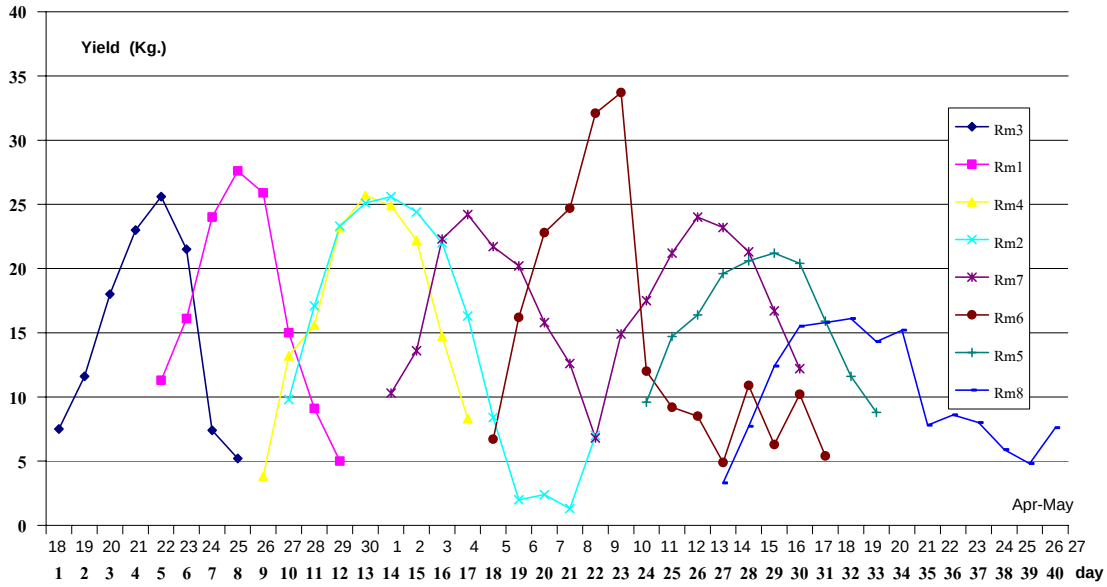


Fig. 5 Straw mushroom production per day in 8 rooms (5 th round) on May-June2006

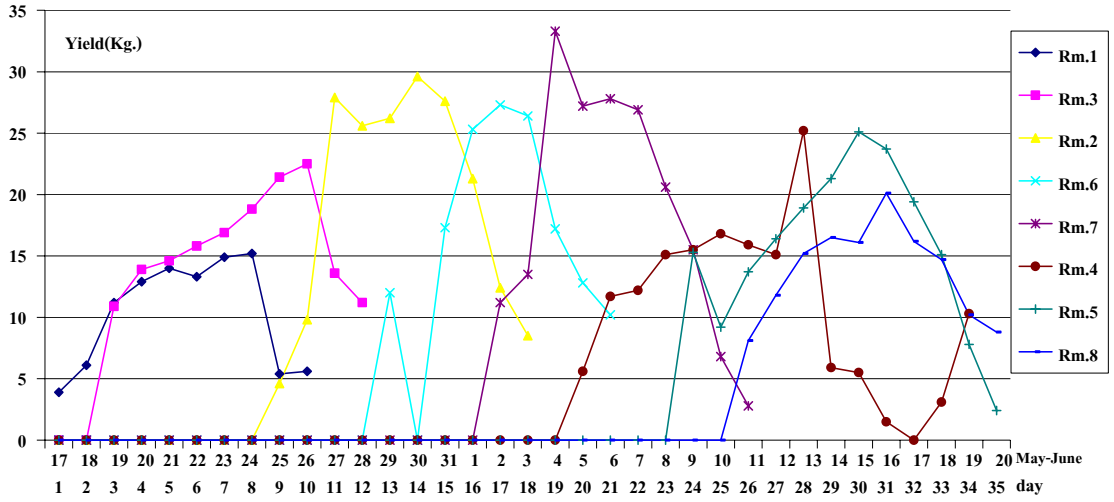


Fig. 6 Straw mushroom production per day in 8 rooms (6th. Round) on Jul.-Aug.2006

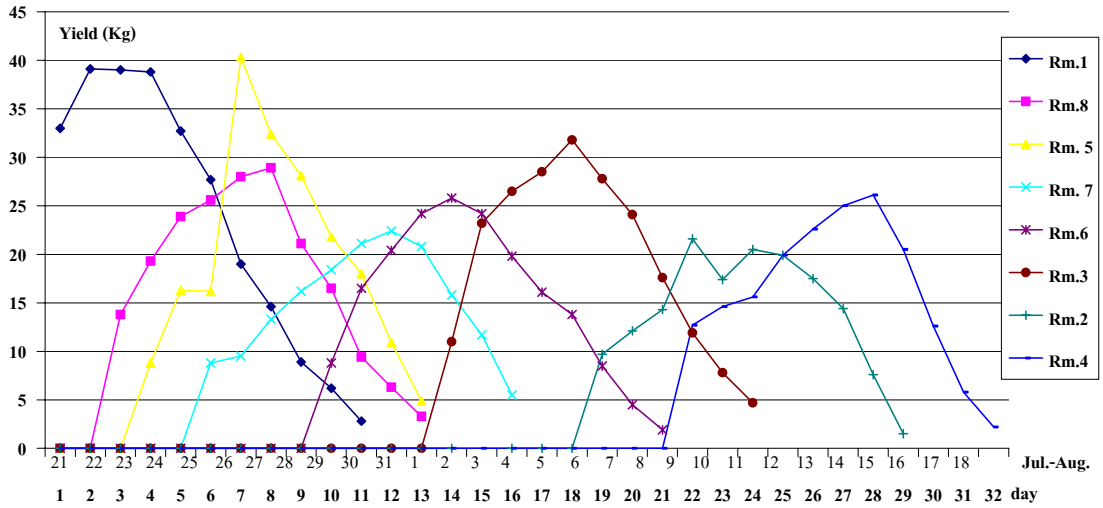


Fig.7 Straw mushroom production per day in 8 rooms(7th. round) on Aug.-Sept. 2006

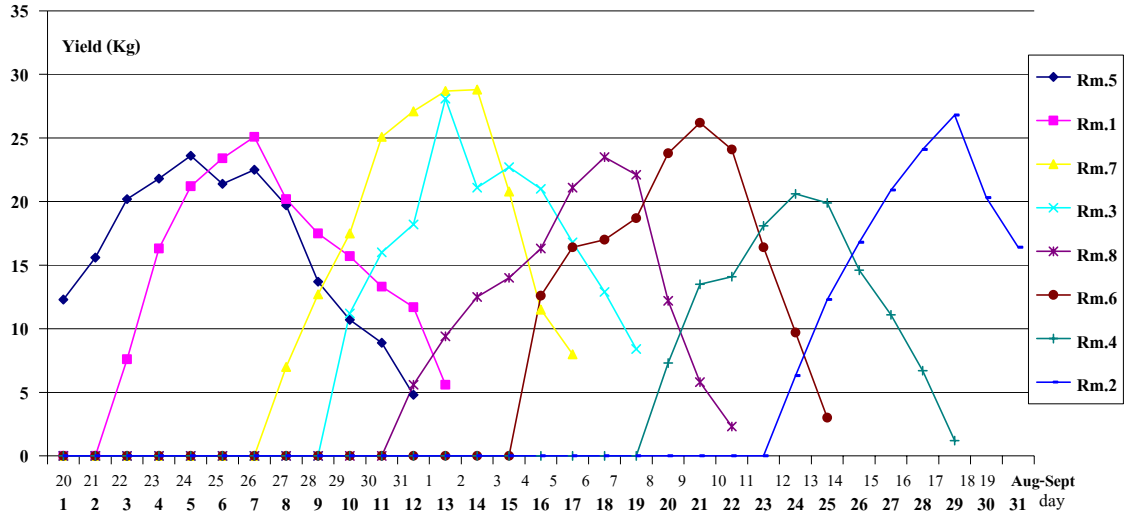
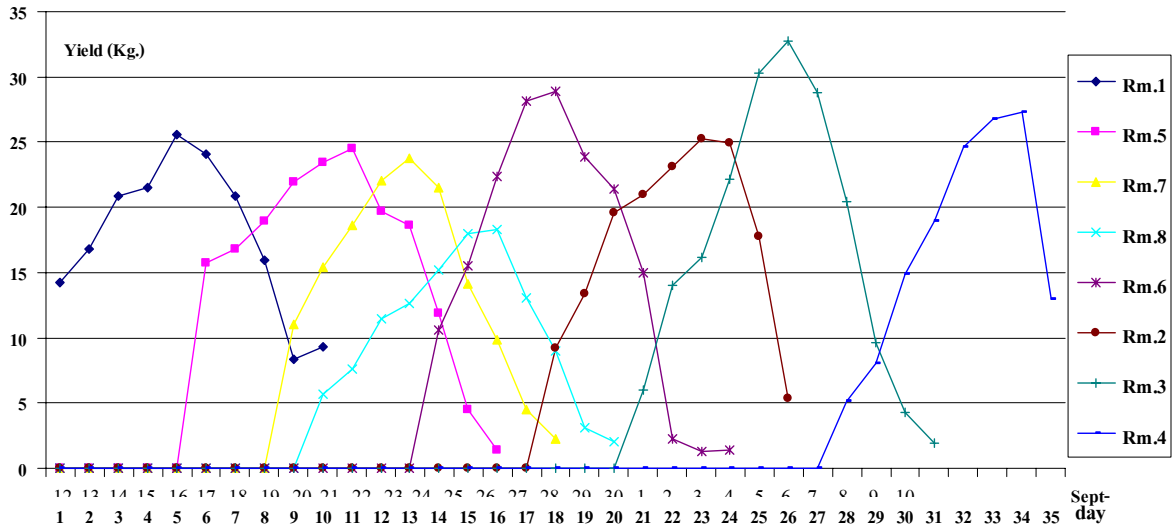


Fig. 8 Straw mushroom production per day in 8 rooms (8th round) on Sept-Oct. 2006



การจัดระบบการผลิตที่มีผลต่อการให้ผลผลิตของเห็ดนางรม (ภาคกลาง)

Yield Assessment of Pleurotus Mushroom Grown Under Different Production Regimes

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ[1] เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์[2] อภิรัชต์ สมฤทธิ์[1]

[1]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

คัดเลือกได้พื้นที่และเกษตรกรเป้าหมาย โดยครั้งที่ 1 เกษตรกรจำนวน 1 ราย ที่ จ.ราชบุรี และครั้งที่ 2 เกษตรกรจำนวน 1 ราย ที่ จ.กรุงเทพฯ กำหนดปัจจัยการผลิตเพื่อเปรียบเทียบวิธีการของเกษตรกรและวิธีวิจัย โดยโรงเพาะที่ 1 ดำเนินการเพาะเห็ดตามวิธีการของเกษตรกร ส่วนโรงเพาะที่ 2 ดำเนินการตามวิธีวิจัยได้แก่วัสดุเพาะเห็ด, หัวเชื้อเพาะ, รูปแบบชั้นวางถุงเพาะเห็ด, รูปแบบการเปิดก้อนเพื่อให้เห็ดออกดอก และ การบริหารจัดการศัตรูเห็ดระยะบ่มเส้นใย ระยะออกดอก (ใช้กับดักกาวเหนียว การฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูเห็ดในโรงเรือนก่อนใช้และระยะบ่มเส้นใยเป็นระยะ) ซึ่งกระบวนการผลิตเห็ดในทั้ง 2 ลักษณะ เห็ดออกดอกให้ผลผลิตได้

รหัสโครงการ 01-16-49- 03

คำนำ

เห็ดสกุลนางรมเป็นเห็ดที่นิยมเพาะทั่วทุกภาคของประเทศไทย ทั้งเพื่อบริโภคในครัวเรือนและผลิตเป็นการค้า ซึ่งสามารถทำรายได้ให้ผู้ผลิตเป็นอย่างดี จึงเป็นอาชีพที่มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจอาชีพหนึ่ง และยังก่อให้เกิดธุรกิจหมุนเวียนเพิ่มขึ้น ได้แก่ การจำหน่ายเห็ด วัสดุอุปกรณ์ ธุรกิจบริการ และธุรกิจแปรรูป เป็นต้น ในการเพาะเห็ดให้ประสบผลสำเร็จได้จะต้องประกอบด้วยเชื้อพันธุ์ดี อาหารเพาะที่เหมาะสมมีคุณภาพ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและการจัดการที่ดี กรมวิชาการเกษตรมีงานค้นคว้า วิจัย ปรับปรุงพันธุ์ เขตกรรม อารักขา ฯลฯ เกี่ยวกับการเพาะเห็ดสกุลนางรม และได้ทำการถ่ายทอดสู่เกษตรกรเป็นเวลานาน แต่ยังไม่มีการติดตามเกี่ยวกับการผลิต ปัญหาอุปสรรคต่างๆ ในการใช้เทคโนโลยีเพื่อการผลิต จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาหาข้อมูลโดยการดำเนินการทดสอบในแต่ละพื้นที่เพื่อให้ได้ข้อมูลไปปรับใช้ในการพัฒนางานวิจัย และปรับปรุงเทคโนโลยีในการผลิต และถ่ายทอดสู่เกษตรกรนำไปพัฒนาใช้ได้ผลผลิตมากขึ้น และถ้ามีการนำเทคโนโลยีและข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยไปเพาะทดสอบในโรงเรือนของเกษตรกรสภาพที่เพาะเพื่อเป็นการค้า และ ผลที่เกิดขึ้นนั้นเกษตรกรยอมรับ หรือต้องมีการแก้ไขในด้านเทคนิควิธีการผลิต จะช่วยให้งานวิจัยสมบูรณ์ถูกต้องยิ่งขึ้น เพื่อเป็นประโยชน์กับเกษตรกรและประเทศชาติต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดนางรม
2. วัสดุและอุปกรณ์เพาะเห็ด
3. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูเห็ด
4. วิธีการผลิตของเกษตรกร และ การผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย

วิธีการ

1. การคัดเลือกพื้นที่และเกษตรกรเป้าหมาย ในเขตจังหวัดภาคกลาง

2.การวิเคราะห์สภาพพื้นที่ และ ประเด็นโดยรวมของการเพาะเห็ดของเกษตรกรในพื้นที่เป้าหมาย

3.กำหนดปัจจัยการผลิตเพื่อเปรียบเทียบวิธีการผลิตเห็ดที่เกษตรกรปฏิบัติอยู่เดิม กับการผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย ได้แก่

วัสดุเพาะเห็ด

หัวเชื้อเพาะ

รูปแบบชั้นวางถุงเพาะเห็ด

รูปแบบการเปิดก้อนเพื่อให้เห็ดออกดอก

กระบวนการบริหารจัดการศัตรูเห็ดระยะบ่มเส้นใย / ระยะออกดอก (การจัดสุขลักษณะภายในฟาร์ม /ภายในโรงเรือน, การใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง, การจัดการโดยใช้สารเคมี)

4. ทดสอบในพื้นที่เกษตรกร เป็นการดำเนินการทดสอบตามแผนที่วางไว้ โดยความร่วมมือกันระหว่างนักวิจัยและเกษตรกร

การทดลองที่ 1 ฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรจังหวัดราชบุรี จำนวน 1 ราย

การทดลองที่ 2 ฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรจังหวัดกรุงเทพฯ จำนวน 1 ราย

5. การบันทึกข้อมูล น้ำหนักผลผลิต อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2550

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรจังหวัดราชบุรี จำนวน 1 ราย และจังหวัดกรุงเทพมหานคร จำนวน 1 ราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรจังหวัดราชบุรี จำนวน 1 ราย

พบว่าการผลิตเห็ดตามวิธีเกษตรกร เห็ดออกดอกได้ผลผลิตเฉลี่ย 181.25 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 217.5 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือน) ไม่มีการบันทึกข้อมูลการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด และ วิธีวิจัย เห็ดออกดอกได้ผลผลิตเฉลี่ย 182.08 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 218.5 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือน) ไม่มีการบันทึกข้อมูลการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด

การทดลองที่ 2 ฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรจังหวัดกรุงเทพฯ จำนวน 1 ราย

พบว่าการผลิตเห็ดตามวิธีเกษตรกร เห็ดออกดอกได้ผลผลิตเฉลี่ย 165.14 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 179.51 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) มีการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด 9.42 เปอร์เซ็นต์ และ วิธีวิจัย เห็ดออกดอกได้ผลผลิตเฉลี่ย 165.61

กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 186.81 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) มีการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด 6 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากที่ดำเนินงานไปแล้ว กระบวนการผลิตเห็ดในทั้ง 2 ลักษณะ ได้แก่วิธีการของเกษตรกรและวิธีวิจัย เห็ดออกดอกให้ผลผลิตได้ โดยงานวิจัยนี้ยังดำเนินต่อในปีงบประมาณ 2550

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2544. การบริหารแมลงศัตรูเห็ดที่ปลูกเป็นการค้า. รายงานผลงานวิจัยประจำปีงบประมาณ 2542 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น สัจจะ ประสงค์ทรัพย์ และอุราพร หนูนารถ. 2545. ศึกษาการใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลืองในการดักจับแมลงวันศัตรูเห็ดที่เพาะในถุงพลาสติก. รายงานผลงานวิจัยประจำปีงบประมาณ 2545 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

พิมพ์กานต์ อร่ามพงษ์พันธ์. 2544. การเพาะเห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดตีนแรด และเห็ดยานางิ. ใน เอกสารการเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. 13-18 น.

การศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด *Formicomotes heteromorphus* Magowski และไร *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ด

Studies on Seasonal Fluctuation of *Formicomotes heteromorphus* Magowski and *Dolichocybe indica* Mahunka in Mushroom

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ อัจฉรา พยัพพานนท์
พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ มานิตา คงชื่นสิน พลอยชมพู กรวิภาสเรือง

บทคัดย่อ

การศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด *Formicomotes heteromorphus* Magowski และไร *Dolichocybe indica* Mahunka ซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญของเห็ดนางรมฮังการีและเห็ดหูหนู ในสภาพธรรมชาติที่ฟาร์มเห็ด จ. ราชบุรี และ จ. เพชรบุรี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2549 พบว่า ไรดีด *F. heteromorphus* ระบาดในช่วงเดือน ธันวาคม เฉลี่ย 284.39 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร. ซม. และช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายน เฉลี่ย 7.28, 113.12, 54.50, 146.42, 223.52 และ 61.57 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. ตามลำดับ และพบว่าไร *D. indica* ระบาดในช่วงเดือนเมษายน ถึง เดือน สิงหาคม เฉลี่ย 49.43, 20.8.02, 128.51, 83.53 และ 296.00 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง

รหัสโครงการ 01-16-49-03

คำนำ

เห็ดเป็นผลิตผลเกษตรที่สำคัญชนิดหนึ่ง มีคุณค่าทั้งทางด้านโภชนาการและมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้ การเพาะเห็ดในถุงเพื่อการค้าได้ขยายพื้นที่เพาะกันทั่วประเทศ เนื่องจากให้ผลตอบแทนสูงในระยะเวลาสั้น เกษตรกรผู้เพาะเห็ดต้องประสบกับปัญหาที่สำคัญประการหนึ่ง คือ การเข้าทำลายเส้นใยเห็ดของไรศัตรูเห็ด ในขณะที่เลี้ยงเชื้อในอาหารวุ้น ขวดหัวเชื้อ ระยะบ่มเส้นใยในก้อนเชื้อและระยะเปิดดอก ทำให้เส้นใยที่ถูกทำลายไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ จึงทำให้เกษตรกรต้องขาดทุนจนต้องเลิกกิจการไปในที่สุด ไรศัตรูเห็ดที่สำคัญ 2 ชนิดในวงศ์ Dolichocybidae ได้แก่ไรดีด *Formicomotes heteromorphus* Magowski และไร *Dolichocybe indica* Mahunka เป็นศัตรูที่สำคัญของเห็ดนางรมฮังการีและเห็ดหูหนู เกษตรกรได้ใช้สารเคมีเพื่อป้องกันและกำจัดไรศัตรูเห็ดตลอดเวลา ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องศึกษาฤดูกาลระบาดของไรศัตรูเห็ดทั้ง 2 ชนิด ว่า มีปริมาณมากและน้อยในช่วงใด เพื่อนำข้อมูลมาประกอบในการวางแผนการป้องกันและกำจัดไรศัตรูเห็ดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไรดีด *F. heteromorphus* และไร *D. indica*
2. ขวดหัวเชื้อและก้อนเชื้อเห็ด
3. พู่กัน, เข็มเขี่ย, จานรอง, กล้อง Stereomicroscope, procep, hand lens,
4. ถุงพลาสติก

วิธีการ

- สุ่มเลือกฟาร์มเห็ดนางรมฮังการีที่มีไรดีด *F. heteromorphus* และฟาร์มเห็ดหูหนูที่มีไร *D. indica* ระบาดเป็นประจำ สุ่มเลือกขวดหัวเชื้อเห็ดหูหนูจำนวน 20 ขวด และก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีจำนวน 20 ก้อน แล้วนำมาใส่ถุงพลาสติก นำมาตรวจนับปริมาณไรดีด *F. heteromorphus* โดยตัดพลาสติกเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1x1 ตร.ซม. ก้อนละ 4 จุด และไร *D. indica* บนเมล็ดข้าวฟ่างจำนวน 10 เมล็ด/ขวด ตรวจนับปริมาณไรระยะเคลื่อนไหวด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ stereomicroscope ทำการสำรวจทุก 3 สัปดาห์

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2549
- ฟาร์มเห็ด อ. จอมบึง จ. ราชบุรี และ อ. หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสุ่มเก็บก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีจำนวน 20 ก้อน และขวดเชื้อเห็ดหูหนูจำนวน 20 ขวด ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2549 จากฟาร์มเห็ดของเกษตรกร อ. จอมบึง จ. ราชบุรี และ อ.หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี ที่ไม่ได้พ่นสารเคมี โดยทำการเก็บก้อนและขวดเชื้อเห็ดทุก 3 สัปดาห์ พบว่าปริมาณประชากรไรดีด *F. heteromorphus* ระบาดทำความเสียหายให้กับเห็ดนางรมฮังการีช่วงเดือนธันวาคมเฉลี่ย 284.39 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. และช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายน เฉลี่ย 7.28, 113.12, 54.50, 146.42, 223.52 และ 61.57 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. ตามลำดับ และพบว่าปริมาณประชากรไร *D. indica* ระบาดทำความเสียหายให้กับเห็ดหูหนูช่วงเดือนเมษายน ถึงเดือน สิงหาคม เฉลี่ย 49.43, 208.02, 128.51, 83.53 และ 296.00 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง

จากการศึกษาการระบาดของไรดีด *F. heteromorphus* และไร *D. indica* ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2548 จนถึงเดือน กันยายน 2548 พบว่าไรดีดระบาดช่วงเดือนเมษายน – กันยายน และเดือน ธันวาคมส่วนไร *D. indica* ระบาดช่วงเดือนเมษายน – ตุลาคม ในช่วงดังกล่าวซึ่งเป็นช่วงฤดูฝนและฤดูหนาว การระบาดของไรศัตรูพืชนั้นบางชนิดพบระบาดในช่วงฤดูแล้ง บางชนิดระบาดในช่วงฤดูฝน เทวินทร์และคณะ (2531) ได้ศึกษาการระบาดของไรแดงส้มในสวนส้มเขียวหวานของเกษตรกรที่ จ. ปทุมธานีเป็นเวลา 1 ปี พบว่าไรแดงส้มระบาดมากในช่วงฤดูแล้งตั้งแต่เดือนธันวาคม – กุมภาพันธ์ และในฤดูฝนที่ฝนทิ้งช่วง ซึ่งเป็นช่วงที่อากาศแห้งแล้งและความชื้นต่ำ เทวินทร์และคณะ (2533) ได้ศึกษาการระบาดของไรสนิมส้มในสวนส้มเขียวหวานของเกษตรกรที่ จ. ปทุมธานีเป็นเวลา 1 ปี พบว่าไรสนิมส้มระบาดมากในช่วงฤดูฝนตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงเดือนพฤศจิกายน Smith (1983) ได้รายงานว่าอุณหภูมิสูง เป็นอุปสรรคต่อการเจริญเติบโตของไรสนิมส้ม Albrigo (1977) ได้รายงานว่าปริมาณไรสนิมส้มมีมากที่สุดบนใบและผลส้มในช่วงเดือนกรกฎาคม ซึ่งช่วงเดือนนี้เป็นช่วงฤดูฝนและในบรรยากาศมีความชื้นสูง เหมาะต่อการเจริญเติบโตของไรสนิมส้ม แสดงว่าอุณหภูมิและความชื้นเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไรศัตรูพืช ไรบางชนิดชอบอุณหภูมิสูงและบางชนิดชอบความชื้นสูง เช่นเดียวกับไรดีด *F. heteromorphus* และไร *D. indica* ซึ่งพบระบาดมากในฤดูฝน แสดงว่าความชื้นสูงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของไรศัตรูเห็ดทั้ง 2 ชนิด นี้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด *F. heteromorphus* และไร *D. indica* ศัตรูของเห็ดนางรมฮังการีและเห็ดหูหนู ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549 พบว่าไรดีด *F. heteromorphus* ระบาดช่วงเดือนธันวาคม เฉลี่ย 284.39 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. และช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายน เฉลี่ย 7.28, 113.12, 54.50, 146.42, 223.52 และ 61.57 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. และพบว่าไร *D. indica* ระบาดช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนสิงหาคม เฉลี่ย 49.43, 208.02, 128.51, 83.53 และ 296.00 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง

ไรดีดเป็นศัตรูที่สำคัญของเห็ดนางรมฮังการี มีขนาดเล็กมาก ต้องใช้แว่นขยายขนาด 10 เท่าส่องดูจึงจะเห็น ถ้าหากเกษตรกรมิได้ตรวจสอบอยู่เป็นประจำ เมื่อมีการระบาดเกิดขึ้นแล้วก็สายเกินกว่าที่จะแก้ไขได้ ทำให้เกษตรกรต้องสูญเสียก้อนเชื้อเห็ดไปเป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงต้องทราบวิธีการแก้ปัญหาการระบาดทำลายของไรดีดศัตรูสำคัญของเห็ดนางรมฮังการี ดังนี้

1. ควรสร้างโรงเรือนขนาดเล็ก แทนการสร้างโรงเรือนขนาดใหญ่เพียงโรงเรือนเดียว และควรแยกโรงเรือนเพาะเห็ด และโรงเรือนบ่มเส้นใยออกจากกัน เพื่อให้โรงเรือนได้มีโอกาสพักทำความสะอาด ทำให้ปริมาณไรลดต่ำลง

2. กำจัดก้อนเชื้อที่เปิดดอกแล้ว โดยนำไปทิ้งให้ห่างจากโรงเรือนเพาะเห็ดอย่างน้อย 1.5 กิโลเมตรหรือทำการเผาทิ้งเสียโดยทันที

3. เลือกซื้อหัวเชื้อและก้อนเชื้อจากแหล่งที่ปราศจากไร

4. เลือกซื้อก้อนเชื้อที่มีอายุใกล้เคียงกันและเป็นเห็ดชนิดเดียวกัน เพื่อให้การเปิดดอกของเห็ดแต่ละรุ่นพร้อมกันและทิ้งพร้อมกัน จะได้มีโอกาสพักโรงเรือนเพื่อทำความสะอาดได้

5. ทำความสะอาดห้องถ่ายเชื้อ โรงเรือนบ่มเส้นใยและโรงเรือนเปิดดอกหลังจากเสร็จสิ้นภาระกิจ เพื่อเป็นการลดปริมาณไรดีด

6. ไม่ควรให้คนเข้าโรงเรือนโดยไม่จำเป็น เพราะว่าจะเป็นการนำไรติดไปกับเสื้อผ้าเข้าไปยังโรงเรือนได้

7. ไม่ควรเพาะเห็ดนานเกินกำหนด เพราะว่าก้อนที่เก่าจะเป็นที่สะสมของโรค แมลง และไร

8. ต้องป้องกันไม่ให้แมลงตัวเล็กๆ เข้ามายังโรงเรือนเพาะ เพราะอาจมีไรดีดติดมากับแมลงได้

9. ในแหล่งเพาะเห็ดที่มีการระบาดของไรดีดเป็นประจำ ให้นำเห็ดที่ไรดีดไม่ทำลายมาเพาะแทนในช่วงที่มีการระบาด

10. หมั่นตรวจดูขวดหัวเชื้อ ก้อนเชื้อในขณะบ่มเส้นใย และในขณะเปิดดอก โดยสม่ำเสมอทุก 7 วัน โดยใช้แว่นขยายขนาด 10 เท่าส่องดูที่หัวเชื้อและก้อนเชื้อ ถ้าพบไรดีดให้รีบนำขวดหัวเชื้อและก้อนเชื้อออกมาทิ้งทันที

11. เมื่อเกิดมีไรระบาด เกษตรกรที่ทำหัวเชื้อและก้อนเชื้อขายควรทำการรมเส้นใยเห็ดในจานเลี้ยงเชื้อก่อนที่จะเขี่ยลงในขวดหัวเชื้อด้วยสารรมฟอสฟีนในอัตรา 1 เม็ด (3 กรัม) รมนาน 24 ชั่วโมง ในตู้รมขนาด 0.5 ลูกบาศก์เมตร เพื่อกำจัดไรดีดในจานเลี้ยงเชื้อก่อนที่จะเขี่ยเชื้อลงในขวดหัวเชื้อ และรมขวดหัวเชื้อก่อนที่จะเขี่ยลงในก้อนเชื้อ

สำหรับข้อ 11 นี้ มีข้อสังเกตอยู่ 3 ประการ ดังนี้

11.1 ถ้าเกษตรกรสามารถแยกห้องเขี่ยเชื้อห่างจากโรงเพาะ และหมั่นทำความสะอาด ห้องเขี่ยเชื้อจนกว่าจะมั่นใจว่าไม่มีไรเข้าปะปน เกษตรกรก็ไม่จำเป็นที่จะต้องใช้สารรมฟอสฟีน

11.2 เมื่อเกิดมีไรระบาดจำเป็นต้องใช้สารรมฟอสฟีน การใช้สารรมฟอสฟีนจุดประสงค์ในการใช้เพื่อเป็นการกำจัดไรดีดที่เข้าไปทำลายเส้นใยเห็ดในขวดหัวเชื้อ เมื่อสำรวจพบการระบาดของไรดีดใช้ภาชนะที่รมขนาดเล็กเป็นโครงเหล็กขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 1 เมตร และสูง 0.5 เมตร คลุมด้วยพลาสติกใสหนา 0.2 มิลลิเมตรขนาด 3x3 เมตรด้านบน 1 ด้าน และด้านข้างไว้ชายสำหรับใช้ถุงผ้าดิบขนาดยาว 90 ซม. กว้าง 7.5 ซม. บรรจุทรายที่แห้งไว้ภายในไม่ต้องแน่นมาก (ประมาณ 80%) วางทับทั้ง 4 ด้าน เพื่อมิให้แก๊สรั่วซึมออกมาภายนอก พลาสติกอีกผืนหนึ่งรองพื้น แกะกระดาษที่หุ้มปากขวดหัวเชื้อเห็ดออก ขยับจุกสำลีที่ปากขวดให้หลวมพอสมควร เพื่อให้แก๊สฟอสฟีนสามารถซึมเข้าสู่ภายในขวดได้ง่ายขึ้น ทำให้สามารถกำจัดไรดีดได้ผลดียิ่งขึ้น ใช้ฟอสฟีน 1เม็ด (3 กรัม) ใส่ในกระทงกระดาษ วางในภาชนะรม ใช้เวลารมนาน 24 ชั่วโมง สถานที่รมนั้นต้องเป็นพื้นซีเมนต์ เป็นสถานที่ที่มีอากาศถ่ายเทได้สะดวกและไม่ตั้งภาชนะรมไว้กลางแดด เมื่อเสร็จสิ้นการรมควรเผยอขอบด้านล่างของผ้าพลาสติกให้สูงขึ้นจากพื้นพอสมควร เพื่อให้แก๊สแพร่ออกสู่ภายนอกประมาณ 30 นาที ก่อนจะยกภาชนะรมออก และต้องสวมหน้ากากเพื่อป้องกันการสูดดมแก๊ส ในการจัดการการเข้าทำลายเส้นใยเห็ดนางรมฮังการีของไรดีดนั้น จำเป็นต้องใช้การจัดการโดยวิธีการต่างๆ ร่วมกัน ทั้งวิธีการไม่ใช้สารเคมีและวิธีการใช้สารเคมี โดยเฉพาะอย่างยิ่งขวดหัวเชื้อเห็ดเป็นระยะที่สำคัญที่สุด ถ้าหากระยะนี้ปลอดจากไรดีดแล้ว ปัญหาที่จะเกิดจากไรดีดในระยะบ่มเส้นใยและเปิดดอกน้อย ถ้าได้จัดการตามวิธีที่แนะนำ ในกรณีที่เกษตรกรซื้อขวดหัวเชื้อมาหยอดเอง ต้องตรวจดูด้วยแว่นขยายขนาด 10 เท่า ว่ามีไรดีดระบาดหรือไม่ ถ้าพบให้ทำการรมด้วยสารรมฟอสฟีน แล้วรีบหยอดใส่ก้อน แล้วพ่นสารฆ่าไรที่จุกสำลีทันที เพราะว่าสารรมฟอสฟีนไม่มีพิษตกค้าง เมื่อรมแล้ว ไม่รีบหยอดใส่ก้อนเชื้อ ถ้ามีไรดีดอยู่บริเวณนั้น จะแพร่เข้ามาในขวด

ได้ ถ้ายังไม่รีบหยอดขวดหัวเชื้อจะต้องพ่นสารฆ่าไรเพื่อการป้องกัน ดังนั้น เกษตรกรจำเป็นต้องเน้นการจัดการไรดีด ในขบวนการเพาะเห็ดทั้ง 2 ระยะเป็นพิเศษ เพราะเมื่อปลอดไรดีดทั้ง 2 ระยะนี้แล้ว เมื่อนำไปเปิดดอก ถ้ามีไรดีดระบาดก็ไม่รุนแรง ถ้าพบก้อนเชื้อก้อนใดมีไรดีด ก็ เก็บทิ้งเสีย ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีใดๆ

11.3 ควรใช้สารรมฟอสฟีนเฉพาะเมื่อมีไรระบาดเท่านั้น ไม่ควรใช้ต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน เพราะว่าจะทำให้ไรสร้างความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีน

12. การใช้สารฆ่าไร จุดประสงค์ในการใช้สารฆ่าไร เพื่อเป็นการป้องกันการเข้าทำลายเส้นใยเห็ดของไรดีด มี 3 ประการ ได้แก่

12.1 ใช้พ่นโรงเรือนหลังจากที่นำก้อนเชื้อออกไปหมดแล้วโดยทำความสะอาดและเปิดโรงเรือนให้แห้งสนิทก่อน จึงทำการพ่นสารฆ่าไรให้ทั่ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณพื้นโรงเรือน ฝา ทั้งภายในและภายนอกและชั้นวางทิ้งไว้ประมาณ 15 วัน หรืออย่างน้อย 7 วัน ก่อนนำก้อนเชื้อใหม่เข้ามา

12.2 ใช้พ่นพื้นห้องถ่ายเชื้อ ก่อนถ่ายเชื้อจากขวดหัวเชื้อสู่ก้อนเชื้อ

12.3 ใช้พ่นคลุมปากขวดเชื้อเห็ดและปากถุงก้อนเชื้อระยะบ่มเส้นใยทุก 7-14 วัน โดยพ่นที่พื้นและชั้นวางด้วย

สารฆ่าไรที่แนะนำ ได้แก่ 1. อามีทราซ(amitraz) อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร 2. ไพริดาเบน (pyridaben)อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20ลิตร 3. ทีบูเฟนไพเรด (tebufenpyrad) อัตรา 75 มล./น้ำ 20 ลิตร ให้พ่นสารฆ่าไรชนิดใดชนิดหนึ่งที่ผสมสารจับใบตามอัตราที่กำหนด โดยพ่นสารฆ่าไรแต่ละชนิดไม่เกิน 4 ครั้ง และให้สลับกับสารฆ่าไรชนิดอื่น เพื่อชะลอการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าไรของไรดีด

คำขอบคุณ

งานทดลองนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก คุณ สำราญ เปลี่ยนแก้ว และคุณ วัฒนา ช่อผกา เจ้าของฟาร์มเห็ด อ. จอมบึง จ. ราชบุรี และ อ. หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี ที่ให้ใช้สถานที่ทำการทดลอง จึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย

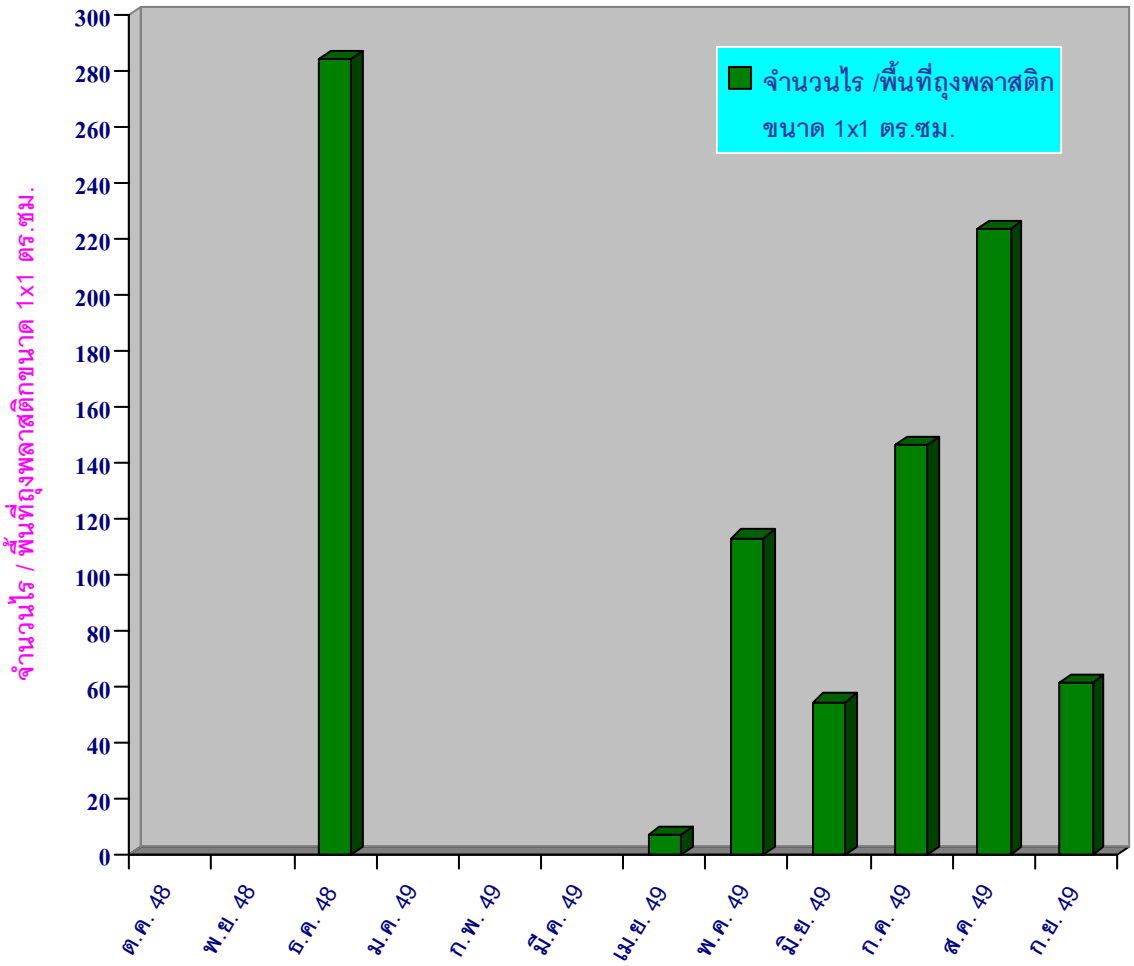
เอกสารอ้างอิง

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูรย์, นวลศรี วงษ์ศิริ, มานิตา คงชื่นสิน และ มารศรี จีระสมบัติ. 2531. การศึกษาความผันแปรของไรแดงส้มในฤดูกาลต่างๆ. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2531. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.หน้า 1-8.

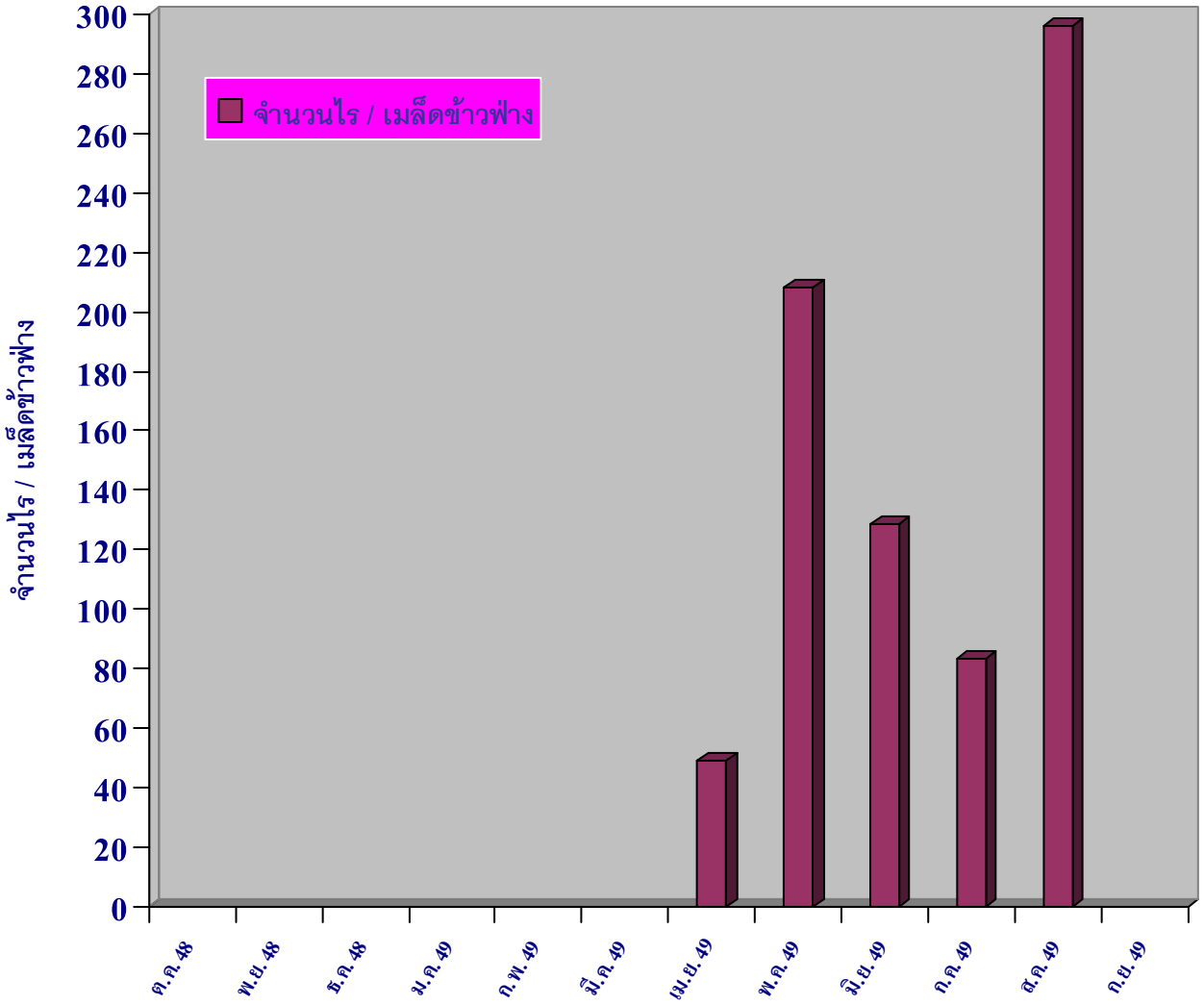
เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน, นวลศรี วงษ์ศิริ, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูรย์ และ มารศรี จีระสมบัติ. 2533. การศึกษาความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของไรสนิมส้ม *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) บนผลของส้มเขียวหวาน. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2533. กลุ่มงานอนุกรมวานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-10.

Albrigo, L.G. and C.W. McCoy. 1977. Characteristic injury by citrus rust mite to orange leaves and fruits. Abstr. in Rev. Appl. Entomol. Ser. A. 65 : 95.

Smith, D. 1989. Mites, pp. 18-19. *In* Citrus pests in Thailand. Special Seminar Report. Entomology and Zoology Division. Department of Agriculture, Bangkok.



ภาพที่ 1 ความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด *F. heteromorphus* ที่ฟาร์มเห็ด อ. จอมบึง จ. เพชรบุรี ระหว่าง เดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2549



ภาพที่ 2 ความผันแปรจำนวนประชากรของไร *D. indica* ที่ฟาร์มเห็ด อ. หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี ระหว่าง เดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2549

ตารางภาคผนวกที่ 1 ความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด *Formicomotes heteromorphus* Magowski ที่ฟาร์มเห็ด อ. จอมบึง จ. ราชบุรี และไร *Dolichocybe indica* Mahunka ที่ฟาร์มเห็ด อ. หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี

เดือน ปี	**จำนวนประชากรไรดีด *F. heteromorphus* (ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม.)**	**จำนวนประชากรไร *D. indica* (ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง)**
ตุลาคม 2548	-	-
พฤศจิกายน 2548	-	-
ธันวาคม 2548	284.39	-
มกราคม 2549	-	-
กุมภาพันธ์ 2549	-	-
มีนาคม 2549	-	-
เมษายน 2549	7.28	49.43
พฤษภาคม 2549	113.12	208.02
มิถุนายน 2549	54.50	128.51
กรกฎาคม 2549	146.42	83.53
สิงหาคม 2549	223.52	296.00
กันยายน 2549	61.57	-

ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดหูหนู โดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Study on Control Measures on Cobweb Disease of *Auricularia* spp. by Plant Extracts and Antagonists Application

อภิรัชต์ สมฤทธิ์
ธารทิพย ภาสบุตร สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ทัศนาพร ทัศคร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก จ.ราชบุรี พบว่าบนอาหาร MEA พบว่าเชื้อราสร้างเส้นใยเจริญค่อนข้างเร็ว โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารภายใน 7 วัน โคโลนีฟู สีขาวครีม อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีชา เชื้อราสร้าง conidiophore ที่แตกแขนงกิ่งก้าน และมีกลุ่ม conidia เกิดภายในเซลล์ที่เรียกว่า phialide ที่ถูกดันออกมา phialide มีขนาดความยาวไม่แน่นอน แต่ละ conidia มี 2-3 เซลล์ ส่วนใหญ่พบ 2 เซลล์ รูปร่างคล้ายกระบอง (clavate) ใส ไม่มีสี ขนาด 3.9-6.5 x 20.7-44.03 ไมครอน และสร้างสปอร์ผนังหนาเรียกว่า chlamydospore บริเวณกลางเส้นใย ลักษณะค่อนข้างกลม ผนังเรียบและหนา ขนาด 7.8-14.3 x 10.4-19.4 ไมครอน เกิดเดี่ยวๆ หรือต่อกันเป็นโซ่ 2-3 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T. Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum clavisporum* (Gary & Morgan-Jones) Rogerson *et* Samuels

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี พบว่าบนอาหาร MEA เส้นใยเจริญเร็วและเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 7 วัน โคโลนีฟู สีขาวนวล อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เชื้อราสร้าง conidiophore ที่แตกแขนงกิ่งก้านแบบ verticillate conidia รูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 7.8-13.0 x 15.5-20.7 ไมครอน สร้างจากฐานเล็กๆ เรียกว่า denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่บิดโค้ง และสร้าง chlamydospore งอกออกมาจากเส้นใย มีลักษณะยาวคล้ายกระบอง ผนังเรียบและ

รหัสโครงการ 01-16-49-03

หนา มี 3-5 เซลล์ ขนาด 10.4-15.5 x 38.9-103.6 ไมครอน เมื่อเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T. Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum polypori* (Dearness *et* House) Rogerson *et* Samuels

การศึกษาการเจริญ

การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญบนอาหาร CMA (Corn Meal Agar), MEA (Malt Extract Agar), PDA (Potato Dextrose Agar), PDYA (Potato Dextrose Yeast Agar) และ OA (Oat Agar) ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 ^{O} ซ พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* มีอัตราการเจริญบนอาหารทุกสูตรที่นำมาทดสอบสูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 ^{O} ซ และที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อราทั้ง 2 ชนิด เจริญบนอาหาร OA และ PDYA ได้ดีกว่าอาหาร CMA, MEA และ PDA การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* โดยสุ่มแยกจากก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ด ด้วยเทคนิค dilution plate บนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า ได้ 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท เมื่อทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด เมื่อทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* สาเหตุโรคใยแมงมุมในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ไอโซเลท M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 มีสามารถสร้าง clear zone รอบตัวเอง และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ได้ เมื่อทดสอบผลกระทบของสกัดการสกัดสารจากใบยี่หร่า และข่า โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด เมื่อทดสอบผลของสารสกัดจากใบยี่หร่า และข่า ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* สาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สารสกัดจากใบยี่หร่า และข่า ที่ได้จากการสกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เมื่อเจือจางที่ 10, 25 , 50 และ 100 % เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และที่ผสมในจานขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์รา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ได้ ในขณะที่การทดสอบโดยใช้สารสกัดที่สกัดด้วยน้ำร้อน เกิดปัญหาเนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อราอื่น ทำให้ต้องทำการทดสอบอีกครั้ง

คำนำ

Hypomyces เป็นราที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถอาศัยอยู่บนราชนิดอื่นได้ ระยะ anamoprh ของรานี้พบได้บนรากลุ่ม Aphyllophorales (Basidiomycotina, Hymenomycetes) หรือกลุ่มของเห็ดรา โดยพบทำให้เกิดโรคที่สร้างความเสียหายต่อการเพาะเห็ดในต่างประเทศอย่างร้ายแรง (Pope *et al*., 1985; Rogerson and Samuels, 1993; Russell, 1984) นอกจากนั้นเชื้อในระยะ anamorph ในกลุ่มนี้ คือ *Cladobotryum verticillatum* ยังทำให้เกิดโรค cobweb หรือใยแมงมุมกับเห็ดหูหนูอย่างรุนแรงในประเทศอินเดีย (Goltapeh *et al*., 1989) เชื้อ *C. dendroides* ยังพบว่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรค cobweb กับเห็ดแชมปิญอง (*Agaricus bisporus*) ในหลายประเทศ (Makay *et al*., 1996) และยังพบเชื้อ *C. varium* ทำให้เกิดโรคกับดอกเห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) ในประเทศเกาหลีใต้ (Kim *et al*., 2002) จากการพบเชื้อรา *Cladobotryum clavisporum, C. polypori* บนดอกเห็ดหูหนู (อภิรัชต์, 2544; อภิรัชต์และคณะ, 2545) และ *C. verticillatum* บนดอกเห็ดหลินจือในประเทศไทย ซึ่งราเหล่านี้เป็นระยะ anamorph ของรา Hypomyces แม้ว่าเชื้อรากลุ่มนี้จะยังไม่แพร่ระบาดสร้างความเสียหายให้กับการเพาะเห็ดของประเทศมากเท่ากับต่างประเทศ แต่เป็นไปได้ที่เมื่อเชื้อราดังกล่าวมีแหล่งอาศัยมากขึ้น มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์มากขึ้น โอกาสจะกลับมาสร้างปัญหาให้เกิดความเสียหายกับเป็นย่อมเป็นไปได้ ดังนั้น เมื่อพิจารณาแล้ว จากที่ได้ศึกษาถึงชนิดของเชื้อราโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนูแล้ว การศึกษาทางด้านการป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดนี้ควรเป็น ถูกวางเป็นแนวทางการวิจัยต่อไป ซึ่งผลการวิจัยที่ได้คาดว่าจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการเตรียมความพร้อมในการป้องกันกำจัดโรคใยแมงมุม ที่อาจจะเกิดปัญหาใหญ่หลวงได้ในวันใด ก็วันหนึ่ง นอกจากนั้นผลการศึกษาที่ได้ยังนำไปประยุกต์ใช้กับการป้องกันกำจัดโรคเห็ดต่าง ๆ ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพไม่ให้เกิดแพร่ระบาดทำความเสียหายแก่การผลิตเห็ด และไม่ก่อให้เกิดสารตกค้างหรือเป็นพิษต่อเห็ดที่เพาะอยู่ในขณะนี้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ CMA (Corn Meal Agar), MEA (Malt Extract Agar), PDA (Potato Dextrose Agar), PDYA (Potato Dextrose Yeast Agar) และ OA (Oat Agar)

3. ตู้เขี่ยเชื้อ พร้อมอุปกรณ์เขี่ยเชื้อ

4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereoscopic microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

5. เอธิลแอลกอฮอล์ 70%

6. สารสกัดจากพืชสมุนไพร เช่น ยี่หร่า ข่า ฯลฯ

7. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*

8. ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรม

9. ขี้เลื่อยผสมสำหรับเพาะเห็ดสกุลนางรม

วิธีการ

1. แยกเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์บนอาหาร PDA

2. ตรวจสอบและบันทึกลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหาร CMA, MEA, PDA, PDYA และOA

3. ตรวจสอบและบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราเขียวที่แยกได้

4. จำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้โดยเปรียบเทียบกับลักษณะสัณฐานวิทยาและภาพ (monograph) จากเอกสารของต่างประเทศ

5. เก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จากธรรมชาติ โดยสุ่มแยกจากก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม ด้วยเทคนิค dilution plate และเลี้ยงอาหาร PDA และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า

2. จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยอาศัยลักษณะการติดสี และลักษณะทางอินทรีย์เคมี กับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ของต่างประเทศ

3. เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

4. ทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

5. ทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

6. เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา วัน

7. ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมในโรงเรือนเพาะเห็ดนางรม

8. หาข้อมูลประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา จากเอกสารการทดลองทั้งของไทยและของต่างประเทศ

9. ทำการสกัดการสกัดสารจากพืช โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70%

10. เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

11. ทดสอบผลกระทบของสกัดจากพืช ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

12. ทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

13. เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเลนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

14. ทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมในโรงเรือนเพาะเห็ดนางรม

15. วิเคราะห์ สรุปผล และเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550 รวม 2 ปี

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก จ.ราชบุรี พบว่าบนอาหาร MEA พบว่าเชื้อราสร้างเส้นใยเจริญค่อนข้างเร็ว โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารภายใน 7 วัน โคโลนีฟู สีขาวครีม อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีชา เชื้อราสร้าง conidiophore ที่แตกแขนงกิ่งก้าน และมีกลุ่ม conidia เกิดภายในเซลล์ที่เรียกว่า phialide ที่ถูกดันออกมา phialide มีขนาดความยาวไม่แน่นอน แต่ละ conidia มี 2-3 เซลล์ ส่วนใหญ่พบ 2 เซลล์ รูปร่างคล้ายกระบอง (clavate) ใส ไม่มีสี ขนาด 3.9-6.5 x 20.7-44.03 ไมครอน และสร้างสปอร์

ผนังหนาเรียกว่า chlamydospore บริเวณกลางเส้นใย ลักษณะค่อนข้างกลม ผนังเรียบและหนา ขนาด 7.8-14.3 x 10.4-19.4 ไมครอน เกิดเดี่ยวๆ หรือต่อกันเป็นโซ่ 2-3 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T. Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum clavisporum* (Gary & Morgan-Jones) Rogerson *et* Samuels

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี พบว่าบนอาหาร MEA เส้นใยเจริญเร็วและเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 7 วัน โคโลนีฟู สีขาวนวล อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เชื้อราสร้าง conidiophore ที่แตกแขนงกิ่งก้านแบบ verticillate conidia รูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 7.8-13.0 x 15.5-20.7 ไมครอน สร้างจากฐานเล็กๆ เรียกว่า denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่บิดโค้ง และสร้าง chlamydospore งอกออกมาจากเส้นใย มีลักษณะยาวคล้ายกระบอง ผนังเรียบและหนา มี 3-5 เซลล์ ขนาด 10.4-15.5 x 38.9-103.6 ไมครอน เมื่อเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T. Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum polypori* (Dearness *et* House) Rogerson *et* Samuels
การศึกษาการเจริญ

การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญบนอาหาร CMA (Corn Meal Agar), MEA (Malt Extract Agar), PDA (Potato Dextrose Agar), PDYA (Potato Dextrose Yeast Agar) และ OA (Oat Agar) ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 ^{O} ซ พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* มีอัตราการเจริญบนอาหารทุกสูตรที่นำมาทดสอบสูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 ^{O} ซ และที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อราทั้ง 2 ชนิด เจริญบนอาหาร OA และ PDYA ได้ดีกว่าอาหาร CMA, MEA และ PDA

การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จากธรรมชาติ โดยสุ่มแยกจากก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ด ด้วยเทคนิค dilution plate บนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยอาศัยลักษณะการติดสี และลักษณะทางอินทรีย์เคมี กับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ของต่างประเทศ ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท

เมื่อทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ

ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

เมื่อทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* สาเหตุโรคใยแมงมุมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด พบว่า *B. subtilis* ไอโซเลท M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 มีสามารถสร้าง clear zone รอบตัวเอง และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ได้

เมื่อทดสอบผลกระทบของสกัดการสกัดสารจากใบยี่หร่า (กระเพราควาย) และข่า โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากพืช พบว่า ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

เมื่อทดสอบผลของสารสกัดจากใบยี่หร่า และข่า ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* สาเหตุโรคใยแมงมุม โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากพืช พบว่า สารสกัดจากใบยี่หร่า (กระเพราควาย) และข่า ที่ได้จากการสกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เมื่อเจือจางที่ 10, 25 , 50 และ 100 % เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และที่ผสมในจานขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์รา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ได้ ในขณะที่การทดสอบโดยใช้สารสกัดที่สกัดด้วยน้ำร้อน เกิดปัญหาเนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อราอื่น ทำให้ต้องทำการทดสอบอีกครั้ง

จากผลการทดลองที่ได้ดำเนินมาในปี 2549 ยังไม่ถือว่าเป็นการทดลองที่เสร็จสมบูรณ์ เนื่องจากยังต้องดำเนินการตามวิธีการต่อเนื่องจนเสร็จสิ้นในปี 2550 โดยจะต้องทำการทดสอบในระดับโรงเรือนเพาะเห็ดหูหนูในปี 2550 ดังนั้น ผลในภาพรวมที่ได้จากปี 2549 จึงยังไม่สามารถนำไปสรุป เพื่อเป็นคำตอบของวัตถุประสงค์ในการทดลองได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก จ.ราชบุรี แล้วเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T. Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum clavisporum* (Gary & Morgan-Jones) Rogerson *et* Samuels

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี แล้วเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T. Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum polypori* (Dearness *et* House) Rogerson *et* Samuels การศึกษาการเจริญ

การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญบนอาหาร CMA, MEA, PDA, PDYA และ OA ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 ^{O} ซ พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* มีอัตราการเจริญบนอาหารทุกสูตรที่นำมาทดสอบสูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 ^{O} ซ และที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อราทั้ง 2 ชนิด เจริญบนอาหาร OA และ PDYA ได้ดีกว่าอาหาร CMA, MEA และ PDA

การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* โดยสุ่มแยกจากก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ด ด้วยเทคนิค dilution plate บนอาหาร PDA ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และการเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า ได้ 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท

การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

การทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* สาเหตุโรคใยแมงมุมในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ไอโซเลท M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ได้

การทดสอบผลกระทบของสกัดการสกัดสารจากใบยี่หร่า และข่า โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

ทดสอบผลของสารสกัดจากใบยี่หร่า และข่า ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* สาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สารสกัดจากใบยี่หร่า และข่า ที่ได้จากการสกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เมื่อเจือจางที่ 10, 25 , 50 และ 100 % เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และที่ผสมในจานขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์รา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ได้

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง, พัน อินทร์จันทร์, พัฒนา สนธิรัตน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2540. การใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมโรคหอมเลื้อย, หน้า 49-64. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2540. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

พรศิลป์ มณีฉาย, วสันณ์ เพชรรัตน์, เสมอใจ ชื่นจิตต์ และ จรัสศรี นวลศรี. 2547. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อการควบคุมโรคราเขียว (*Trichoderma harzianum* Rifai) ของเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel.). Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol.27 No. 1 Jan.-Feb. 2005.

พัฒนา สนธิรัตน, นิตยา กันหลง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2537. ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเลื้อยของหอม, หน้า 27-38. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2537. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ศรีสุดา กวยาสกุล. 2536. แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อ *Fusarium moniliforme* Seldon เชื้อสาเหตุโรครากเน่าและลำต้นเน่าของอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Okigbo, R. N., and U. O. Ogbonnaya. 2006. Antifungal effects of two tropical plant leaf extracts (*Ocimum gratissimum* and *Aframomum melegueta*) on postharvest yam (*Dioscorea* spp.) rot. Afr. J. Biotechnol. Vol. 5(9): 727-731.

ศึกษาชนิด แหล่งที่มา และระดับการแพร่กระจายของราเขียวไตรโคเดอร์มา ที่ปนเปื้อนในการเพาะเห็ดสกุลนางรม

Study on Species, Origins and Distribution of Green Moulds (*Trichoderma* spp.) Contaminating in *Pleurotus* Mushroom Cultivation

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ อัจฉรา พยัพพานนท์
สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ทัศนาพร ทัศคร มนตรี เอี่ยมวิมังสา
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การเก็บข้อมูลและเก็บตัวอย่างก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่พบมีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย รวม 4 ภาค รวม 17 อำเภอ 11 จังหวัด ในปี 2549 นำก้อนขี้เลื่อยที่พบราเขียวมาแยกเชื้อบนอาหาร PDA และ แยกเชื้อราบริสุทธิ์ด้วยวิธีการแยก สปอร์เดี่ยว (single spore method) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อราเขียวที่พบโดยอาศัย เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อรา พบว่า ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคเหนือ ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 39 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย 10 ไอโซเลท, อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 8 ไอโซเลท, อ.แม่ริม จ.เชียงราย 5 ไอโซเลท, อ.สารภี จ.เชียงราย 3 ไอโซเลท, อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท อ.เมือง จ.ลำพูน 7 ไอโซเลท และ อ.แม่สอด จ.ตาก 4 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 36 ไอโซเลท, *T.hamatum* 2 ไอโซเลท และจำแนกชนิดไม่ได้ (*Trichoderma* sp.) อีก 1 ไอโซเลท ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคกลาง ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 10 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เมือง จ.ลพบุรี 8 ไอโซเลท และ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 2 ไอโซเลท จำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 7 ไอโซเลท, *T.hamatum* 3 ไอโซเลท ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 27 ไอโซเลท ได้แก่ กิ่ง อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย 7 ไอโซเลท อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร 10 ไอโซเลท และ อ.เมือง จ.อุดรธานี 10 ไอโซเลท จำแนกชนิด

รหัสโครงการ 01-16-49-03

(species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 22 ไอโซเลท, *T.hamatum* 5 ไอโซเลท ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคใต้ ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 40 ไอโซเลท ได้แก่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 6 ไอโซเลท อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.บางแก้ว จ.พัทลุง 8 ไอโซเลท และ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง 6 ไอโซเลท จำแนกชนิด (species) ได้ 3 ชนิด คือ *T. harzianum* 32 ไอโซเลท, *T.hamatum* 2 ไอโซเลท *T. aureoviride* 5 ไอโซเลท และจำแนกชนิดไม่ได้ (*Trichoderma* sp.) อีก 1 ไอโซเลท

ได้จัดทำแผนที่ของจังหวัดที่พบเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม และการประเมินระดับการแพร่และความเสียหาย พบว่า เกษตรกรส่วนประสบปัญหาจากการเข้าทำลายของราเขียวตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 50 เปอร์เซ็นต์

คำนำ

การเพาะเห็ดในประเทศไทย มักประสบปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติและบนวัสดุเพาะเห็ดจำพวกไม้ เมล็ดธัญพืช เศษซากพืช และดิน อยู่เสมอ ในถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ดหอม พบเชื้อราปนเปื้อนซึ่งสามารถจำแนกชนิดได้ 5 สกุล คือ *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp. และ *Trichoderma* spp. (ประไพศรี และคณะ, 2537) ในกลุ่มราทั้งหมดนี้ ราเขียวได้สร้างความเสียหายให้กับการเพาะเห็ดถุงมากที่สุด โดยเชื้อราเขียว *Trichoderma* ที่ปนเปื้อนอยู่ในโรงเรือนเพาะเห็ดหูหอม จากตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนที่เก็บมาจากท่อนไม้เพาะเห็ดหอม ถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ดหอม และวัสดุต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเห็ดหอม เป็นเชื้อราในสกุล *Trichoderma* 5 ชนิด ได้แก่ *T. harzianum, T. piluliferum, T. aureoviride, T. koningii* และ *T. pseudokonigii* (Pukahuta *et al*., 2000) การปนเปื้อนของเชื้อราเขียวได้ทำความเสียหายต่อการเพาะเห็ดมานาน แต่ยังไม่สามารถหาวิธีการป้องกันกำจัดให้ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพ ปัญหาการปนเปื้อนไม่เพียงแต่ทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเห็ดเท่านั้น บางชนิดยังมีโทษอย่างร้ายแรงต่อระบบร่างกายของเกษตรกรผู้ผลิตเห็ดด้วย การศึกษานี้นอกจากจะทำให้ได้ทราบชนิดของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาที่ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม ระดับการแพร่กระจาย และความเสียหายจากการปนเปื้อนของเชื้อราเขียวในแต่ละแหล่งเพาะเห็ดแล้ว ยังได้ข้อมูลและตัวอย่างเชื้อราเขียวที่จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กำจัดเชื้อราเขียวที่แพร่กระจายและปนเปื้อนในพื้นที่เพาะเห็ดและถุงก้อนเชื้อเห็ดด้วย ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปเผยแพร่ให้เกษตรกรปฏิบัติใช้ป้องกันความเสียหายของการผลิตเห็ดที่อาจจะเกิดขึ้นต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ PDA (Potato Dextrose Agar)

3. ตู้เขี่ยเชื้อ และอุปกรณ์เขี่ยเชื้อ

4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereoscopic microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

6. เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อราไตรโคเดอร์มา

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรม โดยสุ่มเก็บฟาร์มละ 10 ก้อน บันทึกลักษณะเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของการปนเปื้อนในแต่ละฟาร์มเห็ดที่ได้ตัวอย่าง บันทึกภาพสภาพฟาร์ม ลักษณะการจัดการและดูแลฟาร์มเพาะเห็ด และบันทึกสถานที่ที่พบ

2. เลี้ยงเชื้อราเขียวบนอาหาร PDA และ แยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore method) และ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อรา

3. ตรวจสอบและบันทึกลักษณะการเจริญของโคโลนีราเขียวบนอาหาร PDA

4. ทำสไลด์คัลเจอร์ (slide culture) เพื่อตรวจสอบและบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาที่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

5. จำแนกชนิด (species) ของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา โดยเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาและภาพ (monograph) กับเอกสารของที่มีการศึกษามาแล้ว

6. จัดทำแผนที่การพบและการแพร่กระจายของเชื้อราเขียว และระดับความเสียหายของเชื้อราปนเปื้อนแต่ละชนิด

7. ค้นคว้าและศึกษาข้อมูลทางชีววิทยาของเชื้อราที่พบปนเปื้อนในเชื้อเห็ด

8. วิเคราะห์ และสรุปผล พร้อมวางแนวระบบการเพาะเห็ดนางรมที่เหมาะสมและไม่เกิดการปนเปื้อนของราเขียวไตรโคเดอร์มา

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550 รวม 2 ปี

สถานที่ : ฟาร์มเพาะเห็ดเห็ดสกุลนางรมเพื่อการค้า
กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2549 ได้ทำการเก็บข้อมูลและก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรม 4 ภาค ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ รวม 17 อำเภอ 11 จังหวัด เมื่อนำก้อนขี้เลื่อยที่พบราเขียวมาแยกเชื้อบนอาหาร PDA ด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore method) สามารถแยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาบริสุทธิ์ จำนวน 112 ไอโซเลท เมื่อศึกษาลักษณะของสัณฐานและการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อราที่พบโดยอาศัย เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อราไตรโคเดอร์มา พบว่า

ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคเหนือ แยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 39 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย 10 ไอโซเลท , อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 8 ไอโซเลท, อ.แม่ริม จ.เชียงราย 5 ไอโซเลท, อ.สารภี จ.เชียงราย 3 ไอโซเลท, อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท อ.เมือง จ.ลำพูน 7 ไอโซเลท และ อ.แม่สอด จ.ตาก 4 ไอโซเลท โดยภาคเหนือนี้พบราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่สามารถจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 36 ไอโซเลท, *T.hamatum* 2 ไอโซเลท และจำแนกชนิดไม่ได้ (*Trichoderma* sp.) อีก 1 ไอโซเลท (ดังแสดงในตารางที่ 1)

ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคกลางแยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 10 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เมือง จ.ลพบุรี 8 ไอโซเลท และ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 2 ไอโซเลท โดยภาคกลางนี้พบราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่สามารถจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 7 ไอโซเลท, *T.hamatum* 3 ไอโซเลท (ดังแสดงในตารางที่ 1)

ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือแยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 27 ไอโซเลท ได้แก่ กิ่ง อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย 7 ไอโซเลท อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร 10 ไอโซเลท และ อ.เมือง จ.อุดรธานี 10 ไอโซเลท โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือนี้พบราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่สามารถจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 22 ไอโซเลท, *T.hamatum* 5 ไอโซเลท (ดังแสดงในตารางที่ 1)

ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคใต้แยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 40 ไอโซเลท ได้แก่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 6 ไอโซเลท อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.บางแก้ว จ.พัทลุง 8 ไอโซเลท และ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง 6 ไอโซเลท โดยภาคใต้นี้พบราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่สามารถจำแนกชนิด (species) ได้ 3 ชนิด คือ *T. harzianum* 32 ไอโซเลท,

T.hamatum 2 ไอโซเลท *T. aureoviride* 5 ไอโซเลท และจำแนกชนิดไม่ได้ (*Trichoderma* sp.) อีก 1 ไอโซเลท (ดังแสดงในตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่พบเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อน จำนวนไอโซเลทที่พบ และระดับความเสียหายที่พบในแต่ละสถานที่

พื้นที่	จำนวนราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท)	ชนิด (species) และจำนวนของราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท)	ระดับความเสียหายในระดับฟาร์ม (เปอร์เซ็นต์)
อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T. hamatum* 2 ไอโซเลท	50
อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	8	*T. harzianum* 7 ไอโซเลท *Trichoderma* spp. 1 ไอโซเลท	7
อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	5	*T. harzianum* 5 ไอโซเลท	5
อ.สารภี จ.เชียงใหม่	3	*T. harzianum* 3 ไอโซเลท	5
อ.หางดง จ.เชียงใหม่	2	*T. harzianum* 2 ไอโซเลท	5
อ.เมือง จ.ลำพูน	7	*T. harzianum* 7 ไอโซเลท	5
อ.แม่สอด จ.ตาก	4	*T. harzianum* 4 ไอโซเลท	5
อ.เมือง จ.ลพบุรี	8	*T. harzianum* 5 ไอโซเลท *T .hamatum* 3 ไอโซเลท	8
อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	2	*T. harzianum* 2 ไอโซเลท	5
กิ่ง อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย	7	*T. harzianum* 6 ไอโซเลท *T. hamatum* 1 ไอโซเลท	6
อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T .hamatum* 2 ไอโซเลท	40
อ.เมือง จ.อุดรธานี	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T .hamatum* 2 ไอโซเลท	40

ตารางที่ 1 (ต่อ)พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่พบเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อน จำนวนไอโซเลทที่พบ และระดับความเสียหายที่พบในแต่ละสถานที่

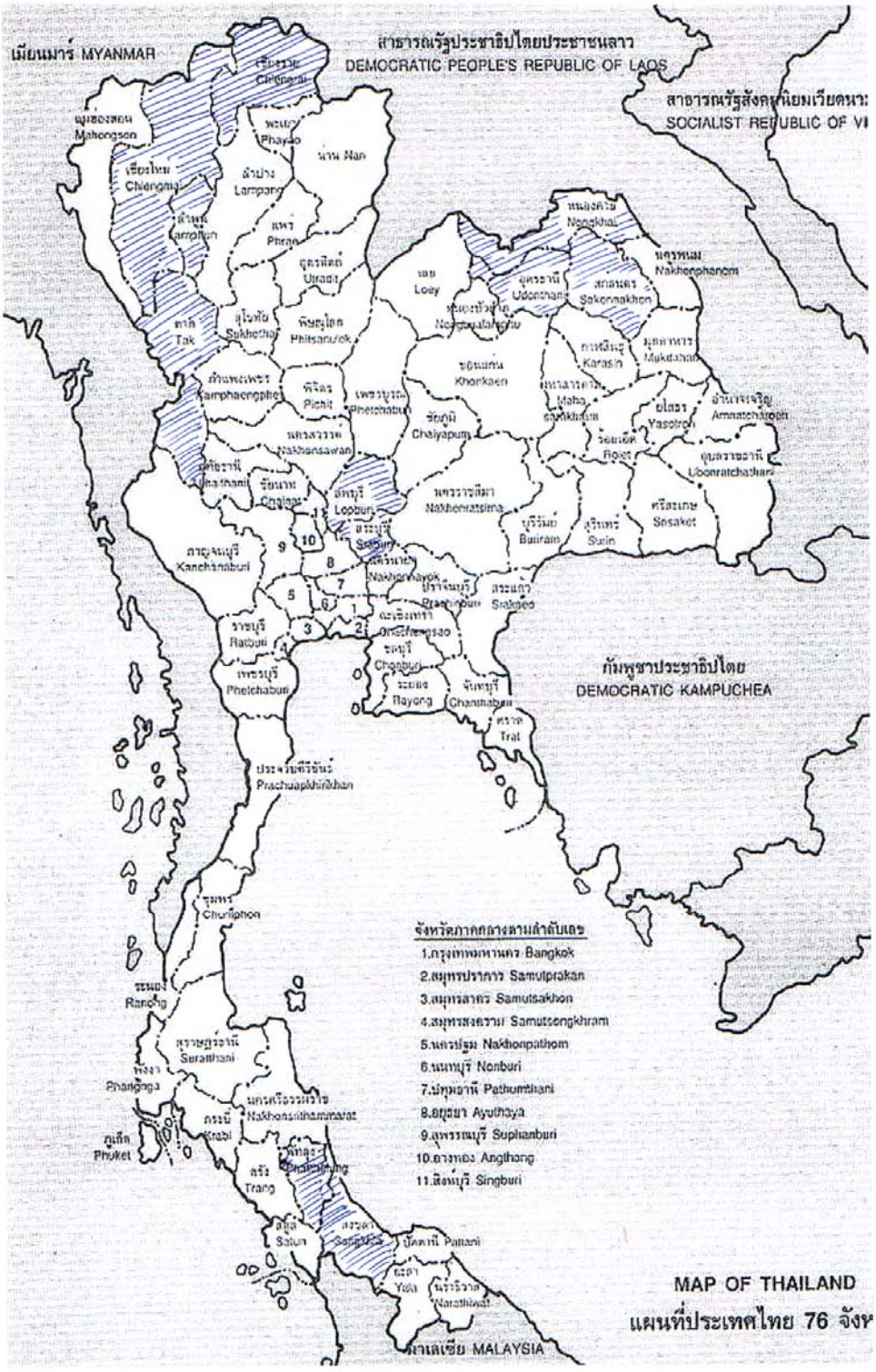
พื้นที่	จำนวนราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท)	ชนิด (species) และจำนวนของราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท)	ระดับความเสียหายในระดับฟาร์ม (เปอร์เซ็นต์)
อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	6	*T. harzianum* 5 ไอโซเลท *T. aureoviride* 1 ไอโซเลท	5
อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T .hamatum* 2 ไอโซเลท	45
อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T. aureoviride* 2 ไอโซเลท	40
อ.บางแก้ว จ.พัทลุง	8	*T. harzianum* 6 ไอโซเลท *T. aureoviride* 2 ไอโซเลท	7
อ.ควนขนุน จ.พัทลุง	6	*T. harzianum* 5 ไอโซเลท *Trichoderma* spp. 1 ไอโซเลท	5
รวม	116		

การประเมินระดับการแพร่และความเสียหาย พบว่า เกษตรกรส่วนประสบปัญหาจากการเข้าทำลายของราเขียวตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยส่วนใหญ่แล้วฟาร์มเพาะเห็ดนางรมมักจะประสบปัญหาราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดที่ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยหรืออยู่ในระยะเส้นใย

การเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดนางรมนั้น จะเลือกเก็บและประเมินความเสียหายจากก้อนเชื้อที่อยู่ในระยะการบ่มเส้นใยเท่านั้น ไม่ได้ประเมินรวมถึงก้อนเชื้อเห็ดที่กำลังเปิดดอก เนื่องจากปัญหาของการเกิดราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อน ส่วนใหญ่จะเกิดในระยะการบ่มเส้นใยเท่านั้น และการศึกษาครั้งนี้จะมุ่งเก็บรวบรวมตัวอย่างก้อนเชื้อที่อยู่ในระยะบ่มเส้นใยเท่านั้น จึงทำให้บางสถานที่ (ตารางที่ 1) ได้ก้อนเชื้อเห็ดปนเปื้อนไม่ถึง 10 ก้อน จึงทำให้ได้ราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ไม่ถึง 10 ไอโซเลท

จากผลการทดลองที่ได้ดำเนินมาในปี 2549 ยังไม่ถือว่าเป็นการทดลองที่เสร็จสมบูรณ์ เนื่องจากยังต้องดำเนินการตามวิธีการต่อเนื่องจนเสร็จสิ้นในปี 2550 ดังนั้น ผลในภาพรวมที่ได้จากปี 2549 จึงยังไม่ถือเป็นผลการทดลองที่สมบูรณ์ ที่จะสามารถนำไปสรุป เพื่อเป็นคำตอบของวัตถุประสงค์ในการทดลองได้

ได้จัดทำแผนที่ของจังหวัดที่พบเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงจังหวัดที่พบเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม จากการออกทำการศึกษาในปี 2549 (▨)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บข้อมูลและเก็บตัวอย่างก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่พบมีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย รวม 4 ภาค รวม 17 อำเภอ 11 จังหวัด ในปี 2549 พบว่า ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคเหนือ ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 39 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย 10 ไอโซเลท, อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 8 ไอโซเลท, อ.แม่ริม จ.เชียงราย 5 ไอโซเลท, อ.สารภี จ.เชียงราย 3 ไอโซเลท, อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท อ.เมือง จ.ลำพูน 7 ไอโซเลท และ อ.แม่สอด จ.ตาก 4 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 36 ไอโซเลท, *T.hamatum* 2 ไอโซเลท และจำแนกชนิดไม่ได้ (*Trichoderma* sp.) อีก 1 ไอโซเลท ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคกลาง ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 10 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เมือง จ.ลพบุรี 8 ไอโซเลท และ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 2 ไอโซเลท จำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 7 ไอโซเลท, *T.hamatum* 3 ไอโซเลท ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 27 ไอโซเลท ได้แก่ กิ่ง อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย 7 ไอโซเลท อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร 10 ไอโซเลท และ อ.เมือง จ.อุดรธานี 10 ไอโซเลท จำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 22 ไอโซเลท, *T.hamatum* 5 ไอโซเลท ก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคใต้ ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 40 ไอโซเลท ได้แก่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 6 ไอโซเลท อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.บางแก้ว จ.พัทลุง 8 ไอโซเลท และ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง 6 ไอโซเลท จำแนกชนิด (species) ได้ 3 ชนิด คือ *T. harzianum* 32 ไอโซเลท, *T.hamatum* 2 ไอโซเลท *T. aureoviride* 5 ไอโซเลท และจำแนกชนิดไม่ได้ (*Trichoderma* sp.) อีก 1 ไอโซเลท การประเมินระดับการแพร่และความเสียหาย พบว่า เกษตรกรประสบปัญหาจากการเข้าทำลายของราเขียวระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ แต่ส่วนใหญ่อยู่ที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, วิรัช ชูบำรุง และอภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2537. ชนิดและปริมาณเชื้อราในวัสดุเพาะเห็ดก่อนการนึ่งฆ่าเชื้อ. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2537. กลุ่มงานวิทยาไมโคกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Bisett, J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section Longibrachiatum sect. nov. Can. J. Bot. Vol. 62: 924 – 931.

Bisett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Section Infragenric classification. Can. J. Bot. Vol. 69: 2357 – 2372.

Bisett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section Pachybasium. Can. J. Bot. Vol. 69: 2372 - 2417.

Bisett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Addition notes on section Longibrachiatum. Can. J. Bot. Vol. 69: 2418 - 2420.

Pukahuta, C., S. Limtong, P. Suwanarit, and S. Nutalaya. 2000. Species Diversity of *Trichoderma* Contaminating Shiitake Production Houses in Thailand. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 34: 478-485.

Rifai, M. A. 1969. A Revision of The Genus *Trichoderma*. Mycological Papers, No.116. Herbarium Bogoriensc, Bogor, Java, Indonesia. 56 p.

ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดราเขียวที่ปนเปื้อนในการเพาะเห็ดสกุลนางรม โดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Study on Control Measures on Green Moulds Contaminating in *Pleurotus* Mushroom Cultivation by Plant Extracts and Antagonists Application

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ อัจฉรา พยัพพานนท์
สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ทัศนาพร ทัศคร มนตรี เอี่ยมวิมังสา
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จากธรรมชาติ โดยสุ่มแยกจากก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม ด้วยเทคนิค dilution plate บนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยอาศัยลักษณะการติดสี และลักษณะทางอินทรีย์เคมี กับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ของต่างประเทศ ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* จำนวน 11 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด การทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* จำนวน 11 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* 8 ไอโซเลท คือ M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 มีความสามารถสร้าง clear zone รอบตัวเอง และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด การทดสอบผลกระทบของสารสกัดจากข้าวโพด ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารสกัดจากข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 3.5 -5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA

รหัสโครงการ 01-16-49-03

ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ดที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด การทดสอบผลของสารสกัดจากข้าวโพดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว พบว่า สารสกัดจากข้าวโพดที่ความเข้มข้น 3.5 – 5 เปอร์เซ็นต์สามารถชะงักการเจริญของเชื้อราเขียว แต่ในวันที่ 3 หลังเลี้ยงเชื้อ เชื้อราเขียวก็สามารถสร้างเส้นใยเจริญได้ตามปกติ ทั้งในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด การทดสอบผลกระทบของสกัดการสกัดสารจากใบยี่หร่า (กระเพราควาย) และข่า โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ดที่ผสมสารสกัดจากพืช การทดสอบผลของสารสกัดจากใบยี่หร่า และข่า ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราไตรโคเดอร์มา พบว่า สารสกัดจากใบยี่หร่า (กระเพราควาย) และข่า ที่ได้จากการสกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เมื่อเจือจางที่ 10, 25 , 50 และ 100 % เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และที่ผสมในจานขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ ในขณะที่การทดสอบโดยใช้สารสกัดที่สกัดด้วยน้ำร้อน เกิดปัญหาเนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อราอื่น ทำให้ต้องทำการทดสอบอีกครั้ง

คำนำ

การเพาะเห็ดในประเทศไทย มักประสบปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติและบนวัสดุเพาะเห็ดจำพวกไม้ เมล็ดธัญพืช เศษซากพืช และดิน อยู่เสมอ ในถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ดหอม พบเชื้อราปนเปื้อนซึ่งสามารถจำแนกชนิดได้ 5 สกุล คือ *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp. และ *Trichoderma* spp. (ประไพศรี และคณะ, 2537) ในกลุ่มราทั้งหมดนี้ ราเขียวได้สร้างความเสียหายให้กับการเพาะเห็ดถุงมากที่สุด โดยเชื้อราเขียว *Trichoderma* ที่ปนเปื้อนอยู่ในโรงเรือนเพาะเห็ดหูหอม จากตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนที่เก็บมาจากท่อนไม้เพาะเห็ดหอม ถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ดหอม และวัสดุต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเห็ดหอม เป็นเชื้อราในสกุล *Trichoderma* 5 ชนิด ได้แก่ *T. harzianum, T. piluliferum, T. aureoviride, T. koningii* และ *T. pseudokonigii* (Pukahuta *et al*., 2000) การปนเปื้อนของเชื้อราเขียวได้ทำความเสียหายต่อการเพาะเห็ดมานาน แต่ยังไม่สามารถหาวิธีการป้องกันกำจัดให้ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพ ปัญหาการปนเปื้อนไม่เพียงแต่ทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเห็ดเท่านั้น บางชนิดยังมีโทษอย่างร้ายแรงต่อระบบร่างกายของเกษตรกรผู้ผลิตเห็ดด้วย การศึกษานี้นอกจากจะทำให้ได้ทราบชนิดของเชื้อราเขียวปนเปื้อน ระดับการแพร่กระจาย และความเสียหายจากการปนเปื้อนของเชื้อราเขียวในแต่ละแหล่งเพาะเห็ดแล้ว ยังได้

ข้อมูลจากการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กำจัดเชื้อราเขียวที่แพร่กระจายและปนเปื้อนในพื้นที่เพาะเห็ดและถุงก้อนเชื้อเห็ดด้วย ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปเผยแพร่ให้เกษตรกรปฏิบัติใช้ป้องกันความเสียหายของการผลิตเห็ดที่อาจจะเกิดขึ้นต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์
2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ PDA (Potato Dextrose Agar)
3. ตู้เขี่ยเชื้อ
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereoscopic microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์
5. เอธิลแอลกอฮอล์ 70%
6. สารสกัดจากพืชสมุนไพร เช่น ยี่หร่า (กระเพราควาย) ข่า ฯลฯ
7. สารสกัดจากข้าวโพด
8. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*
9. ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรม
10. ขี้เลื่อยผสมสำหรับเพาะเห็ดสกุลนางรม

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จากธรรมชาติ โดยสุ่มแยกจากก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม ด้วยเทคนิค dilution plate และเลี้ยงอาหาร PDA และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า
2. จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยอาศัยลักษณะการติดสี และลักษณะทางอินทรีย์เคมี กับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ของต่างประเทศ
3. เตรียมเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา บนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อราเขียวมาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเขียวเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน
4. ทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ด้วยวิธีการ Dual culture

5. ทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ด้วยวิธีการ Dual culture

6. เตรียมเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา บนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อราเขียวมาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเขียวเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

7. ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวในโรงเรือนเพาะเห็ดนางรม

8. หาข้อมูลประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา จากเอกสารการทดลองทั้งของไทยและของต่างประเทศ

9. ทำการสกัดการสกัดสารจากพืช โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70%

10. เตรียมเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา บนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อราเขียวมาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเขียวเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

11. ทดสอบผลกระทบของสกัดจากพืช ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ดโดยการเลี้ยงเชื้อเห็ดในจานอาหารขี้เลื่อยที่ผสมสารสกัดจากพืช

12. ทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ดโดยการเลี้ยงเชื้อเห็ดในจานอาหารขี้เลื่อยที่ผสมสารสกัดจากพืช

13. เตรียมเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา บนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อราเขียวมาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเขียวเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

14. ทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวในโรงเรือนเพาะเห็ดนางรม

15. วิเคราะห์ สรุปผล และเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550 รวม 2 ปี

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จากธรรมชาติ โดยสุ่มแยกจากก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม ด้วยเทคนิค dilution plate บนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยอาศัยลักษณะการติดสี และลักษณะทางอินทรีย์เคมี กับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ของต่างประเทศ ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท

เมื่อทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

เมื่อทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด พบว่า *B. subtilis* 8 ไอโซเลท คือ M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 มีความาสามารถสร้าง clear zone รอบตัวเอง และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาได้

เมื่อทดสอบผลกระทบของสารสกัดจากข้าวโพด ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด พบว่า สารสกัดจากข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 3.5 -5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด และเมื่อทดสอบผลของสารสกัดจากข้าวโพดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว ในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด พบว่า สารสกัดจากข้าวโพดที่ความเข้มข้น 3.5 – 5 เปอร์เซ็นต์สามารถชะงักการเจริญของเชื้อราเขียว แต่ในวันที่ 3 หลังเลี้ยงเชื้อ เชื้อราเขียวก็สามารถสร้างเส้นใยเจริญได้ตามปกติ

เมื่อทดสอบผลกระทบของสกัดการสกัดสารจากใบยี่หร่า (กระเพราควาย) และข่า โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการสกัดด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากพืช พบว่า ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ใน

จานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด และเมื่อทดสอบผลของสารสกัดจากใบยี่หร่า และข่า ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากพืช พบว่า สารสกัดจากใบยี่หร่า (กระเพราควาย) และข่า ที่ได้จากการสกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เมื่อเจือจางที่ 10, 25 , 50 และ 100 % เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และที่ผสมในจานขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ ในขณะที่การทดสอบโดยใช้สารสกัดที่สกัดด้วยน้ำร้อน เกิดปัญหาเนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อราอื่น ทำให้ต้องทำการทดสอบอีกครั้ง

จากผลการทดลองที่ได้ดำเนินมาในปี 2549 ยังไม่ถือว่าเป็นการทดลองที่เสร็จสมบูรณ์ เนื่องจากยังต้องดำเนินการตามวิธีการต่อเนื่องจนเสร็จสิ้นในปี 2550 โดยจะต้องทำการทดสอบในระดับโรงเรือนเพาะเห็ดนางรมในปี 2550 ดังนั้น ผลในภาพรวมที่ได้จากปี 2549 จึงยังไม่สามารถนำไปสรุป เพื่อเป็นคำตอบของวัตถุประสงค์ในการทดลองได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จากธรรมชาติ โดยสุ่มแยกจากก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม ด้วยเทคนิค dilution plate บนอาหาร PDA ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด การทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาในห้องปฏิบัติการ พบว่า ได้ *B. subtilis* 8 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ได้แก่ ไอโซเลท M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 การทดสอบผลของสารสกัดจากข้าวโพดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว พบว่า สารสกัดจากข้าวโพดที่ความเข้มข้น 3.5 – 5 เปอร์เซ็นต์สามารถชะงักการเจริญของเชื้อราเขียว แต่ในวันที่ 3 หลังเลี้ยงเชื้อ เชื้อราเขียวก็สามารถสร้างเส้นใยเจริญได้ตามปกติ ทั้งในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด การทดสอบผลของสารสกัดจากใบยี่หร่า และข่า ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราไตรโคเดอร์มา พบว่า สารสกัดจากใบยี่หร่า (กระเพราควาย) และข่า ที่ได้จากการสกัดโดย

เอธิลแอลกอฮอล์ 70% เมื่อเจือจางที่ 10, 25 , 50 และ 100 % เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และที่ผสมในจานขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ราเขียวไตรโคเดอร์มาได้

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง, พัน อินทร์จันทร์, พัฒนา สนธิรัตน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2540. การใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมโรคหอมเลื้อย, หน้า 49-64. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2540. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

พรศิลป์ มณีฉาย, วสันณ์ เพชรรัตน์, เสมอใจ ชื่นจิตต์ และ จรัสศรี นวลศรี. 2547. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อการควบคุมโรคราเขียว (*Trichoderma harzianum* Rifai) ของเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel.). Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol.27 No. 1 Jan.-Feb. 2005.

พัฒนา สนธิรัตน, นิตยา กันหลง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2537. ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเลื้อยของหอม, หน้า 27-38. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2537. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ศรีสุดา กวยาสกุล. 2536. แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อ *Fusarium moniliforme* Seldon เชื้อสาเหตุโรครากเน่าและลำต้นเน่าของอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

McHugh, R., B., Seddon. Comparison of Biocontrol of *Botrytis cinerea* in Tomato and Lettuce Crops Using *Bacillus brevis*. http://www.google.co.th/search?q=cache:A9Y_suDRYREJ:www.u-bourgogne.fr/IUVV/P52.pdf+bacillus%2Bmould%2Bbioco.

Okigbo, R. N., and U. O. Ogbonnaya. 2006. Antifungal effects of two tropical plant leaf extracts (*Ocimum gratissimum* and *Aframomum melegueta*) on postharvest yam (*Dioscorea* spp.) rot. Afr. J. Biotechnol. Vol. 5(9): 727-731.

Seddon, B. *Bacillus brevis* (*Brevibacillus brevis*) and Biological Control of *Botrytis cinerea*. http://www.u-bourgogne.fr/IUVV/L25.html

ศึกษาสาเหตุ และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อนในการผลิตเชื้อเห็ด

Study on Causes and Distribution of Contaminating Moulds in Spawn Production

อภิรัชต์ สมฤทธิ์
อัจฉรา พยัพพานนท์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การเก็บตัวอย่างและรวบรวมข้อมูลการเกิดราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด ในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย รวม 4 ภาค รวม 14 อำเภอ 10 จังหวัด ในปี 2549 นำมาเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA และ แยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore method) ศึกษาลักษณะของสัณฐานและการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อราที่พบโดยอาศัย เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อรา สามารถรวบรวมเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดได้ 73 ไอโซเลท โดยพบว่า ภาคเหนือ ได้เชื้อราปนเปื้อน 15 ไอโซเลท จากเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง ได้แก่ ที่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย ได้รา *Aspergillus* sp. 5 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ ได้รา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.แม่สอด จ.ตาก ได้รา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ภาคกลาง ได้เชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด 35 ไอโซเลท ได้แก่ ที่ อ.บ้านนา จ.นครนายก ได้ราที่ปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท ที่ อ.เมือง จ.นครปฐม ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดภูฏานในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ที่ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท

รหัสโครงการ 01-16-49-03

และ รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.จอมบึง จ.ราชบุรี ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และ ราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Fusarium* sp.1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 3 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง เป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่นในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่ อ.เมือง จ.อุดรธานี ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท ภาคใต้ ที่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และ ราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.บางแก้ว จ.พัทลุง รได้าปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และที่ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท

ได้จัดทำแผนที่สถานที่เก็บตัวอย่างเชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน ประเมินระดับการแพร่และความเสียหาย พบว่า ความเสียหายจากปัญหาจากการเข้าทำลายของราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดมีตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 20 เปอร์เซ็นต์

คำนำ

ประเทศไทยมีการผลิตเห็ดเป็นการค้า อาทิ เห็ดฟาง เห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดหอม ฯลฯ มานานหลายสิบปีแล้ว การเพาะเห็ดเพื่อการค้าเป็นการผลิตเห็ดในปริมาณมาก จำเป็นต้องอาศัยการดูแลจัดการอย่างดีทุกขั้นตอน ตั้งแต่ระยะเห็ดเป็นเส้นใยจนถึงระยะสร้างดอกเห็ด ความสะอาดเป็นสิ่งที่ผู้ผลิตเห็ดต้องใส่ใจอย่างยิ่งในทุกขั้นตอน โดยเฉพาะขั้นตอนการผลิตแม่เชื้อหรือเชื้อขยาย ซึ่งขั้นตอนนี้ถือว่าเป็นหัวใจสำคัญของการผลิตเห็ด หากเกิดปัญหาการปนเปื้อนหรือการเข้าทำลายของแมลง ไร และเชื้อจุลินทรีย์ ในแม่เชื้อบนอาหารวุ้น หรือในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง

ย่อมทำให้การเพาะเห็ดในขั้นตอนต่อไปไม่ประสพผลสำเร็จ การปนเปื้อนเนื่องจากเชื้อราถือว่าเป็นการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่สร้างปัญหาให้กับผู้ผลิตแม่เชื้อมากที่สุด เพราะนอกจากไม่สามารถนำแม่เชื้อที่เกิดการปนเปื้อนไปผลิตเห็ดหรือจำหน่ายให้ผู้ผลิตดอกเห็ดได้แล้ว ยังสูญเสียเงินต้นทุนจำนวนมหาศาลอีกด้วย นอกจากนั้นหากผู้ผลิตแม่เชื้อหรือเกษตรกรผู้เพาะเห็ดไม่มีความรู้ความเข้าใจหรือรู้จักสังเกตการปนเปื้อนของเชื้อรา เมื่อนำแม่เชื้อไปขยายต่อย่อมทำให้เกิดการสูญเสียในขั้นตอนการผลิตดอกเห็ดอย่างมหาศาลด้วยเช่นกัน แม้นักวิชาการหรือผู้ผลิตเห็ดรายใหญ่มีความเข้าใจถึงปัญหาดังกล่าวนี้เป็นอย่างดี แต่ระบบการปฏิบัติจริงเพื่อป้องกันและหลีกเลี่ยงการปนเปื้อน ทั้งจาก แมลง ไร หรือเชื้อจุลินทรีย์ ยังคงไม่เป็นมาตรฐาน จึงทำให้การผลิตแม่เชื้อเห็ดยังคงเกิดปัญหา และสูญเสียรายได้ตลอดมา ปัญหาการปนเปื้อนในแม่เชื้อเกิดขึ้นมาตลอด ดังเช่นเกษตรกรผู้ผลิตเห็ดในจังหวัดนครปฐม และราชบุรี ประสพปัญหามาตั้งแต่ต้นปี 2547 จากปัญหาที่เป็นจริงดังกล่าว จึงได้จำเป็นต้องวางแนวทางการศึกษาถึงแหล่งที่มาของเชื้อราปนเปื้อน สาเหตุการเกิดและการแพร่ระบาด ชนิดของเชื้อที่พบทำความเสียหายให้กับแม่เชื้อเห็ด เพื่อให้ได้ข้อมูลมาเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญและคุณภาพของเห็ด ซึ่งข้อมูลดังกล่าวย่อมจะเกิดประโยชน์ต่อเกษตรกรในการจัดวางมาตรฐานการผลิตแม่เชื้อเห็ดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์
2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ PDA (Potato Dextrose Agar)
3. ตู้เขี่ยเชื้อ
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereoscopic microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์
5. เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อรา

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างขวดแม่เชื้อในอาหารวุ้น และขวดเชื้อในข้าวฟ่าง ที่พบเชื้อราปนเปื้อนจากแหล่งผลิตเชื้อเห็ด และฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกร ในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย
2. บันทึกและถ่ายภาพขั้นตอนการผลิตเชื้อเห็ด สภาพแวดล้อมของฟาร์มและห้องผลิตแม่เชื้อเห็ด ปัญหาและอุปสรรคในการผลิตเชื้อเห็ด

3. เลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA และ แยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore method) และ ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อรา

4. ตรวจสอบและบันทึกลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA

5. ทำสไลด์คัลเจอร์ (slide culture) เพื่อตรวจสอบและบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่แยกได้

6. จำแนกชนิดของเชื้อรา โดยเปรียบเทียบกับชนิดและภาพ (monograph) ในเอกสารของต่างประเทศ

7. ค้นคว้าและศึกษาข้อมูลทางชีววิทยาของเชื้อราที่พบปนเปื้อนในเชื้อเห็ด

8. บันทึกและสรุปผล พร้อมวางแนวระบบการผลิตเชื้อเห็ดที่ควรเป็นมาตรฐาน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550 รวม 2 ปี

สถานที่ : แหล่งผลิตแม่เชื้อเห็ดที่สำคัญของประเทศไทย
กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเก็บตัวอย่างและรวบรวมข้อมูลการเกิดราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด ในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย รวม 4 ภาค รวม 14 อำเภอ 10 จังหวัด ในปี 2549 นำมาเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA และ แยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore method) ศึกษาลักษณะของสัณฐานและการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อราที่พบโดยอาศัย เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อรา สามารถรวบรวมเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดได้ 73 ไอโซเลท โดยพบว่า

ภาคเหนือ ได้เชื้อราปนเปื้อน 15 ไอโซเลท จากเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง ได้แก่ ที่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย ได้รา *Aspergillus* sp. 5 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ ได้รา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.แม่สอด จ.ตาก ได้รา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท

ภาคกลาง ได้เชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด 35 ไอโซเลท ได้แก่ ที่ อ.บ้านนา จ.นครนายก ได้ราที่ปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท ที่ อ.เมือง จ.นครปฐม ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา

Aspergillus sp. 2 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดภูฏานในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ที่ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และ รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.จอมบึง จ.ราชบุรี ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และ ราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Fusarium* sp.1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 3 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง เป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่นในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่ อ.เมือง จ.อุดรธานี ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท

ภาคใต้ ได้เชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด 20 ไอโซเลท ได้แก่ ที่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และ ราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.บางแก้ว จ.พัทลุง รได้าปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และที่ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท (รายละเอียดในตารางที่ 1)

ได้จัดทำแผนที่จังหวัดที่เก็บตัวอย่างเชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน (ภาพที่ 1) และในการประเมินระดับการแพร่และความเสียหาย พบว่า ความเสียหายจากปัญหาจากการเข้าทำลายของราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดมีตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 20 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองที่ได้ดำเนินมาในปี 2549 ยังไม่ถือว่าเป็นการทดลองที่เสร็จสมบูรณ์ เนื่องจากยังต้องดำเนินการตามวิธีการต่อเนื่องจนเสร็จสิ้นในปี 2550 โดยจะต้องทำการศึกษาสำรวจ และรวบรวมราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด จากพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วประเทศไทยอีก และจะทำการจำแนก

ชนิด (species) ของราปนเปื้อน ดังนั้น ผลในภาพรวมที่ได้จากปี 2549 จึงยังไม่สามารถนำไปสรุปเพื่อเป็นคำตอบของวัตถุประสงค์ในการทดลองทั้งหมดได้

ตารางที่ 1 พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างเชื้อเห็ดที่พบราปนเปื้อน จำนวนไอโซเลทที่พบ และระดับความเสียหายที่พบในแต่ละสถานที่

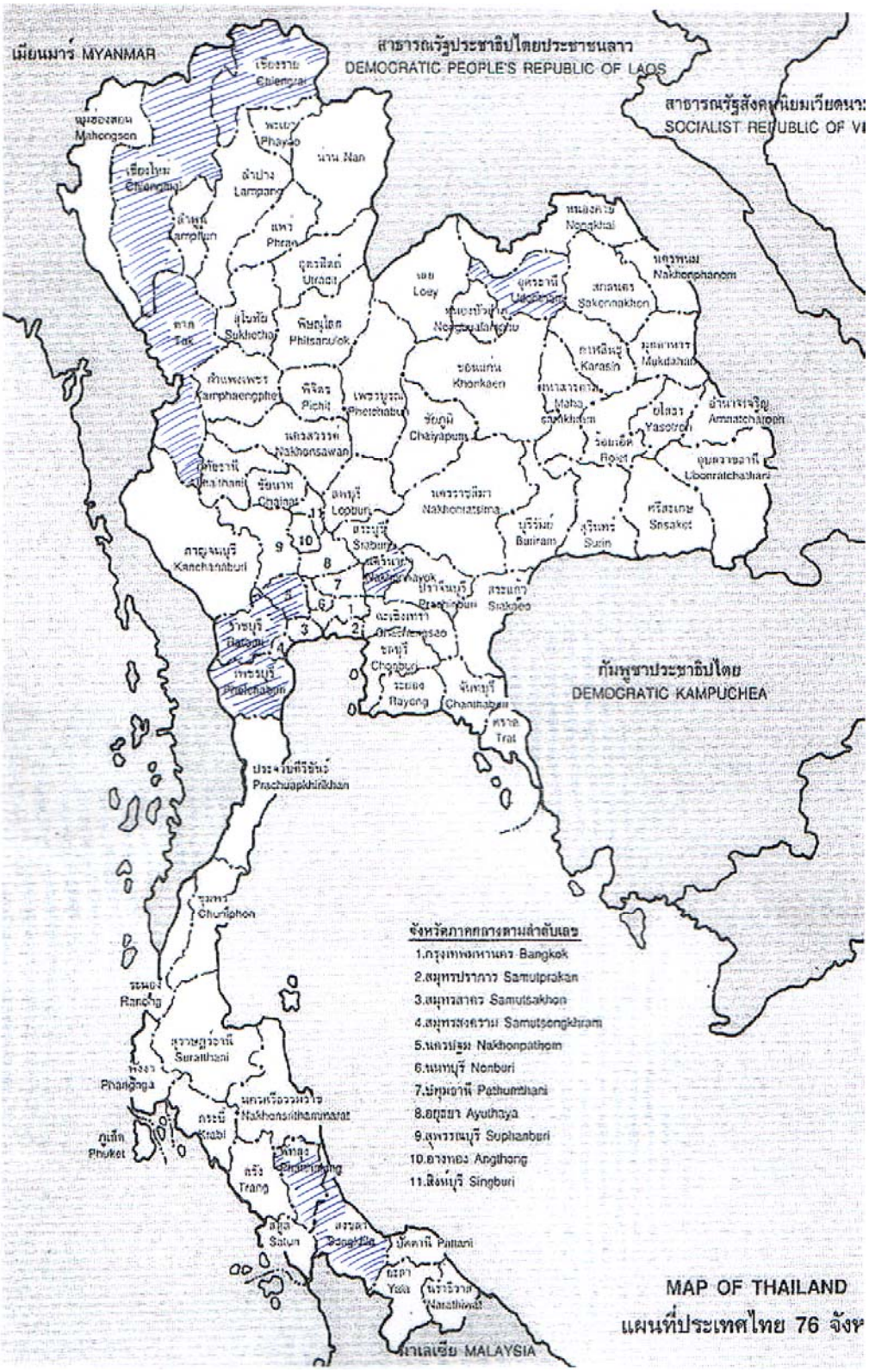
พื้นที่	**ชนิดเชื้อเห็ด**	**จำนวนราปนเปื้อน (ไอโซเลท)**	**ชนิดและจำนวนของราปนเปื้อน**	**ระดับความเสียหายที่พบ (เปอร์เซ็นต์)**
อ.บ้านนา จ.นครนายก	เชื้อเห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	3	*Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท	5
อ.เมือง จ.นครปฐม	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	4	*Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท	15
	เชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	3	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท	
	เห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	2	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท	
	เชื้อเห็ดภูฏานในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	2	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท	
อ.โพธาราม จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	3	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท	10
อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	5	*Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท	20

ตารางที่ 1 (ต่อ) พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างเชื้อเห็ดที่พบราปนเปื้อน จำนวนไอโซเลทที่พบ และระดับความเสียหายที่พบในแต่ละสถานที่

พื้นที่	ชนิดเชื้อเห็ด	จำนวนราปนเปื้อน (ไอโซเลท)	ชนิดและจำนวนของราปนเปื้อน	ระดับความเสียหายที่พบ (เปอร์เซ็นต์)
อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	7	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Fusarium* sp.1 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 3 ไอโซเลท	20
	เชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	2	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท	
	เชื้อเห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	1	*Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท	
	เชื้อเห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่นในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	3	*Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท	
อ.เมือง จ.อุดรธานี	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	3	*Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท	5
อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	7	*Aspergillus* sp. 5 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท	15
อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	3	*Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท	10
อ.แม่สอด จ.ตาก	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	5	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท	10

ตารางที่ 1 (ต่อ) พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างเชื้อเห็ดที่พบราปนเปื้อน จำนวนไอโซเลทที่พบ และระดับความเสียหายที่พบในแต่ละสถานที่

พื้นที่	ชนิดเชื้อเห็ด	จำนวนราปนเปื้อน (ไอโซเลท)	ชนิดและจำนวนของราปนเปื้อน	ระดับความเสียหายที่พบ (เปอร์เซ็นต์)
อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	7	*Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท	10
อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	5	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท	8
อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	3	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท	5
อ.บางแก้ว จ.พัทลุง	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	2	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท	5
อ.ควนขนุน จ.พัทลุง	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	3	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท	5



ภาพที่ 1 แสดงพื้นที่จังหวัดที่พบเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเศรษฐกิจ จำนวน 73ไอโซเลท จากการศึกษาโดยการสำรวจและรวบรวมจากฟาร์มเพาะเห็ดต่าง ๆ ในปี 2549 (▨)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บตัวอย่างและรวบรวมข้อมูลการเกิดราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด ในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย รวม 4 ภาค รวม 14 อำเภอ 10 จังหวัด ในปี 2549 สามารถรวบรวมเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดได้ 73 ไอโซเลท โดยพบว่าภาคเหนือ ได้เชื้อราปนเปื้อน 15 ไอโซเลท จากเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง ได้แก่ ที่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย ได้รา *Aspergillus* sp. 5 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ ได้รา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.แม่สอด จ.ตาก ได้รา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ภาคกลาง ได้เชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด 35 ไอโซเลท ได้แก่ ที่ อ.บ้านนา จ.นครนายก ได้ราที่ปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท ที่ อ.เมือง จ.นครปฐม ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดภูฏานในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ที่ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี ได้รา ปนเปื้อนในเชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และ รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.จอมบึง จ.ราชบุรี ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และ ราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี ได้รา ปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Fusarium* sp.1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 3 ไอโซเลท รา ปนเปื้อนในเชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง เป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่นในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่ อ.เมือง จ.อุดรธานี ได้ ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท ภาคใต้ ได้เชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด 20 ไอโซเลท ได้แก่ ที่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และ ราที่ยังไม่

ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.บางแก้ว จ.พัทลุง รได้าปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และที่ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง ได้ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท การประเมินระดับการแพร่และความเสียหาย พบว่า ความเสียหายจากปัญหาจากการเข้าทำลายของราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดมีตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 20 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2539. เชื้อเห็ด, น.5-14. *ใน* เห็ดไทย 2539, ชมรมถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร ตู้ ปณ.1029 ปทฝ.เกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ.

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2540. การปนเปื้อนของหัวเชื้อ, น.10-13. *ใน* จดหมายข่าวเพื่อชาวฟาร์มเห็ด โดย ศูนย์รวมสวนเห็ดบ้านอรัญญิก ปีที่ 6 ฉบับที่ 10 :ตุลาคม 2540.

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2543. การปนเปื้อนของหัวเชื้อเห็ด, น.57-62. *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การทำเชื้อเห็ด, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

ปัญญา โพธิ์จิติรัตน์. 2532. การทำเชื้อเห็ด, น.76-133. *ใน* เทคโนโลยีการเพาะเห็ด, ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2544. การปนเปื้อนของหัวเชื้อเห็ด, น.57-63. *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การทำเชื้อเห็ด, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

Stamets, P., and J. S. Chilton. 1996. The Contaminants of Mushroom Culture, pp.233-317. *In* The Mushroom Cultivator, A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home. Agarikon Press, Olympia, Washington.

ศึกษาชนิด และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายดอกเห็ดเพื่อการค้า

Study on Species and Distribution of Bacteria Infecting on Economic Mushrooms

นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และข้อมูลการเกิดโรคของเห็ดจากเชื้อแบคทีเรีย ในช่วงเดือนมกราคม ถึง มิถุนายน 2549 ในฟาร์มเห็ด จำนวน 32 ฟาร์ม ในพื้นที่ 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดราชบุรี นครปฐม นครนายก เชียงราย ลำพูน หนองคาย สกลนคร อุดรธานี พังงา นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี สงขลา และพัทลุง ได้ตัวอย่างเห็ดนางรมที่ถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลาย จาก 9 ฟาร์ม ได้แก่ ฟาร์มเพาะเห็ดในตำบลปากช่อง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี ตำบลสันมะเค็ด และ ตำบลม่วงคำ อำเภอพาน จังหวัดเชียงราย ตำบลเชียงยืน อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี ตำบลทุ่งลาน อำเภอคลองหอยโข่ง ตำบลกำแพงเพชร อำเภอรัตภูมิ และตำบลควนลัง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้จำนวน 23 ไอโซเลท จัดจำแนกเชื้อสาเหตุของโรคเบื้องต้น พบว่าทุกตัวอย่างเกิดจากเชื้อแบคทีเรียสกุล Pseudomonas และจะเห็นได้ว่าความสะอาดของโรงเพาะเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการเกิดโรคของเห็ด และการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย

รหัสโครงการ 01-16-49-03

คำนำ

การเพาะเห็ดในประเทศไทย มักประสบปัญหาจากการเข้าทำลายของโรค แมลง และไรอยู่เสมอ เชื้อแบคทีเรีย เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำความเสียหายต่อการเพาะเห็ด ซึ่งยังไม่สามารถหาวิธีการป้องกันกำจัดให้ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพ โรคเห็ดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ไม่เพียงแต่ทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเห็ดเท่านั้น ยังทำให้ราคาของเห็ดต่ำลง และรายได้ของเกษตรกรผู้เพาะเห็ดน้อยลงด้วย เนื่องจากในประเทศไทยมีรายงานการศึกษาชนิดการเข้าทำลาย แหล่งที่มา และวิธีการ ป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ดค่อนข้างน้อยแต่ก็มีบ้างได้แก่ รายงานของสุเนตรา และคณะ (2527) พบเชื้อ *Pseudomonas mycolysis* sp. nov. เป็นสาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาล (brown rot) ของเห็ดนางฟ้า และ *Pseudomonas obaloni* sp. nov. สาเหตุโรคเส้นใยไม่เดิน (bacterial brown patch) ของเห็ดเป๋าฮื้อ ประไพศรี (2537) รายงานว่าในประเทศไทยเคยพบเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas tolaasii* เข้าทำลายเห็ด ทำให้เกิดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดฎูฎาน และ เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescen* ทำให้เกิดโรคจุดสีน้ำตาลของเห็ดเป๋าฮื้อ และโรคเน่าเหลืองของเห็ดสกุลนางรม จนหลายครั้งเมื่อเกิดปัญหาโรค จึงหาวิธีการป้องกันกำจัด หรือคำแนะนำช่วยเหลือเกษตรกรได้ยาก ดังนั้นจึงได้วางแนวทางการศึกษาในครั้งนี้เพื่อทราบชนิดของเชื้อแบคทีเรีย แหล่งแพร่กระจาย ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค และความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อบนดอกเห็ดในแต่ละแหล่งเพาะเห็ดเศรษฐกิจ ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ต่อการหาศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายดอกเห็ดเพื่อการค้าอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เห็ดที่มีอาการโรคที่คาดว่าเกิดจากแบคทีเรีย และวัสดุเพาะเห็ดจากฟาร์มเพาะเห็ดที่พบอาการดังกล่าว

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

3. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ Nutrient Agar (NA), Nutrient Glucose Agar (NGA) Potato Sucrose Agar (PSA) และ TZC

4. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบปฏิกิริยาการติดสีของเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ crystal violet 2% (ใน ammonium oxalate 10%), Burke's iodine, ethyl alcohol 95% และ safranin 2.5%

5. สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรีย

6. ตู้เขี่ยเชื้อ

7. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereoscopic microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

8. ก้อนเชื้อเห็ด

9. อุปกรณ์ในโรงเรือนเพาะเห็ด เช่น ชั้นวางก้อนเห็ด เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer) และเครื่องวัดความชื้น (hygrometer) เป็นต้น

วิธีการ

1. สำรวจ และเก็บตัวอย่างเห็ด ที่มีอาการคาดว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย คือมีอาการดอกเน่า ดอกเป็นจุดช้ำฉ่ำน้ำ อาการเน่าเละ หรือดอกเล็กไม่พัฒนา ดอกเล็กเหี่ยวเหลือง และวัสดุเพาะเห็ด ในช่วงเดือนมกราคม ถึง มิถุนายน 2549 บันทึกลักษณะอาการที่พบ เปอร์เซ็นต์ความเสียหายเนื่องจากการเกิดอาการดังกล่าวในแต่ละฟาร์มเห็ดที่ได้ตัวอย่าง บันทึกพื้นที่เกิดโรค และสภาพการจัดการฟาร์ม

2. แยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จากดอกเห็ด และวัสดุเพาะเห็ดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA PSA และ TZC และศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้

3. นำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่แยกได้มาพิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulate บนดอกเห็ด

4. นำเชื้อแบคทีเรียที่พิสูจน์แล้วว่าเป็นสาเหตุของโรคเห็ด มาจำแนกชนิดโดยใช้การทดสอบทางชีวเคมี

5 สรุป และวิเคราะห์ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในฟาร์มของเกษตรกร

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2550

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และฟาร์มเห็ดของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และข้อมูลการเกิดโรคของเห็ดจากเชื้อแบคทีเรีย ในช่วงเดือน มกราคม ถึง มิถุนายน 2549 ในฟาร์มเห็ด จำนวน 32 ฟาร์ม ในพื้นที่ 13 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด ราชบุรี นครปฐม นครนายก เชียงราย ลำพูน หนองคาย สกลนคร อุดรธานี พังงา นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี สงขลา และพัทลุง ได้ตัวอย่างเห็ดนางรมที่ถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลาย จาก 9 ฟาร์ม ได้แก่ ฟาร์มเพาะเห็ดในตำบลปากช่อง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี ตำบลสันมะเค็ด และ ตำบล ม่วงคำ อำเภอพาน จังหวัดเชียงราย ตำบลเชียงยืน อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี ตำบลทุ่งลาน อำเภอคลองหอยโข่ง ตำบลกำแพงเพชร อำเภอรัตภูมิ และตำบลควนลัง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัด สงขลา (ตารางที่1) นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้จำนวน 23 ไอโซเลท และจำแนกเชื้อสาเหตุของโรค เบื้องต้น พบว่าทุกตัวอย่างเกิดจากเชื้อแบคทีเรียสกุล Pseudomonas เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ ที่แยกได้มาพิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulate บนดอกเห็ด พบว่าทุกไอโซเลททำให้ดอกเห็ด แสดงอาการโรค ซึ่งจะต้องนำเชื้อแบคทีเรียนี้ไป จำแนกชนิดต่อไป

จากการสำรวจ เก็บตัวอย่างโรคเห็ดในฟาร์มของเกษตรกร แหล่งที่พบโรค มักจะเป็นฟาร์ม ที่มีการดูแลในเรื่องของความสะอาดไม่ดี ไม่มีการคัดแยก ก้อนเห็ดที่เป็นโรคออกจากก้อนเห็ดปกติ เพียงแค่เก็บดอกทิ้งเมื่อพบว่าไม่ปกติ บางรายทิ้งดอกเห็ดไว้บริเวณพื้น และด้านข้างโรงเรือน ซึ่งจะ ทำให้เป็นแหล่งสะสมโรค และทำให้เห็ดเกิดโรคได้อีก จะเห็นได้ว่าการจัดการฟาร์มที่ดี โดยเฉพาะ เรื่องของความสะอาดเป็นส่วนสำคัญในการป้องกันกำจัดการเกิดโรคของเห็ด

<u>ตารางที่1</u> สถานที่สำรวจ และเก็บตัวอย่าง ลักษณะอาการผิดปกติของเห็ด และวัสดุปลูก ความเสียหาย และการจัดการฟาร์ม จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม ถึง มิถุนายน 2549

สถานที่	**ลักษณะอาการบนดอกเห็ด/วัสดุเพาะ**	**เปอร์เซ็นต์ความเสียหาย**	**การจัดการฟาร์ม**
ต.ปากช่อง อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ดอกเห็ดเล็กเหี่ยวเหลือง ไม่พัฒนา	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.สันมะเค็ด อ.พาน จ.เชียงราย (2 ฟาร์ม)	ดอกเห็ดช้ำสีเหลือง มีเมือกเยิ้ม การเจริญไม่เต็มที่	15	โรงเพาะเห็ดค่อนข้างทึบชื้นมาก ไม่แยกก้อนเชื้อที่มีอาการโรคออกจากเห็ดปกติ
ต.ม่วงคำ อ.พาน จ.เชียงราย (2 ฟาร์ม)	ดอกเห็ดเล็กเหี่ยวเหลือง ไม่พัฒนา	5	ไม่แยกก้อนเชื้อที่มีอาการโรคออกจาก เห็ดปกติ
ต.เชียงยืน อ.เมือง จ.อุดรธานี	ดอกเน่า มีเมือกเยิ้ม	10	บริเวณรอบโรงเพาะเห็ดไม่สะอาด ทิ้งดอกเห็ดที่เป็นโรค ไว้ที่พื้น
ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ. สงขลา	ดอกเห็ดเล็กเหี่ยวเหลือง ไม่พัฒนา	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี

<u>ตารางที่1</u> (ต่อ) สถานที่สำรวจ และเก็บตัวอย่าง ลักษณะอาการผิดปกติของเห็ด และวัสดุปลูก ความเสียหาย และการจัดการฟาร์ม จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม ถึง มิถุนายน 2549

สถานที่	ลักษณะอาการบนดอกเห็ด/วัสดุเพาะ	เปอร์เซ็นต์ความเสียหาย	การจัดการฟาร์ม
ต.กำแพงเพชร อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	อาการดอกเห็ดมีเมือกเยิ้ม การเจริญไม่เต็มที่ ที่ก้อนเห็ดเส้นใยเห็ดไม่เดิน มีสีเหลือง เยิ้มเป็นย่อมๆ	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ควนลัง อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	อาการดอกเห็ดมีที่ก้อนเห็ดเส้นใยเห็ดไม่เดิน มีสีเหลือง เยิ้มเป็นย่อมๆ เมือกเยิ้ม การเจริญไม่เต็มที่	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.บ้านนา อ.บ้านนา จ.นครนายก	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ศรีกะอาง อ.บ้านนา จ.นครนายก	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
อ.ท่าบ่อ จ.หนองคาย	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.โพนแพง กิ่งอ.รัตนวาปี จ.หนองคาย	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ไร่ อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.เหมืองง่า อ.เมือง จ.ลำพูน	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.หล่อยูง อ.ตะกั่วทุ่ง จ.พังงา	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี

<u>ตารางที่1</u> (ต่อ) สถานที่สำรวจ และเก็บตัวอย่าง ลักษณะอาการผิดปกติของเห็ด และวัสดุปลูก ความเสียหาย และการจัดการฟาร์ม จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม ถึง มิถุนายน 2549

สถานที่	ลักษณะอาการบนดอกเห็ด/วัสดุเพาะ	เปอร์เซ็นต์ความเสียหาย	การจัดการฟาร์ม
ต.ร่อนพิบูลย์ อ.ร่อนพิบูลย์ จ. นครศรีธรรมราช	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ควนทอง อ.ขนอม จ.นครศรีธรรมราช	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.พุนพิน อ.พุนพิน จ.สุราษฎร์ธานี	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.วัดประดู่ อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.วังมะนาว อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ควนลัง อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.กำแพงเพชร อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.นาปะขอ อ.บางแก้ว จ.พัทลุง	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.โตนดด้วน อ.ควนขนุน จ. พัทลุง	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และข้อมูลการเกิดโรคของเห็ดจากเชื้อแบคทีเรีย ในช่วงเดือน มกราคม ถึง มิถุนายน 2549 ในฟาร์มเห็ด จำนวน 32 ฟาร์ม ในพื้นที่ 13 จังหวัด ได้ตัวอย่างเห็ด นางรมที่ถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลาย จาก 9 ฟาร์ม ได้แก่ ฟาร์มเพาะเห็ดในตำบลปากช่อง อำเภอ จอมบึง จังหวัดราชบุรี ตำบลสันมะเค็ด และ ตำบลม่วงคำ อำเภอพาน จังหวัดเชียงราย ตำบลเชียง ยืน อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี ตำบลทุ่งลาน อำเภอคลองหอยโข่ง ตำบลกำแพงเพชร อำเภอรัต ภูมิ และตำบลควนลัง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้จำนวน 23 ไอโซ เลท และจำแนกเชื้อสาเหตุของโรคเบื้องต้น พบว่าทุกตัวอย่างเกิดจากเชื้อแบคทีเรียสกุล Pseudomonas เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่แยกได้มาพิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulate บน ดอกเห็ด พบว่าทุกไอโซเลททำให้ดอกเห็ดแสดงอาการโรค ซึ่งจะต้องนำเชื้อแบคทีเรียนี้ไป จำแนก ชนิดต่อไป

การจัดการฟาร์มที่ดี โดยเฉพาะในเรื่องของความสะอาดเป็นส่วนสำคัญในการป้องกัน กำจัดการเกิดโรคของเห็ด

เอกสารอ้างอิง

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2537. โรคเห็ดและการป้องกันกำจัด. เอกสารประกอบการบรรยาย พิเศษ ในการสัมมนาวิชาการประจำปี 2537, วันศุกร์ที่ 2 ธันวาคม 2537 ณ ห้องประชุมชั้น 3 ตึกสกิกรรม กรมวิชาการเกษตร.

สุเนตรา ภาวิจิตร สมใจ วิวิธจินดา วนิดา ฐิตะฐาน และสุธัญญา ฉายาชวลิต. 2527. การศึกษาโรค เห็ดซึ่งเกิดจากเชื้อบักเตรี. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2527 กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กลุ่มงานวิจัยโรคข้าว และ กลุ่มงานบักเตรี เล่ม 2. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. หน้า 839-854.

การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยวิธีผสมผสาน.

Integrated control of potato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*

วงศ์ บุญสืบสกุล

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ รุ่งนภา คงสุวรรณ์

กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ถ่ายเชื้อและเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ DOA-WB-4 และแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวมันฝรั่ง *Ralstonia solanacearum* จาก stock culture ที่เก็บรักษาไว้ ณ. กลุ่มงานบักเตรีวิทยา ติดต่อและเตรียมแปลงทดลองตามแผนการทดลองที่อำเภอไชยปราการจังหวัดเชียงใหม่และอำเภอพบพระจังหวัดตาก ทั้งสองแห่งวางแผนการทดลองแบบ CRD, 4ซ้ำ, 5 กรรมวิธี ได้แก่ การใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคอย่างเดียว(กรรมวิธีที่1)และร่วมกับการปลูกพืชหมุนเวียน(กรรมวิธีที่2), การตากดิน (กรรมวิธีที่3) และ การใช้สารสมุนไพร(กรรมวิธีที่4) โดยกรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นกรรมวิธีที่5 ปลูก 4 แถวต่อหนึ่งกรรมวิธี แถวยาว 4 เมตร ระยะระหว่างแถว 90 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 30 เซนติเมตร ระยะระหว่างกรรมวิธี 2 เมตร ระยะระหว่างซ้ำ 4 เมตร ผลการตรวจประชากรเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวก่อนปลูกพบเชื้อดังกล่าวทุกแปลง ผลการตรวจหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดไม่มีเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว เตรียมเชื้อปฏิปักษ์ 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จำนวน 5000 มิลลิลิตร คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยอัตรา 10 มิลลิลิตรต่อหัวพันธ์หนึ่งกิโลกรัม แล้วปลูกตามแผนการทดลอง ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในแปลงทดลอง เมื่อมันฝรั่งอายุ 10 วัน ราดเชื้อปฏิปักษ์ 3 ครั้ง ในกรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อปฏิปักษ์หลังต้นมันฝรั่งงอก 7 วัน แต่ละครั้งห่างกัน 10 วัน เก็บข้อมูลการเกิดโรคในทุกกรรมวิธี ครั้งที่1(20วัน) และ 2 (40 วัน) พบว่าแปลงทดลองที่จังหวัดตากการพัฒนาการเป็นโรคไม่ดี กรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นโรค 3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ เป็นโรค 1-3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกิดสภาวะฝนแล้งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืชและการพัฒนาการเกิดโรค ต้นพืชไม่สมบรูณ์ ผลการทดลองที่จังหวัดเชียงใหม่พบว่าการใช้เชื้อแบคที่เรียปฏิปักษ์ DOA-W B-4 (*Bacilus subtilis*) (คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก อัตรา 10^9 cfu / มล. ปริมาตร 10 มล ต่อ กิโลกรัมหัวพันธุ์ และราดด้วยเชื้อดังกล่าว อัตรา 10^6 cfu / มล.ปริมาตร 10 มล ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้งแต่ละ

รหัสโครงการ 01-16-49-05

ครั้งห่างกัน 7 วัน) เพียงอย่างเดียวให้ผลในการควบคุมโรคได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้วิธีการอื่นร่วมด้วย (การปลูกพืชหมุนเวียน, การตากดิน, การใช้สารสมุนไพร) พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 2.8 – 5.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบพบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 58 เปอร์เซ็นต์

คำนำ

Ralstonia solanacearum (Yabuuchi *et al*., 1995) เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (bacterial wilt) ที่ทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิดตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันและถูกจัดให้เป็นโรคที่สำคัญที่สุดโรคหนึ่งของโลกเพราะเชื้อสาเหตุโรคพบระบาดไปทั่วโลกสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจได้มากกว่า 200 ชนิด มากกว่า 40 ตระกูล เชื้อนี้มีชีวิตอยู่รอดในดินได้นาน อยู่ข้ามฤดูในวัชพืชหลายชนิด สามารถถ่ายทอดโรคทางส่วนขยายพันธุ์ เช่น หัวพันธุ์-มันฝรั่ง ท่อนพันธุ์ขิง เป็นต้น ปนเปื้อนและติดไปกับเครื่องมือทางการเกษตรได้ง่ายรวมถึงติดไปกับสัตว์แมลงและมนุษย์ สามารถแพร่ระบาดได้ดีกับระบบให้น้ำทางการเกษตร ที่สำคัญปัจจุบันยังไม่พบวิธีการใดวิธีการหนึ่งที่สามารถควบคุมโรคนี้ให้ได้ผลดีควรแก่การแนะนำ โดยเฉพาะการใช้สารเคมีพบว่าไม่สามารถควบคุมโรคนี้ได้และไม่แนะนำให้ใช้ (Hayward and Hartman, 1994 *in* Hayward , 1995) ขณะที่การใช้พันธุ์ต้านทานค่อนข้างทำได้จำกัดทั้งแบบ horizontal และ vertical เนื่องจากความผันแปรของอุณหภูมิและลักษณะดิน อีกทั้งเชื้อนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมาก มีการจัดแบ่งเชื้อนี้หลายระบบเช่น ชนิดเรส (race) ชนิดไบโอวา (biovar) และจัดเป็นกลุ่มตามลักษณะรายพิมพ์ดีเอ็นเอ ขณะที่เมื่อเร็ว ๆ นี้ มีรายงานว่าเชื้อนี้มีระยะที่เรียกว่า VBNC stage (viable but not culture) ซึ่งไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ แต่สามารถทำให้เกิดโรคได้ เมื่อเป็นเช่นนี้ กลยุทธ์ในการควบคุมโรคจึงต้องใช้วิธีป้องกัน ด้วยการผสมผสาน (integrated control) วิธีการต่าง ๆ เข้าด้วยกัน เช่น การปลูกพืชหมุนเวียน การไถตากดินให้นานกว่าปกติ (French *et al*.,1997) และการใช้สารสมุนไพรเท่าที่จำเป็น (วงศ์, 2546)

Tans-Kersten *et al.,* (2001) พบว่าความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อนี้มีผลโดยตรงกับการเข้าทำลายและการเกิดระบาดของโรค Richardson *et al*., (1998) ประสบความสำเร็จจำแนกเชื้อในสกุล *Pseudomonas cepacia* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ของเชื้อโรคนี้ โดยอาศัยการจัดกลุ่มตามคุณสมบัติของ fatty acid profiling, REP PCR, BOX PCR และ ERIC PCR Nesmith and Jenkins (1985) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มักพบในดินที่มีอินทรีย์หมักตามธรรมชาติ (suppressive and conducive composed soil) Guo *et al*., (2002) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บริเวณรากพืช (rhizosphere bacteria) ได้แก่ *Pseudomonas* sp. J3, *Bacillus* spp. BB11 and FH 17 มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและผลิตสารปฏิชีวนะที่

สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของพริกได้ Frey *et al*., (1994) ใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมสร้างเชื้อกลายพันธุ์ของเชื้อโรคนี้ (Hrp$^-$ mutant of *R. solanacearum* by **ω**-Km interposon used genetically engineered) ช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ Aino *et al.,* (1998) รายงานว่า endophytic pseudomonads, FPT and FPH มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ Shiomi *et al.* (1999) พบว่าการใช้ suppressive soil จากเมือง Mutsumi ช่วยลดความรุนแรงของโรคดังกล่าวในมะเขือเทศ Ciampi *et al.,* (1999) ใช้สารสกัดจากเชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท A47 และ *Pseudomonas fluorescens* BC8 ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคเหี่ยว สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพไร่ Sanaina *et al*., (1998) ใช้เชื้อแบคทีเรียบริเวณรากควบคุมโรคเหี่ยวในมันฝรั่งได้ 24-83 % และใช้ควบคุมได้ดีกว่าเชื้อโรคนี้ที่กลายพันธุ์เป็นเชื้อที่ไม่เกิดโรครุนแรง (avirulent mutant of *R. solanacearum*) ซึ่งจำแนกเป็น *Bacillus subtilis, B. cereus* และ *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* ที่แยกเชื้อได้จากปุ๋ยหมักและปุ๋ยพืชสดสามารถยับยั้งการเจริญและการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรคดังกล่าวได้ แต่ไม่สามารถควบคุมโรคในสภาพไร่ Urutchata (1991) พบว่า *P. fluorescens* NA1 และ *Serratia marcescens* NA25 สามารถควบคุมโรคดังกล่าวในมะเขือเทศได้โดยการแช่รากของกล้ามะเขือเทศก่อนปลูก

ในการทดลองนี้การดำเนินงานมี 2 ขั้นตอน ทดสอบหาความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวโดยวิธีผสามผสานในไร่ทดลอง และไร่เกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ 1. เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว *R. solanacearum* ที่เก็บรักษาอยู่ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา

2. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ อุปกรณ์และเครื่องมือปฏิบัติการทางโรคพืช

วิทยา เช่น ห้องเขี่ยเชื้อ (clean room) ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้เพาะเชื้อ เครื่องเขย่าตั้งอุณหภูมิและความเร็ว

รอบได้ เครื่องผสมเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้อบฆ่าเชื้อ สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ จานเลี้ยงเชื้อ เครื่อง นับโคโลนี เครื่องวัด-ปรับค่าความเป็นกรด/ด่าง ภาชนะแก้วต่าง ๆ เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมอุปกรณ์ ชุดตรวจ ELISA และ กระดาษ เป็นต้น

3. เมล็ดข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ์๑ ใบพลูแห้งบด

4. แปลงทดลอง แปลงเกษตรกร รถยนต์ อุปกรณ์การเตรียมแปลงและวัสดุต่าง ๆ เช่น จอบ เสียม พลั่ว กระดาษ ถุงพลาสติกขนาดต่าง ๆ กาวทนความชื้น ปากกาหมึกเคมีชนิดถาวร สมุดบันทึก ถังโฟม blue Ice pack ฯลฯ หัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดเชื้อ *R. solanacearum* ปุ๋ย สาร-กำจัดวัชพืช สารกำจัดแมลง ฯลฯ

วิธีการ

ดำเนินการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวมันฝรั่งโดยวิธีผสมผสาน ในสภาพแปลงทดลองและในไร่เกษตรกร วางแผนการทดลองแบบ CRD, 4 ซ้ำ, 5 กรรมวิธี ปลูก 4 แถวต่อหนึ่งกรรมวิธี แถวยาว 4 เมตร ระยะระหว่างแถว 90 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 30 เซนติเมตร ระยะระหว่างกรรมวิธี 2 เมตร ระยะระหว่างซ้ำ 4 เมตร มีขั้นตอนในการดำเนินการทดลองตามลำดับดังนี้

กรรมวิธีที่1 การใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคอย่างเดียว

กรรมวิธีที่2 การปลูกพืชหมุนเวียน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์

กรรมวิธีที่3 การไถตากดิน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์

กรรมวิธีที่4 การใช้สารสมุนไพร + การใช้เชื้อปฏิปักษ์

กรรมวิธีที่5 กรรมวิธีเปรียบเทียบ

เวลาและสถานที่

เริ่ม พ.ค. 2548 ถึง มี.ค. 2549 ทำการทดลอง 2 แห่ง ได้แก่

1. อ. พบพระ จ. ตาก

2. อ. ไชยปราการ จ. เชียงใหม่

ผลการทดลองและวิจารณ์

ตาราง เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากแปลงทดลองการควบคุมโรคโดยวิธีผสมผสาน

กรรมวิธี	สถานที่ทดลอง	
	จ. ตาก	จ. เชียงใหม่
การใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคอย่างเดียว	1.86	2.93
การปลูกพืชหมุนเวียน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์	1.45	2.76
การไถตากดิน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์	2.58	5.16
การใช้สารสมุนไพร + การใช้เชื้อปฏิปักษ์	1.77	2.84
กรรมวิธีเปรียบเทียบ	3.04	58.44

พบว่าแปลงทดลองที่จังหวัดตากการพัฒนาการเป็นโรคไม่ดี กรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นโรค 3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ เป็นโรค 1-3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกิดสภาวะฝนแล้งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืชและการพัฒนาการเกิดโรค ต้นพืชไม่สมบรูณ์ ผลการทดลองที่จังหวัดเชียงใหม่พบว่าการใช้เชื้อแบคที่เรียปฏิปักษ์ DOA-W B-4 (*Bacilus subtilis*) (คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก อัตรา 10^9 cfu / มล. ปริมาตร 10 มล ต่อ กิโลกรัมหัวพันธุ์ และราดด้วยเชื้อดังกล่าว อัตรา 10^6 cfu / มล.ปริมาตร 10 มล ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน) เพียงอย่างเดียวให้ผลในการควบคุมโรคได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้วิธีการอื่นร่วมด้วย (การปลูกพืชหมุนเวียน, การตากดิน, การใช้สารสมุนไพร) พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 2.8 – 5.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบพบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 58 เปอร์เซ็นต์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ยังสรุปและให้คำแนะนำไม่ได้เพราะยังไม่เสร็จสิ้นการทดลอง

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 22-27 June 1997symposium. 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.

French, E.R., Anguiz, R. and Aley, P. 1997. The usefulness of potato resistance to *Ralstonia solanacearum* for the integrated control of bacterial wilt. *In*. Bacterial wilt : Molecular and Ecology aspects.
Prior, P., Allen, C. and Elphinestone, J. (eds.) INRA edn., Springer Verlag, Berlin, Germany. pp. 381 – 385.

Frey, P., Prior, P., Marie, C., Kotoujansky, A., Trigalet, D.D. and Trigalet, 1994. Hrp-(sup) mutants of *Pseudomonas solanacearum* as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt. *Appl. Environ.*
Microbiol. 60 (9) 3175-3181.

Guo, J., Qi, H. and Li, S. 2002. Biocontrol efficiency of three PGPR strains admixture to pepper bacteria wilt. Bacterial wilt newsletter. 17: 3.

Hara, H. and Ono, K. 1984. The semi selective medium for soil isolation of *Ralstonia solanacearum*. Plant protection (Shokubutsu boeki). 38:76-79. (Japanese language)

Hayward, A.C. 1995. 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.

Kelaniyangoda, D.B. 1998. Bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) management in potato and tomato using botanicals and chemicals. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B13.

Kelman, A. 1954. The relationship and pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a triphenyl tetrazorium chloride media. *Phytopathology*. 44:693 - 695.

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). DisThinction of the Pseudomonads in the rRNA-homology group II (*Burkholderia* spp.). *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* 40(1-2):189-196.

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. *In*: Proc.8 th. International congress of plant pathology (ICPP2003), Chrischurch, New Zealand. P. 96.

Nesmith, W.C. and Jenkins, J.S.F. 1985. Influence of antagonists and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. Phytopathology 75 : 1182-1187.

Richardson, J., Elephinstone, J, Stead, D. and Coutts, R. 1998. Differentiation of *Burkholderia cepacia* isolates by fatty acid profiling and PCR for biocontrol of *Ralstonia solanacearum. In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number 3.5.16

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.

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.

Suthaya, C. 1984. Study on bacterial wilt of tomato. M.Sc. Thesis, Kasetsart university, Bangkok, Thailand 234 Pp

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.

Urutchata, K. 1991. Biological control of tomato bacterial wilt by *Pseudomonas solanacearum*. M.Sc. Thesis, Kasetsart university, Bangkok, Thailand. 199 Pp.

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. and *Ralstonia Eutropha* (Davis 1969) comb. Nov. *Micr*

การบริหารจัดการวัชพืชในขิง

Weeds Management in Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.).

เสริมศิริ คงแสงดาว[1] มะนิต สารุณา[2] สายชล จันมาก[2]

[1] กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2] ศูนย์บริการด้านพืชและปัจจัยการผลิตภูเรือ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

บทคัดย่อ

การบริหารจัดการวัชพืชในขิง ได้ทำการทดลองที่แปลงทดลองของศูนย์บริการด้านพืชและปัจจัยการผลิตภูเรือ จังหวัดเลย ในช่วงมีนาคม 2549 - มกราคม 2550 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 10 กรรมวิธี 3 ซ้ำ กรรมวิธีที่ 1-4 ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 4 ชนิด ได้แก่ oxadiazon, oxyfluorfen, alachlor และ pendimethalin อัตรา 160, 60, 288 และ 240 กรัม ai./ไร่ พ่นทันทีหลังปลูก กรรมวิธีที่ 5-7 ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกแบบไม่เลือกทำลาย 3 ชนิด ได้แก่ paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium อัตรา 207, 300 และ 300 กรัม ai./ไร่ พ่นกำจัดวัชพืชหลังจากปลูกขิงหลังวัชพืชงอกและก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน กรรมวิธีที่ 8 หลังจากปลูกขิงหว่านเมล็ดถั่วเขียว แล้วถอนต้นถั่วเขียวออกนำมาวางคลุมผิวหน้าดินวางห่างจากโคนต้นขิงที่ 30 วันหลังปลูก กรรมวิธีที่ 9 กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 4 และ 7 สัปดาห์หลังปลูก เปรียบเทียบกับการไม่กำจัดวัชพืช พูนโคนขิงเมื่ออายุ 2 เดือน ที่ 15 วันหลังพูนโคน กรรมวิธีที่ 1-8 ใช้สาร propaquizafop อัตรา 15 กรัม ai./ไร่ พ่นกำจัดวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า วัชพืชที่พบมากคือ กระดุมใบใหญ่ (*Borreria latifolia* (Aubl.) Schum.) สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) หญ้าท่าพระ (*Richardia brazillensis* Gomes) หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.)Koel.) กก สามเหลี่ยมเล็ก (*Cyperus pilosus* Vahl.) ผลการทดลองการใช้ paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium มีละอองสารบางส่วนสัมผัสต้นขิงทำให้ขิงงอกใหม่มีอาการเป็นพิษเล็กน้อย พบว่าที่ 3 เดือนหลังปลูกขิง พบว่าการใช้ถั่วเขียวหว่านหลังปลูกขิงควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุด โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืชต่ำสุด รองลงมาตามลำดับคือ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน, glyphosate, glufosinate-ammonium, oxyfluorfen, alachlor, paraquat, oxadiazon, pendimethalin และการไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืชสูงสุด การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานขิงแตกกอมากที่สุด รองลงมาคือ alachlor, glyphosate, glufosinate-ammonium พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ glyphosate มีแนวโน้มได้แง่งขิงโตและผลผลิตขิงสูงสุด รองลงมาตามลำดับคือ glufosinate-ammonium, การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน, การหว่านถั่วเขียว และการใช้ oxyfluorfen และ alachlor

รหัสโครงการ 01-16-49-06

คำนำ

ขิง (*Zingiber officinale* Rosc.) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae แง่งขิงหรือลำต้นที่แท้จริงเรียกว่า rhizome อยู่ใต้ดิน แตกแขนงขนานไปกับพื้นดิน มีลักษณะเป็นแท่งสั้น แตกแบบนิ้วมือ แข็งอวบสีขาวหรือเหลืองอ่อน มีใบเกล็ดเล็กๆห่อหุ้มตา แง่งอันแรกเริ่มที่ใช้ปลูกเรียก แง่งแม่ เจริญเติบโตแตกแง่งย่อยเรียก แง่งลูก ออกต่อๆกันไป ลำต้นที่เห็นอยู่เหนือดินขึ้นไปไม่ใช่ลำต้นที่แท้จริง แต่เป็นลำต้นเทียม ประกอบด้วยกาบใบที่ซ้อนทับกันเป็นชั้นๆ เรียกว่า clump เจริญมาจากตาที่อยู่บริเวณข้อบนแง่งขิง ขยายพันธุ์ด้วยท่อนพันธุ์หรือแง่ง (จเร, 2525)

ที่ประเทศนิวซีแลนด์ผลิตขิงเพื่อตัดดอก (mayoga ginger) รายงานว่าใช้สารกำจัดวัชพืช glyphosate , paraquat พ่นกำจัดวัชพืชก่อนปลูก และใช้ oxadiazon, oxyfluorfen เพื่อคุมการงอกของวัชพืชตอนเริ่มปลูก (Follett, et al, 1996) ในประเทศไทย เสริมศิริ และคณะ (2542) รายงานการใช้สารกำจัดวัชพืชก่อนปลูกขิงได้แก่ oxadiazon, pendimethalin, oxyfluorfen ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง ได้ผลผลิตขิงใกล้เคียงการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 3 และ 6 สัปดาห์หลังปลูก และรายงานว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก cletodim, fenoxaprop-p-ethyl, fluazifop-p-butyl, propaquizafop-p-tefuryl และ haloxyfop-R-methyl ester ใช้พ่นกำจัดวัชพืชวงศ์หญ้าเมื่อขิงอายุ 2 เดือนได้ดี ปี 2544-46 ได้ทดลองพบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดวัชพืชในขิงคือ 4 และ 7 สัปดาห์หลังปลูก และพบว่าการใช้ถั่วเขียวปลูกแซมขิง ช่วยลดปริมาณวัชพืชได้ และต้องถอนต้นถั่วออกคลุมแปลงก่อนที่ต้นถั่วจะสูงปกคลุมต้นขิง ซึ่งการทดลองดังกล่าวยังไม่ได้มีการทดลองซ้ำจะต้องมีการทดลองซ้ำเพื่อให้การบริหารจัดการวัชพืชในผลิตขิงมีให้ประสิทธิภาพลดการใช้สารเคมี และได้ผลผลิตขิงที่ปลอดภัยจากสารพิษตกค้าง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ท่อนพันธุ์ขิง เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว ใบหญ้าคาแห้ง ปูนขาว ปุ๋ยคอก ปุ๋ยเคมี สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 25%EC, oxyfluorfen 23.5%EC , alachlor 48%EC, pendimethalin 33%EC, paraquat 27.6%SL, glyphosate 48%SL, glufosinate-ammonium 15%SL และ propaquizafop 10%EC เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสูบโยกสะพายหลังพร้อมหัวพ่นรูปพัด สารป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชตามความจำเป็นพร้อมเครื่องพ่นสาร

วิธีการ

ไถดะตากดินเก็บเศษซิ้นส่วนวัชพืช ตอ เหง้า ไหล หัวออกให้หมด ไถแปรและพรวนดินยกร่อง ใส่ปูนขาว ปุ๋ยคอก วางท่อนพันธุ์ขิงระยะห่างระหว่างต้น 30 เซนติเมตร กลบดิน แล้วจึงพ่นสารกำจัดวัชพืชในกรรมวิธีที่ 1-4 ได้แก่ oxadiazon, oxyfluorfen, alachlor และ pendimethalin อัตรา

160, 60, 288 และ 240 กรัม ai./ไร่ ตามลำดับ และในกรรมวิธีที่ 8 หว่านเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว แล้วถอนต้นถั่วเขียวออกนำมาปิดปกคลุมผิวหน้าดินวางห่างจากโคนต้นขิงที่ 30 วันหลังปลูก ส่วนกรรมวิธีที่ 5-7 ได้แก่ paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium อัตรา 207, 300 และ 300 กรัม ai./ไร่ ตามลำดับ หลังจากปลูกและวัชพืชงอกแล้วแต่ขิงยังไม่งอกพ้นผิวดิน พ่นสารกำจัดวัชพืชที่ 25 วันหลังปลูก กรรมวิธีที่ 9 กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 4 และ 7 สัปดาห์หลังปลูก กรรมวิธีที่ 10 ไม่มีการกำจัดวัชพืช เมื่อขิงอายุ 2 เดือนพูนโคนขิง ที่ 15 วันหลังพูนโคน กรรมวิธีที่ 1-8 ใช้สาร propaquizafop อัตรา 15 กรัม ai./ไร่ พ่นกำจัดวัชพืชใบแคบวงศ์หญ้า ดูแลพ่นสารกำจัดวัชพืชตามความจำเป็น นับจำนวนกอขิงที่ 2 เดือนหลังปลูก บันทึกชนิดและปริมาณวัชพืชที่ 3 เดือนหลังปลูก โดยสุ่มแปลงย่อยละ 2 จุดๆ ละ 0.5x0.5 เมตร วัดการเจริญเติบโตของขิง (ความสูงต้นและการแตกกอ) ที่ 6 เดือนหลังปลูก โดยสุ่มแปลงย่อยละ 10 ต้น และเก็บเกี่ยวขิงที่ 10 เดือน วัดความกว้างและความยาวของแง่งขิงแต่ละกอ แปลงนี้ใกล้เก็บเกี่ยวขิงประสบปัญหาโรคเหี่ยว ทำให้ได้ผลผลิตขิงไม่ครบทุกแปลง

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองในช่วงมีนาคม 2549-มกราคม 2550 ที่แปลงทดลองของศูนย์บริการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเลย 2 (ภูเรือ) จังหวัดเลย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในแปลงที่ไม่มีการกำจัดวัชพืช ที่ 3 เดือนหลังปลูก พบวัชพืช 67.4 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบกว้าง 76.3 เปอร์เซนต์ วัชพืชที่พบในพื้นที่ทดลองได้แก่กระดุมใบใหญ่ (*Borreria latifolia* (Aubl.) Schum.) สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) หญ้าท่าพระ (*Richardia brazillensis* Gomes) ผักปลาบ (*Commelina diffusa* Burm.f.) หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.)Koel.) หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) กกสามเหลี่ยมเล็ก (*Cyperus pilosus* Vahl.) และหนวดปลาดุก (*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl.)

การควบคุมวัชพืช ที่ 3 เดือนหลังปลูก

จำนวนต้นวัชพืชรวมต่อตารางเมตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มีแนวโน้มว่าการใช้ถั่วเขียวหว่านหลังปลูกแล้วถอนต้นถั่วเขียวออกนำมาวางคลุมผิวหน้าดินวางห่างจากโคนต้นขิงที่ 30 วันหลังปลูก มีจำนวนต้นวัชพืชน้อยที่สุด 17.4 ต้น น้อยกว่าการใช้แรงงานกำจัดวัชพืชที่ 4 และ 7 สัปดาห์หลังปลูก รองลงมาตามลำดับคือ การใช้แรงงานกำจัดวัชพืช, alachlor, glufosinate-ammonium, pendimethalin, oxyfluorfen, oxadiazon, glyphosate มีจำนวนต้นวัชพืชไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 34.6-50.6 ต้น การไม่กำจัดวัชพืชและ paraquat มีจำนวนต้นวัชพืชมากสุด ไม่แตกต่างกัน 67.4 และ 78.6 ต้น จำนวนต้นวัชพืชใบกว้างแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

เปรียบเทียบกับการไม่กำจัดวัชพืช การใช้ถั่วเขียวหว่าน การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และ glyphosate มีจำนวนต้นวัชพืชใบกว้างน้อยที่สุด การไม่กำจัดวัชพืชและ paraquat มีจำนวนต้นวัชพืชใบกว้างมากสุด ส่วนจำนวนต้นของวัชพืชใบแคบและกกไม่แตกต่างกัน

น้ำหนักแห้งวัชพืชรวมและน้ำหนักแห้งวัชพืชใบกว้างต่อตารางเมตร แสดงผลในทำนองเดียวกัน โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเปรียบเทียบกับการไม่กำจัดวัชพืช การใช้ถั่วเขียวหว่านหลังปลูกควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุด โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืชรวมและวัชพืชใบกว้างน้อยที่สุด รองลงมาตามลำดับคือการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน, glyphosate, glufosinate-ammonium, oxyfluorfen, alachlor ส่วน paraquat, oxadiazon, pendimethalin และการไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืชรวมและวัชพืชใบกว้างมากใกล้เคียงกัน ซึ่งวัชพืชที่พบมากคือกระดุมใบใหญ่ ส่วนน้ำหนักแห้งของวัชพืชใบแคบและกกไม่แตกต่างกัน

เปอร์เซ็นต์รอดของต้นขิงหลังปลูก

ที่ 2 เดือนหลังปลูกจำนวนต้นขิงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเปรียบเทียบกับการไม่กำจัดวัชพืช พบว่าการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานต้นขิงเหลือรอดมากที่สุด 85.2 เปอร์เซนต์ รองลงมาตามลำดับคือ glyphosate, oxyfluorfen, oxadiazon, pendimethalin และ glufosinate-ammonium พบว่าการใช้ paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium มีละอองสารบางส่วนสัมผัสต้นขิงทำให้ขิงงอกใหม่มีอาการเป็นพิษเล็กน้อย ดังนั้นจึงควรพ่นกำจัดวัชพืชให้เร็วขึ้น หรือหากพบว่ามีขิงงอกขึ้นมาแล้วจำเป็นต้องพ่นแบบหลบต้นขิง สำหรับการใช้ alachlor และการไม่กำจัดวัชพืชต้นขิงรอด 71.6 เปอร์เซนต์เท่ากัน ส่วนการใช้ถั่วเขียวหว่าน แล้วถอนออกคลุมแปลงที่ 30 วันหลังปลูก ต้นขิงรอด 74.6 เปอร์เซนต์ พบว่าการที่ถั่วเขียวปกคลุมต้นขิงนานเกินไปทำให้ต้นขิงผอมสูง จำเป็นต้องมีหาอัตราหว่านที่เหมาะสมและถอนต้นถั่วเขียวออกให้เร็วขึ้น

การเจริญเติบโตและผลผลิตขิง

ที่ 6 เดือนหลังปลูกขิงต้นสูงไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 67.1-87.1 เซนติเมตร แต่แตกกอแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบกับการไม่กำจัดวัชพืช พบว่าการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานต้นขิงแตกกอมากที่สุด 4.3 เล่มต่อกอ รองลงมาคือ alachlor, glyphosate และ glufosinate-ammonium 4.0-4.1 เล่มต่อกอ การหว่านถั่วเขียว และ pendimethalin แตกกอใกล้เคียงกัน 3.4 และ 3.2 เล่มต่อกอ การไม่กำจัดวัชพืชและ oxadiazon แตกกอน้อยที่สุด 2.5 เล่มต่อกอ

เก็บเกี่ยวขิงที่ 10 เดือนหลังปลูก ขิงประสบปัญหาโรคเหี่ยว ทำให้ได้ผลผลิตขิงไม่ครบทุกแปลง จึงแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยต่อกอ มีแนวโน้มว่า ขิงในกรรมวิธีที่ใช้ glyphosate มีแง่งขิงโตที่สุด กว้าง 12.7 เซนติเมตร ยาว 29.5 เซนติเมตร และได้ผลผลิตขิงสูงสุดน้ำหนัก 567 กรัมต่อกอ รองลงมาตามลำดับคือ glufosinate-ammonium, กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน, หว่านถั่วเขียว,

oxyfluorfen, alachlor, paraquat, การไม่กำจัดวัชพืช, oxadiazon และ pendimethalin แง่งขิงมีน้ำหนัก 530, 498, 484, 445, 394, 362, 361, 337 และ 320 กรัมต่อกอ ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองบริหารจัดการวัชพืชในขิงที่ศูนย์บริการด้านพืชและปัจจัยการผลิตภูเรือ จังหวัดเลย ปี พ.ศ. 2549 พบว่าการใช้ถั่วเขียวหว่านหลังปลูกขิงแล้วถอนออกคลุมแปลงที่ 30 วันหลังปลูกควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุด แต่เวลาถอนต้นถั่วเขียวช้าไป ทำให้เปอร์เซนต์รอดของต้นขิงลดลง ซึ่งหากถอนเร็วขึ้นต้นขิงน่าจะได้ผลผลิตสูงกว่านี้ ผลควบคุมวัชพืชได้ดีรองลงมาตามลำดับคือการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 4 และ 7 สัปดาห์หลังปลูก การใช้ glyphosate หรือ glufosinate-ammonium อัตรา 300 กรัมai./ไร่ พ่นกำจัดวัชพืชหลังจากปลูกขิงหลังวัชพืชงอกและก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน หรือการใช้ oxyfluorfen อัตรา 60 กรัมai./ไร่ หรือ alachlor อัตรา 288 กรัมai./ไร่ พ่นทันทีหลังปลูก หรือ paraquat อัตรา 207 กรัมai./ไร่ พ่นกำจัดวัชพืชหลังจากปลูกขิงหลังวัชพืชงอกและก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน การพ่น paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium ต้องระวังมากขึ้นซึ่งอาจมีละอองสารบางส่วนสัมผัสต้นขิงทำให้ขิงงอกใหม่มีอาการเป็นพิษต่อต้นขิงเล็กน้อย ในด้านผลผลิตพบว่าการใช้ glyphosate มีแนวโน้มได้แง่งขิงโตและผลผลิตขิงสูงสุด รองลงมาตามลำดับคือ glufosinate-ammonium, การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน, การหว่านถั่วเขียว และ oxyfluorfen และ alachlor

เอกสารอ้างอิง

จเร สดากร. 2525. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์. หน้า 7-12. *ใน* : เอกสารวิชาการเล่มที่ 6 ขิง. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

เสริมศิริ คงแสงดาว, วินัย เจริญกูล และเกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2542. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในขิง. หน้า 199-203. *ใน* : การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4. 27-29 ตุลาคม 2542 โรงแรมแอมบาสเดอร์ ซิตี้ จอมเทียน พัทยา ชลบุรี.

เสริมศิริ คงแสงดาว, วินัย เจริญกูล และเกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2542. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกในขิง. หน้า 204-208. *ใน* : การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4. 27-29 ตุลาคม 2542 โรงแรมแอมบาสเดอร์ ซิตี้ จอมเทียน พัทยา ชลบุรี.

Follett, J.M., J.A. Douglas and T.K. James. 1996. Weed control in myoga ginger. Proc. 49th N.Z. Plant Protection Conf. Horticultural Crops: 161-164.

ตารางที่ 1 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชต่อตารางเมตรที่ 3 เดือนหลังปลูกขิง ในการทดลองการบริหารจัดการวัชพืชในขิง ที่ศูนย์บริการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเลย 2 (ภูเรือ) ปี 2549

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	จำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)				น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัมต่อตาราเมตร)			
		ใบแคบ	ใบกว้าง	กก	รวม	ใบแคบ	ใบกว้าง	กก	รวม
1.oxadiazon[1] + propaquizafop[3]	160+15	2.6 a	46.0 abc	0	50.6 ab	12.9	251.0 e	0	263.9 d
2.oxyfluorfen[1] + propaquizafop[3]	60+15	9.4 ab	39.4abc	0.6 a	49.4 ab	6.5	151.0 cd	0.2	157.6 a-d
3. alachlor[1] + propaquizafop[3]	288+15	3.4 a	32.0 ab	0	35.4 ab	42.9	157.0 cd	0	199.7 bcd
4. pendimethalin[1] + propaquizafop[3]	240+15	2.0 a	33.4 ab	2.6 ab	38.0 ab	1.4	253.0 e	27.7	282.2 d
5. paraquat [2]+ propaquizafop[3]	207+15	8.0 ab	68.0 c	2.6 ab	78.6 b	6.5	220.0 cde	5.7	232.6 cd
6. glyphosate [2]+ propaquizafop[3]	300+15	32.0 b	16.0 a	2.6 ab	50.6 ab	20.7	33.3 a	1.9	52.6 abc
7. glufosinate[2] + propaquizafop[3]	300+15	2.6 a	28.0 ab	6.0 ab	36.6 ab	16.1	47.6 ab	5.9	69.6 abc
8. mongbean[4] + propaquizafop[3]	15	1.4 a	13.4 a	2.6 ab	17.4 a	0.3	5.6 a	0.4	6.2 a
9.hand weeding at 4 , 7 WAP		16.0 ab	18.0 a	0.6 a	34.6 ab	10.9	5.7 a	0.1	16.7 ab
10. weedy		6.6 ab	51.4 bc	9.4 b	67.4 b	70.6	229.0 de	31.0	330.6 d
C.V. (%)		159.3	48.9	129.3	52.4	217.3	40.6	201.0	61.2

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธีDMRT

[1] = พ่นทันทีหลังจากปลูกขิง [2 =] พ่นกำจัดวัชพืชหลังจากปลูกขิงหลังวัชพืชงอกและก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน [3] = พ่นกำจัดวัชพืชวงศ์หญ้าหลังจากพูนโคน 15-20 วัน

[4 =] หว่านถั่วเขียวอัตราหว่านครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำในการปลูกถั่วเขียวที่ 30 วันหลังหว่าน ถอนต้นถั่วเขียวออก นำมาปิดปกคลุมผิวหน้าดินวางห่างจากโคนต้นขิง

ตารางที่ 2 ความงอกของท่อนพันธุ์การเจริญเติบโตและผลผลิตขิง ในการทดลองการบริหารจัดการวัชพืชในขิง ที่ศูนย์บริการด้านพืชและปัจจัยการผลิตภูเรือปี 2549

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	%รอดของต้นขิง[6]	ที่ 6 เดือนหลังปลูก		ที่ 10 เดือนหลังปลูก[5]		
			ความสูง (ซม.)	การแตกกอ (เล่ม/กอ)	ยาว (ซม.)	กว้าง (ซม.)	น้ำหนัก (กรัม/กอ)
1.oxadiazon[1] + propaquizafop[3]	160+15	77.5 bcd	75.0	2.5 c	26.9	12.2	337
2.oxyfluorfen[1] + propaquizafop[3]	60+15	79.3 abc	78.9	2.9 bc	28.0	10.0	445
3. alachlor[1] + propaquizafop[3]	288+15	71.6 d	82.5	4.1 ab	23.6	10.0	394
4. pendimethalin[1] + propaquizafop[3]	240+15	76.9 bcd	87.1	3.2 abc	23.0	11.0	320
5. paraquat [2]+ propaquizafop[3]	207+15	81.3 abc	67.1	2.7 c	24.2	10.6	362
6. glyphosate [2]+ propaquizafop[3]	300+15	81.9 ab	78.1	4.0 ab	29.5	12.7	567
7. glufosinate[2] + propaquizafop[3]	300+15	76.7 bcd	79.3	4.1 ab	28.2	10.5	530
8. mongbean[4] + propaquizafop[3]	15	74.6 cd	74.7	3.4 abc	28.2	9.6	484
9.hand weeding at 4 , 7 WAP		85.2 a	79.6	4.3 a	28.0	10.2	498
10. weedy		71.6 d	84.4	2.5 c	21.6	9.3	361
C.V. (%)		4.9	18.0	19.6			

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธีDMRT

[1] = พ่นทันทีหลังจากปลูกขิง [2] = พ่นกำจัดวัชพืชหลังจากปลูกขิงหลังวัชพืชงอกและก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน [3] = พ่นกำจัดวัชพืชวงศ์หญ้าหลังจากพูนโคน 15-20 วัน

[4] = หว่านถั่วเขียวอัตราหว่านครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำในการปลูกถั่วเขียวที่ 30 วันหลังหว่าน ถอนต้นถั่วเขียวออก นำมาปิดปกคลุมผิวหน้าดินวางห่างจากโคนต้นขิง

[5] = การทดลองนี้ใกล้เก็บเกี่ยวขิงประสบปัญหาโรคเหี่ยว ทำให้ได้ผลผลิตขิงไม่ครบทุกแปลง จึงแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย 6 = จำนวนต้นขิงที่รอด/จำนวนต้นขิงที่เริ่มปลูก

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคช่อดอกเน่าและยอดบิดที่มีสาเหตุจากเชื้อรา*Fusarium moniliforme*

Reaction between sweet sorghum varieties and grain mold caused by *Fusarium moniliforme*

นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี [1/] **นายศุภชัย ลีจีระจำเนียร** [1/]
นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ [1/] **นางสาวกนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์** [2/]
[1/] **กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
[2/] **ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่**

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างข้าวฟ่างหวานในแปลงปลูกของเกษตรกร และการทดลองในสภาพเรือนทดลองกับข้าวฟ่างหวาน 6 สายพันธุ์ ณ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เบื้องต้นพบว่าข้าวฟ่างหวานที่มีเชื้อรา *Fusarium monilifore* จะไม่พบอาการโรคใดๆ เลยในแปลงปลูกปกติ ซึ่งในการทดลองต่อไปในปีงบประมาณ 2550 จะได้ทำการศึกษาลักษณะอาการอีกครั้งหนึ่ง

รหัสโครงการ 01-17-49-06

คำนำ

ข้าวฟ่างหวาน (*Sorghum bicolor* L. Moench หรือ Sweet sorghum) เป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสูงในการนำมาผลิตเป็นเอทานอล โดยสามารถนำมาใช้เสริมกับการใช้กากน้ำตาล (อ้อย) และมันสำปะหลัง จากเดิมข้าวฟ่างหวานจะนำไปใช้เฉพาะในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยส่วนประกอบของข้าวฟ่างหวานที่จะนำมาใช้เพื่อป้อนโรงงานผลิตเอทานอลนั้นคือ ส่วนลำต้นที่จะมาคั้นเป็นน้ำเพื่อนำไปผลิตเอทานอล โดยให้ผลผลิตเอทานอล 70 ลิตร/ข้าวฟ่างหวาน 1 ตัน เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการผลิตเอทานอล เนื่องจากถ้าใช้อ้อยหรือโมลาสได้ระยะหนึ่งอาจจะขาดแคลน เพราะอ้อยและมันสำปะหลัง ปลูกได้เพียงปีละ 1 ครั้ง อาจจะทำให้วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตขาดแคลน ในขณะที่ข้าวฟ่างหวานนั้นจะสามารถผลิตได้ปีละ 3 ครั้ง และสามารถปลูกเสริมจากอ้อยและมันสำปะหลังได้ และผลตอบแทนไม่แตกต่างกัน จึงคิดว่าน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรและโรงงานที่จะนำไปผลิต (ประสิทธิ์, 2547)

ปัญหาในการผลิตข้าวฟ่างหวานที่สำคัญอย่างหนึ่งคือการแพร่ระบาดของโรค โรคช่อดอกไหม้และยอดบิดที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* จัดเป็นโรคหนึ่งที่เมื่อเกิดขึ้นแล้วจะทำให้คุณภาพและผลผลิตลดลง Bengtson (1980) รายงานว่าในทวีปอเมริกาใต้ พบโรค Grain mold เป็นโรคที่สำคัญมากในประเทศเม็กซิโก เช่นเดียวกับในประเทศเวเนซูเอลา ในทวีปอาฟริกาพบโรคนี้ทำความเสียหายกับข้าวฟ่างของประเทศไนจีเรีย ไนเจอร์ สำหรับประเทศไทยเคยพบโรคนี้เช่นกัน แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาอย่างชัดเจน และในปัจจุบันการหาพืชพลังงาน จัดเป็นงานที่มีความสำคัญมากขึ้น จึงควรที่จะได้ศึกษาถึงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่นำมาปลูกในประเทศ ว่ามีสายพันธุ์ใดบ้างต้านทานต่อโรคดังกล่าวนี้ เพื่อจะได้ใช้ในการผลิตเชิงเศรษฐกิจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 6 สายพันธุ์
2. ถุงดำปลูกพืช
3. ดินอบฆ่าเชื้อ
4. เชื้อรา *Fusarium moniliforme*
5. กล้องจุลทรรศน์
6. อุปกรณ์ห้องปฏิบัติการ เช่น เข็มเขี่ยเชื้อ จานเลี้ยงเชื้อ ฯ

วิธีการ

1. ทำการเก็บตัวอย่างข้าวฟ่างหวานเป็นโรคนำมาแยกเชื้อสาเหตุ
2. จำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุเพื่อแยกเชื้อรา *Fusarium moniliforme* เพื่อใช้ในการทดลอง
3. ทำการเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ในห้องปฏิบัติการ
4. ปลูกข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองลงในถุงดำปลูกพืช
5. ปลูกเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ลงบนข้าวฟ่างหวานทดลอง
6. ตรวจวัดผล และประเมินสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดในสภาพโรงเรือน

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่างตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจเก็บตัวอย่างข้าวฟ่างหวานในพื้นที่ปลูกของศูนย์วิจัยพืชไร่อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี จังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดลพบุรี และจังหวัดนครราชสีมา ไม่พบอาการช่อดอกไหม้และยอดบิด จึงทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจากต้นปกติจำนวน 10 ต้นต่อพื้นที่ นำมาผ่าต้น พบอาการเนื้อสีน้ำตาลแดงแหล่งปลูกละประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ นำมาทำการแยกเชื้อเพื่อหาสาเหตุ พบเชื้อรา *Fusarium monilifore* จากตัวอย่างที่เก็บจากนครสวรรค์ นครราชสีมา ซึ่งดำเนินการจัดเก็บเชื้อเข้าไว้ใน Culture collection เพื่อไว้ใช้ทดลอง และได้ทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ในเมล็ดข้าวฟ่าง เพื่อใช้ปลูกเชื้อลงในข้าวฟ่างหวานพันธุ์ต่างๆ ที่จะทดสอบ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์จาก ศวร.สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์ พบว่ามีปัญหาการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium moniliforme* โดยมีการชะงักการเจริญเติบโตและบางส่วนเชื้อตาย ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานบางพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่มากนักซึ่งจะได้ทำการทดลองต่อไปในปี 2550

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บตัวอย่างข้าวฟ่างหวานในแปลงปลูกของเกษตรกรและการทดลองในห้องปฏิบัติการ เบื้องต้นพบว่าข้าวฟ่างหวานที่มีเชื้อรา *Fusarium monilifore* จะไม่พบอาการโรคใดๆ เลยในแปลงปลูกปกติ ซึ่งในการทดลองต่อไปในปีงบประมาณ 2550 จะได้ศึกษาอาการโดยละเอียดอีกครั้งหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

ประสิทธิ์ ใจศีล. 2547. วิจัย ข้าวฟ่างหวาน : เอทานอล. กรุงเทพธุรกิจ ฉบับวันพฤหัสบดีที่ 7 ตุลาคม พ.ศ. 2547

Bengtson G.D. 1980. Sorghum Diseases A World Review. Proceedings of the International Workshop at ICRISAT. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics ICRISAT Patancheru P.O. Andhra Pradesh, India 502 324

ปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุมาจาก *Macrophomina phaseolina*[1]

Varietal Reaction of Sweet Sorghum to *Macrophomina phaseolina*, a Caused of Charcoal Rot Disease

พจนา ตระกูลสุขรัตน์[1/] พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1/] ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี[1/] และ กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์[2/]

[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/] ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างต้นข้าวฟ่างหวานที่เป็นโรคลำต้นเน่าดำ จากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สุพรรณบุรี โดยอาการโรคที่แสดงออกมาคือลำต้นล้มเนื่องจากท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลาย เมื่อตัดทางขวางจะพบส่วนกลางต้นกลวง มีกลุ่มผงของสปอร์เชื้อราสีดำและกลุ่มของท่อน้ำท่ออาหารเป็นเส้นๆ ผลการจำแนกเชื้อสาเหตุได้เชื้อราสาเหตุโรค *Macrophomina phaseolina* เส้นใยเชื้อราบนอาหาร PDA มีสีดำ ทดสอบเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด พบว่าการเจริญของเชื้อบนอาหาร PDA ดีกว่าบนอาหาร half PDA และทำการปลูกต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี คือ พันธุ์ UTIS-23585 Cowley Keller Wray RIO และ BJ-281 ในเรือนปลูกพืชทดลองเพื่อเตรียมทดสอบ เพื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

รหัสโครงการ 01-17-49-06

คำนำ

ข้าวฟ่างหวาน (sweet sorghum; *Sorghum bicolor* L. Moench) เป็นข้าวฟ่างที่มีน้ำหวานในลำต้น (juicy stem: D *gene)* และมีรสหวาน (sweet stalk; *x gene*) คล้ายอ้อย จึงนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายรูปแบบ ทั้งในรูปของพืชอาหารสัตว์ และอาหารมนุษย์ โดยการหีบเอาน้ำหวานมาแปรรูป และใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอททานอล ลักษณะต่างๆ ของข้าวฟ่างหวานยังผันแปรไปเนื่องจากผลกระทบจากสภาพแวดล้อม ค่อนข้างสูง ทั้งในลักษณะทางปริมาณและคุณภาพ ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์จึงเน้นให้ข้าวฟ่างหวานมีผลผลิตต้นสดสูง คุณภาพความหวานดี และปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้กว้าง ต้านทานต่อโรคแมลงได้ปานกลาง โดยเฉพาะโรคที่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำคั้น

โรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal Rot มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* จัดเป็นโรคทางลำต้นที่สำคัญโรคหนึ่งสามารถมีพืชอาศัยได้มากกว่า 500 ชนิด (Mehan and McDonald, 1997) รวมถึงข้าวฟ่างหวาน (Frederiksen, 1986) ทำความเสียหายให้กับต้นข้าวฟ่างหวานในช่วงระหว่างฤดูปลูก โดยเข้าทำลายพืชทางระบบท่อน้ำท่ออาหาร เปลี่ยนภายในลำต้นให้มีสีน้ำตาลไหม้ถึงดำ สภาพแวดล้อมที่ร้อนและแห้งเป็นปัจจัยหนึ่งที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค (Cook *et al*, 1973) ดังนั้นการศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานต่อโรคลำต้นเน่าดำสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปพัฒนาเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานต่อโรคได้ และเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคเพื่อส่งเสริมให้มีการปลูกขยายพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกเช่น ดิน ถุงปลูก พันธุ์ข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ คือ
2. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกรตัดกิ่ง ถุงพลาสติก ปากกา ฯลฯ
3. อุปกรณ์ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ เช่น กล้องจุลทรรศน์ อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีในห้องปฏิบัติการ
4. อุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่น สมุดบันทึก กล้องถ่ายภาพ ฯลฯ

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างโรคจากแหล่งปลูกคือศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี มาแยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยตัดเนื้อเยื่อที่เป็นโรคขนาดประมาณ 0.5 ซม. ล้างด้วย clorox 10% และล้างด้วยน้ำกลั่นซ้ำอีก 2 ครั้ง วางชิ้นเนื้อเยื่อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 วัน

2. ทดสอบเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราบนอาหาร 2 ชนิดคือ PDA และ half PDA

2. ประเมินทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยปลูกต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี คือ พันธุ์ UTIS-23585 Cowley Keller Wray RIO และ BJ-281 ในเรือนปลูกพืชทดลองเพื่อเตรียมทดสอบ เพื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 ตรวจและบันทึกลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่ จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ท่อน้ำท่ออาหารของข้าวฟ่างที่แสดงอาการของโรคลำต้นเน่าดำ มีลักษณะกลวงและเป็นเส้นๆ สีเทาดำ พบกลุ่มผงของสปอร์เชื้อราสีดำกระจายอยู่เป็นจำนวนมาก ทำให้ต้นข้าวฟ่างหวานล้ม ผลการจำแนกเชื้อสาเหตุได้เชื้อราสาเหตุโรค *Macrophomina phaseolina* (Frederiksen, 1986; Mehan and McDonald, 1997)

2. ทำการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ half PDA พบว่าการเจริญของเชื้อบนอาหาร PDA ดีกว่า

3. ปลูกต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี คือ พันธุ์ UTIS-23585 Cowley Keller Wray RIO และ BJ-281 ในเรือนปลูกพืชทดลองเพื่อเตรียมทดสอบ เพื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้าวฟ่างหวานที่แสดงอาการโรคลำต้นเน่าดำสามารถแยกพบเชื้อราสาเหตุโรคคือ *Macrophomina phaseolina* มีการเจริญเติบโตดีบนอาหาร PDA และจะได้ทำการทดสอบความต้านทานโรคกับข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์คือ พันธุ์ UTIS-23585 Cowley Keller Wray RIO และ BJ-281 ในเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ธำรงศิลป โพธิสูง สมชาย ปิยพันธวานนท์ และถวิล นิลพยัคฆ์. 2549. ข้าวฟ่างหวานพันธุ์ Suwan Sweet #4. ใน นิทรรศการ "บนเส้นทางงานวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี 2549" ระหว่างวันที่ 27 มกราคม –4 กุมภาพันธ์ 2549 ณ อาคารจักรพันธ์เพ็ญศิริ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Cook,G.E., M.G. Boosalis, L.D. Dunkle and G.N. Odvody. 1973. Survival of *Macrophomina phaseolina* in corn and sorghum stalk residue. Plant Dis. Reptr. 57:873-875.

Frederiksen,R.A. 1986. Compendium of sorghum diseases. American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota. 82 pp.

Mehan, V. K. and McDonald, D. 1997. Charcoal Rot. In Compendium of peanut diseases, 2nd Edition. N. Kokalis-Burelle et al. eds. APS Press. St. Paul. Minnesota.

ปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าแดงที่มีสาเหตุมาจาก *Colletotrichum graminicola*[1]

Varietal Reaction of Sweet Sorghum to *Colletotrichum graminicola*, a Caused of Anthracnose Stalk Rot Disease

พจนา ตระกูลสุขรัตน์[1/] พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1/] ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี[1/] และ กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์[2/]

[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/] ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่

บทคัดย่อ

ทำการสำรวจ เก็บตัวอย่างและแยกเชื้อบริสุทธิ์ต้นข้าวฟ่างหวานที่เป็นโรคลำต้นเน่าแดงจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ. สุพรรณบุรี ระหว่าง เดือนตุลาคม 2548-กันยายน 2549 ซึ่งต้นข้าวฟ่างหวานมีอาการและลักษณะแผลที่พบ เป็นแผลไหม้แห้งขอบสีน้ำตาลดำเข้ม ขนาดแผลกว้างประมาณ 0.1-1.0 ซม.ยาวตามความยาวของใบ มีจุดขนาดเล็กสีดำกลางแผลเป็นจำนวนมาก ซึ่งจุดสีดำเหล่านี้เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์คือส่วนของเชื้อราที่มีลักษณะเป็นหนามแหลม (spine) สีดำเรียกว่า setae เกิดแทรกอยู่กับกลุ่มเส้นใยเชื้อรา มีการสร้าง appressoria ขึ้นเป็นจำนวนมากที่ปลายเส้นใย แยกได้เชื้อราสาเหตุโรค *Colletotrichum graminicola* ทดสอบเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด พบว่าการเจริญของเชื้อบนอาหาร half PDA ดีกว่าบนอาหาร PDA และปลูกต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี คือ พันธุ์ UTIS-23585 Cowley Keller Wray RIO และ BJ-281 ในเรือนปลูกพืชทดลองเพื่อเตรียมทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

รหัสโครงการ 01-17-49-06

คำนำ

ข้าวฟ่างหวาน (*Sorghum bicolor* L. Moench หรือ Sweet sorghum) เป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสูงในการนำมาผลิตเป็นเอทานอล โดยสามารถนำมาใช้เสริมกับการใช้กากน้ำตาล (อ้อย) และมันสำปะหลัง จากเดิมข้าวฟ่างหวานจะนำไปใช้เฉพาะในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยส่วนประกอบของข้าวฟ่างหวานที่จะนำมาใช้เพื่อป้อนโรงงานผลิตเอทานอลนั้นคือ ส่วนลำต้นที่จะมาคั้นเป็นน้ำเพื่อนำไปผลิตเอทานอล โดยให้ผลผลิตเอทานอล 70 ลิตร/ข้าวฟ่างหวาน 1 ตัน เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการผลิตเอทานอล เนื่องจากถ้าใช้อ้อยหรือโมลาสได้ระยะหนึ่งอาจจะขาดแคลน เพราะอ้อยและมันสำปะหลัง ปลูกได้เพียงปีละ 1 ครั้ง อาจจะทำให้วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตขาดแคลน ในขณะที่ข้าวฟ่างหวานนั้นจะสามารถผลิตได้ปีละ 3 ครั้ง และสามารถปลูกเสริมจากอ้อยและมันสำปะหลังได้ และผลตอบแทนไม่แตกต่างกัน จึงคิดว่าน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรและโรงงานที่จะนำไปผลิต (ประสิทธิ์, 2547)

เช่นเดียวกับข้าวฟ่างและอ้อย โรคลำต้นเน่าแดงและโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum graminicola* จัดเป็นโรคทางใบที่สำคัญโรคหนึ่งที่ทำความเสียหายให้กับต้นข้าวฟ่างหวานในช่วงระหว่างต้นโต โดยมีสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยหนึ่งที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค (Duke, 1983; Bergstrom and Nicholson, 1999) ดังนั้นการศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานต่อโรคลำต้นเน่าแดง สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปพัฒนาเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานต่อโรคได้ และเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคเพื่อส่งเสริมให้มีการปลูกขยายพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกเช่น ดิน ถุงปลูก พันธุ์ข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ คือ
2. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกรตัดกิ่ง ถุงพลาสติก ปากกา ฯลฯ
3. อุปกรณ์ใช้ในการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ เช่น กล้องจุลทรรศน์ อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีในห้องปฏิบัติการ
4. อุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่น สมุดบันทึก กล้องถ่ายภาพ ฯลฯ

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างโรคจากแหล่งปลูกคือศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี มาแยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยตัดเนื้อเยื่อที่เป็นโรคขนาดประมาณ 0.5 ซม. ล้างด้วย clorox 10% และล้างด้วยน้ำกลั่นซ้ำอีก 2 ครั้ง วางชิ้นเนื้อเยื่อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 วัน

2. ทดสอบเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราบนอาหาร 2 ชนิดคือ PDA และ half PDA

2. ประเมินทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยปลูกต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี คือ พันธุ์ UTIS-23585 Cowley Keller Wray RIO และ BJ-281 ในเรือนปลูกพืชทดลองเพื่อเตรียมทดสอบ เพื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 ตรวจและบันทึกลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่ จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. แยกได้เชื้อรา *Colletotrichum graminicola* จากใบและกาบใบ อาการและลักษณะแผลที่พบ เป็นแผลไหม้แห้งขอบสีน้ำตาลดำเข้ม ขนาดแผลกว้างประมาณ 0.1-1.0 ซม.ยาวตามความยาวของใบ มีจุดขนาดเล็กสีดำกลางแผลเป็นจำนวนมาก ซึ่งจุดสีดำเหล่านี้เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์คือ ส่วนของเชื้อราที่มีลักษณะเป็นหนามแหลม (spine) สีดำเรียกว่า setae เกิดแทรกอยู่กับกลุ่มเส้นใยเชื้อรา (Barnett and Hunter. 1998) สปอร์มี 2 ลักษณะคือยาวคล้ายกระสวย ปลายทั้งสองด้านค่อนข้างแหลม และยาวรีรูปท่อนปลายทู่ เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Nishihara, 1975) จะมีการสร้าง appressoria ขึ้นเป็นจำนวนมากที่ปลายเส้นใย

2. ทำการเปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ half PDA พบว่าการเจริญของเชื้อบนอาหาร half PDA ดีกว่า

3. ปลูกต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี คือ พันธุ์ UTIS-23585 Cowley Keller Wray RIO และ BJ-281 ในเรือนปลูกพืชทดลองเพื่อเตรียมทดสอบ เพื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้าวฟ่างหวานที่แสดงอาการโรคลำต้นเน่าแดงสามารถแยกพบเชื้อราสาเหตุโรคคือ *Colletotrichum graminicola* มีการเจริญเติบโตดีบนอาหาร half PDA และจะได้ทำการทดสอบความต้านทานโรคกับข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์คือ พันธุ์ UTIS-23585 Cowley Keller Wray RIO และ BJ-281 ในเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ประสิทธิ์ ใจศีล. 2547. วิจัย ข้าวฟ่างหวาน : เอทานอล. กรุงเทพธุรกิจ ฉบับวันพฤหัสบดีที่ 7 ตุลาคม พ.ศ. 2547

Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi (4th ed.). The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 218 p.

Bergstrom, G.C, and Nicholson, R.L. 1999. The biology of *Colletotrichum graminicola* and maize anthracnose. *In* Host specificity, pathology and host pathogen interaction of Colletotrichum. D. Prusky, S. Freeman, and M. Dickman (eds.) APS Press, St. Paul. Minisota 400 p.

Duke, J. A. 1983. Handbook of Energy Crops. http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Sorghum_bicolor.html#Ecology

Frederiksen,R.A. 1986. Compendium of sorghum diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 82 pp.

Nishihara, N. 1975. Two types of conidia of *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G. W. Wils. formed on artificial media, and their pathogenicity. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 41:171-175. (abstract in english)

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัทที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*

Reaction of some Sweet Sorghum Lines to Smut Caused by *Sphacelotheca cruenta*

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี พจนา ตระกูลสุขรัตน์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัทที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta* โดยการออกสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคสมัทได้ 1 isolate จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี ตรวจดูและบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการพบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค และเก็บตัวอย่างแห้งพืชที่เป็นโรคส่งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ ดูการเข้าทำลายเซลพืชโดยวิธีการย้อมสีเชื้อราในเซลพืชไม่พบเชื้อราในเซลข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์

รหัสโครงการ 01-17-49-06

คำนำ

โรคสมัทหรือโรคราเขม่าดำ (Loose Smut Disease) มีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* พบว่าเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สามารถเข้าทำลายที่ดอกโดยตรง หรืออาจเข้าทำลายส่วนเนื้อเยื่อเจริญหลังจากข้าวฟ่างงอก หรืออาจเข้าทำลายต้นกล้าโดยการปนเปื้อนของสปอร์เชื้อราที่อยู่ในดินหรือน้ำ โรคราเขม่าดำเป็นโรคที่มีการระบาดมากในข้าวฟ่างตอโดยพบว่าข้าวฟ่างตอที่เป็นโรคนี้ผลผลิตจะเสียหายถึง 100 % หรือไม่ได้รับผลผลิตเลย โรคนี้ไม่สามารถสร้างความเสียหายให้กับผลผลิตของข้าวฟ่างที่ปลูกก่อนตัดไว้ตอมากนักแต่เป็นโรคที่เป็นอุปสรรคสำคัญที่สุดของการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างเพื่อใช้ประโยชน์ในการการตัดต้นสดและเก็บเมล็ด (ประดิษฐ์ และโกมินทร์, 2540) ประดิษฐ์ และโกมินทร์(2540) พบว่าอุณหภูมิดินที่ระดับความลึกต่างๆตั้งแต่ระดับผิวดินถึงอุณหภูมิดินที่ระดับความลึกถึง 10 เซนติเมตร มีความสัมพันธ์กับการเป็นโรคราเขม่าดำของข้าวฟ่างคือเมื่ออุณหภูมิดินสูงขึ้นจะทำให้เปอร์เซ็ฯต์การเป็นโรคเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่ออุณหภูมิของอากาศ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝนและจำนวนวันที่ฝนตกลดลงมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาปฏิกิริยาของข้าวฟ่างต่อโรคราเขม่าดำเพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานและให้ผลผลิตสูงต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน
2. วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ
3. วัสดุและอุปกรณ์ในเรือนปลูกพืชทดลอง
4. สปอร์เชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*

วิธีการ

การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

1. นำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการคัดเลือกขั้นต้นว่ามีคุณสมบัติที่ดีจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรีมาทดสอบ โดยเมล็ดพันธุ์ที่รวบรวมมาทดสอบเป็นเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์ ไม่คลุกสารป้องกันกำจัดเชื้อรา

2. ให้ความชื้นแก่เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 2 วัน

3. นำเมล็ดพันธุ์จากข้อ 2 ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* บริเวณยอดของข้าวฟ่างหวานแล้วนำไปปลูกในดิน

4. นำข้าวฟ่างหวานอายุประมาณ 1 เดือนจากข้อ 3 มาตัดบางๆที่ตาของข้าวฟ่างหวานจำนวน 15 ตาต่อพันธุ์ แล้วนำมาย้อมสีตามวิธีการของ Shinha(1982) ดังนี้ นำตาข้าวฟ่างหวานที่เตรียมได้มาย้อมสีใน 0.1% สารละลาย tryphan blue และ 10% ของสารละลาย sodium hydroxide นาน 1 คืน และล้างใน 80 % เอทธิลแอลกอฮอลล์ 2 นาที นำไปต้มใน lactophenol ให้เดือดนาน 2 นาที นำเนื้อเยื่อที่ย้อมสีแล้ววางบนสไลด์ ใช้ cover slip ปิดทับ กดเบาๆให้เนื้อเยื่อเจริญแบนลงในระนาบเดียวเพื่อตรวจดูเส้นใยภายใต้กล้องจุลทัศน์ เปรียบเทียบกับตาของข้าวฟ่างหวานที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ

เวลาและสถานที่

กันยายน 2548 – ตุลาคม 2549
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการออกสำรวจโรคสมัทของข้าวฟ่างในพื้นที่ปลูกข้าวฟ่างได้เก็บตัวอย่างข้าวฟ่างที่มีลักษณะอาการโรคสมัทได้ 1 isolate จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี ตรวจดูและบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูกพบเมล็ดข้าวฟ่างมีลักษณะอาการสีดำเมื่อแกะเยื่อหุ้มเมล็ดออกพบผงสีดำจำนวนมากอยู่ภายใน นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการพบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ ดูการเข้าทำลายเซลพืชโดยวิธีการย้อมสีเชื้อราในเซลพืชไม่พบเชื้อราในเซลข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะวิธีการปลูกเชื้อใช้ปริมาณเชื้อไม่มากพอ หรืออาจเนื่องจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* เป็น obligate parasite ต้องมีชีวิตอยู่บนพืชอาศัยถ้าปลูกเชื้อช้าเกินไปอาจทำให้ปริมาณเชื้อที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคลดลง หรืออาจเป็นเพราะข้าวฟ่างหวานเป็นพันธุ์ต้านทานจึงควรทดสอบความต้านทานของพันธุ์โดยการศึกษาการปลูกเชื้อวิธีอื่นเพื่อยืนยันผลการทดลอง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ออกสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคสมัทได้ 1 isolate จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี ตรวจดูและบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค และเก็บตัวอย่างแห้งพืชที่เป็นโรค ส่งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ ดูการเข้าทำลายเซลพืชโดยวิธีการย้อมสีเชื้อราในเซลพืชไม่พบเชื้อราในเซลข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ จึงควรทดสอบความต้านทานของพันธุ์โดยการปลูกเชื้อวิธีอื่นเพื่อยืนยันผลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2540. การศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างที่ใช้ประโยชน์ทั้งลำต้นและเมล็ดต่อโรคราเขม่าดำ.รายงานผลงานวิจัย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2540 หน้า 33-37.

ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2540. การศึกษาความสัมพันธ์ของอายุเชื้อสาเหตุโรคราเขม่าดำของข้าวฟ่างเมื่ออยู่ในดินต่อการเกิดโรคราเขม่าดำของข้าวฟ่าง. รายงานผลงานวิจัยกองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2540 หน้า 38-41.

ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2540. การศึกษาระยะเวลาการปลูกข้าวฟ่างที่ใช้ประโยชน์ทั้งต้นสดและเมล็ดเพื่อหลีกเลี่ยงโรคราเขม่าดำ.รายงานผลงานวิจัย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2540 หน้า 42-47.

Shinha, O., K. Singh, K. and Misra, R. S. (1982) . Stain technique for detection of smut hyphae in nodal buds of sugarcane. Plant Disease. 66: 932-933.

ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวต่อโรคใบด่างบิดเบี้ยว

Reaction of *Anthurium andraeanum* Hybrid to Mosaic and Leaf Mulformation Disease

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล สุรภี กีรติยะอังกูร วิวัฒน์ ภานุอำไพ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคใบด่างบิดเบี้ยวไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อด้วยน้ำคั้น วิธีการเสียบกิ่ง (grafting) และการถ่ายทอดโรคด้วยเพลี้ยไฟ (*Chaetanaphothrips* orchidi) นั้นไม่พบอาการใบด่างบิดเบี้ยวที่มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสบนต้นหน้าวัวพันธุ์ลูกผสมทั้ง 5 สายพันธุ์ แต่จะพบอาการใบด่างบิดเบี้ยวและดอกด่างบนต้นหน้าวัวเมื่อถูกเพลี้ยไฟเข้าทำลายตั้งแต่ในระยะใบอ่อนและดอกอ่อนที่ยังไม่คลี่ และเมื่อใบและดอกได้คลี่ออกจึงแสดงอาการด่างให้เห็น ซึ่งอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสนั้นจะแสดงอาการให้เห็นทุกใบและสามารถตรวจพบอนุภาคของไวรัสชนิดกลม ขนาด 29 nm ได้

รหัสโครงการ 01-15-49-02

คำนำ

หน้าวัวเป็นไม้ตัดดอกเมืองร้อนที่ได้รับความนิยมและมีบทบาททางเศรษฐกิจเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในตลาดโลก พื้นที่การปลูกหน้าวัวทั่วโลกประมาณ 3,000 ไร่ สำหรับประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการผลิตดอกหน้าวัว ปัจจุบันมีพื้นที่การปลูกประมาณ 120 ไร่ กระจายไปทั่วประเทศ ได้แก่ กรุงเทพฯ นนทบุรี ปทุมธานี เลย กระบี่ ภูเก็ต ลำปาง เชียงใหม่ เชียงราย มีผลผลิตทั่วประเทศ ประมาณ 4,800,000 ดอกต่อปี และเพิ่มปริมาณขึ้นทุกปี ประเทศไทยมีเทคโนโลยีการขยายพันธุ์ต่ำ จึงมีการสั่งต้นพันธุ์หน้าวัวเข้ามาจากต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศเนเธอร์แลนด์ เมื่อปี 2544 สั่งเข้ามา ประมาณ 140,000 ต้น ในจำนวนผู้สั่งพันธุ์หน้าวัวเข้ามานี้ได้พบกับปัญหาต้นมีอาการใบด่าง ดอกด่าง ต้นแคระแกรน ซึ่งมีทั้งอาการใบด่างที่เกิดจาก เพลี้ยไฟ ไรแดง เชื้อไวรัส อาการที่เกิดจากเพลี้ยไฟและไรแดงสามารถป้องกันกำจัดได้ด้วยการใช้สารเคมี แล้วต้นก็จะกลับสู่การเจริญเติบโตตามปกติ ส่วนอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัส ไม่สามารถจะกำจัดให้หมดไปจากต้นได้และทำความเสียหายให้กับทั้งต้นและดอกของหน้าวัว เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบอนุภาคไวรัสชนิดกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 29 nm (เอกสารเผยแพร่กรมวิชาการเกษตร) ทั้งต้นและดอกมีอาการด่างบิดเบี้ยว ผิดรูปร่างซึ่งไม่สามารถแยกอาการของโรคได้ในระยะแรกและเกษตรกรในหลายแหล่งปลูกพบอาการของโรคใบด่างบิดเบี้ยวที่เกิดจากเชื้อไวรัสมากขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นจึงควรจัดทำข้อมูลของพันธุ์ที่นำเข้า พันธุ์พื้นเมือง รวมทั้งพันธุ์ที่เป็นลูกผสมที่ผสมขึ้นมาใหม่ ด้านปฏิกิริยาการอ่อนแอหรือต้านทานต่อโรคดังกล่าวอย่างไร เพื่อเป็นข้อมูลในการส่งเสริมการปลูกพันธุ์หน้าวัวเหล่านั้นในแหล่งปลูกที่เหมาะสมและการผสมพันธุ์ใหม่ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
- พันธุ์พืชทดสอบและต้นพันธุ์หน้าวัว
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการปลูกต้นหน้าวัว
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการปลูกเชื้อไวรัส
- สารเคมีและอุปกรณ์ในการกำจัดแมลง

วิธีการ

1. ปลูกต้นหน้าวัวพันธุ์ลูกผสม 5 สายพันธุ์ (201-6, ฝ54, ฝ26, อ24-5 และ T7 สีขาว) พันธุ์ละ 20 ต้น เพื่อใช้เพิ่มปริมาณเชื้อและเตรียมใช้เป็นต้นทดสอบ

2. ศึกษาการถ่ายทอดโรคด้วยวิธีปลูกเชื้อไวรัสด้วยน้ำคั้นจากต้นเป็นโรคไปยังต้นหน้าวัวปกติทั้ง 5 พันธุ์ โดยเตรียมน้ำคั้นพืชด้วยการบดตัวอย่างใบหน้าวัวที่เป็นโรคใน 0.1 M potassium phosphate buffer pH 7.5 (0.1 M KPB pH 7.5) ใช้ผง caborundum ลงบนใบอ่อนของต้นหน้าวัวปกติ จำนวน 10 ต้นต่อพันธุ์ และพืชทดสอบ *Chenopodium amaranticolor* จำนวน 10 ต้น แล้วทาน้ำคั้นพืชบนใบ หลังจากนั้นล้างใบพืชด้วยน้ำสะอาดแล้วเก็บไว้ในโรงเรือน นาน 45 วัน จึงตรวจผล

3. ทดสอบการถ่ายทอดโรคด้วยแมลงโดยใช้เพลี้ยไฟหน้าวัวที่เลี้ยงไว้บนต้นหน้าวัวที่แสดงอาการใบด่างบิดเบี้ยวนาน 1 เดือน แล้วจึงนำมาปล่อยลงบนต้นหน้าวัวปกติ 10 ตัวต่อต้น จำนวน 5 ต้นต่อพันธุ์ นาน 14 วัน จึงพ่นสารเคมีกำจัดแมลง หลังจากนั้นนาน 2 เดือน จึงตรวจดูอาการ

4. ทดสอบวิธีการเสียบกิ่ง (grafting) ด้วยหน้าวัวเป็นโรคบนต้นหน้าวัวปกติ 5 ต้นต่อพันธุ์ นาน 2 เดือน จึงตรวจดูอาการ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 5 ปี เริ่ม ตุลาคม 2548 ถึง ตุลาคม 2553

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาการถ่ายทอดโรคด้วยน้ำคั้น ยังไม่สามารถถ่ายทอดโรคใบด่างบิดเบี้ยวของหน้าวัวได้ โดยต้นหน้าวัวมีใบที่หนาและมันรวมถึงน้ำคั้นใบพืชจากหน้าวัวที่เป็นโรคเหนียวข้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเนื่องจากมีการออกซิไดซ์เร็ว จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ไม่สามารถปลูกเชื้อได้ ในส่วนการศึกษาการถ่ายทอดโรคด้วยเพลี้ยไฟ (*Chaetanaphothrips orchidi*) ไม่พบอาการของโรคใบด่างบิดเบี้ยวของหน้าวัว บนใบอ่อนที่แตกใหม่ และได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมโดยการนำเพลี้ยไฟเข้าไปเลี้ยงในกรงป้องกันแมลงที่มีต้นหน้าวัวปกติอยู่ 2 ต้นต่อพันธุ์ เปรียบเทียบกับกรงที่ไม่มีเพลี้ยไฟนาน 2 เดือน พบว่ากรงที่มีเพลี้ยไฟ มีเพลี้ยไฟในใบและดอกอ่อนที่ยังไม่คลี่ออกและเมื่อใบและดอกคลี่ออกแล้วพบว่าใบและดอกของต้นหน้าวัวแสดงอาการด่างส่วนกรงที่ใช้เปรียบเทียบไม่พบอาการด่าง ซึ่งอาจจะสรุปได้ว่าเป็นอาการของเพลี้ยไฟที่ทำให้ใบและดอกของต้นหน้าวัวมีอาการด่างบิดเบี้ยว และการทดสอบวิธีการเสียบกิ่ง (grafting) ด้วยหน้าวัวเป็นโรคบนต้นหน้าวัวปกติ ไม่พบอาการเกิดขึ้นบนต้นปกติ จึงสรุปได้ว่าการเสียบกิ่งไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสชนิดนี้ได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

โรคใบด่างบิดเบี้ยวไม่สามารถถ่ายทอดด้วยน้ำคั้นใบด่างบิดเบี้ยวของหน้าวัวได้รวมถึงวิธีการเสียบกิ่ง (grafting) และการถ่ายทอดโรคด้วยเพลี้ยไฟนั้นไม่พบอาการใบด่างบิดเบี้ยวที่มี

สาเหตุมาจากเชื้อไวรัส เมื่อทดสอบกับต้นหน้าวัวพันธุ์ลูกผสมทั้ง 5 สายพันธุ์ แต่จะพบอาการใบด่างบิดเบี้ยวและดอกด่างเมื่อต้นหน้าวัวถูกเพลี้ยไฟเข้าทำลายตั้งแต่ในระยะใบอ่อนและดอกอ่อนที่ยังไม่คลี่ และเมื่อใบและดอกได้คลี่ออกจึงแสดงอาการด่างให้เห็น เป็นบางใบ ซึ่งอาการที่เกิดจากเชื้อไวรัสนั้นจะแสดงอาการให้เห็นทุกใบและสามารถตรวจพบอนุภาคของไวรัสชนิดกลม ขนาด 29 nm ได้ ฉะนั้นปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวพันธุ์ลูกผสมทั้ง 5 พันธุ์ต่อโรคใบด่างบิดเบี้ยวนั้นไม่แสดงอาการให้เห็น แต่ในการปลูกหน้าวัวเมื่อพบอาการด่างเกิดขึ้นควรมีการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟและหมั่นตรวจแปลง และถ้ามีการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟไปแล้วใบใหม่ที่แตกออกยังแสดงอาการใบหรือดอกด่างให้เห็นควรเก็บหรือแยกออกจากแปลง เพื่อกำจัดทิ้งและไม่นำไปขยายพันธุ์

ในการศึกษาทดลองครั้งนี้จำเป็นต้องอาศัยข้อมูลการทดลองในเรื่อง การพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคใบด่างบิดเบี้ยวของหน้าวัว ซึ่งกำลังดำเนินการศึกษาทดลองอยู่ในขณะนี้ เพื่อมาเป็นข้อมูลประกอบในการศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวต่อโรคใบด่างบิดเบี้ยว ประกอบกับต้นหน้าวัวที่เป็นโรคใบด่างบิดเบี้ยวมีจำนวนน้อยและพบน้อยในพื้นที่ปลูกของเกษตรกร จึงได้ทำเรื่องขอยกเลิกการทดลองไปก่อน ในปี 2550

เอกสารอ้างอิง

โรคใบด่างของดอกหน้าวัว. เอกสารเผยแพร่ของกรมวิชาการเกษตร.

สุรภี กีรติยะอังกูร. 2548. หน้าวัว : โรคใบด่าง. โรคไม้ดอก หน้า 72-73.

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] **นางสาววิภาดา ทองทักษิณ**[2/]
นางสุธามาศ ณ น่าน[3/] **นางสาวสุปัน ไม้ดัดจันทร์**[3/] **นางจงวัฒนา พุ่มหิรัญ**[2/]

1/ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
2/ กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร
2/ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดินจากบริเวณรากของยาสูบ ปทุมมา และ พริก นำมาแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยวิธี dilution serial method บนอาหาร Tryptic Soy Agar ได้จำนวน 50 ไอโซเลท นำไปทดสอบกับเชื้อ *Ralstonia solanacearum* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมาในห้องปฏิบัติการโดยวิธี dual culture สามารถคัดเลือกเชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ได้จำนวน 8 ไอโซเลท นำเชื้อทั้ง 8 ไอโซเลทไปทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 9 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดย เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 8 ไอโซเลท เป็นแต่ละกรรมวิธีและมีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ปลูกปทุมมาให้มีอายุ 1 เดือน จำนวน 360 ต้น กรรมวิธีละ40 ต้น ทำการราดด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ความเข้มข้น 10^9 cfu/ml ในแต่ละกรรมวิธี หลังจากนั้น 1 วัน ปลูกเชื้อ *R. solanacearum* ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml ตามในทุกกรรมวิธี ตรวจนับต้นที่เป็นโรคทุก 7 วัน พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในระดับเรือนปลูกพืชทดลองได้จำนวน 3 ไอโซเลท โดยสามารถควบคุมการเกิดโรคได้ 40-60 %

รหัสโครงการ 01-15-49-03

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*) จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (wilt) ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิด ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า 200 ชนิดในวงศ์ Solanaceae (Kelman, 1953) ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย สภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ (strain) ของเชื้อ ในประเทศไทยมีการปลูกพืชหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อโรคชนิดนี้ โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศ ได้แก่ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา เป็นต้น

ปทุมมาเป็นไม้พื้นเมืองของประเทศไทยที่นิยมนำไปเป็นไม้ประดับและไม้ตัดดอก มีการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาไปขายยังต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ปัญหาสำคัญที่พบในการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมามีโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R.solanacearum* ระบาดทำความเสียหายให้กับเกษตรกรและผู้ส่งออก เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถติดไปกับหัวพันธุ์ปทุมมาได้และเป็นเชื้อโรคที่สำคัญทางกักกันพืช ถ้าพบเชื้อนี้ติดไปกับหัวพันธุ์ที่ส่งออก หัวพันธุ์เหล่านั้นจะถูกเผาทำลายทันที ทำให้ไม่สามารถส่งออกได้

การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยาก เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถที่จะคงอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง ไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคนี้ ประกอบกับการใช้พืชพันธุ์ต้านทานซึ่งมีรายงานบางครั้งไม่ให้ผลในการควบคุมโรค เนื่องจากพืชพันธุ์ต้านทานที่คัดเลือกมาจากแหล่งใดแหล่งหนึ่งเพียงแหล่งเดียวอาจจะไม่แสดงความต้านทานเมื่อนำไปปลูกในแหล่งอื่น รวมทั้งพืชบางชนิดมีปฏิกิริยาความต้านทานเป็นการทนโรค (tolerance) เช่น พริก โดยที่เชื้อสามารถเจริญและเพิ่มปริมาณในพืชได้ แต่ไม่ทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยว การแพร่ระบาดของโรคนี้จึงสามารถแพร่ได้อย่างรวดเร็วและทั่วประเทศเมื่อมีการขนย้ายส่วนขยายพันธุ์ของพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *R. solanacearum* ไปปลูกในที่ต่าง ๆ วิธีการป้องกันกำจัดยังคงจำกัด ได้มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรมและการใช้ชีววิธี ซึ่งการใช้วิธีควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีนี้ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับและส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาใช้วิธีการควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพหรือชีววิธี ในปัจจุบันการนำจุลินทรีย์หลายชนิดมาใช้ควบคุมศัตรูพืชทางด้านการเกษตรได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั้งภาครัฐและเอกชน โดยตระหนักถึงอันตรายจากการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมและช่วยแก้ปัญหาการดื้อสารเคมีของศัตรูพืชสำคัญหลายชนิด ตลอดจนเพิ่มทางเลือกในการพิจารณาใช้วิธีใดวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการควบคุมศัตรูพืชแก่เกษตรกร ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นงานวิจัยเพื่อคัดเลือกหาเชื้อแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมาในระดับห้องปฏิบัติการ และเรือนปลูกพืชทดลอง และพัฒนาเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดในสภาพแปลงปลูกทดลอง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย หัวพันธุ์ปทุมมา
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดิน ปุ๋ยคอกและรากพืชต่าง ๆ

สำรวจและเก็บตัวอย่างของดินและปุ๋ยคอก ที่คาดว่าจะมีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในแหล่งปลูกพืช ใน จังหวัดต่างๆ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง เป็นต้น เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มจากแปลงปลูกพืชได้แก่ ปทุมมา ขิง และมะเขือเทศ โดยเก็บดินบริเวณรอบราก 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

การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum*

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินและปุ๋ยคอก จำนวน 525 ไอโซเลท มาทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum*

1.การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด 200 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.เชื้อ *R. solanacearum* ที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ เชื้อไอโซเลทเตรียมเชื้อ *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 หน่วยโคโลนี ต่อมิลลิลิตร ผสมกับอาหาร PSA ซึ่งหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45° C เขย่าให้เข้ากันเททับลงในจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 5 มิลลิลิตรต่อหนึ่งจานเลี้ยงเชื้อแล้วเอียงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ส่วนบนกระจายคลุมทั่วผิวหน้าชั้นล่างที่เทไว้แล้ว เมื่ออาหารแข็งตัวเก็บในตู้เย็น 14° C นาน 1 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลง

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

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Ralstonia solanacearuim* ในห้องปฏิบัติการ ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

1.การเตรียมดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* นำเชื้อนี้ที่เลี้ยงบนอาหาร PSA อายุ 48 ชั่วโมงมาทำเป็นสารละลายในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วให้มีปริมาณเชื้อ 10^8 หน่วยโคโลนีต่อ มิลลิลิตร นำไปผสมกับดินที่นึ่งฆ่าเชื้อเตรียมไว้แล้วโดยใช้ดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ใช้สารละลายของเชื้อ *R. solanacearum* 100 มิลลิลิตร. ต่อกระถาง

2.แช่หัวพันธุ์ปทุมมาก่อนปลูกในดินที่เตรียมไว้ในข้อ.1 ในสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีระดับความเข้มข้น 10^8-10^9 หน่วยโคโลนี/มล. จากนั้นรดด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกๆ 7 วัน โดยมีตัวเปรียบเทียบที่ไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์คลุกหัวพันธุ์พืชปทุมมาก่อนปลูกแต่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทน ตรวจสอบการเกิดโรคของต้นพืชทุก 7 ,14 , 21 ,28 ,35 และ 42 วัน และตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และปริมาณเชื้อ*R. solanacearum* ทุก 7 วัน จนครบ 6 สัปดาห์หลังปลูก

เวลาและสถานที่

ต.ค.48 - ก.ย.49 ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลอง

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดินและรากพืชต่าง ๆ

ได้เชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆจำนวน 50 ไอโซเลท โดยการแยกจากดิน 30 ไอโซเลท และ ปุ๋ยคอก 20 ไอโซเลท เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ใน glycerol 20% ที่ –20 ° C เพื่อนำไปทดสอบต่อไป2. การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 8 ไอโซเลท โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยมีระดับการยับยั้งที่แตกต่างกันดังตาราง 1 พบว่า 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 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* 3 สายพันธุ์ เชื้อแบคทีเรีย รากอ้อย no.6 ยับยั้งเฉพาะเชื้อ *R. solanacearum* 2 สายพันธุ์ จากผลการทดลองนี้ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

หลังจากแช่หัวพันธุ์กับสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และปลูกลงในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* แล้ว 45 วันพบว่า กรรมวิธีที่คลุกหัวพันธุ์ด้วยสารละลายแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง no.9 ดินชุมพร no.1 รากอ้อย และปุ๋ยคอก no.1 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 60% เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินเลน no.1 ดินรากยาสูบ no.4 ดินปุ๋ยคอก no.1 3A และ 4415 สามารถควบคุมโรคได้ 40%(ตารางที่2)

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).

Digat, B.,J.M. Expert, K. Josi , P. Gay and S. Veillet. 1996. Biocontrol of Sclerotinia wilt of Sunflower by seed bacterization., pp. 6-10. *In* Tang Wenhua , R. J. Cook and A. Rovira. Advances in Biological Control of Plant Diseases. China Agricultural University Press. Beijing Chima . 399p.

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.

Trigalet, A. and D. Trigalet-Demery. 1990. Use of avirulent mutants of *Pseudomonas solanacearum* for the biological control of bacterial wilt of tomato plants. Physiol. And Mol. Pl. Pathol. 36:27-38.

ตารางที่ 1 ขนาดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่างๆ บนอาหาร PSA

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ความกว้างของบริเวณใส (มม.)			
	RS no.37	RS no.36	RS no.24	RS no.19
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.6	3.1	-	4.35	-
4. ดินรากยาสูบ no. 4	6.1	1.9	4.8	3.6
5. ดินคลองหลวง no.9	0.7	5.2	3.75	-
6. ดินเลน no.1	2.35	4.85	3.1	3.35
7. 4415	4.3	5.6	2.5	2.6
8. 3A	5.45	2.15	3.45	3.5

หมายเหตุ - = ไม่เกิด Clear zone

ตารางที่ 2 ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา โดยใช้สารละลายเชื้อปฏิปักษ์คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum*

กรรมวิธี	การเกิดโรค % -1/			การควบคุมโรค % -2/		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน	15 วัน	30 วัน	45 วัน
1. ดินคลองหลวง no. 9	0	20	40	100	80	60
2. ดินชุมพร no. 1	0	20	40	100	80	60
3. ดินเลน no.1	0	40	60	100	60	40
4. รากอ้อย no.6	0	40	40	100	60	60
5. ดินรากยาสูบ no. 4	0	40	60	100	60	40
6. ปุ๋ยคอก no. 1	0	40	40	100	60	60
7. 3A	0	60	60	100	40	40
8. 4415	0	40	60	100	60	40
9. control	0	50	80	100	50	20

-1/ การเกิดโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

-2/ การควบคุมโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นรอดตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

การจัดการวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน

Weed Management in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

คมสัน นครศรี

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 13 กรรมวิธี ประกอบด้วย การใช้สาร oxadizon, pendimethalin, alachlor, metolachlor, atrazine, butachlor, propisochlor, dimethanamid, acetochlor, oxyfluorfen , alachlor+2,4-D และ alachlor+pyrazosulfuron ethyl เปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชด้วยมือ และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี ระหว่างเดือน กรกฎาคม-พฤศจิกายน 2549 พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน ส่วนสาร butachlor และ propisochlor มีพิษต่อข้าวฟ่างหวานเพียงเล็กน้อย สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชได้ดี กรรมวิธีควบคุมวัชพืชทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักแห้งวัชพืชและผลผลิตน้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวานไม่แตกต่างกัน กรรมวิธีที่ให้น้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวานมากที่สุด คือ กรรมวิธีการใช้ atrazine, propisochlor, การกำจัดวัชพืชด้วยมือ, การใช้ butachlor และ alachlor มีน้ำหนักผลผลิต 7,333 , 5,920 , 5,920, 5,707 และ 5,120 กก./ไร่ ตามลำดับ

รหัสโครงการ 10-01-49-01

คำนำ

ข้าวฟ่างมีแหล่งปลูกในจังหวัดลพบุรี นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ สระบุรี สระแก้ว กาญจนบุรี ชัยนาท สุพรรณบุรี นครราชสีมา และ จันทบุรี เกษตรกรส่วนใหญ่ปลูกข้าวฟ่างช่วงปลายฤดูฝนหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แล้ว การปลูกข้าวฟ่างในปัจจุบันได้นำเอาผลผลิตเมล็ดมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ทดแทนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์(นิรนาม,2546) จากสภาวการณ์ปัจจุบันที่ราคาน้ำมันเริ่มสูงขึ้นรัฐบาลได้มีนโยบายหาพลังงานอื่นมาทดแทน เช่น พลังงานจากชีวมวล (Biomass) ซึ่งได้แก่ ปาล์มน้ำมัน มันสำปะหลัง อ้อย และ ข้าว เพื่อนำมาผลิตเอทิลแอลกอฮอล์ อย่างไรก็ตามการใช้มันสำปะหลังและอ้อย อาจมีปัญหาผลผลิตขาดช่วงในระหว่างการผลิต เนื่องจากพืชทั้ง 2 ชนิดมีอายุการเก็บเกี่ยวนาน ข้าวฟ่างหวานมีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นประมาณ 100 วัน ภายในลำต้นข้าวฟ่างหวานมีปริมาณน้ำตาลซูโครสมากจึงมีรสหวานคล้ายอ้อย (ประสิทธิ์,2547) ซึ่งสามารถนำมาทดแทนมันสำปะหลังและอ้อยได้ วัชพืชเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของข้าวฟ่างหวาน โดย ประสิทธิ์ (2547) ได้แนะนำการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine อัตรา 300-500 กรัม ai/ไร่ พ่นหลังปลูกทันทีหรือการกำจัดวัชพืชด้วยมือ 1-2 ครั้ง ตามความจำเป็น ขณะที่ นิรนาม(2538) ได้แนะนำการใช้สาร atrazine อัตรา 240-400 กรัม ai/ไร่ พ่นคลุมดินทันที่หลังปลูก และสาร 2,4-D อัตรา 80-120 กรัม ai/ไร่ หลังปลูก 15-20 วัน เพื่อให้เกษตรกรมีโอกาสเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชได้หลากหลายชนิดกับการปลูกข้าวฟ่างหวาน จึงควรศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชชนิดต่างๆ ที่สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีในการปลูกข้าวฟ่างหวานในการจัดทำคู่มือคำแนะนำสำหรับเกษตรกร หรือผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์การทดลองประกอบด้วย

1.เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน พันธุ์ Praj 1

2. สารกำจัดวัชพืช oxadizon, pendimethalin, alachlor, metolachlor, atrazine, butachlor, propisochlor, dimethanamid, acetochlor, oxyfluorfen, pyrazosulfuron ethyl และ 2,4-D

3. สารป้องกันโรคและแมลง

4. ปุ๋ยสูตร 15-15-15

5. ถุงกระดาษและป้าย

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ ประกอบด้วยกรรมวิธี 13 กรรมวิธี คือ

1) oxadiazon อัตรา 120 กรัมai/ไร่

2) pendimethalin อัตรา 180 กรัมai/ไร่

3) alachlor อัตรา 200 กรัมai/ไร่

4) metolachlor อัตรา 200 กรัมai/ไร่

5) atrazine อัตรา 240 กรัมai/ไร่

6) butachlor อัตรา 120 กรัมai/ไร่

7) propisochlor อัตรา 120 กรัมai/ไร่

8) dimethanamid อัตรา 90 กรัมai/ไร่

9) acetochlor อัตรา 200 กรัมai/ไร่

10) oxyfluorfen อัตรา 16 กรัมai/ไร่

11) alachlor(200)+2,4-D อัตรา 160 กรัมai/ไร่

12) alachlor(200)+pyrazosulfuron-ethyl อัตรา 10 กรัมai/ไร่

13) ถอนวัชพืชด้วยมือ

14) วิธีไม่กำจัดวัชพืช

การปฏิบัติการทดลองโดยใช้แปลงขนาด 3x5 เมตร ระยะระหว่างแถว 50 ซม. ระหว่างหลุม 20 ซม. ปลูก 3-5 เมล็ดต่อหลุม หลังปลูกพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกทันที ได้แก่ oxadiazon, pendimethalin, alachlor, metolachlor, atrazine, butachlor, propisochlor, dimethanamid, acetochlor และ oxyfluorfen ตามอัตราที่กำหนด หลังปลูก 2 สัปดาห์ ถอนต้นข้าวฟ่างหวานเหลือ 2 ต้นต่อหลุม หลังข้าวฟ่างหวานงอกแล้ว 20 วัน พ่นสารกำจัดวัชพืช 2,4-D และ pyrazosulfuron ethyl ตามอัตราที่กำหนด และถอนวัชพืชด้วยมือที่ 30 วันหลังปลูก ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กก./ไร่ หลังปลูก 30 วัน ใช้สารป้องกันโรคและแมลงตามความจำเป็น

บันทึกข้อมูลความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช หลังพ่นสาร 15 วัน เก็บตัวอย่างวัชพืชหลังปลูก 45 วัน การเจริญเติบโตด้านความสูง และผลผลิตข้าวฟ่างหวาน

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือนกรกฎาคม – พฤศจิกายน 2549 ที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชหลังการพ่น 15 วัน พบว่า สาร atrazine ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน ส่วนสาร butachlor และ propisochlor เป็นพิษเพียงเล็กน้อย สารกำจัดวัชพืชที่มีพิษปลานกลาง คือ สาร alachlor, oxyfluorfen และ dimethanamid ขณะสารกำจัดวัชพืชที่เป็นค่อนข้างพิษรุนแรง คือ oxadiazon, pendimethalin, metolachlor และ acetochlor ส่วนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดสามารถควบคุมวัชพืชได้ในระดับดี (ตารางที่ 1)

การสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืชหลังปลูก 45 วัน พบว่า กรรมวิธีการควบคุมวัชพืชทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน กรรมวิธีที่ให้น้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยที่สุด คือ การกำจัดวัชพืชด้วยมือ และ การใช้สาร atrazine ให้น้ำหนักแห้งวัชพืช 14.0 และ 15.3 กรัม/ตร.ม. ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ให้น้ำหนักแห้งวัชพืชรองลงมา คือ propisochlor และ butachlor คือ 20.1 และ 21.4 กรัม/ตร.ม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เนื่องจากการกำจัดวัชพืชด้วยมือและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช atrazine, propisochlor และ butachlor สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีกว่า (ตารางที่ 1) วัชพืชที่พบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochlea colona* (L.) Link.) หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaria* (Retz.) Koel.) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (Linn.) Gard.&Hubb.) ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* Linn.) ผักโขม (*Amaranthus gracilis* Desf.) ปอวัชพืช (*Corchorus aestuans* Linn.) ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pestigridis* Linn.)

สำหรับความสูงของข้าวฟ่างหวานขณะเก็บผลผลิตที่อายุ 120 วัน พบว่า กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืช ทุกกรรมวิธี การกำจัดวัชพืชด้วยมือ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีความสูงไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2)

ส่วนผลผลิตน้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวานที่อายุ 120 วัน พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธี มีผลผลิตน้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวาน ไม่แตกต่างกับวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยมือ ซึ่งกรรมวิธีที่มีแนวโน้มให้ผลผลิตน้ำหนักสดมากที่สุด คือ กรรมวิธีการใช้ atrazine, propisochlor, การกำจัดวัชพืชด้วยมือ, การใช้ butachlor และ alachlor มีน้ำหนักผลผลิต 7,333 , 5,920 , 5,920, 5,707 และ 5,120 กก./ไร่ ตามลำดับ ขณะกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักผลผลิต 1,840 กก./ไร่

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน ส่วนสาร butachlor และ propisochlor มีพิษต่อข้าวฟ่างหวานเพียงเล็กน้อย สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชได้

ดี กรรมวิธีควบคุมวัชพืชทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักแห้งวัชพืชและผลผลิตน้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวานไม่แตกต่างกัน กรรมวิธีที่ให้น้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวานมากที่สุด คือ กรรมวิธีการใช้ atrazine, propisochlor, การกำจัดวัชพืชด้วยมือ, การใช้ butachlor และ alachlor มีน้ำหนักผลผลิต 7,333 , 5,920 , 5,920, 5,707 และ 5,120 กก./ไร่ ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2538. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 144 หน้า.

นิรนาม. 2546. ข้าวฟ่าง.หน้า 239-245. *ใน*: สรุปรายงานผลงานวิจัยพืชไร่ สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร.

ประสิทธิ์ ใจศีล. 2547. ข้าวฟ่างหวาน. เอกสารคำแนะนำการปลูกข้าวฟ่างหวานเพื่อการผลิตเอทานอล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 4 หน้า.

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน หลังพ่นสาร 15 วัน ปี 2549

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัมai/ไร่)	ความเป็นพิษ[1/] (คะแนน)	ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช[2/] (คะแนน)
oxadiazon	80	7.6	9.0
pendimethalin	120	7.0	8.6
alachlor	200	4.0	8.6
metolachlor	200	6.0	8.6
atrazine	240	0.0	9.8
butachlor	160	1.0	7.5
propisochlor	108	3.3	7.8
dimethanamid	90	4.3	9.0
acetochlor	200	7.6	9.0
oxyfluorfen	16	4.6	8.3
alachlor+2,4-D	200+160	4.0	9.0
alachlor+pyrazosulfuron	200+5	4.0	9.0
ถอนวัชพืชด้วยมือ	-	0.0	10.0
ไม่กำจัดวัชพืช	-	0.0	0.0

1/ 0 = ไม่เป็นพิษต่อข้าว
1-3 = เป็นพิษต่อข้าวเพียงเล็กน้อย
4-6 = เป็นพิษต่อข้าวปานกลาง
7-9 = เป็นพิษต่อข้าวรุนแรง
10 = ข้าวตายหมด

2/ 0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้
1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย
4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง
7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี
10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 น้ำหนักแห้งวัชพืช(45 วันหลังปลูก) ความสูงขณะเก็บเกี่ยว(อายุ 120 วัน) และผลผลิตข้าวฟ่างหวาน ปี 2549

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัมai/ไร่)	น.น.แห้งวัชพืช[2/] (กรัม/ตร.ม.)	ความสูง(ซม.) (อายุ 120 วัน)	ผลผลิต (กก./ไร่)
oxadiazon	80	31.4a[1/]	198.1a[1/]	2,347a[1/]
pendimethalin	120	26.0a	213.3a	3,240a
alachlor	200	35.4a	223.8a	5,120a
metolachlor	200	24.0a	216.1a	4,600a
atrazine	240	15.3a	215.6a	7,333a
butachlor	160	21.4a	204.5a	5,707a
propisochlor	108	20.1a	223.6a	5,920a
dimethanamid	90	52.0a	200.3a	4,267a
acetochlor	200	32.0a	214.8a	3,720a
oxyfluorfen	16	26.7a	195.8a	4,093a
alachlor+2,4-D	200+160	24.0a	209.7a	4,960a
alachlor+pyrazosulfuron	200+5	20.7a	177.4a	4,773a
ถอนวัชพืชด้วยมือ	-	14.0a	216.5a	5,920a
ไม่กำจัดวัชพืช	-	71.4b	218.6a	1,840b
CV (%)		11.7	97.5	45.8

1/ ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งวัชพืช ความสูงและผลผลิตของข้าวฟ่างหวานที่มีตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

2/ วัชพืชที่พบ

หญ้านกสีชมพู (*Echinochlea colona* (L.) Link.)

หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaria* (Retz.) Koel.)

หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (Linn.) Gard.&Hubb.)

ปอวัชพืช (*Corchorus aestuans* Linn.)

หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata* Qrt.)

ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pestigridis* Linn.)

ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* Linn.)