รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๐
เล่มที่ ๒

ลำดับเลขที่ 3/2551 ISBN : 978-974-436-667-2

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คำนำ

ในแต่ละปีงบประมาณ นักวิจัยที่สังกัดสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้มีการทดลองวิจัย สำรวจ รวบรวมในด้านเกษตรศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช โรคพืช วัชพืช ตลอดจนวิชาการด้านกักกันพืช ซึ่งในปี 2550 นักวิจัยของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้ทำการทดลองตรวจวิจัยภายใต้แผนงานวิจัย 10 แผน โครงการวิจัย จำนวน 22 โครงการ กิจกรรมจำนวน 37 กิจกรรม รวมเป็นการทดลองจำนวน 195 การทดลอง โดยเป็นงานอารักขาของพืชเศรษฐกิจ จำนวน 18 พืช คือ อ้อย ส้มโอ สมุนไพร (กระชายดำ และฟ้าทะลายโจร) พริก หน่อไม้ฝรั่ง มะม่วง องุ่น ทุเรียน ปาล์มน้ำมัน ข้าว (ข้าววัชพืช) ลำไย ฝรั่ง กระเจี๊ยบเขียว เห็ด มันฝรั่ง ข้าวฟ่างหวาน หน้าวัว และปทุมมา ซึ่งนักวิจัยได้รายงานผลการดำเนินการการทดลองวิจัยที่ได้ปฏิบัติ ในปีงบประมาณ 2550 ไว้ในเอกสารนี้ เพื่อเผยแพร่เป็นแหล่งความรู้ทางวิชาการด้านอารักขา ที่ผู้สนใจใช้สืบค้นข้อมูล นำไปประยุกต์ต่อยอดขยายผล จนเกิดประโยชน์ต่อความปลอดภัยด้านอาหารต่อไป

(นายพีระพงศ์ เชาวน์เสฏฐกุล)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
มิถุนายน 2551

สารบัญ

หน้า

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนาสับปะรด

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์สับปะรด 01-08-49-02

กิจกรรม ศึกษาระบบการผลิตสับปะรดเพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยวของสับปะรด

กิจกรรมย่อย ศึกษาการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยวสับปะรด

การทดลอง - ศึกษาการชุบหน่อพันธุ์สับปะรดด้วยสารฆ่าแมลง 1
เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนาส้มโอ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตส้มโอ 01-10-49-02

กิจกรรม การจัดการต้นส้มโอ

กิจกรรมย่อย ศึกษาวิธีการอื่น ๆ เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลส้มโอ

การทดลอง - ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการพ่นสารในการป้องกันกำจัดศัตรูส้มโอ 4
โดย นายดำรง เวชกิจ และคณะ

กิจกรรม การอารักขาส้มโอ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงศัตรูสำคัญในส้มโอ

การทดลอง - ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะ 18
ผลส้มโอ
โดย นางศรีจำนรรค์ ศรีจันทรา และคณะ

- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนอนเจาะผลส้มโอ 24
ในแปลงปลูก
โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

- การป้องกันกำจัดหนอนฝีดาษส้มในส้มโออย่างเหมาะสม 34
โดย นางสาวบุษบง มนัสมั่นคง และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคในส้มโอ

การทดลอง - การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแคงเกอร์ 38
ของส้มโอ
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

- การวินิจฉัย ตรวจสอบและติดตามการเกิดโรคกรีนนิ่ง 43
และทริสเทซ่าของส้มโอทองดี
โดย นางสาวดารุณี ปุญญพิทักษ์ และคณะ
- ศึกษาสาเหตุและเทคโนโลยีการจัดการโรครากเน่าและโคนเน่า 49
ของส้มโอ
โดย นางสาวสุพัตรา อินทวิมลศรี
- การใช้พืชสมุนไพรเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ 54
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ
- ศึกษาสาเหตุและเทคโนโลยีการจัดการโรคผลเน่าของส้มโอ 61
โดย นางสาวสุพัตรา อินทวิมลศรี
- การป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอโดยการใช้สาร 67
ป้องกันกำจัดโรคพืช
โดย นางสาวบูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การแก้ไขปัญหาลักษณะและอาการผิดปกติของผลส้มโอ

การทดลอง - ศึกษาสาเหตุและเทคโนโลยีการจัดการแผลจุดดาวกระจายของส้มโอ 75
โดย นางสาวสุพัตรา อินทวิมลศรี

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนากลุ่มพืชสมุนไพร

โครงการวิจัย ศึกษาการผลิตกระชายดำเชิงพาณิชย์ 01-12-49-04

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกระบวนการผลิต การเก็บเกี่ยวและแปรรูปกระชายดำ

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกระชายดำในแหล่งปลูกต่าง ๆ

การทดลอง - การจัดการวัชพืชก่อนงอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกระชายดำ..... 80
โดย นางสาวเพ็ญศรี นันทสมสราญ และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาการผลิตฟ้าทะลายโจร 01-12-49-06

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเขตกรรมเพื่อเพิ่มคุณภาพและสารสำคัญฟ้าทะลายโจร

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาการกำจัดศัตรูพืชและการจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร

การทดลอง - ศึกษาการจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร 92
โดย นางสาวเพ็ญศรี นันทสมสราญ และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

โครงการวิจัย วิจัยชีวโมเลกุล (Molecular biology) **ในการสร้างเอกลักษณ์พันธุกรรมพืช จุลินทรีย์ การปรับปรุงพันธุ์ และการตรวจสอบพืชและจุลินทรีย์** 09-01-49-02

กิจกรรม วิจัยชีวโมเลกุล (Molecular biology) **ในการตรวจสอบ**

กิจกรรมย่อย การศึกษาความปลอดภัยทางชีวภาพมะละกอดัดแปรพันธุกรรม

การทดลอง - การทดสอบความปลอดภัยจากการบริโภคมะละกอ 100
ดัดแปรพันธุกรรมของหนูนอร์เวย์, *Rattus norvegicus*
โดย นางสาวพวงทอง บุญทรง และคณะ

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชเพื่อเฝ้าระวัง และควบคุมคุณภาพสินค้าเกษตร

การทดลอง - การตรวจสอบการแพร่กระจายของเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่ง 109
บนส้มโดยเทคนิค PCR
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ
- การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งส้มโดย 119
ใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ
- พัฒนาการผลิตชุดตรวจสอบเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุ 133
โรคใบขาวของอ้อย
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ
- การตรวจสอบเชื้อไวรัสสาเหตุโรคเส้นใบเหลืองของ 143
กระเจี๊ยบเขียว
โดย นางสาวเยาวภา ตันติวานิช และคณะ
- การตรวจสอบคลอสเตอโรไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยว 152
โดยวิธีทางอณูชีววิทยา
โดย นางสาวเยาวภา ตันติวานิช และคณะ
- การพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคใบด่างบิดเบี้ยว 161
ของหน้าวัว
โดย นางสุรภี กีรติยะอังกูร และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนาอารักขาพืช

โครงการวิจัย ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่ 07-01-49-01

กิจกรรม ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่

กิจกรรมย่อย ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่

การทดลอง - การทดสอบประสิทธิภาพในการใช้สารเมทธิลโบรไมด์ 168
และสาร Eco_2 Fume ในมังคุดเพื่อกำจัดเพลี้ยแป้ง
โดย นายทวีศักดิ์ ชโยภาส และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารเมทธิลโบรไมด์และสาร Eco_2 1865
Fume ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟกล้วยไม้
โดย นายไพศาล รัตนเสถียร และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิด.....172
เพื่อทดแทนสารเฝ้าระวัง methomyl และ EPN ใน
การป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผักในกล้วยไม้
โดย นายทวีศักดิ์ ชโยภาส และคณะ
- ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา น้ำมันปิโตรเลียม และ 180
สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟพริก
โดย นายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น
- ประสิทธิภาพแบคทีเรีย ไวรัส และสารฆ่าแมลงในการป้องกัน 195
กำจัดหนอนกระทู้หอมในหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด 198
เพลี้ยแป้งในงาเพื่อทดแทนสารเฝ้าระวัง
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด 201
หนอนเจาะฝักถั่วเหลือง
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....204
แมลงศัตรูสำคัญของกระเพราและโหระพา
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด 208
ศัตรูที่สำคัญในทานตะวัน
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ
- ประสิทธิภาพแบคทีเรีย ไวรัส และสารฆ่าแมลงในการป้องกัน 212
กำจัดหนอนเจาะสมอฝ้ายในหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ
- ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา น้ำมันปิโตรเลียมและสารฆ่าแมลง 217
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดธรรมชาติและสารฆ่าแมลง 220
ในป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula* (Ishida)
ในกระเจี๊ยบเขียว
โดย นายสมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด 225
เพลี้ยแป้ง *(Phenacoccus solani* Ferris)ในกระเจี๊ยบเขียว
โดย นายสมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าหอย niclosamide และ metaldehyde ...233
รูปแบบใหม่กับหอยเชอร์รี่ *Pomacea* sp.
โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ
- ทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชใน.....237
การป้องกันกำจัดหอยเชอรี่ *Pamacca* sp.
โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช น้ำมันปิโตรเลียม..... 243
และสารฆ่าไร เพื่อทดแทนสารเฝ้าระวังในการป้องกันกำจัดไรขาวพริก
โดย นายพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและสารสกัดธรรมชาติ.....252
กับแมลง ศัตรูที่สำคัญในส้มเขียวหวาน
โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมะม่วง 277
โดย นางสาวสราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

- ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิด สารสกัดสะเดา..... 285
และเชื้อราในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ *Thrips palmi* Karny ในกล้วยไม้
โดย นางปิยรัตน์ เขียนมีสุข และคณะ
- ทดลองวิจัยหาสารใหม่กำจัดวัชพืชทดแทนสารกำจัดวัชพืชที่มีพิษสูง ...294
โดย นายไชยยศ สุพัฒนกุล

โครงการวิจัย ศึกษาการจัดการศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ 07-01-49-02

กิจกรรม การจัดการศัตรูพืชสำคัญของพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคแอนแทรคโนสของพริก

การทดลอง - ประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชเพื่อป้องกันกำจัด.....311
โรคแอนแทรคโนสของพริก
โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ
- การใช้สารธรรมชาติและชีวินทรีย์ป้องกันกำจัด 316
โรคแอนแทรคโนสของพริก
โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ
- ประสิทธิภาพของวิธีการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัด 321
โรคแอนแทรคโนสในพริก
โดย นางจีรนุช เอกอำนวย และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ในพริก

การทดลอง - การศึกษาชนิดแมลงวันผลไม้ ศัตรูธรรมชาติและ 343
ฤดูการระบาดของแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในแหล่งปลูกพริก
โดย นางสาววิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ
- การศึกษาชีววิทยาของแมลงวันผลไม้ชนิด 349
Bactrocera latifrons (Hendel)
โดย นางสาวสัญญาณี ศรีคชา และคณะ
- การพัฒนาการเพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ชนิด 352
Bactrocera latifrons (Hendel)
โดย นางสาวสัญญาณี ศรีคชา และคณะ

- ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา น้ำมันปิโตรเลียม 356
และสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้
และผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติในพริก
โดย นายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ

กิจกรรม การจัดการโรคลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่ง

การทดลอง - การจัดการโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่งโดยชีววิธี

- ศึกษาผลการใช้วัสดุเพาะเห็ดร่วมกับเชื้อรา 366
Trichoderma spp. ในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้ของ
หน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

- การจัดการโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่งโดยการใช้สารเคมี

- การศึกษาอัตราและช่วงระยะเวลาพ่นสารป้องกันกำจัด..... 379
โรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญในมะม่วง

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

การทดลอง - การจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโดยใช้.....395
เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

- การจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโดยใช้.....400
พืชสมุนไพรร่วมกับสารเคมี
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

- ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัด 1869
โรคแอนแทรคโนสในมะม่วง
โดย นายดำรง เวชกิจ และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ในมะม่วง

การทดลอง - การศึกษาชนิด ชีววิทยา และประสิทธิภาพการกินของแมงมุม 406
ตัวห้ำต่อแมลงวันผลไม้ในสวนมะม่วง
โดย นางวิภาดา วังศิลาบัตร และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช และน้ำมัน 419
ปิโตรเลียมเพื่อยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ในมะม่วง
โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูพืชสำคัญของลำไย

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคราน้ำฝนของลำไย

การทดลอง - การจัดการโรคราน้ำฝนของลำไย:การใช้สารเคมีร่วมกับ.....429
การตัดแต่งกิ่งลำไย
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

กิจกรรม การจัดการโรคแอนแทรคโนสในองุ่น

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคแอนแทรคโนสในองุ่น

การทดลอง - ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชเพื่อป้องกันกำจัด 439
โรคแอนแทรคโนสขององุ่น
โดย นางสาวศรีสุข พูนผลกุล และคณะ

กิจกรรม การจัดการด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน

กิจกรรมย่อย การจัดการด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน

การทดลอง - การศึกษาชนิด วงจรชีวิต และพืชอาหารของด้วง.....449
หนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน
โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ
- การศึกษาพฤติกรรมการทำลาย ช่วงฤดูการระบาดและ.....458
ปัจจัยที่มีผลต่อการระบาดของด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน
โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดด้วง 463
หนวดยาวเจาะลำต้นทุเรียนในระยะหนอน
โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

กิจกรรม การจัดการวัชพืชในนาข้าว

กิจกรรมย่อย การจัดการวัชพืชนาข้าวนาชลประทาน

การทดลอง - การกำจัดข้าววัชพืชด้วยสารกำจัดวัชพืชในนาหว่านน้ำตม 471
โดย นางสาวพัชรินทร์ วณิชย์อนันตกุล และคณะ
- การป้องกันกำจัดข้าววัชพืชโดยวิธีผสมผสานในนาหว่านน้ำตม 484
โดย นางสาวพัชรินทร์ วณิชย์อนันตกุล และคณะ

- การควบคุมข้าวแดงและวัชพืชทั่วไปด้วยวิธีการเตรียมดินร่วมกับ 497
การใช้สารกำจัดวัชพืชในนาหว่านน้ำตม
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ
- การพัฒนาวิธีแบบผสมผสานเพื่อการจัดการข้าววัชพืชในนาข้าว 506
ชลประทานแบบเกษตรกรมีส่วนร่วม
โดย นางจรรยา มณีโชติ และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการวัชพืชในข้าวนาน้ำฝน

การทดลอง - การควบคุมวัชพืชในนาหว่านข้าวแห้งในสภาพนาน้ำฝน 534
ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

กิจกรรม การจัดการแมลงวันผลไม้ในฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ในฝรั่ง

การทดลอง - การใช้เหยื่อโปรตีน เพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในฝรั่ง 545
โดย นางสาววิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ 07-01-49-03

กิจกรรม ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง - ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันแมลงต่อศัตรูธรรมชาติใน 551
ข้าวโพดหวาน
โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ
- การศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลงต่อประชากรแมงมุมตัวห้ำ.....568
ในสวนมะม่วง
โดย นางวิภาดา วังศิลาบัตร และคณะ
- ผลของสารฆ่าแมลงศัตรูพืชที่มีต่อศัตรูธรรมชาติของพืชเศรษฐกิจ 598
ในห้องปฏิบัติการ (มะพร้าว, หน่อไม้ฝรั่ง, ส้ม)
โดย นางประภัสสร เชยคำแหง
- ศึกษาเทคโนโลยีการจัดการรังผึ้งให้ได้ต่อเนื่องตลอดปี 605
โดย นางสาวพวงผกา อ่างมณี และคณะ
- การทดสอบความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 610
ชนิดต่าง ๆ ที่มีต่อไรตัวห้ำ
โดย นางสาวมานิตา คงชื่นสิน และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน 07-01-49-04

กิจกรรม การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน

กิจกรรมย่อย การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน

การทดลอง - การบริหารศัตรูพริกแบบผสมผสาน 626
โดย นายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ
- การบริหารศัตรูมะม่วงแบบผสมผสาน 649
โดย นางสาวสราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ
- การบริหารศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสาน 665
โดย นายสมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ
- การบริหารศัตรูมังคุดแบบผสมผสาน 691
โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ
- การบริหารศัตรูหน่อไม้ฝรั่งแบบผสมผสาน.....704
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชทดแทนสารเคมี 07-01-49-05

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหล เพื่อกำจัดสัตว์ศัตรูพืช
● วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหล 713
เพื่อกำจัดศัตรูพืช
โดย นางกรแก้ว เสือสะอาด และคณะ
● ศึกษาการใช้หนอนตายหยากและหางไหล 722
เพื่อกำจัดหอยเชอรี่และหอยทากบกในห้องปฏิบัติการ
โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช
● การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช 728
เพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดย นางสาวสุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชควบคุมศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมวัชพืช

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาสารจากแมงลักป่าเพื่อการป้องกันกำจัดวัชพืช

● ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจาก 735
แมงลักป่าเพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพในการ
ควบคุมวัชพืชสูงสุด
โดย นางชอุ่ม เปรมัษเฐียร และคณะ

โครงการวิจัย การผลิตและการใช้สารชีวภาพและชีวินทรีย์ 07-01-49-06

กิจกรรม วิจัยการผลิตและการใช้สารชีวภาพและชีวินทรีย์

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายและการใช้แตนเบียนแมลงวันผลไม้เพื่อการควบคุมโดยชีววิธี

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาการผลิตขยายและการใช้แตนเบียนแมลงวันผลไม้ 747
เพื่อการควบคุมโดยชีววิธี
โดย นางอัมพร วิโนทัย และคณะ

กิจกรรมย่อย ศึกษาศักยภาพการผลิตและการใช้ประโยชน์จากแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla* sp. ในการควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง - ศึกษาศักยภาพการผลิตและการใช้ประโยชน์จากแมลงช้าง.....758
ปีกใส *Mallada* sp. และ *Plesiochrysa* sp. ในการควบคุมศัตรูพืช
โดย นางประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

กิจกรรมย่อย ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ด้วยแมลงอาศัย

การทดลอง - ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงแตนเบียนไข่.....766
Telenomus sp. ด้วยแมลงอาศัย
โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งส้ม *Planococcus citri* (Risso) เพื่อควบคุมโดยชีววิธี

การทดลอง - การผลิตศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งส้ม.....785
Planococcus citri (Risso) เพื่อการควบคุมโดยชีววิธี
โดย นายรุจ มรกต และคณะ

กิจกรรมย่อย พัฒนาขบวนการผลิตไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ให้มีคุณภาพสูงสม่ำเสมอ

การทดลอง - พัฒนาขบวนการผลิตไส้เดือนฝอย 793
Steinernema carpocapsae ให้มีคุณภาพสูงสม่ำเสมอ
โดย นางวัชรี สมสุข และคณะ

กิจกรรมย่อย การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในรูปผง

การทดลอง - การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* 799
ในรูปผง
โดย นางวัชรี สมสุข และคณะ

กิจกรรมย่อย คัดเลือกและพัฒนาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย *Steinernema siamkayai* ให้แข็งแรง

การทดลอง - คัดเลือกและพัฒนาไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ท้องถิ่น 811
Steinernema siamkayai
โดย นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ทนอุณหภูมิสูง*Steinernema riobrave*

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 822
ที่ทนอุณหภูมิสูง *Steinernema riobrave*
เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดย นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

กิจกรรมย่อย ศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

การทดลอง - ศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพ.....828
ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง
โดย นายสาทิพย์ มาลี และคณะ

กิจกรรมย่อย รูปแบบการผลิตขยายไวรัส NPV หนอนกระทู้ผักในระดับอุตสาหกรรม

การทดลอง - รูปแบบการผลิตขยายไวรัส NPV หนอนกระทู้ผัก.....834
ในระดับอุตสาหกรรม
โดย นางสาวอัจฉรา ตันติโชดก และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก

การทดลอง - การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก.....840
โดย นางสาวอัจฉรา ตันติโชดก และคณะ

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนารูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง

การทดลอง - วิจัยและพัฒนารูปแบบการผลิตไวรัสSeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง.....843

โดย นางสาวสุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

กิจกรรมย่อย การคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพสูง ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม

การทดลอง - การคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพสูง.....856

ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม

โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ

กิจกรรมย่อย ศึกษาการผลิตเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*

การทดลอง - การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในรูปผง.....859

โดย นางเสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย โรงงานต้นแบบการผลิตขยายสปอร์โรซีสต์ของปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* เป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนูในเชิงพาณิชย์

การทดลอง - ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตขยายเชื้อโปรโตซัวในงูเหลือม 866

สภาพโรงเรือน

โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

- ศึกษาสายพันธุ์หนูที่เหมาะสมต่อการผลิตขยายเชื้อโปรโตซัว 870

ในหนูสภาพโรงเรือน

โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

- ศึกษาวิธีการควบคุมคุณภาพการผลิตสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัว 873

โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

กิจกรรม วิจัยการใช้สารชีวภาพและชีวินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นไหม้ ในหน่อไม้ฝรั่ง

การทดลอง - การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค.....876

ลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่ง

โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง

การทดลอง - การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง

- พัฒนาสูตรสำเร็จของเชื้อแบคทีเรีย.....889

Bacillus subtilis เพื่อใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง

โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

● การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์.....896
Bacillus subtilis ควบคุมโรคเหี่ยวของขิง
โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การใช้ชีวินทรีย์ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปม

การทดลอง - การใช้ชีวินทรีย์ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปม

● เทคนิคการขยายจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (*Paecilomyces* …….. 914
Lilacinus) ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปม
โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร
● เทคนิคการขยายปริมาณศัตรูธรรมชาติเพื่อใช้.....924
ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปม
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
● การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์.....931
และศัตรูธรรมชาติในการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย
รากปมในพริกในสภาพไร่
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

กิจกรรมย่อย การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด

การทดลอง - ทดสอบประสิทธิภาพของไสเดือนฝอยศัตรูแมลงใน.....939
การควบคุมหนอนแมลงวันศัตรูในเห็ด
โดย นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์

กิจกรรมย่อย การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง เพื่อการส่งออก

การทดลอง - การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด
และหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง

● การศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง 943
ในการควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก
โดย นายสาทิพย์ มาลี และคณะ

กิจกรรมย่อย การใช้ชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากและหอยเชอรี่ศัตรูพืช

การทดลอง - การใช้ชีวินทรีย์ควบคุมหอยทากและหอยเชอรี่ศัตรูพืช

● ทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยควบคุม 950
หอยทากซัคซิเนีย (*Succinea chrysis*)
โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

● คัดเลือกสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยและทดสอบ.....960
ประสิทธิภาพควบคุมหอยทากบกและหอยเชอรี่
ในห้องปฏิบัติการ
โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ
● คัดเลือกสายพันธุ์บาซิลลัสและทดสอบ 966
ประสิทธิภาพควบคุมหอยเชอรี่และหอยทากบกใน
ห้องปฏิบัติการ
โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

กิจกรรมย่อย การใช้ไรตัวห้ำควบคุมเพลี้ยไฟและไรศัตรูพืช

การทดลอง - การใช้ไรตัวห้ำควบคุมเพลี้ยไฟและไรศัตรูพืช 973
โดย นางสาวมานิตา คงชื่นสิน และคณะ

กิจกรรมย่อย การใช้สูตรผสมของ *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับไวรัส SeNPV และ HaNPV ในรูปสารแขวนลอยเข้มข้นเพื่อควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง

การทดลอง - การใช้สูตรผสมของ *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับไวรัส SeNPV 992
และ HaNPV ในรูปสารแขวนลอยเข้มข้นเพื่อควบคุมหนอนผีเสื้อ
ศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ

กิจกรรมย่อย การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bt และไวรัส NPV ด้วยเครื่องพ่นสารแบบ ULV เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก และหนอนเจาะสมอฝ้ายในดอกทานตะวัน

การทดลอง - การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bt และไวรัส NPV 995
เพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในทานตะวัน
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการกักกันพืช 07-01-49-07

กิจกรรม วิจัยการกักกันพืช

กิจกรรมย่อย วิจัยการกักกันพืชเพื่อการส่งออก

การทดลอง - การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชส่งออก
● ศึกษาชนิดของแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชของพืชส่งออก
●● ศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชของพืชส่งออก.....997
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ

● ● การศึกษาชนิดไรศัตรูของพืชเพื่อการส่งออก.....1001
โดย นายพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ
● ● การศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูพืชส่งออก.....1020
โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ
● ศึกษาชนิดของโรคพืชเพื่อการส่งออก
● ● การศึกษาชนิดของโรคแก้วมังกร กวนอิม 1024
เพื่อการส่งออก
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
● การศึกษาชนิดและข้อมูลของวัชพืชของพืชส่งออก
● ● การศึกษาชนิดและข้อมูลวัชพืชของพืชส่งออก : 1035
แก้วมังกร
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ
● ● การศึกษาชนิดและข้อมูลวัชพืชของพืชส่งออก : 1044
กวนอิม
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย วิจัยการกักกันพืชเพื่อการนำเข้า

การทดลอง - การจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชนำเข้า

● ศึกษาชนิดของแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชของพืชนำเข้า
● ● ศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชของพืชนำเข้า 1051
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ
● ● การศึกษาชนิดไรศัตรูพืชของพืชเพื่อการนำเข้า.....1056
โดย นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
● ● การศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูพืชนำเข้า.....1066
โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ
● การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชบน 1070
เมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันนำเข้า
โดย นางสาวชลธิชา รักใคร่ และคณะ
● การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับ 1084
การนำเข้าองุ่นผลสดจากประเทศสหรัฐอเมริกา
โดย นางสาวชลธิชา รักใคร่ และคณะ

● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช
ของพืชตระกูลแตงนำเข้า
●● การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับ.....1102
หัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ
โดย นายวานิช คำพานิช และคณะ
การทดลอง - วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน
● วิจัยพัฒนาเทคนิคอนูชีววิทยาในการตรวจเชื้อร่วมกับเชื้อ 1113
Xanthomonas axonopodis pv. *vesicatoria*
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
● การพัฒนาการตรวจสอบเชื้อ PVYบนหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า 1130
โดย นางสุรภี กีรติยะอังกูร และคณะ

แผนงานวิจัย การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์
โครงการวิจัย ศึกษาและสำรวจเชื้อพันธุ์พืช จุลินทรีย์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ 09-02-49-01
กิจกรรม สำรวจ รวบรวม และศึกษาเชื้อพันธุ์พืช
กิจกรรมย่อย ศึกษาชนิดและการแพร่กระจายของวัชพืชในพืชเศรษฐกิจ
การทดลอง - การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชในส้มโอ 1136
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ
- การสำรวจและรวบรวมวัชพืชในทุเรียน 1147
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ
กิจกรรม สำรวจ รวบรวม และศึกษาจุลินทรีย์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ
กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จุลินทรีย์
การทดลอง - สำรวจ รวบรวม จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร
● สำรวจ รวบรวมและจำแนกราไมคอร์ไรซากล้วยไม้.....1157
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
● ปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ที่เพิ่มการเจริญเติบโตของ 1165
เส้นใยเห็ด
โดย นางสาววรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ

การทดลอง - จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

- สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืชในประเทศ ประเทศไทย
  - สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อรา .....1202 สาเหตุโรคพืช สกุล Alternaria
    โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ
  - สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา .....1209 *Phomopsis* spp. สาเหตุโรคพืช
    โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ
  - รวบรวมจำแนกและเก็บรักษาราสาเหตุโรคพืช .....1217 สกุล Pestalotiopsis
    โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
  - สำรวจ รวบรวม และจำแนกราเขม่าดำ 1227
    โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
  - สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อรา .....1245 สกุล Ganoderma
    โดย นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และคณะ
  - สำรวจ รวบรวม และจำแนกราดำ 1255
    โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
  - รานำ้ค้างโรคของพืชสำคัญบางชนิด ..... 1264 ในประเทศไทย
    โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ
  - สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา Phythium .....1277 สาเหตุโรคพืช
    โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
- สำรวจ รวบรวมและจำแนกเชื้อแบคทีเรีย.....1287 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*
  โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

● การประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย.....1291
Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* จากการสร้างสาร
เอ๊กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (EPS)
โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
● สำรวจ รวบรวม และจำแนกแบคทีเรีย 1305
Xanthomonas axonopodis pv. *dieffenbachiae*
สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว *(Anthurium andreanum*)
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
●● การประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย 1320
Xanthomonas axonopodis pv. Dieffenbachiae
สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
การทดลอง - จุลินทรีย์ผลิตสารชีวภัณฑ์และมีศักยภาพในการกำจัดโรคและศัตรูพืช
● สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย 1330
ควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
● สำรวจ รวบรวม และศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรีย 1342
กลุ่ม Bacillus ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา
สาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ
โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
การทดลอง - จุลินทรีย์ที่มีต่อแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ
● การสำรวจ รวบรวม ตรวจจำแนกสายพันธุ์ 1364
ปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis*
โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ
กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
การทดลอง - อนุกรมวิธานแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ
● อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในสกุล Bemisia 1367
โดย นายสมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ
● อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล Dysmicoccus.....1375
โดย นางชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ

- อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล Aphis 1391
  โดย นางลักขณา บำรุงศรี และคณะ
- อนุกรมวิธานของด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae และ 1403
  Alticinae วงศ์ Chrysomelidae
  โดย นางพรรณเพ็ญ ชโยภาส และคณะ
- อนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบ สกุล Liriomyza.....1415
  และ Chromatomyia
  โดย นางรัตนา นชะพงษ์ และคณะ
- อนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล Bactrocera 1431
  โดย นางสาวยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ
- อนุกรมวิธานชีววิทยาเพลี้ยไฟกล้วยไม้ 1438
  Orchid Thrips : *Dichromothrips corbetti* Priesner
  โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ

การทดลอง - อนุกรมวิธานไรศัตรูพืช ไรศัตรูธรรมชาติ แมงมุม

- การศึกษาอนุกรมวิธานไรแมงมุมในสกุล Tetranychus 1449
  โดย นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
- การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมวงศ์ Araneidae 1475
  และ Tetragnathidae
  โดย นางวิภาดา วังศิลาบัตร และคณะ

การทดลอง - อนุกรมวิธานสัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

- สำรวจ และศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศ 1488
  ปาล์มปลูกใหม่
  โดย นางกรแก้ว เสือสะอาด และคณะ
- ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่ง 1495
  สงวนชีวมณฑลสะแกราช
  โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ
- ชีววิทยาหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) 1500
  โดย นางสาวดารณี รินทะรักษ์ และคณะ
- ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่ 1508
  โดย นางสาวปิยาณี หนูกาฬ และคณะ

● สำรวจและศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติ 1511
ของหนูในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่
โดย นางสาวพวงทอง บุญทรง และคณะ
การทดลอง - การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ 1515
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 สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในธนาคารเชื้อพันธุ์ (Gene bank)

● ลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ และความหลากหลายทางพันธุกรรม...1527
ของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.
dieffenbachiae สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ

กิจกรรม การเก็บรักษาพืช ตัวอย่างโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในพิพิธภัณฑ์ (Museum)

กิจกรรมย่อย การเก็บรักษาตัวอย่างพืช และโรคพืช

การทดลอง - การเก็บรักษาตัวอย่างโรคพืชในพิพิธภัณฑ์ 1546
โดย นางสาวศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และคณะ

กิจกรรมย่อย การเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ

- การเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืช และ ศัตรูธรรมชาติในพิพิธภัณฑ์แมลง

● การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์ 1554
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ
● การเก็บรักษาตัวอย่างไรในพิพิธภัณฑ์ 1561
โดย นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนากลุ่มพืชผัก และเห็ด

โครงการวิจัย การศึกษาเทคโนโลยีการผลิตพริก 01-16-49-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์พริกเพื่อเพิ่มผลผลิตและทนทานต่อโรค

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่

การทดลอง - การปรับปรุงพันธุ์พริกขี้หนูสดผลใหญ่เพื่อต้านทานโรค

- การปรับปรุงพริกขี้หนูสดใหญ่เพื่อต้านทาน 1572
  โรคแอนแทรคโนส
  โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ
- การปรับปรุงพริกขี้หนูสดใหญ่เพื่อ 1582
  ต้านทานโรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย
  โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พริกชี้ฟ้าเพื่ออุตสาหกรรม

การทดลอง - การปรับปรุงพันธุ์พริกชี้ฟ้าเพื่อแปรรูปเป็นซอสพริก

- การผสมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์พริกชี้ฟ้า.....1591
  เป็นซอสพริกเพื่อต้านทานโรคแอนแทรคโนส
  โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ

กิจกรรม ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูพริก

การทดลอง - การบริหารจัดการโรคใบหงิกเหลืองของพริก..... 1603
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

การทดลอง - ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชใน 1611
การควบคุมวัชพืชสำคัญในพริกขี้หนู
โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว 01-16-49-02

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียวในการผลิตเพื่อผลผลิตที่ปลอดจากสารพิษ

การทดลอง - การควบคุมโรครากปมในกระเจี๊ยบเขียวโดยวิธีเขตกรรม 1620
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด

- การจัดการวัชพืชในการผลิตกระเจี๊ยบเขียวฝักสด 1625
  โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเห็ด 01-16-49-03

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์เห็ด

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์เห็ดขอนขาว

การทดลอง - การประเมินสายพันธุ์เห็ดขอนขาวที่เหมาะสม 1633
กับการเพาะในพื้นที่ภาคกลาง
โดย นางสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์เห็ดตีนแรด

การทดลอง - รวบรวม คัดเลือกพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่าง ๆ 1645
เพื่อเป็นพันธุ์ทางการค้า
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ

กิจกรรม การเขตกรรมและการจัดการผลิตเห็ด

กิจกรรมย่อย กระบวนการผลิตเห็ดฟาง

การทดลอง - การจัดระบบการผลิตที่มีผลต่อการให้ผลผลิต 1656
เห็ดฟาง
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ

กิจกรรมย่อย กระบวนการผลิตเห็ดนางรม

การทดลอง - การจัดระบบการผลิตที่มีผลต่อการให้ผลผลิตของ 1670
เห็ดนางรม (ภาคกลาง)
โดย นางสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และคณะ

กิจกรรม การพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาเห็ด

กิจกรรมย่อย การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไร *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิ

การทดลอง - การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง 1680
Dolichocybe indica Mahunka โดยการใช้สารฆ่าไร
โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดไร *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิ

การทดลอง - การป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka 1687
ในเห็ดยานางิโดยการใช้สารรมฟอสฟีน
โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ

- การศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด 1699
Formicomotes heteromorphus Magowski และ
ไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ด
โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดแมลงหางดีดในเห็ด

การทดลอง - การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัด 1710
แมลงหางดีดในเห็ด
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ

**กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดหูหนู
โดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์**

การทดลอง - ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราโรคใยแมงมุม 1712
บนดอกเห็ดหูหนูโดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

**กิจกรรมย่อย การแพร่กระจายและการป้องกันกำจัดราเขียวในก้อนเชื้อเห็ดสกุล
นางรมโดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์**

การทดลอง - ศึกษาชนิด แหล่งที่มา และระดับการแพร่กระจาย 1721
ของราเขียวไตรโคเดอร์มาที่ปนเปื้อนในการเพาะเห็ดสกุลนางรม
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ
- ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดราเขียวที่ปนเปื้อนใน 1734
การเพาะเห็ดสกุลนางรมโดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

**กิจกรรมย่อย การแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อนในแม่เชื้อเห็ดและ
การป้องกันกำจัด**

การทดลอง - ศึกษาสาเหตุ และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อรา 1743
ปนเปื้อนในการผลิตเชื้อเห็ด
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

**กิจกรรมย่อย ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายเห็ดที่ผลิตเพื่อการค้า
และการป้องกันกำจัด**

การทดลอง - ศึกษาชนิด และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย.....1758
ที่เข้าทำลายดอกเห็ดเพื่อการค้า
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

- ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลาย 1770
ดอกเห็ดเพื่อการค้า
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตหน่อไม้ฝรั่ง 01-16-49-04

กิจกรรม วิจัยการผลิตหน่อไม้ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาการผลิตพันธุ์หน่อไม้ฝรั่งให้ได้ปริมาณและคุณภาพตรงตามตลาดต้องการ

การทดลอง - การควบคุมวัชพืชแห้วหมู

- การควบคุมแห้วหมูด้วยวัสดุคลุมดินและแรงงาน 1778
โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ
- วิธีใช้สารกำจัดวัชพืชควบคุมแห้วหมู 1787
โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง 01-16-49-05

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูมันฝรั่ง

การทดลอง - การประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่ง 1798
ที่ติดเชื้อ PVY
โดย นายสิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ
- การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมันฝรั่ง 1805
ที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยวิธีผสมผสาน
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ
- ประสิทธิภาพของสาร abamectin ในการควบคุมไส้เดือนฝอย 1815
รากปมในมันฝรั่ง
โดย นายมนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนากลุ่มพืชไร่เศรษฐกิจอื่น ๆ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 01-17-49-06

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

การทดลอง - การศึกษาข้อมูลจำเพาะของพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทาน.....1821

ต่อโรคลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Macrophomina phasceolina*

โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทาน 1829
ต่อโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจาก *Colletotrichum sublineolum*

โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทาน 1839
ต่อโรคสมัทที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*

โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทาน 1844
ต่อโรคช่อดอกเน่าและยอดบิดที่มีสาเหตุ
จากเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว 01-15-49-03

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว

กิจกรรมย่อย การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมาโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

การทดลอง - การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมา 1848
โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาพืชทดแทนพลังงาน

โครงการวิจัย ศึกษาระบบการจัดการการผลิตวัตถุดิบจากพืชสำหรับผลิตพลังงาน 10-01-49-01

กิจกรรม ศึกษาระบบการจัดการการผลิตวัตถุดิบจากพืชสำหรับผลิตแก๊สโซฮอล์

กิจกรรมย่อย ศึกษาระบบการจัดการการผลิตข้าวฟ่างหวานเพื่อผลิตเอทานอล

การทดลอง - การจัดการวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน 1858
ในสภาพไร่ในเขตอาศัยน้ำฝน

โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

การบริหารศัตรูพริกแบบผสมผสาน

Integrated Pest Management of Chilli

สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น **อรพรรณ วิเศษสังข์**[1/]
เสริมศิริ คงแสงดาว[2/] **พนิดา ไชยยันต์บูรณ์**[3/]
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การบริหารศัตรูพริกแบบผสมผสาน ดำเนินการทดลองที่แปลงเกษตรกร ตำบลพระแท่น อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม-กันยายน 2550 ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบชนิดและจำนวนศัตรูพริก ศัตรูธรรมชาติ ชนิดของสารกำจัดศัตรูพริก และอัตราการใช้ในการควบคุมศัตรูพริก ต้นทุนการผลิต น้ำหนักและราคาผลผลิต รายได้สุทธิ ผลตอบแทนต่อการลงทุนและพิษตกค้างในผลผลิต โดยวิธีการบริหารศัตรูพริกแบบผสมผสาน ประกอบด้วยการใช้ระดับเศรษฐกิจ วิธีเขตกรรม วิธีกล และการใช้สารกำจัดศัตรูพืชในการป้องกันกำจัดวัชพืช โรคพืช และแมลงศัตรูพืช เปรียบเทียบกับวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรที่ใช้วิธีกล และการใช้สารกำจัดศัตรูพืช

วัชพืช พบวัชพืชใบแคบที่สำคัญ 4 ชนิด ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาว และวัชพืชใบกว้าง 3 ชนิด ได้แก่ กะเม็ง น้ำนมราชสีห์ ผักเบี้ยใหญ่ ในวิธีผสมผสาน แปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 พ่น เพนไดเมทาลิน 33% EC อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง ก่อนย้ายกล้าพริกปลูก 7 วัน และกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 3 ครั้ง เมื่อพริกอายุ 45, 60 วัน และ 75 วัน วิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 พ่นอะเซทโทคลอ 50% EC อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง และแปลงที่ 2 พ่นอะลาคลอ 48% EC อัตรา 250 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง ก่อนย้ายกล้าพริกปลูก 7 วัน และกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 4 ครั้ง เมื่อพริกอายุ 30, 45, 60 และ 75 วัน สุ่มตรวจนับจำนวนวัชพืช (ใบแคบและใบกว้าง) ตลอดการทดลอง ในวิธีผสมผสานพบจำนวนวัชพืช 419 และ 999 ต้นในแปลงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ น้อยกว่าวิธีเกษตรกรพบจำนวนวัชพืช 533 และ 1,106 ต้นในแปลงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

รหัสโครงการ 07-01-49-04

[1/]กลุ่มโรคพืชและจุลชีววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มพฤกษศาสตร์และวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[3/]กลุ่มงานวิจัยสารพิษตกค้าง สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

โรคพืช พบโรคพืชที่สำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ โรคยอดและดอกเน่า ในวิธีผสมผสานแปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 พ่นคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง และเก็บยอดและดอกเน่าออกเผาทำลาย วิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 พ่นคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ 62% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง และพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง แปลงที่ 2 พ่นคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ 62% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง และพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง สุ่มตรวจนับจำนวนต้นพริกที่เป็นโรคยอดและดอกเน่าตลอดการทดลองในวิธีผสมผสานพบจำนวนต้นพริกเป็นโรค 45 และ 52 ต้น ในแปลงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ น้อยกว่าวิธีเกษตรกรพบจำนวนต้นพริกเป็นโรค 106 และ 103 ต้น ในแปลงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ โรคแอนแทรคโนสในวิธีผสมผสานแปลงที่ 1 พ่นโพรคลอราซ 50% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง และพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง แปลงที่ 2 พ่นโพรคลอราซ 50% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง และพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง และเก็บผลพริกเป็นโรคออกเผาทำลาย วิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 พ่นคาร์เบนดาซิม 50% SC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง และพ่นโพรพิเนบ 70% WP อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง และพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง แปลงที่ 2 พ่นคาร์เบนดาซิม 50% SC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง และพ่นซิเนบ 80% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง และพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง สุ่มตรวจนับจำนวนต้นพริกที่ผลพริกเป็นโรคแอนแทรคโนสตลอดการทดลองในวิธีผสมผสาน พบจำนวนต้นพริกที่เป็นโรค 120 และ 131 ต้น ในแปลงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ น้อยกว่าวิธีเกษตรกรพบจำนวนต้นพริกที่เป็นโรค 224 และ 212 ต้น ในแปลงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

แมลง-ไรศัตรูพืช พบแมลงศัตรูพริกที่สำคัญ 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก และไรศัตรูพริก 1 ชนิด คือ ไรขาวพริก ในวิธีผสมผสานแปลงที่ 1 พบเพลี้ยไฟพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 8 ครั้ง ทำการพ่นอิมิดาโคลพริด 10% SL อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง พ่นฟิโพรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง และ พ่นอีมาเม็คตินเบนโซเอท 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง หนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง พ่นอีมาเม็คตินเบนโซเอท1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ครั้ง พ่นอะมิทราซ 20% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง และพ่นฟิโปรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง แปลงที่ 2 พบเพลี้ยไฟพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 9 ครั้ง ทำการพ่นอิมิดาโคลพริด 10 % SL อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง พ่นฟิโพรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง และ พ่นอีมาเม็คตินเบนโซเอท 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง หนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง พ่นอีมาเม็คตินเบนโซเอท

1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 6 ครั้ง พ่นอะมิทราซ 20% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง และพ่นฟิโปรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง วิธีเกษตรกร แปลงที่ 1 พบเพลี้ยไฟพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 9 ครั้ง หนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง และไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 6 ครั้ง เกษตรกรพ่นอะบาเม็คติน 1.8% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 15 ครั้ง พ่นไซเปอร์เมทริน 35% EC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง พ่นเมโทมิล 18% SL อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง พ่นคาร์โบซัลแฟน 20% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 8 ครั้ง พ่น โฟซาโลน 35% EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง และพ่นไพริดาเบน 20% WP อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง แปลงที่ 2 พบเพลี้ยไฟพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 11 ครั้ง หนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง และไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 12 ครั้ง เกษตรกรพ่นอะบาเม็คติน 1.8% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 13 ครั้ง พ่นไซเปอร์เมทริน 35% EC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง พ่นคาร์โบซัลแฟน 20% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง พ่นไดโครโตฟอส 33% SL อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง พ่น คลอไพริฟอส 40% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง พ่น โฟซาโลน 35% EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง และพ่นเตตระไดฟอน 7.52% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง ศัตรูธรรมชาติในวิธีผสมผสานพบด้วงคล้ายมด และตัวอ่อนแมลงช้าง ส่วนวิธีเกษตรกรพบด้วงคล้ายมด

สารกำจัดศัตรูพืชและพิษตกค้าง พบว่า วิธีผสมผสานจำนวนการพ่นสารกำจัดโรคพืชและสารกำจัดแมลงลดลง 40.7-44.4 % และ 62.5-69.4 % ตามลำดับ ซึ่งวิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 และ 2 พบพิษตกค้างของสารกำจัดแมลงไซเปอร์เมทริน 0.57 และ 0.64 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ สูงเกินกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตเกษตร (MRL) ตามมาตรฐาน Codex ของวัตถุมีพิษไซเปอร์เมทรินในพริกเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ต้นทุนการผลิต ผลผลิต รายได้สุทธิ และผลตอบแทนต่อการลงทุนพบว่า วิธีผสมผสานมีต้นทุนการผลิต 16,638.20-17,119.70 บาท/ไร่ ได้น้ำหนักผลผลิต 1,081.70-1,238.40 กิโลกรัม/ไร่ คิดเป็นราคาผลผลิต 33,532.70-38,390.40 บาท/ไร่ ซึ่งเป็นรายได้สุทธิ 16,413.00-21,752.20 บาท/ไร่ โดยได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 1.96-2.31 ดีกว่าวิธีเกษตรกรที่มีต้นทุนการผลิต 18,123.00-21,505.70 บาท/ไร่ ได้น้ำหนักผลผลิต 877.20-1,117.30 กิโลกรัม/ไร่ คิดเป็นราคาผลผลิต 27,193.20-34,636.30 บาท/ไร่ ซึ่งเป็นรายได้สุทธิ 9,070.20-13,130.60 บาท/ไร่ โดยได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 1.50-1.61

คำนำ

พริกเป็นพืชผักชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่ใช้บริโภคภายในประเทศและส่งออกไปต่างประเทศ การผลิตพริกที่มีคุณภาพมักประสบปัญหาศัตรูพืชต่างๆ ได้แก่ วัชพืช โรคพืช และแมลงศัตรู ซึ่งวัชพืชที่พบส่วนใหญ่ คือ วัชพืชใบแคบและใบกว้าง เช่น หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู กะเม็ง น้ำนมราชสีห์ ผักเบี้ยใหญ่ เป็นต้น ส่วนโรคพืชที่สำคัญ คือ โรคยอดและดอกเน่า และโรคแอนแทรคโนส เป็นต้น สำหรับแมลงศัตรูพริกที่สำคัญที่พบเข้าทำลายพริกเป็นประจำ คือ เพลี้ยไฟพริก หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอม และไรขาวพริก การปลูกพริกเป็นการค้าโดยทั่วไปเกษตรกรนิยมใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืชหลายชนิด และใช้บ่อยครั้งในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้งนี้เนื่องจากสะดวก รวดเร็ว และง่ายต่อการปฏิบัติ สารเคมีควบคุมศัตรูพืชที่เกษตรกรใช้อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และเกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งเกิดสารพิษตกค้างในผลผลิตเป็นปัญหาต่อการส่งออก การบริหารศัตรูพริกโดยวิธีผสมผสานเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถลดและใช้สารเคมีได้ถูกต้องเหมาะสม โดยนำวิธีการป้องกันกำจัดหลายวิธีมาใช้ร่วมกัน เช่น วิธีกล วิธีเขตกรรม การใช้ระดับเศรษฐกิจจากการตรวจนับการทำลายของศัตรูพืชก่อนตัดสินใจใช้สารเคมี รวมทั้งการใช้สารเคมีสลับกลุ่มสารที่มีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างกันเพื่อป้องกันศัตรูพืชต้านทาน ทั้งนี้วิธีการต่างๆ ที่ใช้เป็นวิธีที่ถูกต้องเหมาะสม เมื่อนำไปใช้ปฏิบัติแล้วให้ผลคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ ที่สำคัญไม่ก่อให้เกิดผลเสียหายต่อสภาพแวดล้อมทั้งทางตรงและทางอ้อม อีกทั้งให้ได้ผลผลิตที่ดีทั้งปริมาณและคุณภาพตรงตามมาตรฐานความต้องการของตลาด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การดำเนินการทดลอง แบ่งเป็น 2 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 การบริหารศัตรูพริกแบบผสมผสาน 2 แปลงทดลอง

กรรมวิธีที่ 2 การป้องกันกำจัดศัตรูพริกตามวิธีของเกษตรกร 2 แปลงทดลอง

การเตรียมกล้าพริก

- ทำการเพาะกล้าพริกพันธุ์จินดาในแปลงเพาะกล้า
- ช่วงเวลาเพาะกล้าพริกหากพบการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟพริก ทำการพ่น อิมิดาโคลพริด 10% SL อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร
- เมื่อกล้าพริกอายุได้ 30 วัน ทำการคัดเลือกต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ปราศจากโรคและแมลงเข้าทำลายปลูกในแปลงทดลองโดยใช้ระยะปลูก 30 x 50 เซนติเมตร (ตามวิธีการของเกษตรกรในท้องถิ่น)

กรรมวิธีที่ 1 การบริหารศัตรูพริกแบบผสมผสาน

- แปลงพริกพื้นที่ 1 ไร่ จำนวน 2 แปลงทดลอง
- 1 สัปดาห์ก่อนย้ายกล้าพริกปลูกในแปลงทดลองดำเนินการพ่นเพนไดเมทาลิน 33% EC อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันกำจัดวัชพืชก่อนงอก
- ตรวจนับชนิดและจำนวนวัชพืชที่พบในแปลงทดลอง โดยการสุ่มตรวจนับ 10 จุดๆ ละ 10 ตารางเมตร เมื่อพริกอายุ 30, 45, 60 และ 75 วัน หลังย้ายกล้าพริกพร้อมทั้งทำการกำจัดวัชพืชในแปลงทดลองด้วยแรงงานเมื่อพริกอายุ 45, 60 และ 75 วันหลังย้ายกล้าพริก
- ตรวจนับต้นพริกที่พบอาการเป็นโรคยอดและดอกเน่าทุก 7 วัน ตั้งแต่พริกอายุ 14 วันหลังย้ายกล้า โดยสุ่มนับจำนวน 100 ต้น หากพบพริกเป็นโรคยอดและดอกเน่า ดำเนินการพ่นคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และเก็บส่วนที่เป็นโรคออกเผาทำลาย
- ตรวจนับต้นพริกที่พบอาการโรคแอนแทรคโนสทุก 7 วัน ตั้งแต่พริกอายุ 35 วันหลังย้ายกล้าหรือเมื่อพริกเริ่มติดผล หากพบพริกเป็นโรคแอนแทรคโนสดำเนินการพ่นโพรคลอราซ 50% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรือพ่นสลับด้วยแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และเก็บส่วนที่เป็นโรคออกเผาทำลาย
- ตรวจนับแมลง-ไรศัตรูพริกทุก 7 วัน ได้แก่ เพลี้ยไฟ สุ่มตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟพริกจากดอกพริก 200 ดอก และยอดพริก (ยาว 10 เซนติเมตร) 100 ยอด หากพบจำนวนเพลี้ยไฟมากกว่า 5 ตัว/ยอด ดำเนินการพ่นอิมิดาโคลพริด 10% SL อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือพ่นสลับด้วยฟิโปรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือพ่นสลับด้วยอีมาเม็คตินเบนโซเอท 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หนอนผีเสื้อ เช่น หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้ผัก สุ่มตรวจนับจำนวนหนอนผีเสื้อจากต้นพริก 100 ต้น หากพบจำนวนหนอนแต่ละชนิดมากกว่า 20 ตัว/100 ต้น ดำเนินการพ่นเชื้อแบคทีเรีย (*Bacillus thuringiensis var aizawai*) อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรือเชื้อไวรัส NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย หรือหนอนกระทู้ผัก อัตราตามคำแนะนำ หรือพ่น อีมาเม็คตินเบนโซเอท 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ไรขาวพริก สุ่มตรวจนับอาการใบหงิกของยอดพริก เนื่องจากการทำลายของไรขาวพริกโดยการให้คะแนนดังนี้

  คะแนน 0 = ทรงพุ่มปกติ ยอดอ่อนสมบูรณ์

  คะแนน 1 = ใบยอดแสดงอาการใบหงิกเล็กน้อยไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์

  คะแนน 2 = ใบยอดแสดงอาการใบหงิกปานกลาง 6-25 เปอร์เซ็นต์

  คะแนน 3 = ใบยอดแสดงอาการใบหงิกมาก 26-50 เปอร์เซ็นต์

  คะแนน 4 = ใบยอดแสดงอาการใบหงิกมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

นำคะแนนที่ได้ทั้งหมดมาคิดเปอร์เซ็นต์การทำลายตามสูตร Townsend-Heuberger หากพบเปอร์เซ็นต์การทำลายของไรขาวพริกมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ดำเนินการพ่นอะมิทราซ 20% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือพ่นสลับด้วยฟิโปรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

- เก็บน้ำหนักของผลพริกที่ได้คุณภาพและราคาผลผลิต เพื่อคำนวณต้นทุนการผลิต รายได้สุทธิ และผลตอบแทนต่อการลงทุน

กรรมวิธีที่ 2 การป้องกันกำจัดศัตรูพริกตามวิธีของเกษตรกร

- แปลงพริกพื้นที่ 1 ไร่ จำนวน 2 แปลงทดลอง
- ทำการเก็บข้อมูลศัตรูพืชต่างๆ เช่นเดียวกับกรรมวิธีที่ 1 รวมทั้งข้อมูลการปฏิบัติงานของเกษตรกรและน้ำหนักผลพริกที่ได้คุณภาพ ราคาผลผลิต เพื่อคำนวณต้นทุนการผลิต รายได้สุทธิ และเปรียบเทียบผลตอบแทนต่อการลงทุนกับกรรมวิธีที่ 1

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เดือน มีนาคม - กันยายน 2550

สถานที่ ตำบลพระแท่น อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจนับศัตรูพืชในแปลงทดลองพริกวิธีผสมผสาน และวิธีเกษตรกรพบวัชพืชใบแคบ 4 ชนิด ได้แก่ 4 ชนิด ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาว และวัชพืชใบกว้าง 3 ชนิด ได้แก่ กะเม็ง น้ำนมราชสีห์ ผักเบี้ยใหญ่ โรคพืชพบโรคยอดและดอกเน่าและโรคแอนแทรคโนส แมลง-ไรศัตรูพืช พบเพลี้ยไฟพริก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก และไรขาวพริก (ตารางที่ 1)

วัชพืช แปลงวิธีผสมผสานทั้ง 2 แปลง พ่น พ่น เพนไดเมทาลิน 33% EC อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง วิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 พ่นอะเซทโทคลอ 50% EC อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง แปลงที่ 2 พ่นอะลาคลอ 48% EC อัตรา 250 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง ก่อนย้ายกล้าพริกปลูก 1 สัปดาห์ เพื่อควบคุมวัชพืชก่อนงอกในแปลงพริก ทำการตรวจนับจำนวนวัชพืชตลอดการทดลอง พบว่า แปลงพริกวิธีผสมผสานพบวัชพืชใบแคบระหว่าง 33-64, 82-176, 41-155 และ 63-198 ต้น/100 ตารางเมตร เมื่อพริกอายุ 30, 45, 60 และ 75 วัน ตามลำดับ และพบวัชพืชใบกว้างระหว่าง 37-68, 59-120, 46-102 และ 58-116 ต้น/100 ตารางเมตร เมื่อพริกอายุ 30, 45, 60 และ 75 วัน ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าแปลงพริกวิธีเกษตรกรที่พบวัชพืชใบแคบระหว่าง 48-84, 100-216, 55-148 และ 78-244 ต้น/100 ตารางเมตร เมื่อพริกอายุ 30, 45, 60 และ 75 วัน

ตามลำดับ และพบวัชพืชใบกว้างระหว่าง 51-73, 71-111, 61-112 และ 69-118 ต้น/100 ตารางเมตร เมื่อพริกอายุ 30, 45, 60 และ 75 วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สอดคล้องกับงานทดลองของเสริมศิริและคณะ (2549) การพ่นเพนไดเมทาลิน 33% EC อัตรา 200 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (264 ai/ไร่) ก่อนย้ายกล้าพริกปลูก 7 วัน สามารถควบคุมวัชพืชใบแคบและใบกว้างได้ปานกลาง ส่วนการพ่นอะลาคลอ 48% EC อัตรา 175 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (336 ai/ไร่) ควบคุมวัชพืชใบแคบและใบกว้างได้เล็กน้อย โดยวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานได้ผลผลิตสูงสุด ส่วนการพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช เพนไดเมทาลิน 33% EC ได้ผลผลิตมากกว่าการพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืชอะลาคลอ ซึ่งให้ผลผลิตไม่แตกต่างกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช

โรคพืช โรคยอดและดอกเน่า เนื่องจากมีฝนตกมากและบ่อยครั้งตลอดช่วงการทดลองเมื่อต้นพริกอายุ 3-7 สัปดาห์ หลังย้ายกล้าและแปลงเกษตรกรผู้ปลูกพริกใกล้เคียงขาดการดูแลรักษา ทำให้การระบาดของโรคแพร่กระจายเป็นไปอย่างต่อเนื่อง โดยแปลงพริกวิธีผสมผสานทั้งสองแปลงพ่นคอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ 77% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง และเก็บส่วนที่เป็นโรคออกเผาทำลายเมื่อพบการระบาดของโรค ซึ่งพบจำนวนต้นพริกที่เป็นโรคตลอดการทดลองจำนวน 45 และ 52 ต้น ในแปลงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ส่วนแปลงพริกวิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 พ่นคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ 62% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง และพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง ซึ่งพบจำนวนต้นพริกที่เป็นโรคมากกว่าแปลงพริกวิธีผสมผสานตลอดการทดลองพบจำนวน 106 ต้น แปลงที่ 2 พ่นคอปเปอร์ออกซีคลอไรด์ 62% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง และพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง ซึ่งพบจำนวนต้นพริกที่เป็นโรคมากกว่าแปลงพริกวิธีผสมผสานตลอดการทดลองพบจำนวน 103 ต้น (ตารางที่ 3) เช่นเดียวกับอรพรรณและจุมพล (2550) รายงานว่าโรคยอดและดอกเน่าในพริกส่วนมากความเสียหายที่เกิดขึ้นจะพบหลังจากมีฝนตกเป็นระยะๆ ในช่วงที่มีอากาศร้อน สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Choanephora cucurbitarum* อาการจะพบมากที่ส่วนยอดอ่อน เมื่ออาการรุนแรงมากขึ้นบริเวณที่เชื้อทำลายจะแห้งดำลุกลามไปตามกิ่ง เกิดอาการกิ่งแห้งหักพับไป ส่วนผลพริกที่เชื้อเข้าทำลายจะช้ำ เน่า และร่วงหล่นไปในที่สุด สามารถสังเกตุเห็นส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อที่บริเวณเน่าดำได้ด้วยตาเปล่าเป็นขนสีเทาใส และส่วนปลายจะเป็นตุ่มสีดำ ลักษณะเหมือนขนที่จมูกของแมว จึงเรียกโรคนี้ว่า “โรคราขนแมว” การตัดแต่งและเก็บกิ่งหรือยอดที่แสดงอาการโรคออกจากแปลงเผาทำลายจะช่วยลดแหล่งแพร่เชื้อ ถ้าอากาศร้อนและไม่มีฝนการระบาดของโรคอาจจะหยุดไปได้ และยังไม่มีรายงานการทดลองเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดโรคนี้โดยสารป้องกันกำจัดโรคพืชในประเทศไทย เนื่องจากการระบาดของเชื้อจะพบเป็นครั้งคราวและไม่ค่อยสม่ำเสมอ

โรคแอนแทรคโนส แปลงพริกวิธีผสมผสานแปลงที่ 1 พ่นโพรคลอราซ 50% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง สลับกับพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง เมื่อพบ

การระบาดของโรค ซึ่งพบจำนวนต้นพริกที่ผลพริกเป็นโรคตลอดการทดลองจำนวน 120 ต้น แปลงที่ 2 พ่นโพรคลอราซ 50% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง สลับกับพ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง และเก็บผลพริกเป็นโรคออกจากแปลงเผาทำลาย เมื่อพบการระบาดของโรค ซึ่งพบจำนวนต้นพริกที่ผลพริกเป็นโรคตลอดการทดลองจำนวน 131 ต้น น้อยกว่าแปลงพริกวิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 พ่นคาร์เบนดาซิม 50% SC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง, พ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง และพ่นโพรพิเนบ 70% WP อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง ซึ่งพบจำนวนต้นพริกที่ผลพริกเป็นโรค ตลอดการทดลองจำนวน 224 ต้น และแปลงที่ 2 พ่นคาร์เบนดาซิม 50% SC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง, พ่นแมนโคเซบ 80% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง และพ่นซิเนบ 80% WP อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง พบจำนวนต้นพริกที่ผลพริกเป็นโรคตลอดการทดลองจำนวน 212 ต้น (ตารางที่ 3) จากรายงานของอรพรรณและจุมพล (2547) โรคแอนแทรคโนส หรือ โรคกุ้งแห้งของพริกเป็นโรคที่จัดว่าสำคัญมากที่สุดเมื่อพริกเริ่มติดดอกออกผล เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides* การระบาดของโรครุนแรงและรวดเร็ว เนื่องจากการปล่อยผลพริกที่เป็นโรคทิ้งค้างไว้บนต้น หรือทิ้งไว้โคนต้นในแปลง ทำให้เป็นแหล่งสะสมโรคอยู่ในแปลง ด้วยเหตุนี้พริกรุ่นหลังๆ จึงเป็นโรครุนแรงและเสียหายมากขึ้น การตัดแต่งทรงพ่มให้โปร่งและเก็บผลพริกที่เป็นโรคออกจากแปลงให้หมดจะทำให้การเกิดโรคน้อยมากจนไม่พบเลยในแปลงซึ่งอาจไม่จำเป็นต้องพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชเลยก็ได้ แต่ถ้าไม่มั่นใจ เมื่อพริกเริ่มออกดอกรุ่นแรกพ่นสารป้องกันกำจัดโรคกุ้งแห้ง 1-2 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน แล้วรอดูผลพริกรุ่นแรกว่ามีผลเป็นโรคหรือไม่ แล้วค่อยตัดสินใจป้องกันกำจัดโรคพริกรุ่นต่อๆไปอีกครั้งหนึ่ง ที่สำคัญการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพเพียงอย่างเดียวไม่สามารถลดความเสียหายได้ การเก็บผลพริกเป็นโรคออกจากแปลงเผาทำลายจะเป็นการช่วยลดแหล่งกระจายเชื้อได้เป็นอย่างดี (อรพรรณและคณะ, 2549)

แมลง-ไรศัตรูพืช เพลี้ยไฟพริก วิธีผสมผสานแปลงที่ 1 พบเพลี้ยไฟพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 8 ครั้ง ทำการพ่นอิมิดาโคลพริด 10 % SL อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง สลับกับพ่น อีมาเม็คตินเบนโซเอท1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง และพ่นฟิโพรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง แปลงที่ 2 พบเพลี้ยไฟพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 9 ครั้ง ทำการพ่นอิมิดาโคลพริด 10 % SL อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง สลับกับพ่นพ่น อีมาเม็คตินเบนโซเอท 1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง และพ่นฟิโพรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง น้อยกว่าวิธีเกษตรกร แปลงที่ 1 พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 9 ครั้งเกษตรกรพ่นอะบาเม็คติน 1.8% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 8 ครั้ง และพ่น คาร์โบซัลแฟน 20% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 8 ครั้ง แปลงที่ 2 พบเพลี้ยไฟเกินระดับเศรษฐกิจ 11 ครั้งเกษตรกรพ่น อะบาเม็คติน 1.8% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตรผสมกับ ไดโครโตฟอส 33% SL อัตรา

40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง และพ่นคาร์โบซัลแฟน 20% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง (ตารางที่ 4)

หนอนผีเสื้อ วิธีผสมผสานแปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 พบหนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง ทำการพ่น อีมาเม็คตินเบนโซเอท1.92% EC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง น้อยกว่าวิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 พบหนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง เกษตรกรพ่น อะบาเม็คติน 1.8% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมกับ ไซเปอร์เมทริน 35% EC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 4 ครั้ง และพ่นอะบาเม็คติน 1.8% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมกับ เมโทมิล 18% SL อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง แปลงที่ 2 พบหนอนกระทู้ผักเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง เกษตรกรพ่น อะบาเม็คติน 1.8% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมกับ คลอไพริฟอส 40% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง และพ่นอะบาเม็คติน 1.8% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมกับ ไซเปอร์เมทริน 35% EC อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง (ตารางที่ 4)

ไรศัตรูพืช วิธีผสมผสานแปลงที่ 1 พบเปอร์เซ็นต์การทำลายของไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ครั้ง ทำการพ่นสาร อะมิทราซ 20% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้งสลับกับพ่นฟิโพรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง แปลงที่ 2 พบเปอร์เซ็นต์การทำลายของไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 6 ครั้ง ทำการพ่นสาร อะมิทราซ 20% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้งสลับกับพ่นฟิโพรนิล 5% SC อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 3 ครั้ง น้อยกว่าวิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 พบเปอร์เซ็นต์การทำลายของไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 6 ครั้ง เกษตรกรพ่นโฟซาโลน 35% EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 7 ครั้ง และพ่นไพริดาเบน 20% WP อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง แปลงที่ 2 พบเปอร์เซ็นต์การทำลายของไรขาวพริกเกินระดับเศรษฐกิจ 11 ครั้ง เกษตรกรพ่นโฟซาโลน 35% EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร 5 ครั้ง และพ่นเตตระไดฟอน 7.52% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร /น้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง (ตารางที่ 4)

ศัตรูธรรมชาติวิธีผสมผสานแปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 พบศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด คือด้วงคล้ายมด และตัวอ่อนแมลงช้าง ตลอดการทดลองพบด้วงคล้ายมด 15 และ 19 ตัว ในแปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 ตามลำดับ และพบตัวอ่อนแมลงช้าง 5 และ 6 ตัวในแปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 ตามลำดับ มากกว่าวิธีเกษตรกร พบศัตรูธรรมชาติ 1 ชนิด คือด้วงคล้ายมด ในแปลงที่ 1 และแปลงที่ 2 พบตลอดการทดลองจำนวน 6 และ 4 ตัวตามลำดับ (ตารางที่ 5)

การใช้สารกำจัดศัตรูพืช อัตราการพ่นสารวิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกรใช้ปริมาณน้ำ 80 ลิตร/ไร่เท่ากัน จำนวนการพ่นสารกำจัดวัชพืช วิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกรพ่นสารกำจัดวัชพืช 1 ครั้งเท่ากัน (ตารางที่ 6)

โรคพืช วิธีผสมผสานพ่นสารกำจัดโรคพืชในแปลงที่ 1 และ 2 จำนวน 15 และ 16 ครั้ง ตามลำดับ น้อยกว่าวิธีเกษตรกรที่มีการพ่นสารกำจัดโรคพืชในแปลงที่ 1 และ 2 จำนวน 27 และ 27 ครั้ง ตามลำดับ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การพ่นสารกำจัดโรคพืชลดลงในวิธีผสมผสานแปลงที่ 1 และ 2 เท่ากับ 44.4 และ 40.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

แมลง-ไรศัตรูพืชวิธีผสมผสานพ่นสารกำจัดแมลง-ไรศัตรูพืชในแปลงที่ 1 และ 2 จำนวน 11 และ 12 ครั้งตามลำดับ น้อยกว่าวิธีเกษตรกรที่มีการพ่นสารกำจัดแมลง-ไรศัตรูพืชในแปลงที่ 1 และ 2 จำนวน 36 และ 27 ครั้ง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การพ่นสารกำจัดแมลง-ไรศัตรูพืชลดลงในวิธีวิธีผสมผสานแปลงที่ 1 และ 2 เท่ากับ 69.4 และ 55.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

สารพิษตกค้าง จากการวิเคราะห์สารพิษตกค้างพบพิษตกค้างของสารกำจัดแมลงไซเปอร์เมทริน ในวิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 และ 2 จำนวน 0.57 และ 0.64 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ สูงเกินกว่าค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตเกษตร (MRL) ตามมาตรฐาน Codex ของวัตถุมีพิษไซเปอร์เมทรินในพริกเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ตารางที่ 6)

ต้นทุนการผลิต ผลผลิต รายได้สุทธิ และผลตอบแทนต่อการลงทุน วิธีผสมผสานแปลงที่ 1 และ 2 มีต้นทุนการผลิต 16,638.20 และ 17,119.70 บาท/ไร่ ตามลำดับ ได้น้ำหนักผลผลิต 1,238.40 และ1,081.70 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ คิดเป็นราคาผลผลิต 38,390.40 และ 33,532.70-บาท/ไร่ ตามลำดับ ซึ่งเป็นรายได้สุทธิ 21,752.20 และ 16,413.00 บาท/ไร่ ตามลำดับ โดยได้ผลตอบแทนต่อการลงทุนเท่ากับ 2.31 และ 1.96 ตามลำดับ ดีกว่าวิธีเกษตรกรแปลงที่ 1 และ 2 ที่มีต้นทุนการผลิต 21,505.70 และ 18,123.00 บาท/ไร่ ตามลำดับ ได้น้ำหนักผลผลิต 1,117.30 และ 877.20กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ ซึ่งเป็นรายได้สุทธิ 13,130.60 และ 9,070.20-บาท/ไร่ ตามลำดับ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 1.61 และ 1.50 ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การบริหารศัตรูพริกแบบผสมผสานเปรียบเทียบกับวิธีเกษตรกรพบ วัชพืช 7 ชนิด ได้แก่ วัชพืชใบแคบ 4 ชนิด (หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาว) และวัชพืชใบกว้าง 3 ชนิด (กะเม็ง น้ำนมราชสีห์ ผักเบี้ยใหญ่) โรคยอดเน่าและโรคแอนแทรคโนส แมลง-ไรศัตรูพืช 4 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และไรขาวพริก ในวิธีผสมผสาน ลดการใช้สารกำจัดโรคพืช และสารกำจัดแมลง-ไรศัตรูพืชลงได้ 40.7-44.4 และ 62.5-69.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งวิธีผสมผสานพบศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด คือ ด้วงคล้ายมด และตัวอ่อนแมลงช้าง ส่วนวิธีเกษตรกรพบศัตรูธรรมชาติ 1 ชนิด คือ ด้วงคล้ายมด โดยวิธีผสมผสานมีต้นทุนการผลิต 16,638.20-17,119.70 บาท/ไร่ ได้น้ำหนักผลผลิต 1,081.70-1,238.40 กิโลกรัม/ไร่ คิดเป็นราคาผลผลิต 33,532.70-38,390.40 บาท/ไร่ ซึ่งเป็นรายได้สุทธิ 16,413.00-21,752.20 บาท/ไร่ โดยได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 1.96-2.31 สำหรับวิธีเกษตรกรที่มีต้นทุนการผลิต 18,123.00-21,505.70 บาท/ไร่ ได้น้ำหนักผลผลิต 877.20-1,117.30 กิโลกรัม/ไร่ คิดเป็นราคาผลผลิต 27,193.20-34,636.30 บาท/ไร่ ซึ่งเป็นรายได้สุทธิ 9,070.20-13,130.60 บาท/ไร่ โดยได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 1.50-1.61

เอกสารอ้างอิง

เสริมศิริ คงแสงดาว, ปัญญา พุกสุ่น และรักชัย คุรุบรรเจิดจิต. 2549. การตรวจสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการควบคุมวัชพืชสำคัญในพริก. รายงานผลงานวิจัยบทคัดย่อ/รายงานความก้าวหน้าปี 2549 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หน้า 271-272.

อรพรรณ วิเศษสังข์ และจุมพล สาระนาค 2550. โรคยอดและดอกเน่าในพริก. วารสารเคหะการเกษตร. 31(9) : 193-197.

อรพรรณ วิเศษสังข์ จุมพล สาระนาค และพรทิพย์ แผงจันทร์.2549. สุขอนามัยพืชกับโรคแอนแทรคโนสของพริก. วารสารเคหะการเกษตร.30(12) : 237-240.

อรพรรณ วิเศษสังข์ และจุมพล สาระนาค 2550.โรคยอดและดอกเน่าในพริก. วารสารเคหะการเกษตร. 31 (9) : 221-223

ตารางที่ 1 ชนิดของศัตรูที่สำคัญ และศัตรูธรรมชาติของพริกที่พบในวิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกร ที่ ตำบลพระแท่น อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือน เมษายน – กันยายน 2550

ชนิดศัตรูพริก	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ศัตรูธรรมชาติ
วัชพืช	หญ้าตีนนก	*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.	
	หญ้าตีนกา	*Eleusine indica* (Linn.) Gaertn.	
	หญ้านกสีชมพู	*Echinochloa colonum* (Linn.) Link.	
	หญ้าดอกขาว	*Leptochloa chinensis* (Linn.) Necs.	
	กะเม็ง	*Eclipta prostrate* Linn.	
	น้ำนมราชสีห์	*Euphorbia thymifolia* Linn.	
	ผักเบี้ยใหญ่	*Portulaca oleracea* Linn.	
โรคพืช	โรคยอดและดอกเน่า	เชื้อรา *Choanephora cucurbitarum*	
	โรคแอนแทรคโนส	เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.	
แมลง-ไรศัตรู	เพลี้ยไฟพริก	*Scirtothrips dorsalis* Hood	ด้วงคล้ายมด, แมลงช้าง
	หนอนเจาะสมอฝ้าย	*Helicoverpa armigera* (Hubner)	แมลงช้าง
	หนอนกระทู้ผัก	*Spodoptera litura* (Fabricius)	แมลงช้าง
	ไรขาวพริก	*Polyphagotarsonemus latus* Banks	ด้วงคล้ายมด

638

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบ ชนิดและจำนวนวัชพืชที่พบระหว่างวิธีผสมผสานกับวิธีเกษตรกร ที่ตำบลพระแท่น อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือนเมษายน–กันยายน 2550

อายุพริก (วัน)	ชนิดวัชพืช		วิธีผสมผสาน		วิธีเกษตรกร	
			แปลงที่ 1	แปลงที่ 2	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2
30	ใบแคบ (ต้น)	หญ้าตีนนก	5	10	11	24
		หญ้าตีนกา	7	21	20	19
		หญ้านกสีชมพู	21	33	17	38
		หญ้าดอกขาว	0	0	0	3
		รวม	33	64	48	84
	ใบกว้าง (ต้น)	กะเม็ง	14	21	18	23
		น้ำนมราชสีห์	10	18	16	17
		ผักเบี้ยใหญ่	13	29	17	33
		รวม	37	68	51	73
45	ใบแคบ (ต้น)	หญ้าตีนนก	17	31	22	43
		หญ้าตีนกา	26	55	31	61
		หญ้านกสีชมพู	39	77	47	102
		หญ้าดอกขาว	0	13	0	10
		รวม	82	176	100	216
	ใบกว้าง (ต้น)	กะเม็ง	19	17	14	41
		น้ำนมราชสีห์	18	59	22	43
		ผักเบี้ยใหญ่	22	44	35	27
		รวม	59	120	71	111
60	ใบแคบ (ต้น)	หญ้าตีนนก	22	28	37	38
		หญ้าตีนกา	18	37	22	44
		หญ้านกสีชมพู	23	69	31	77
		หญ้าดอกขาว	0	21	2	27
		รวม	41	155	55	148
	ใบกว้าง (ต้น)	กะเม็ง	12	28	16	37
		น้ำนมราชสีห์	13	41	19	34
		ผักเบี้ยใหญ่	21	33	26	41
		รวม	46	102	61	112
75	ใบแคบ (ต้น)	หญ้าตีนนก	11	52	19	66
		หญ้าตีนกา	23	48	26	54
		หญ้านกสีชมพู	26	87	28	111
		หญ้าดอกขาว	3	11	5	13
		รวม	63	198	78	244
	ใบกว้าง (ต้น)	กะเม็ง	18	35	17	31
		น้ำนมราชสีห์	23	29	29	33
		ผักเบี้ยใหญ่	17	52	23	54
		รวม	58	116	69	118
รวม			419	999	533	1,106

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบจำนวนต้นพริกที่เป็นโรคยอดและดอกเน่า และโรคแอนแทรคโนส ที่พบระหว่างวิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกร ที่ ตำบลพระแท่น อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือน เมษายน – กันยายน 2550

ตรวจนับครั้งที่	วิธีผสมผสาน				วิธีเกษตรกร			
	แปลงที่ 1		แปลงที่ 2		แปลงที่ 1		แปลงที่ 2	
	โรคยอดและดอกเน่า [1/]	โรคแอนแทรคโนส [2/]	โรคยอดและดอกเน่า [1/]	โรคแอนแทรคโนส [2/]	โรคยอดและดอกเน่า [1/]	โรคแอนแทรคโนส [2/]	โรคยอดและดอกเน่า [1/]	โรคแอนแทรคโนส [2/]
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	22	0	24	0	20	0	23	0
3	16	0	18	0	36	0	28	0
4	7	10	10	12	21	12	27	14
5	0	7	0	12	17	20	11	13
6	0	11	0	14	12	17	14	21
7	0	15	0	11	0	18	0	18
8	0	11	0	8	0	16	0	12
9	0	5	0	13	0	23	0	14
10	0	10	0	6	0	17	0	16
11	0	13	0	11	0	18	0	17
12	0	12	0	10	0	17	0	11
13	0	12	0	12	0	18	0	18
14	0	10	0	9	0	17	0	17
15	0	4	0	8	0	19	0	12
16	0	0	0	5	0	10	0	15
17	0	0	0	0	0	2	0	14
รวม	**45**	**120**	**52**	**131**	**106**	**224**	**103**	**212**

[1/] โรคยอดและดอกเน่าสุ่มตรวจนับ 100 ต้น

[2/] โรคแอนแทรคโนสสุ่มตรวจนับ 100 ตัว

640

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบชนิด จำนวนแมลงศัตรูพริก และเปอร์เซ็นต์การทำลายของไรขาวพริกที่พบระหว่างวิธีผสมผสานกับวิธีเกษตรกร ที่ ตำบลพระแท่น อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือน เมษายน – กันยายน 2550

ตรวจนับครั้งที่	วิธีผสมผสาน										วิธีเกษตรกร									
	แปลงที่ 1					แปลงที่ 2					แปลงที่ 1					แปลงที่ 2				
	เพลี้ยไฟพริก[1/](ตัว)		หนอนผีเสื้อ [2/] (ตัว)		%การทำลายของไรขาวพริก [3/] (%)	เพลี้ยไฟพริก[1/](ตัว)		หนอนผีเสื้อ[2/](ตัว)		%การทำลายของไรขาวพริก[3/] (%)	เพลี้ยไฟพริก[1/](ตัว)		หนอนผีเสื้อ[2/] (ตัว)		%การทำลายของไรขาวพริก[3/] (%)	เพลี้ยไฟพริก[1/](ตัว)		หนอนผีเสื้อ [2/](ตัว)		%การทำลายของไรขาวพริก[3/] (%)
	ยอด	ดอก	หนอนเจาะสมอฝ้าย	หนอนกระ ทู้ผัก		ยอด	ดอก	หนอนเจาะสมอฝ้าย	หนอนกระ ทู้ผัก		ยอด	ดอก	หนอนเจาะสมอฝ้าย	หนอนกระ ทู้ผัก		ยอด	ดอก	หนอนเจาะสมอฝ้าย	หนอนกระ ทู้ผัก	
1	52	17	0	0	0	38	6	0	0	0	47	13	0	0	0	61	19	0	0	0
2	113	38	0	0	0	79	19	0	0	0	96	27	0	0	0	89	23	0	0	0
3	151	23	0	0	1.5	143	28	0	0	1.0	124	34	0	0	1.8	177	43	0	0	2.0
4	277	210	0	0	3.6	336	173	0	0	4.7	214	159	0	0	3.8	381	271	0	0	4.3
5	514*	194	0	0	4.7	543*	381	0	0	3.8	538*	288	0	0	3.1	693*	441	0	0	5.1*
6	403	165	0	0	13.1*	504*	317	0	0	10.4*	573*	247	0	0	5.3*	677*	380	0	0	14.8*
7	611*	217	3	5	3.7	406	208	4	13	4.2	387	146	6	7	6.1*	544*	323	4	21*	10.2*
8	501*	242	7	33*	7.2*	647*	334	2	21*	8.7	541*	241	3	16	2.2	739*	361	0	12	7.7*
9	327	354	2	8	1.3	581*	419	0	12	2.3	577*	345	1	18	4.3	813*	448	1	4	18.4*
10	566*	296	2	14	4.9	371	132	0	3	13.5*	711*	390	0	27*	7.7*	474	341	8	0	6.5*
11	509*	276	0	0	9.8	650*	481	0	0	5.8*	414	199	7	13	3.3	651*	350	0	29*	7.1*
12	433	298	0	0	4.7	531*	465	3	4	4.3	518*	271	0	4	4.1	543*	465	0	0	3.9
13	585*	197	7	0	12.5*	503*	448	0	13	16.8*	522*	469	2	0	6.8*	607*	402	6	17	14.8*
14	431	221	1	8	4.8	377	296	2	4	4.9	399	213	2	0	10.2*	583*	456	0	10	9.3*
15	518*	332	3	0	5.7	578*	355	0	11	11.4*	538*	301	0	6	8.7*	479	377	3	1	12.3*
16	523*	297	4	0	3.0	514*	277	0	1	3.4	571*	227	4	2	4.3	617*	381	1	8	15.4*
17	347	207	0	2	3.7	432	188	0	2	4.1	466	234	8	4	3.9	541*	328	0	2	16.2*

[1/] **เพลี้ยไฟพริกสุ่มตรวจนับ 100ยอด และ 200 ดอก ระดับเศรษฐกิจ พบเพลี้ยไฟพริกมากกว่า 5 ตัว/ยอด**

[2/] **หนอนผีเสื้อสุ่มตรวจนับ 100 ต้น ระดับเศรษฐกิจ พบหนอนเจาะสมอฝ้าย หรือหนอนกระทู้ผักมากกว่า 20 ตัว/100 ต้น**

[3/] **ไรขาวพริกสุ่มตรวจนับ 100 ต้น ระดับเศรษฐกิจ พบเปอร์เซ็นต์การทำลายของไรขาวพริกมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์**

● **เกินระดับเศรษฐกิจ**

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบจำนวนศัตรูธรรมชาติที่พบระหว่างวิธีผสมผสานกับวิธีเกษตรกร ที่ตำบลพระแท่น อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือน เมษายน – กันยายน 2550

ตรวจนับครั้งที่	วิธีผสมผสาน				วิธีเกษตรกร			
	แปลงที่ 1 [1/]		แปลงที่ 2 [1/]		แปลงที่ 1 [1/]		แปลงที่ 2 [1/]	
	ด้วงคล้ายมด (ตัว)	แมลงช้าง (ตัว)	ด้วงคล้ายมด (ตัว)	แมลงช้าง (ตัว)	ด้วงคล้ายมด (ตัว)	แมลงช้าง (ตัว)	ด้วงคล้ายมด (ตัว)	แมลงช้าง (ตัว)
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	3	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	1	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	3	0
5	2	0	3	0	2	0	0	0
6	0	0	6	0	0	0	0	0
7	0	0	0	1	0	0	0	0
8	4	0	4	0	3	0	0	0
9	0	0	0	1	0	0	0	0
10	1	3	2	0	0	0	0	0
11	0	0	0	1	0	0	1	0
12	0	0	2	0	0	0	0	0
13	2	0	0	0	1	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	2	0	3	0	0	0	0
16	3	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	1	0	0	0	0	0
รวม	**15**	**5**	**19**	**6**	**6**	**0**	**4**	**0**

[1/] สุ่มตรวจนับ 100 ยอด และ 200 ดอก

ตารางที่ 6 อัตราพ่นสาร จำนวนครั้ง ระดับความเป็นพิษ และพิษตกค้างระหว่างวิธีผสมผสานกับวิธีเกษตรกร ที่ตำบลพระแท่น อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือน เมษายน – กันยายน 2550

รายการ	วิธีผสมผสาน		วิธีเกษตรกร	
	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2
1. อัตราการพ่นสาร (ลิตร/ไร่)	80	80	80	80
2. จำนวนการพ่นสารกำจัดศัตรูพืช				
2.1 จำนวนการพ่นสารกำจัดวัชพืช (ครั้ง)	1	1	1	1
ลดจำนวนครั้งในการพ่นสารกำจัดวัชพืช (%)	0	0	-	-
2.2 จำนวนการพ่นสารกำจัดโรคพืช (ครั้ง)	15	16	27	27
ลดจำนวนครั้งในการพ่นสารกำจัดโรคพืช (%)	44.4	40.7	-	-
2.3 จำนวนการพ่นสารกำจัดแมลง (ครั้ง)	11	12	36	27
ลดจำนวนครั้งในการพ่นสารกำจัดแมลง (%)	69.4	55.6	-	-
3. ระดับความเป็นพิษ				
ชนิดมีพิษร้ายแรง (I)	1	1	2	2
ชนิดมีพิษปานกลาง (II)	4	4	5	5
ชนิดมีพิษน้อย (III)	2	2	1	1
ชนิดมีพิษน้อยมาก (IV)	1	1	3	3
4. พิษตกค้าง				
chlorpyrifos	ไม่ได้ใช้	ไม่ได้ใช้	ไม่ได้ใช้	0.13
cypermethrin	ไม่ได้ใช้	ไม่ได้ใช้	0.57*	0.64*
dicrotophos	ไม่ได้ใช้	ไม่ได้ใช้	ND	ND
phosalone	ไม่ได้ใช้	ไม่ได้ใช้	ND	ND

ND = Nou detectable = มีปริมาณต่ำกว่าค่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้

* เกินค่าปริมาณสูงสุดของสารพิษตกค้างที่ยอมให้มีได้ในผลผลิตเกษตร (MRL) ตามมาตรฐาน Codex ของวัตถุมีพิษ cypermethrin ในพริก เท่ากับ 0.5 mg/kg

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบต้นทุนการผลิต ผลผลิตรายได้สุทธิ และผลตอบแทนต่อการลงทุนระหว่างวิธีผสมผสานกับวิธีเกษตรกร ที่ ตำบลพระแท่น อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่างเดือน เมษายน – กันยายน 2550

รายการ	วิธีผสมผสาน		วิธีเกษตรกร	
	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2
1. ต้นทุนการผลิต (บาท/ไร่)				
1.1 แปลงกล้า				
- ค่าเมล็ดพันธุ์	1,000.00	1,000.00	1,000.00	1,000.00
- ค่าสารฆ่าแมลง	21.00	21.00	21.00	21.00
1.2 แปลงทดลอง				
- ค่าเตรียมดิน	2,200.00	2,200.00	2,200.00	2,200.00
- ค่าปุ๋ยเคมี (สูตร 15-15-15, 13-13-21)	2,240.00	2,240.00	2,240.00	2,240.00
- ค่าปุ๋ยทางใบ (สูตร10-20-30)	240.00	240.00	240.00	240.00
- ค่าจ้างแรงงาน	3,000.00	3,200.00	7,200.00	5,400.00
ค่าพ่นสารฯ	720.00	720.00	960.00	960.00
ค่ากำจัดวัชพืช	3,715.20	3,245.10	3,351.90	2,631.60
ค่าเก็บผลผลิต*	174.00	184.00	152.00	120.00
- ค่าสารกำจัดวัชพืช	956.00	1,023.20	1,111.60	761.60
- ค่าสารกำจัดโรคพืช	2,168.00	2,784.00	1,680.00	1,660.40
- ค่าสารฆ่าแมลง	192.00	192.00	1,248.00	774.00
- ค่าสารฆ่าไร	66.00	70.40	101.20	114.40
- ค่าสารเพิ่มประสิทธิภาพ				
รวมต้นทุนการผลิต	**16,638.20**	**17,119.70**	**21,505.70**	**18,123.00**
2. ผลผลิต				
- น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด (กก./ไร่)	1,238.40	1,081.70	1,117.30	877.20
- ราคาผลผลิตทั้งหมด **(บาท/ไร่)	38,390.40	33,532.70	34,636.30	27,193.20
3. รายได้สุทธิ (บาท/ไร่)	**21,752.20**	**16,413.00**	**13,130.60**	**9,070.20**
4. ผลตอบแทนต่อการลงทุน	**2.31**	**1.96**	**1.61**	**1.50**

* ค่าเก็บผลผลิตพริก 3 บาท/ กิโลกรัม

* * ราคาผลผลิตพริกเฉลี่ย 31 บาท/กิโลกรัม

ภาคผนวก

ชนิดและอัตราการใช้สารกำจัดศัตรูพืช			
วิธีผสมผสาน		วิธีเกษตรกร	
แปลงที่ 1	แปลงที่ 2	แปลงที่ 1	แปลงที่ 2
สารกำจัดวัชพืช (มล./น้ำ 80 ลิตร/ไร่)			
pendimethalin 33% EC /800	pendimethalin 33% EC /800	acetochlor 50% EC /800	Alachlor48%EC /1,000
สารกำจัดโรคพืช (มล.หรือ กรัม/น้ำ 80 ลิตร/ไร่)[1/]			
copperhydroxide 77%WP /80	copperhydroxide 77%WP /80	carbendazim 50%SC /200	carbendazim 50%SC /200
mancozeb 80% WP /160	mancozeb 80% WP /160	copperhydroxide 77%WP /120	copperhydroxide 77%WP /120
prochloraz 50% WP /80	prochloraz 50% WP /80	mancozeb 80% WP /120	mancozeb 80% WP /160
		propineb 70% WP /240	zeneb 80% WP /120
สารฆ่าแมลง-ไร (มล. หรือ กรัม/น้ำ 80 ลิตร/ไร่)[1/]			
amitraz 20% EC /200	amitraz 20% EC /200	abamectin 1.8% EC /160	abamectin 1.8% EC /200
emamectin benzoate 1.92% EC /80	emamectin benzoate 1.92% EC/80	carbosulfan 20% EC /200	carbosulfan 20% EC /160
fipronil 5% SC /80	fipronil 5% SC /80	cypermethrin 35% EC /120	chlorpyrifos 40% EC/160
imidacloprid 10% SL /160	imidacloprid 10% SL /160	methomyl 18% SL /160	cypermethrin 35% EC /120
		phosalone 35% EC /240	dicrotophos 33% SL /160
		pyridaben 20% WP /40	phosalone 35% EC /240
			tetradifon 7.52% EC /200

[1/]ผสมสารเสริมประสิทธิภาพ (เบสมอร์ 62 %) อัตรา 5 มล./น้ำ 20 ลิตร

ภาคผนวก (ต่อ)

ชนิดและจำนวนครั้งการใช้สารกำจัดศัตรูพืช (ชนิด/ครั้ง)			
วิธีผสมผสาน		**วิธีเกษตรกร**	
แปลงที่ 1	**แปลงที่ 2**	**แปลงที่ 1**	**แปลงที่ 2**
สารกำจัดวัชพืช pendimethalin /1	pendimethalin /1	acetochlor /1	acetochlor /1
รวม 1 ชนิด 1 ครั้ง	**รวม 1 ชนิด 1 ครั้ง**	**รวม 1 ชนิด 1 ครั้ง**	**รวม 1 ชนิด 1 ครั้ง**
สารกำจัดโรคพืช copperhydroxide /3 mancozeb /5 prochloraz /7	copperhydroxide /3 mancozeb /7 prochloraz /6	carbendazim /7 copperhydroxide /6 mancozeb /8 propineb /6	carbendazim /5 copperhydroxide /7 mancozeb /8 zeneb /7
รวม 3 ชนิด 15 ครั้ง	**รวม 3 ชนิด 16 ครั้ง**	**รวม 4 ชนิด 27 ครั้ง**	**รวม 4 ชนิด 27 ครั้ง**
สารฆ่าแมลง-ไร amitraz /3 emamectin benzoate /2 fipronil /3 imidacloprid /3	amitraz /3 emamectin benzoate /3 fipronil /2 imidacloprid /4	abamectin /8 abamectin+ cypermethrin /4 abamectin+ methomyl /3 carbosulfan /8 phosalone /7 pyridaben /6	abamectin+ chlorpyrifos/2 abamectin+ cypermethrin /5 abamectin+ dicrotophos /6 carbosulfan /7 phosalone /5 tetradifon /2
รวม 4 ชนิด 11 ครั้ง	**รวม 4 ชนิด 12 ครั้ง**	**รวม 6 ชนิด 36 ครั้ง**	**รวม 6 ชนิด 27 ครั้ง**

ภาคผนวก (ต่อ)

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช	ระดับความเป็นพิษ	ราคาจำหน่าย (บาท/ลิตร;กิโลกรัม)
สารกำจัดวัชพืช		
กลุ่มสารเคมี - Chloracetamide		
acetochlor (ไอคอน 50% EC)	II	190
alachlor (อะลาคลอร์ 48% EC)	II	120
- Dinitroaniline		
pendimethalin (เฮกซ์ 33% EC)	II	230
สารกำจัดโรคพืช		
กลุ่มสารเคมี -Azoles		
prochloraz (อ็อกเทฟ 50% WP)	III	1,300
-Benzimidazol		
carbendazim (โกลดาซิม 50% SC)	IV	350
(เกรทพี 50% SC)		360
-Ethylene bisdithiocarbamate		
mancozeb (เพนนโคเซบ 80% WP)	IV	210
(แมนโคเซบ 80% WP)		160
propineb (แอนทราโคล 70% WP)	IV	270
zineb (ซีเนบ 80% WP)	IV	120
- Inorganic		
copperhydroxide (ฟังกูราน 77% WP)	I	250
copperoxychloride (คิวม็อกซ์ 62 62% WP)	II	200
สารฆ่าแมลง		
กลุ่มสารเคมี - Antibiotic		
abamectin (อะบาเม็กติน 1.8% EC)	II	450
(เม็คดาว 1.8% EC)		330
emamectin benzoate (โปรเคลม 1.92% EC)	II	1,250 บาท/250 มล.

ภาคผนวก (ต่อ)

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช	ระดับความเป็นพิษ	ราคาจำหน่าย (บาท/ลิตร;กิโลกรัม)
- Carbamate		
carbosulfan (พอสซ์ 20% EC)	I	360
(เอลตร้า 20% EC)		350
methomyl (แลนเนท-แอล 18% SL)	I	250
- Chloronicotinyl		
imidacloprid (อิมิดาโคลพริด 10% SL)	II	2,100
- Organophosphorus		
chlorpyrifos (สมิง 40 40% EC)	II	240
dicrotophos (มัซซี่ 33 33% SL)	I	240
- Phenylpyrazoles		
fipronil (แอสเซนด์ 5% SC)	II	1,500
- Pyrethroid		
cypermethrin (น็อคทริน 35 35% EC)	II	400
(โซลิด 35 35% EC)		300
สารฆ่าไร		
กลุ่มสารเคมี -Formamidine		
amitraz (ไมทราซ 20% EC)	II	320
-Organochlorine		
tetradifon (นีโน่ 7.52% EC)	III	120
-Organophosphorus		
posalone (พอสซ่า 35% EC)	II	300
- Pyridazinone		
pyridaben (ไรบาย 20% WP)	III	190 บาท/100 กรัม
สารอื่น ๆ		
สารเสริมประสิทธิภาพ (เบสมอร์ 62%)		220

การบริหารศัตรูมะม่วงแบบผสมผสาน

Integrated on Mango Pest Management

สราญจิต ไกรฤกษ์ ปิยรัตน์ เขียนมีสุข ยุทธนา แสงโชติ พวงผกา อ่างมณี
วุฒิศักดิ์ บุตรธนู[1/] ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช[1/] พรพิมล อธิปัญญาคม[1/]
คมสัน นครศรี[2/]
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ในปี 2549 ทดสอบกรรมวิธีการบริหารศัตรูมะม่วงแบบผสมผสาน (IPM) ในพื้นที่แปลงมะม่วงขนาด 5 ไร่ ณ ต.สนามชัย อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี เปรียบเทียบกับวิธีปฏิบัติของเกษตรกร ตรวจนับแมลงศัตรูพืชจากยอด/ช่อดอก จำนวน 10 ช่อ/ต้น ทั้งหมด 10 ต้น การใช้สารฆ่าแมลงในระยะแตกใบอ่อนจนกระทั่งแทงช่อดอกและติดผล ในแปลง IPM พบปริมาณเพลี้ยไฟที่สูงกว่าระดับเศรษฐกิจในระยะใบอ่อน 2 ครั้ง ระยะดอก 3 ครั้ง ปริมาณเพลี้ยจักจั่นที่สูงกว่าระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง รวมการพ่นสารฆ่าแมลงในช่วงแตกใบอ่อนจนถึงระยะติดผลอ่อนรวม 8 ครั้ง พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช รวม 4 ครั้ง แปลง IPM ได้กำไรมากกว่าร้อยละ 26.06 สัดส่วนการลงทุน 1.19 ในขณะที่ สัดส่วนการลงทุนแปลงเกษตรกร 1.15

ในปี 2550 แปลง IPM ตรวจนับแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีเดียวกับในปี 2549 ปริมาณเพลี้ยไฟสูงกว่าระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง พ่นด้วยสารฆ่าแมลงคือ imidacloprid 10% อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยจักจั่นสูงกว่าระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง ในระยะช่อดอก พ่นด้วย lambda cyhalothrin อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นสารป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสด้วย prochloraz 50%WP รวม 3 ครั้ง และใช้สารกำจัดวัชพืช glyphosate 48% อัตรา 125 มล./ น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง รวมการใช้สารเคมีในแปลง IPM 9 ครั้ง ในแปลงเกษตรกร มีการระบาดของเพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่นมะม่วงและหนอนเจาะยอด ใช้สารฆ่าแมลง 3 ชนิด คือ imidacloprid 10% อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง carbaryl 80 %WP อัตรา 45 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง และ cypermethrin/phosalone 6.25/22.5% EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง ใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim 50%WP 3 ครั้ง ใช้สารกำจัดวัชพืช glyphosate 48 % อัตรา 125 มล. /น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง รวมการใช้สารเคมีในแปลงเกษตรกร 12 ครั้ง

รหัสโครงการ 07-01-49-03

กลุ่มวิจัยโรคพืชและจุลชีววิทยา[1/]
กลุ่มวิจัยวัชพืช[2/]

คำนำ

มะม่วงจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีแหล่งปลูกที่สำคัญในภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคตะวันออก และภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เนื่องจากมะม่วงเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมสูง สามารถผลิตได้ตลอดทั้งปี มีหลากหลายสายพันธุ์ ทำให้มีการกระจายสู่ตลาดภายในประเทศ แต่การส่งออกมะม่วงสดของไทยมีน้อยมาก ในปี 2545 มีการส่งออกเพียง 8,736 ตัน เป็นมูลค่า 146.22 ล้านบาท เนื่องจากผลผลิตมะม่วงส่วนใหญ่ไม่ได้มาตรฐาน ในปัจจุบันมีการใช้เทคโนโลยีหลายอย่างเพื่อบังคับให้มะม่วงออกผลในช่วงฤดูที่ต้องการ และได้ผลผลิตที่ตรงต่อความต้องการของตลาด อย่างไรก็ตามเกษตรกรต้องประสบกับปัญหาการผลิตด้านต่างๆ เช่นสภาพดินฟ้าอากาศที่ผันแปร และปัญหาศัตรูพืชทั้งโรคและแมลงที่ระบาดทำความเสียหายต่อมะม่วงอย่างมาก มะม่วงมีแมลงศัตรูหลายชนิดเข้าทำลายทำความเสียหายส่งผลให้ผลผลิตลดลง คุณภาพผลผลิตต่ำลงทำให้ชาวสวนมะม่วงต้องใช้สารฆ่าแมลงเพิ่มขึ้นอย่างมาก และใช้กันมากโดยเฉพาะในแปลงมะม่วงที่ผลิตเพื่อการส่งออก ซึ่งต้องการผลผลิตที่มีคุณภาพดีและปริมาณเพียงพอเพื่อการตลาด การระบาดของแมลงศัตรูมะม่วงมีตลอดทั้งปีอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะในระยะแตกใบอ่อน และออกดอก ซึ่งมีสาเหตุจาก การผลิตมะม่วงนอกฤดู แต่ละระยะการเจริญเติบโตของมะม่วง จำเป็นต้องใช้สารเคมีอย่างมากมาย ทำให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม จึงจำเป็นต้องทดสอบวิธีการการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมะม่วงโดยวิธีผสมผสานอย่างต่อเนื่อง ซึ่งได้นำกรรมวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีต่าง ๆ มาประยุกต์ แล้วทดลองปฏิบัติเพื่อให้ได้ผลตอบแทนคุ้มค่า อีกทั้งยังจะต้องศึกษาการใช้สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพตลอดจนเทคนิคการใช้เครื่องพ่นสารอย่างเหมาะสม เพื่อลดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิต และลดมลพิษในสภาพแวดล้อมด้วย

มะม่วง เป็นผลไม้ที่ปลูกได้ทุกพื้นที่ในประเทศไทย โดยเฉพาะในปัจจุบันจะมีการผลิตมะม่วงนอกฤดู โดยใช้พันธุ์ที่ให้ผลนอกฤดู หรือการใช้สารกระตุ้นให้ออกผลนอกฤดู การผลิตเช่นนี้ทำให้เกิดปัญหาการระบาดของศัตรูมะม่วงอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะเป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่มีแมลงศัตรูค่อนข้างมาก ตลอดการพัฒนาของต้นมะม่วง ไม่ว่าจะอยู่ในระยะใบอ่อน แทงช่อดอก ดอกบาน ผลอ่อนหรือผลแก่ มักพบแมลงศัตรูระบาดในทุกระยะเป็นเหตุให้เกษตรกรต้องพ่นสารป้องกันกำจัดเป็นประจำ สราญจิต (2542) รายงานว่า แมลงศัตรูที่สำคัญของมะม่วงในระยะออกดอก ติดผล ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก เพลี้ยจักจั่นมะม่วง เพลี้ยจักจั่นฝอย หนอนผีเสื้อเจาะผลมะม่วง หนอนแมลงวันกินดอกมะม่วง แมลงวันผลไม้ เพลี้ยหอยและเพลี้ยแป้งชนิดต่าง ๆ แมลงศัตรูสำคัญบางชนิด เช่น หนอนผีเสื้อเจาะผลมะม่วง มีสารฆ่าแมลงที่แนะนำสำหรับป้องกันกำจัดเพียงชนิดเดียว คือ methamidophos (สราญจิต, 2542) ซึ่งเกรียงไกร (2544) รายงานว่า เป็นสารที่อยู่ระหว่างการติดตามเฝ้าระวังในช่วงเวลานั้น และปัจจุบันได้ยกเลิกการใช้แล้ว และ

อยู่ระหว่างการทดสอบหาสารทดแทน ส่วนเพลี้ยจักจั่นมะม่วง และเพลี้ยไฟ ซึ่งคำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ของกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จนถึงปัจจุบันแนะนำสารในกลุ่มไพรีทรอยด์ โดยเฉพาะเพลี้ยจักจั่นมะม่วง แนะนำให้ใช้ lambda cyhalothrin (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา, 2547) พบว่า ปัจจุบันแมลงชนิดนี้สร้างความต้านทานแล้ว ส่วนเพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอย สราญจิต (2542) รายงานว่า มักระบาดในช่วงติดผล เกษตรกรนิยมใช้สาร chlorpyrifos ปัจจุบันสารป้องกันกำจัดแมลงชนิดนี้มักตรวจพบพิษตกค้างบ่อยมากในผลิตผลการเกษตร จะเห็นว่ายังมีปัญหาการเลือกใช้สารฆ่าแมลงที่ต้องทดสอบอีกหลายชนิด นอกจากนี้ยังจะได้เปรียบเทียบการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพสูงและเหมาะสมในการควบคุมศัตรูพืช เพื่อให้สอดคล้องกับสภาพการค้าทั้งในและต่างประเทศซึ่งในปัจจุบันการค้าผลิตผลเกษตรจะเน้นสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช

โดยที่มะม่วงเป็นไม้ผลที่เจริญเติบโตได้ดีในเขตที่มีอากาศร้อนชื้นบริเวณใกล้เส้นศูนย์สูตร มีการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศและมีมรสุม จึงเป็นปัจจัยที่เอื้ออำนวยต่อการระบาดของศัตรูพืช โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนส และโรคผลเน่าของมะม่วงที่พบรายงานว่าเป็นปัญหากับการปลูกมะม่วงเชิงการค้าทั้งในระยะก่อนเก็บเกี่ยวและหลังเก็บเกี่ยว ทำให้ผลผลิตมีคุณภาพต่ำไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ โรคแอนแทรคโนส เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. พบระบาดทำความเสียหายในทุกแหล่งปลูกมะม่วง ทำให้เกิดความเสียหายรุนแรงทั้งในระยะออกดอก-ติดผล-ระยะผลแก่-หลังการเก็บเกี่ยว อาการที่ใบและยอดอ่อน ระยะแรกเป็นแผลจุดสีน้ำตาล ต่อมาแผลขยายใหญ่ทำให้เนื้อใบแตกและหลุดร่อนเป็นรู ผลอ่อนที่ถูกเชื้อเข้าทำลายอย่างรุนแรง ผลจะเน่าดำและร่วง ถ้าไม่รุนแรงจะเป็นจุดสีดำ เชื้อราฟักตัวในเนื้อเยื่อผิวของผล และจะแสดงอาการแผลจุดสีดำเมื่อผลแก่อาการที่ผลแก่ เป็นแผลจุดสีดำกระจัดกระจายที่เปลือก ต่อมาแผลขยายใหญ่กลางแผลเป็นเป็นแอ่งบุ๋ม และจะพบกลุ่มเมือกของสปอร์เชื้อราสีชมพู (นิพนธ์, 2542; เตือนใจ และคณะ; 2545; Johnson *et al*., 1995; Limm and Khoo, 1985) โรคที่สำคัญรองลงมา คือ โรคขั้วผลเน่า(Stem end rot) เกิดจากเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* Pat (Syn. *Botryodiplodia theobromae, Phomopsis mangiferae, Dothiorella dominicana, Pestalotiopsis mangiferae*) เกิดอาการแผลเน่าสีน้ำตาลที่ผล และขั้วผล ทำให้ผลเน่าและผิวน่วมอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้เชื้อราดังกล่าวทำให้เกิดโรคกิ่งแห้ง และอาการเปลือกแตกยางไหล และต้นโทรม มีความสำคัญมากในประเทศออสเตรเลีย ฟิลิปปินส์ และ สหรัฐอเมริกา(นิพนธ์, 2542; Johnson *et al*., 1995; Limm and Khoo, 1985) การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสและโรคขั้วผลเน่า ในช่วงก่อนเก็บเกี่ยวนิยมใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น benomyl 50 %WP, carbendazim 50 %WP, prochloraz 50 % WP, และ dithianon ร่วมกับการเขตกรรม เช่นการตัดแต่งกิ่ง (จงรักษ์, 2537; สุชาติ และ มาโนช 2537a สุชาติ และ มาโนช 2537b, 1999; Suchat, 1995) ส่วนช่วงหลังเก็บเกี่ยว ใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น benomyl 50 %WP, carbendazim 50 %WP, prochloraz 50 %WP ร่วมกับการแช่ในน้ำร้อน 50-53 °C นาน 5 นาที(ธารทิพย, 1997; สมศิริ, 1988) อย่างไรก็ดีได้มีการนำสารสกัดจากพืช และ

สมุนไพรมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส เช่น สารสกัดจากเปลือกเมล็ดมะม่วงหิมะพาน ว่านน้ำสารสกัด ทองพันชั่ง และข่า พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gleoesporioides* ได้ในห้องปฏิบัติการ (ประเทืองศรี และคณะ, 2535; ธารทิพย, 1997)

วัชพืชที่ขึ้นในสวนมะม่วงนอกจากจะแข่งขันในเรื่องของปัจจัยการผลิตแล้ว ยังเป็นที่หลบซ่อนของศัตรูพืชอื่นๆ เช่น โรค แมลง และสัตว์ศัตรูพืช พร้อมกันนั้นถ้ามีวัชพืชขึ้นหนาแน่นในสวนมะม่วง การเข้าไปปฏิบัติดูแลรักษาในสวนมะม่วงเป็นไปด้วยลำบาก วัชพืชที่พบในสวนมะม่วงแบ่งได้ดังนี้

วัชพืชฤดูเดียว เป็นวัชพืชที่ครบวงจรชีวิตภายในฤดูเดียว ส่วนมากขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ได้แก่

ประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนกา หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าขจรจบดอกใหญ่ และ หญ้านกสีชมพู

ประเภทใบกว้าง เช่น ผักโขม ผักยาง ผักเบี้ยใหญ่ ผักเบี้ยหิน กระดุมใบ และผักแครด

ประเภทกก เช่น กกทราย และ กกดอกแบน

วัชพืชข้ามปี เป็นวัชพืชที่มีการขยายพันธุ์ด้วย ราก เหง้า หัว และ ไหล ได้กว่าการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

ประเภทใบแคบ เช่น หญ้าคา หญ้าแพรก หญ้าชันกาด และหญ้าขจรจบดอกเหลือง

ประเภทใบกว้าง เช่น สาบเสือ สะอึก

ประเภทกก เช่น แห้วหมู

การป้องกันและกำจัดวัชพืช ทำได้โดยไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช โดยใช้เครื่องตัดติดท้ายรถแทรกเตอร์ หรือ เครื่องตัดแบบสะพายหลัง และ การใช้สารกำจัดวัชพืช โดยใช้สาร glyphosate 48 % อัตรา 125 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นโดยใช้น้ำ 80 ลิตร/ไร่

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สวนมะม่วง
2. สารฆ่าแมลง lambdacyhalothrin (Karate zeon 2.5% CS), thiamethoxam (Actara 25% WG), dinotefuron (Starkle 10% WP), acetamiprid (Molan 20%SP), profenofos (Supercron 50% EC), triazophos (Hostathion 40% EC), carbosulfan (Posse 20% EC), cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) และ imidacloprid (Confidor 10% SL)
3. สารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim (Carbendazim 50%WP) และ prochloraz (Octave 50 %WP)

4. สารกำจัดวัชพืช glyphosate 48 %
5. เครื่องชั่ง
6. กระบอกตวง(cylinder) beaker
7. กล้องจุลทรรศน์ แบบ Stereo microscope และ Compound microscope
8. กล้องถ่ายภาพ
9. ตู้บ่ม (incubation chamber) ตู้อบ (Hot air oven)
10. เครื่องพ่นสารเคมี ที่สามารถอัดความดัน กระป๋องพลาสติกบรรจุน้ำ
11. อุปกรณ์การเตรียมแปลงทดลอง เช่น แผ่นป้ายแปลง
12. วัสดุปลูกพืช เช่น ปุ๋ยวิทยาศาสตร์ สารฆ่าแมลง ปุ๋ยคอก ฮอร์โมน
13. เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง
14. กล่องเก็บตัวอย่างแมลง, กล่องพลาสติกใสสำหรับเลี้ยงแมลง
15. ที่นับแมลง
16. แว่นขยาย
17. คีมคีบ เข็มเขี่ย ไม้บรรทัด พู่กัน
18. อุปกรณ์การเก็บเกี่ยว ตะกร้าพลาสติก ถุงในลอน ตะกร้อสอยผลไม้
19. อุปกรณ์การบันทึกข้อมูล สมุดบันทึก แผ่นบันทึกข้อมูล ปากกา ยางลบ

วิธีการ

มี 2 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธี 1 เป็นวิธีการป้องกันกำจัดโดยวิธีผสมผสาน โดยการตรวจนับใช้ระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจช่วยในการตัดสินใจพ่นสารเคมี

กรรมวิธี 2 เป็นวิธีการป้องกันกำจัดโดยวิธีของเกษตรกร

วิธีปฏิบัติการทดลอง

<u>กรรมวิธีที่ 1</u> เป็นแปลงทดลองที่กำหนดวิธีปฏิบัติในการป้องกันกำจัดศัตรูมะม่วง

การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมะม่วง

โดยจะตรวจนับแมลงที่ สำคัญ คือ เพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น เมื่อพบแมลงสูงกว่าระดับที่กำหนดจึงพ่นสารเคมี ต่อไปนี้

เพลี้ยไฟ สุ่มเคาะโดยใช้แผ่นพลาสติกรองรับ จากยอดอ่อน จำนวน 10 ยอด /ต้น สุ่มให้กระจายรอบต้น จำนวน 10 ต้น ทุกสัปดาห์ เมื่อพบเพลี้ยไฟทำลายมากกว่า 50 % ของจำนวนยอดที่ตรวจนับ จะพ่นด้วยสารเคมี imidacloprid อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือ formetanate อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรือ เมื่อมะม่วงแทงช่อดอก สุ่มนับเพลี้ยไฟ จำนวน 10 ช่อ/ต้น สุ่มโดย กระจายรอบต้น จำนวน 10 ต้น

เมื่อพบการทำลายมากกว่า 30 % ของช่อดอกที่ตรวจนับ ให้พ่นด้วยสารเคมีดังกล่าวเช่นกัน ตรวจนับทุกสัปดาห์ (ในระยะดอกบาน งดพ่นสารเคมี) จนกระทั่งติดผลสุ่มตรวจนับที่ผลอ่อน ตามวิธีเช่นเดียวกัน

เพลี้ยจักจั่น สุ่มนับที่ช่อดอก 10 ช่อ/ต้น จำนวน 10 ต้น เมื่อพบเพลี้ยจักจั่นมากกว่า 5 ตัว/ช่อ ลงทำลาย มากกว่า 50 %ของช่อดอกที่ตรวจนับ พ่นด้วยสารเคมี lambda cyhalothrin อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร หรือ permethrin อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร

การป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส และโรคขั้วผลเน่า ระยะก่อนเก็บเกี่ยว

1. ตัดแต่งกิ่งให้ทรงต้นโปร่ง (medium pruning) บำรุงต้นพืชให้แตกยอดใหม่
2. พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz 50 %WP อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่น 3 ครั้งๆ แรกในระยะที่มะม่วงเริ่มแตกช่อดอก(ช่อดอกเป็นเดือยไก่) ครั้งที่ 2 และ 3 ห่างกันช่วงละ 15 วัน
3. ห่อผลมะม่วงหลังจากติดผล 21 วัน ด้วยถุงห่อผล

การป้องกันและกำจัดวัชพืช

การไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช

- การตัด ใช้เครื่องตัดติดท้ายรถแทรกเตอร์ หรือ เครื่องตัดแบบสะพายหลัง

การใช้สารกำจัดวัชพืช

- ใช้สาร glyphosate 48 % อัตรา 125 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

อัตราการใช้น้ำ 80 ลิตร / ไร่

<u>กรรมวิธีที่ 2</u> เป็นแปลงที่เป็นวิธีการปฏิบัติของเกษตรกรเอง

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกจำนวนยอดอ่อน ช่อดอก ที่พบเพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่น และแมลงศัตรูอื่น ๆ
- บันทึกแมลงมีประโยชน์ เช่น แมลงช่วยผสมเกสร และศัตรูธรรมชาติ
- บันทึกการปฏิบัติดูแล เช่น การใส่ปุ๋ย วิธีการตัดแต่งกิ่ง การใช้สารกำจัดโรคพืช การเก็บผลผลิต รวมค่าใช้จ่ายทั้งหมด

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น	ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2551 รวม 3 ปี
เริ่มทดลอง	ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550 (ปีที่ 2)
	แปลงมะม่วง อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองเปรียบเทียบแปลงการใช้สารฆ่าแมลงในระยะแตกใบอ่อนจนกระทั่งแทงช่อดอกและติดผล ในปี 2549 ในแปลง IPM ใช้สารฆ่าแมลงตามการระบาดของแมลงศัตรูพืชดังนี้ ปริมาณ

เพลี้ยไฟที่สูงกว่าระดับเศรษฐกิจกำหนดในระยะใบอ่อน 2 ครั้ง ในระยะดอก 3 ครั้ง ปริมาณเพลี้ยจักจั่นที่สูงกว่าระดับเศรษฐกิจกำหนด 3 ครั้ง รวมการพ่นสารฆ่าแมลงในช่วงแตกใบอ่อนจนถึงระยะติดผลอ่อนรวม 8 ครั้ง พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชเมื่อมะม่วงเริ่มแทงช่อจนถึงระยะติดผล รวม 4 ครั้ง นอกจากนี้ยังพบการทำลายของแมลงศัตรูชนิดอื่นๆ คือ เพลี้ยแป้ง หนอนคืบกินใบ หนอนเจาะยอดมะม่วง และแมลงค่อมทอง สารฆ่าแมลง 5 ชนิด ได้แก่ lambdacyhalothrin (Karate zeon 2.5% CS), dinotefuron (Starkle 10% WP), carbosulfan (Posse 20% EC), cabaryl (Sevin 85%) และ imidacloprid (Confidor 10% SL) จำนวน 12 ครั้ง ในแปลงเกษตรกร มีการใช้สารฆ่าแมลง 7 ชนิด ได้แก่ lambdacyhalothrin (Karate zeon 2.5% CS), dinotefuron (Starkle 10% WP), acetamiprid (Molan 20%SP), carbosulfan (Posse 20% EC), cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC), malathion (Malathion 83% EC)และ imidacloprid (Confidor 10% SL) รวม 14 ครั้ง ผลผลิตมะม่วงในปีนี้ล้นตลาดและราคาถูกมาก เกษตรกรจึงต้องจำหน่ายผลผลิตตั้งแต่มะม่วงเป็นผลอ่อนและทยอยจำหน่ายโดยวิธีขายเหมาให้แก่ผู้รับซื้อ ประกอบกับสภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงในบางช่วงคือมีฝนตกในระยะมะม่วงออกดอกและระยะผลอ่อน ทำให้มะม่วงแตกใบอ่อนชุดใหม่และผลอ่อนร่วงหล่น ผลผลิตในแปลงทดสอบมีมากกว่าแปลงเกษตรกรเพียงเล็กน้อย การกำจัดวัชพืชโดยวิธีตัด ดายวัชพืช

แมลงศัตรูมะม่วง (ตารางที่ 1และ 2) พบปริมาณแมลงในแปลง IPM และแปลงเกษตรกรไม่แตกต่างกันนัก ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดสภาวะอากาศที่ร้อนและแห้งแล้งติดต่อกันนานในระยะมะม่วงแทงช่อดอกและระยะดอกบานผลกระทบทำให้ช่อดอกแห้งและร่วงไปในที่สุด ปริมาณแมลงโดยเฉพาะเพลี้ยไฟจึงพบค่อนข้างต่ำ ในแปลง IPM พบเฉลี่ย 12.10 ตัว/ยอด และแปลงเกษตรกร พบเฉลี่ย 15.77 ตัว/ยอด

การใช้สารเคมีระหว่างแปลง IPM และแปลงเกษตรกร (ตารางที่ 3) พบว่าแปลง IPM ใช้สารฆ่าแมลง 5 ชนิด ได้แก่ carbaryl (Sevin 85 %WP) อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ และ imidacloprid (Confidor 10% SL) เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ lambda-cyhalothrin ((Karate zeon 2.5% CS) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร และ carbosulfan (Posse 20% EC) อัตรา มล./น้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่น dinotefuran (Starkle 10% WP) เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง รวมใช้สารฆ่าแมลง 12 ครั้ง สารป้องกันกำจัดโรคพืช 1 ชนิด คือ carbendazim (Carbendazim 50%WP) จำนวน 12 ครั้ง เมื่อจำแนกโดยประเภทและจำนวนครั้งที่พ่นสาร แล้วจะเห็นว่า ในแปลง IPM พ่นสารฆ่าแมลงแต่เพียงอย่างเดียว 4 ครั้ง สารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ครั้ง สารฆ่าแมลงผสมสารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ครั้ง รวมสารเคมีที่ใช้เมื่อเกิดการระบาดของศัตรูมะม่วง พ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช รวม 20 ครั้ง

ส่วนแปลงเกษตรกรใช้สารฆ่าแมลง 7 ชนิดได้แก่ acetamiprid (Molan 20%SP), lambda cyhalothrin (Karate zeon 2.5% CS), dinotefuron (Starkle 10% WP), cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC), malathion (Malathion 83% EC), carbosulfan (Posse 20% EC), และ imidacloprid (Confidor 10% SL) รวม 14 ครั้ง สารป้องกันกำจัดโรคพืช 1 ชนิด คือ carbendazim (Carbendazim 50%WP) 12 ครั้ง ในแปลงเกษตรกร พ่นสารฆ่าแมลงเพียงอย่างเดียว 5 ครั้ง พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชอย่างเดียว 4 ครั้ง และการพ่นสารฆ่าแมลงและสารป้องกันกำจัดโรคพืชและปุ๋ย รวมจำนวนการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ทั้งหมด 22 ครั้ง มากกว่าในแปลง IPM 2 ครั้ง คิดเป็นผลต่างของการใช้สารในแปลงเกษตรกรมากกว่าแปลง IPM 9.09 % (ตารางที่ 4)

การลงทุนและผลตอบแทนของวิธี IPM และเกษตรกร (ตารางที่ 5) ต้นทุนการผลิตซึ่งประกอบไปด้วย ค่าสารฆ่าแมลง สารป้องกันกำจัดโรคพืช วัชพืช ปุ๋ย และค่าจ้างแรงงาน ต้นทุนรวมในแปลง IPM 7,655 บาท/ไร่ ปริมาณผลผลิตที่ได้ 605 กิโลกรัม/ไร่ ราคาผลผลิตเฉลี่ย ตลอดการเก็บผลได้ราคา 15 บาท/กิโลกรัม (ในแปลง IPM ทยอยเลือกเก็บผลเป็นรุ่นๆ และคัดแยกคุณภาพขายตามราคาตลาดท้องถิ่น) รายได้แปลง IPM 9,075 บาท/ไร่ คิดเป็นได้กำไร 1,420 บาท/ไร่ กำไรมากกว่าแปลงเกษตรกร 26.06%

ต้นทุนการผลิตในแปลงเกษตรกร รวมค่าใช้จ่าย 7,170 บาท/ไร่ น้อยกว่าแปลง IPM ที่มีการใช้สารฆ่าแมลงเพิ่มมากกว่า ปริมาณผลผลิตได้ 548 กิโลกรัม/ไร่ และได้ราคาผลผลิตเฉลี่ย 15 บาท/กิโลกรัม ซึ่งเป็นการขายแบบเหมาแปลงให้แก่ผู้รับซื้อ ได้รายได้ 8,220 บาท/ไร่ สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุนแปลง IPM 1.19 และแปลงเกษตรกร 1.15

ในปี 2550 ในแปลงการเปรียบเทียบการปฏิบัติแบบ IPM สำรวจพบแมลงศัตรูสำคัญ 2 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยจักจั่นมะม่วง และ เพลี้ยไฟ ตรวจนับโดยวิธีการสุ่มจากยอดอ่อน ใบอ่อน และช่อดอกมะม่วง สุ่มนับ 20 ยอด(ช่อ)/ต้น ปริมาณเพลี้ยไฟมากกว่าระดับ ET 2 ครั้ง พ่นด้วยสารฆ่าแมลงคือ imidacloprid (Confidor 10% SL) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร พบเพลี้ยจักจั่นมากกว่าระดับ ET 3 ครั้ง ในระยะช่อดอก สารฆ่าแมลงที่ใช้คือ lambda cyhalothrin (Karate zeon 2.5% CS) อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร ต่อมาดอกมะม่วงได้รับความเสียหายจากการทำลายของเพลี้ยจักจั่นมากประกอบกับสภาวะอากาศที่ร้อนมากกว่าปกติ ทำให้ดอกแห้งเร็วและร่วง และเมื่อเข้าสู่ระยะผลอ่อนการติดผลมีเพียง 20% ต่อมาในช่วงเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ สภาวะอุณหภูมิลดต่ำลงช่วงหนึ่ง เป็นผลให้มะม่วงเกิดการแทงช่อดอกออกมาใหม่ซ้อนกับผลผลิตรุ่นแรกที่ติดผลเพียงเล็กน้อย เมื่อมะม่วงชุดที่สองเข้าสู่ระยะติดผลอ่อนอายุประมาณ 30 วัน ห่อผลมะม่วงด้วยกระดาษสีน้ำตาล เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของศัตรูมะม่วง แต่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งบริเวณขั้วผลและภายในถุง

พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช prochloraz (Octave 50%WP) เพื่อป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนส รวม 3 ครั้ง

วัชพืชที่ขึ้นในสวนมะม่วงนอกจากจะทำให้การเข้าไปไปปฏิบัติดูแลรักษาในสวนมะม่วงเป็นไปด้วยลำบากแล้ว ยังเป็นที่หลบซ่อนของศัตรูพืชอื่นๆ เช่น โรค แมลง และสัตว์ศัตรูพืช วัชพืชที่พบในสวนมะม่วง คือ หญ้าตีนนก ผักโขม ผักเบี้ยหิน หญ้าคา สาบเสือ และ แห้วหมู การป้องกันและกำจัดวัชพืช โดยใช้เครื่องตัดแบบสะพายหลัง และใช้สารกำจัดวัชพืช โดยใช้สาร glyphosate 48 % อัตรา 125 มล./น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง

สรุปรวมการใช้สารเคมีในแปลงทดสอบ IPM ใช้สารฆ่าแมลง 6 ครั้ง สารป้องกันกำจัดโรคพืช 3 ครั้ง การกำจัดวัชพืช 1ครั้ง รวมการใช้สารเคมีทั้งหมด 9 ครั้ง (ตารางที่ 3)

การปฏิบัติของเกษตรกร พบว่ามีการะบาดของเพลี้ยไฟ เพลี้ยจักจั่นมะม่วงและหนอนเจาะยอด เกษตรกรใช้สารฆ่าแมลง 3 ชนิด คือ imidacloprid 10% อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง carbaryl 80 %WP อัตรา 45 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 3 ครั้ง และ cypermethrin/phosalone 6.25/22.5% EC อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง ใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim 50% WP 3 ครั้ง ใช้สารกำจัดวัชพืช glyphosate 48 % อัตรา 125 มล. ต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้งรวมการใช้สารเคมีในแปลงเกษตรกร ใช้สารฆ่าแมลง 8 ครั้ง สารป้องกันกำจัดโรคพืช 3 ครั้ง การกำจัดวัชพืช 1ครั้ง รวมการใช้สารเคมีทั้งหมด 12 ครั้ง

ผลผลิตมะม่วงชุดแรกในปีนี้ออกมามากพร้อมๆ กัน ทำให้เกิดล้นตลาดและราคาถูกมาก จึงจำเป็นต้องจำหน่ายผลผลิตตั้งแต่มะม่วงเป็นผลอ่อนเนื่องจากยังพอจะได้ราคาอยู่บ้างและเป็นการลดต้นทุนการผลิตด้วย โดยการทยอยจำหน่ายโดยวิธีการขายเหมาเป็นส่วนๆ ให้แก่พ่อค้าผู้รับซื้อในท้องถิ่น และบางช่วงที่สภาพอากาศเปลี่ยนแปลงระหว่างที่มะม่วงอยู่ในระยะการออกดอกและระยะผลอ่อน ทำให้มะม่วงแตกใบอ่อนชุดใหม่และผลอ่อนในชุดแรกร่วงหล่น การผลิตในปีนี้จึงได้ราคาไม่มากเท่าที่ควร ในขณะที่มะม่วงชุดสองมีการระบาดของเพลี้ยแป้ง ผลผลิตไม่ได้ดีเท่าที่ควร

การลงทุนและผลตอบแทนของวิธี IPM และเกษตรกร (ตารางที่ 5) ต้นทุนการผลิตซึ่งประกอบไปด้วย ค่าสารฆ่าแมลง สารป้องกันกำจัดโรคพืช วัชพืช ปุ๋ย และค่าจ้างแรงงาน ต้นทุนรวมในแปลง IPM 4,420 บาท/ไร่ ได้ผลผลิต 545 กิโลกรัม/ไร่ ราคาผลผลิตเฉลี่ย 10 บาท/กิโลกรัม รายได้รวม 4,540 บาท/ไร่ คิดเป็นกำไร 1,030 บาท/ไร่ กำไรมากกว่าแปลงเกษตรกร 18.93%

ต้นทุนการผลิตในแปลงเกษตรกร รวมค่าใช้จ่าย 4,915 บาท/ไร่ มากกว่าแปลง IPM ปริมาณผลผลิตได้ 580 กิโลกรัม/ไร่ และได้ราคาผลผลิตเฉลี่ย 8.5 บาท/กิโลกรัม ซึ่งเป็นการขายแบบเหมาแปลงให้แก่ผู้รับซื้อ ได้รายได้ 4,080 บาท/ไร่ สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุนแปลง IPM 1.23 และแปลงเกษตรกร 0.83

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนประชากรแมลงศัตรูมะม่วง ในแปลงมะม่วงกรรมวิธี IPM และแปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี พ.ศ. 2550

ระยะพืช	วิธีผสมผสาน						วิธีเกษตรกร							
	เพลี้ยไฟ	เพลี้ยจักจั่นฝอย	เพลี้ยจักจั่นมะม่วง	เพลี้ยแป้ง	หนอนแมลงวันผลไม้	แมลงวันผลไม้ (จากกับดัก)	แมงมุม	ด้วงเต่าตัวห้ำ	เพลี้ยไฟ	เพลี้ยจักจั่นฝอย	เพลี้ยจักจั่นมะม่วง	เพลี้ยแป้ง	หนอนแมลงวันผลไม้	แมลงวันผลไม้ (จากกับดัก)
ใบอ่อน	4.00	0.10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ดอกตูม	6.50	0	3.50	0	0	0	0	0	4.51	0.40	3.20	0	0	11.10
ช่อดอกบาน 25%	12.50	0	11.10	0	0	0	0	0	10.46	0.20	6.41	0	0	10.21
ช่อดอกบาน 50%	20.10	0	8.20	0	0	13.50	0	0	12.17	0	9.85	0	0	12.45
ช่อดอกบาน 75%	21.15	0	10.30	0	0	15.41	0	0	9.13	0	5.01	0	0	13.01
ติดผล	0.10	0	6.10	0	0	15.24	0	0	11.24	0	2.11	0	0	15.30
ผลอ่อน	0.38	0.08	0	0	44.30	16.40	0	0	0	0	0	38.90	0	13.46
ผลแก่	0	0.05	0	0	28.00	15.12	0	0	0	0	0	12.01	0.05	13.02

.

ตารางที่ 2 ปริมาณแมลงศัตรูมะม่วงและศัตรูธรรมชาติ (ตัว/ยอด) [1/] ในแปลง IPM และแปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี พ.ศ. 2549 – 2550

ชนิดแมลงศัตรูพืช	พ.ศ. 2549		พ.ศ. 2550	
	แปลง IPM	แปลงเกษตรกร	แปลง IPM	แปลงเกษตรกร
เพลี้ยไฟ	12.10 [1/]	15.77	15.11	9.45
เพลี้ยจักจั่นฝอย	0.08	0.02	0	0
เพลี้ยจักจั่นมะม่วง	6.67	5.75	7.81	5.02
เพลี้ยแป้ง	68.80	42.50	86.22	64.50
หนอนแมลงวันผลไม้	0.00	0.00	0.00	0.00
แมลงวันผลไม้(จากกับดัก)	31.30	38.08	0	0
ศัตรูธรรมชาติ				
แมงมุม	0.08	0.00	0.00	0.00
ไข่แมลงช้างปีกใส	0.05	0.08	0.00	0.00

ตารางที่ 3 ชนิดและจำนวนการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในแปลง IPM และแปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี พ.ศ. 2549 - 2550

วิธีการ	พ.ศ. 2549		พ.ศ. 2550	
	สารฆ่าแมลง/ครั้ง	สารป้องกันกำจัดโรคพืช/ครั้ง	สารฆ่าแมลง/ครั้ง	สารป้องกันกำจัดโรคพืช/ครั้ง
IPM	carbaryl / 4 lambda cyhalothrin / 3 dinotefuran / 1 carbosulfan / 2 imidacloprid / 2	carbendazim / 12	imidacloprid / 3 lambda cyhalothrin / 3	prochloraz / 3
รวม (ชนิด/ครั้ง)	5 / 12	1 / 12	2 / 6	1 / 3
เกษตรกร	acetamiprid / 1 lambda cyhalothrin / 4 dinotefuran / 1 cypermethrin + pholalone / 2 malathion / 1 carbosulfan / 2 imidacloprid / 3	carbendazim / 12	imidacloprid / 3 carbaryl / 3 cypermethrin + pholalone / 2	carbendazim / 3
รวม (ชนิด/ครั้ง)	7 / 14	1 / 12	3 / 8	1 / 3
ลดจำนวนครั้งการใช้สาร (%)	14.28		25.00	

ตารางที่ 4 การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และสารอื่น ๆ ในแปลง IPM และแปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี พ.ศ. 2549 - 2550

	พ.ศ. 2549		พ.ศ. 2550	
สารเคมี	IPM	เกษตรกร	IPM	เกษตรกร
สารฆ่าแมลง	4	5	3	5
สารป้องกันกำจัดโรคพืช	5	4	0	0
สารฆ่าแมลง + สารป้องกันกำจัดโรคพืช	5	5	3	3
สารฆ่าแมลง + สารป้องกันกำจัดโรคพืช + ปุ๋ย	2	2	0	0
สารฆ่าแมลง + ปุ๋ย	1	2	0	0
สารป้องกันกำจัดโรคพืช + ปุ๋ย	0	1	0	0
สารกำจัดวัชพืช	0	0	1	1
ปุ๋ย + ธาตุอาหารอื่น ๆ	1	1	1	1
paclobutrazol	1	1	0	0
KNO_3	1	1	0	0
รวม (ครั้ง)	20	22	8	10
ผลต่าง (%)	9.09		20.00	

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบต้นทุนการผลิต ราคาผลผลิต ในแปลงมะม่วงกรรมวิธี IPM และแปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี พ.ศ. 2549 - 2550

รายการ	พ.ศ 2549		พ.ศ 2550	
	IPM	เกษตรกร	IPM	เกษตรกร
1. ค่าสารฆ่าแมลง (บาท/ไร่)	1,895	2,010	1,420	1,615
2. ค่าสารป้องกันกำจัดโรคพืช (บาท/ไร่)	1,260	1,260	250	270
3. ค่าปุ๋ย (บาท/ไร่)	1,200	1,200	600	600
4. ค่าสารกำจัดวัชพืช (บาท/ไร่)	400	200	200	200
5. ค่าตอบแทน – ค่าจ้าง (บาท/ไร่)	2,900	2,500	1,950	2,230
ต้นทุนรวม (บาท/ไร่) (C)	7,655	7,170	4,420	4,915
ผลผลิต/ไร่	605	548	545	580
รายได้/ไร่ (บาท/ไร่) (R)	9,075 [1/]	8,220[1/]	5,450[2/]	4,080
กำไร (บาท/ไร่)	1,420	1,050	1,030	835
กำไร (%) [4/]	26.06		18.93	
สัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (R/C)	1.19	1.15	1.23	0.83

[1/] ราคาผลผลิตเฉลี่ยตลอดการเก็บผลผลิต เฉลี่ย 15 บาท / กิโลกรัม

[2/] ราคาผลผลิตเฉลี่ยตลอดการเก็บผลผลิต เฉลี่ย 10 บาท / กิโลกรัม

[3/] ราคาผลผลิตเฉลี่ยตลอดการเก็บผลผลิต เฉลี่ย 8.5 บาท / กิโลกรัม

[4/] เปอร์เซ็นต์กำไรเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงเกษตรกร

เอกสารอ้างอิง

เกรียงไกร จำเริญมา. 2544. สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่อยู่ระหว่างการติดตามเฝ้าระวัง. วารสารนนทรี ปีที่ 48 ฉบับเมษายน - มิถุนายน. น. 29 - 31.

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2547. เอกสารวิชาการเกษตร คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลง และสัตว์ศัตรูพืช ปี 2547 กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 284 หน้า.

จงรักษ์ จารุเนตร. 2537. Control of anthracnose disease on Rad-mango : in laboratory, greenhouse and orchard with nine fungicides. Thesis Master of science in Agriculture. Kasetsart University, Bangkok. 63 pp.

เตือนใจ บุญหลง สุชาติ วิจิตรานนท์ และ แสงมณี ชิงดวง. 2545. โรคไม้ผล. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 120 หน้า

ธารทิพย ภาสบุตร. 1997. Effects of some plant extracts on mango anthracnosefungus (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) Thesis Master of Science in Agriculture (Plant Pathology). Kasetsart University, Bangkok. 73 pp.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร “หมอพืช-ไม้ผล” ฉบับที่ 1 ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 172 หน้า.

นิรนาม. 2543. คู่มือพืชสวนเศรษฐกิจ กองส่งเริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร. 314 หน้า.

สราญจิต ไกรฤกษ์. 2542. แมลงศัตรูมะม่วง. น. 44 - 63. *ใน* แมลงศัตรูไม้ผล กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูไม้ผล สมุนไพรและเครื่องเทศ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สุชาติ วิจิตรานนท์.และ มาโนช ทศพล. 2537a. ศึกษาโรคขั้วผลเน่าของมะม่วงและการป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมี. หน้า 97-103 ใน รายงานผลงานวิจัยปี พ.ศ. 2537 กลุ่มงานวิจัยโรคไม้ผล พืชสวนอุตสาหกรรมและสมุนไพร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

สุชาติ วิจิตรานนท์.และ มาโนช ทศพล. 2537b. ศึกษาผลกระทบของการตัดแต่งกิ่งวิธีการต่างๆต่อการระบาดของโรคแอนแทรคโนสในสวนมะม่วง. หน้า 122-125 ใน รายงานผลงานวิจัยปี พ.ศ. 2537 กลุ่มงานวิจัยโรคไม้ผล พืชสวนอุตสาหกรรมและสมุนไพร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Johnson G.I., A.W.Cooke, P.E. Mayer. 1995. Mangoes diseases. Pages 46-62 in. Tropical Fruits : Postharvest Diseases of Horticultural Produce. Vol. II.

Lim, L. K. and K.C. Khoo. 1985. Diseases and Disorder of Mango in Malaysia. Tropical Press, Kuala Lumpur, Malaysia.

Somsiri Sangchote. 1988. Botryodiplodia stem end rot of mango and its control. Page 40-41. in Proceeding of the 6th Methodological Techniques in Biological Science. 16-17 Nov. 1988. Nakhon Pathom.

Suchat Vichitrananda. 1995. Supporting research in mango pathology. Pages 253-276. in Proceedings of the Semi Annual Workshop Integrated Pest Management in Selected Fruit Trees. 12-14 June 1995. Bangkok.

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

การบริหารศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสาน

Integrated Pests Management on Okra

สมรวย รวมชัยอภิกุล มนตรี เอี่ยมวิมังสา คมสัน นครศรี
สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น ปิยรัตน์ เขียนมีสุข เยาวภา ตันติวานิช
อัจฉรา ตันติโชดก ดำรง เวชกิจ จินตนา ภู่มงกุฎชัย[1/]
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การบริหารศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสาน ดำเนินการในแปลงเกษตรกร จำนวน 2 ราย แปลงละ 1 ไร่ ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2549 และมกราคม-เมษายน 2550 มีการจัดการด้านแมลงและไรศัตรูพืช โรคพืช และวัชพืช โดยเปรียบเทียบชนิด และจำนวนศัตรูกระเจี๊ยบเขียว และศัตรูธรรมชาติ ตลอดจน ชนิด อัตราการใช้และต้นทุนการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช น้ำหนักผลผลิต ราคาผลผลิต และผลตอบแทนต่อการลงทุนระหว่างวิธีผสมผสานที่มีการใช้ระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจ สารสกัดจากธรรมชาติ เชื้อจุลินทรีย์ และสารฆ่าแมลงที่มีในคำแนะนำ เปรียบเทียบกับวิธีของเกษตรกร

การบริหารศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสานเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียว พบแมลงศัตรูที่สำคัญ ได้แก่ หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยจักจั่นฝ้าย เพลี้ยอ่อนฝ้าย เพลี้ยแป้ง และแมลงหวี่ขาวยาสูบ การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูดังกล่าว ใช้สารสกัดสะเดา ไวรัส NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย และสารฆ่าแมลง ได้แก่ imidacloprid 10 %SL และ chlorfluazuron 5 %EC เมื่อแมลงสูงเกินระดับเศรษฐกิจ ใช้อัตราการพ่นสาร 100 ลิตรต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกรพ่นด้วยอัตรา 120 ลิตรต่อไร่ เมื่อกระเจี๊ยบเขียวอายุ 1-45 วัน ลดการใช้สารลงได้ 16.67 % หลังจากนั้นเมื่อกระเจี๊ยบเขียวอายุมากกว่า 45 วัน วิธีผสมผสานใช้อัตราการพ่นสาร 120 ลิตรต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกรพ่นด้วยอัตรา 200 ลิตรต่อไร่ ลดการใช้สารลงได้ 40.00 %

โรคพืชในแปลงวิธีของเกษตรกร พบอาการของโรคเส้นใบเหลือง และ โรคใบจุด ส่วนโรคพืชอื่นๆ ทั้ง 2 วิธี มีการทำลายในระดับต่ำไม่ก่อให้เกิดความเสียหาย วัชพืชสำคัญที่พบในแปลงทั้ง 2 วิธี ได้แก่ หญ้านกสีชมพู ข้าว ผักเบี้ยหิน หญ้าตีนนก หญ้าแห้วหมู และผักปุ้ง แปลงวิธีผสมผสานทำการป้องกันกำจัดโดยพ่นสารป้องกันกำจัดวัชพืช alachlor 48 %EC หรือ pendimethalin 33 %EC หลังหยอดเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว 1 ครั้ง หลังจากนั้นใช้วิธีการถอนต้น ในปี 2549 วิธีผสมผสาน

รหัสโครงการ 07-01-49-04

กลุ่มวิจัยสารพิษตกค้าง[1/] สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

และวิธีของเกษตรกร ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จำนวน 9 ครั้งเท่ากัน วิธีผสมผสาน ได้น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด 1,581.80 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.60 เท่า ส่วนวิธีของเกษตรกรได้น้ำหนักผลผลิต 1,343.00 กิโลกรัมไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.10 เท่า ส่วนในปี 2550 วิธีผสมผสาน ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 9 ครั้ง ส่วนวิธีของเกษตรกร ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 13 ครั้ง สามารถลดจำนวนครั้งของการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชลงได้ 30.77 % วิธีผสมผสาน ได้น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด 1,417.30 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.31 เท่า ส่วนวิธีของเกษตรกรได้น้ำหนักผลผลิต 1,326.00 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 1.96 เท่า

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียว (Okra, *Hibiscus esculentus* Linnaeus) เป็นพืชผักส่งออกในรูปผักสดเป็นส่วนใหญ่ ตลาดส่งออกรายใหญ่ของไทย ได้แก่ ญี่ปุ่น แหล่งปลูกกระเจี๊ยบเขียวเพื่อการส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี สมุทรสาคร นครราชสีมา พิจิตร และอ่างทอง สำหรับพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวที่ปลูกเพื่อการส่งออกนั้นเกษตรกรต้องใช้พันธุ์ที่ประเทศญี่ปุ่นกำหนด โดยทางบริษัทผู้ส่งออกในประเทศไทย จะเป็นผู้นำเมล็ดพันธุ์ให้กับเกษตรกรโดยตรง พันธุ์ที่ปลูก ได้แก่ กรีนสตาร์ 152 เป็นต้น พันธุ์ดังกล่าวเป็นพันธุ์ลูกผสมมีรูปร่างลักษณะของฝักขนาด และสีตรงตามมาตรฐานส่งออกที่ตลาดต่างประเทศต้องการ มีราคาขายส่งในปัจจุบันกิโลกรัมละ 20 บาท หลังเก็บเกี่ยวฝักมาได้แล้วเกษตรกรจะนำผลผลิตที่เก็บได้มาทำการคัดเกรดก่อน แล้วจึงนำไปใส่ลงในตะกร้าพลาสติกที่มีรูระบายอากาศโดยรอบ ภาชนะบรรจุผลผลิตต้องวางไว้ในร่มเสมอ (กรมวิชาการเกษตร, 2545) ขั้นตอนต่อมาคือบริษัทผู้ส่งออก จะมารับจากจุดรวมรับซื้อผลผลิต พร้อมใบรับสินค้ากับเกษตรกร ผลผลิตดังกล่าวนี้ทางบริษัทจะทำการคัดอีกครั้ง และทุกๆ 7 วัน จะแจ้ง เปอร์เซ็นต์ฝักที่อยู่ในมาตรฐาน และไม่ได้มาตรฐาน พร้อมทั้งราคาผลผลิตที่ได้ให้กับเกษตรกร

ปัญหาหนึ่งที่สำคัญทำให้ผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียวไม่ได้มาตรฐานการส่งออก คือ แมลงศัตรูมีหลายชนิด มีทั้งประเภทปากดูด ได้แก่ เพลี้ยจักจั่นฝ้าย เพลี้ยไฟฝ้าย เพลี้ยอ่อนฝ้าย แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้ง ส่วนพวกหนอนผีเสื้อ ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้ผัก เป็นต้น (ปิยรัตน์ และคณะ, 2542) จากการศึกษาเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกระเจี๊ยบเขียว ปิยรัตน์และคณะ (2531, 2533) รายงานพบว่าสารที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนหนามเจาะสมอฝ้าย ได้แก่ chlorfluazuron 5 %EC และ ไวรัส NPV อุราพร และคณะ (2547) พบว่าสารที่มี

ประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้าย คือ imidacloprid 10 %SL ส่วนเพลี้ยอ่อนฝ้ายใช้สารสกัดสะเดา 0.1 %Aza. สอดคล้องกับ ปิยรัตน์ และคณะ (2532) ปิยรัตน์ และคณะ (2540) พบว่าการพ่นสารกำจัดแมลงศัตรูกระเจี๊ยบเขียวโดยวิธีแบบผสมผสาน ด้วยอัตราการพ่นสาร 240 ลิตรต่อไร่ สามารถลดอัตราการใช้สารในแต่ละครั้งลงได้ 40.00 % เมื่อเทียบกับวิธีของเกษตรกรซึ่งพ่นด้วยอัตรา 400 ลิตรต่อไร่ และลดจำนวนครั้งของการพ่นสารได้อีก 27.27-45.45 % และผลตอบแทนต่อการลงทุนได้สูงกว่าวิธีของเกษตรกร จากการสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในปี 2548 เกษตรกรใช้สารฆ่าแมลงผสมกันจำนวน 3 ชนิด โดยใช้ช่วงพ่นทุก 7 วัน และอัตราการพ่นสาร 200 ลิตรต่อไร่

การบริหารศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสาน นั้นมีจุดประสงค์ เพื่อลดการใช้สารเคมีหาทางเลือกอื่นทดแทนการใช้สารเคมีด้วยการใช้สารสกัดสะเดา และเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนการใช้สารฆ่าแมลงต้องมีอยู่ในคำแนะนำ นอกจากพิจารณาถึงประสิทธิภาพแล้วยังคำนึงถึงความเป็นพิษต่อพืช และพิษตกค้างในผลผลิตเป็นสำคัญ ทั้งนี้จะทำการพ่นสารดังกล่าวเมื่อพบแมลงสูงเกินระดับเศรษฐกิจ และมีการใช้เทคนิคการพ่นสารด้วยการปรับหัวฉีดให้เป็นละอองฝอย สามารถลดอัตราการพ่นสารต่อไร่ลงได้ ซึ่งวิธีดังกล่าวข้างต้นนี้เป็นวิธีการที่จะนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสานต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

-แปลงกระเจี๊ยบเขียว ขนาดพื้นที่แปลงละ 1 ไร่

-เมล็ดกระเจี๊ยบเขียว พันธุ์ กรีนสตาร์ 152

-สารฆ่าแมลง chlorfluazuron 5 %EC และ imidacloprid 10 %SL

-สารสกัดสะเดา 0.1 %Aza

-ไวรัส NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย

-สารป้องกันกำจัดโรคพืช

-สารกำจัดวัชพืช alachlor 48 %EC และ pendimethalin 33 %EC

-สารจับใบ

-ปุ๋ยเคมี สูตร 15-15-15 และ สูตร 25-7-7

-เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงดันน้ำ

-อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ กล่องพลาสติก ขวดดอง และแอลกอฮอล์

วิธีการ

ทำการทดสอบในแปลงกระเจี๊ยบเขียว ขนาด 1 ไร่ จากเกษตรกร จำนวน 2 ราย โดยเปรียบเทียบวิธีผสมผสาน กับวิธีของเกษตรกร มีวิธีดังนี้ ทั้งวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ปลูกกระ

เจี๊ยบเขียว พันธุ์ กรีนสตาร์ 152 ด้วยระยะปลูก 100 x 50 ซม. จำนวน 2 ต้นต่อหลุม ในพื้นที่ 1 ไร่ จะปลูกได้ 3,200 หลุม ตรวจนับศัตรูกระเจี๊ยบเขียว และศัตรูธรรมชาติ ทุก 7 วัน หลังงอก 2 สัปดาห์ โดยสุ่มนับครั้งละ 100 ต้น ดังรายละเอียดดังนี้

1. เพลี้ยไฟฝ้าย เพลี้ยจักจั่นฝ้าย เพลี้ยอ่อนฝ้าย และแมลงหวี่ขาวยาสูบ สุ่มนับต้นละ 5 ใบ นับจากใบยอดลงมา ส่วนในระยะเก็บผลผลิตสุ่มนับเพลี้ยไฟฝ้ายที่ฝัก

2. เพลี้ยแป้ง หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย และศัตรูธรรมชาติ ตรวจนับทั้งต้น

วิธีการป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสาน มี รายละเอียดการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ดังนี้

1. เพลี้ยจักจั่นฝ้าย หรือเพลี้ยไฟฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ ตั้งแต่ 1 ตัวต่อใบหรือฝัก

2. แมลงหวี่ขาวยาสูบสูงเกินระดับเศรษฐกิจ ตั้งแต่ 0.10 ตัวต่อใบ

3. เพลี้ยอ่อนฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ ตั้งแต่ 75 ต้นต่อ 100 ต้น

4. เพลี้ยแป้งสูงเกินระดับเศรษฐกิจ ตั้งแต่ 1 ตัวต่อต้น

พ่นด้วยสารฆ่าแมลง imidacloprid 10 %SL อัตรา 20 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ในการป้องกันกำจัดแมลงทั้ง 4 ชนิด ที่กล่าวมา และ สารสกัดสะเดา 0.1 %Aza อัตรา 200 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนฝ้าย โดยใช้อัตราการพ่นสาร 100 ลิตรต่อไร่ เมื่อกระเจี๊ยบเขียว อายุ 1-45 วัน และอัตราการพ่นสาร 120 ลิตรต่อไร่ เมื่อกระเจี๊ยบเขียว อายุมากกว่า 45 วัน ด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงดันน้ำ

5. หนอนกระทู้หอมสูงเกินกว่าระดับเศรษฐกิจ คือ กลุ่มไข่มากกว่า 1 กลุ่ม หรือหนอนมากกว่า 1 ตัวต่อต้น

6. หนอนเจาะสมอฝ้ายสูงเกินกว่าระดับเศรษฐกิจ คือไข่มากกว่า 1 ฟอง หรือหนอนมากกว่า 0.5 ตัวต่อต้น

7. หนอนกระทู้ผักสูงเกินกว่าระดับเศรษฐกิจ คือ กลุ่มไข่มากกว่า 1 กลุ่ม หรือหนอนมากกว่า 1 ตัวต่อต้น

8. หนอนหนามเจาะสมอฝ้ายสูงเกินกว่าระดับเศรษฐกิจ คือหนอนมากกว่า 0.2 ตัวต่อต้น

การป้องกันกำจัดพ่นด้วยสารฆ่าแมลง chlorfluazuron 5 %EC อัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร และ ไวรัส NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย อัตรา 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ใช้อัตราการพ่นสาร 100 ลิตรต่อไร่ เมื่อกระเจี๊ยบเขียว อายุ 1-45 วัน และอัตราการพ่นสาร 120 ลิตรต่อไร่ เมื่อกระเจี๊ยบเขียว อายุมากกว่า 45 วัน ด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบใช้แรงดันน้ำ

9. โรคเส้นใบเหลือง พบต้นกระเจี๊ยบเขียวเริ่มแสดงอาการของโรค คือ เส้นใบเหลือง ทำการถอนต้นเป็นโรคทิ้งทำลายทันที

10. วัชพืช พ่นสาร alachlor 48 %EC หรือ pendimethalin 33 %EC หลังหยอดเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว เมื่อกระเจี๊ยบเขียวงอกแล้วใช้วิธีการถอนต้น

วิธีของเกษตรกร รายละเอียดการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ดังนี้

1. ทำการพ่นสารฆ่าแมลง โดยไม่มีการใช้ระดับเศรษฐกิจ ด้วยการพ่นสาร abamectin 1.8 %EC, dinotefuran 10 %WP, acetamiprid 2.85 %EC, emamectin benzoate 1.92 %EC, เชื้อราบิววาเรีย และ petroleum spray oil 99 %EC อัตรา 30 มล., 10 กรัม, 30 มล., 10 มล., 50 มล. และ 30 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ โดยผสมสารตั้งแต่ 2 ชนิด ขึ้นไป ใช้อัตราการพ่นสาร 120 ลิตรต่อ ไร่ เมื่อกระเจี๊ยบเขียว อายุ 1-45 วัน และอัตราการพ่นสาร 200 ลิตรต่อไร่ เมื่อกระเจี๊ยบเขียว อายุมากกว่า 45 วัน ด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบใช้แรงดันน้ำสูง

2. วัชพืช พ่นสาร alachlor 48 %EC หรือ paraquat 27.6 %SL หลังหยอดเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว เมื่อกระเจี๊ยบเขียวงอกแล้วใช้วิธีการถอนต้น

การบันทึกข้อมูล

ทั้ง 2 วิธีการ บันทึกจำนวนแมลงศัตรูพืช เช่น เพลี้ยไฟฝ้าย เพลี้ยจักจั่นฝ้าย แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยอ่อนฝ้าย เพลี้ยแป้ง หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย และแมลงศัตรูอื่นๆ ที่พบระบาดเป็นครั้งคราว จำนวนศัตรูธรรมชาติ และศัตรูพืชอื่นๆ เช่น โรคเส้นใบเหลือง และโรคใบจุด เป็นต้น ชนิด อัตรา ราคา และจำนวนครั้งของการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช น้ำหนักผลผลิตฝักดีที่ได้มาตรฐานส่งออก และฝักที่ไม่ได้มาตรฐานการส่งออก รวมทั้งราคาผลผลิต และค่าใช้จ่ายที่เป็นต้นทุนการผลิตอื่นๆ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เดือน ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550

สถานที่ แปลงเกษตรกร อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ชนิดของศัตรูพืชที่สำคัญที่พบในแปลงทดสอบ ได้แก่ แมลง และไรศัตรูพืช พบ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม เพลี้ยจักจั่นฝ้าย เพลี้ยไฟฝ้าย แมลงหวี่ขาวยาสูบ เพลี้ยอ่อนฝ้าย เพลี้ยแป้ง และไรแดง โรคพืช ได้แก่ โรคเส้นใบเหลือง และโรคใบจุด ส่วนวัชพืช พบ หญ้านกสีชมพู ข้าว ผักเบี้ยหิน หญ้าตีนนก หญ้าแห้วหมู และผักบุ้ง ศัตรูธรรมชาติ พบด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) และแมงมุมในแปลงวิธีผสมผสานพบ 5 ชนิด ได้แก่ แมงมุมกระโดด แมงมุมปู แมงมุมขาหวี แมงมุมใยกลม และแมงมุมในวงศ์ Philodromidae (ตารางที่ 1)

ในปี 2549 จากการตรวจนับศัตรูกระเจี๊ยบเขียว จำนวน 100 ต้นต่อไร่ ทุก 7 วัน จำนวน 13 ครั้ง ในแปลงวิธีผสมผสาน พบแมลงศัตรูพืชสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ชนิด ได้แก่ แมลงหวี่ขาวยาสูบสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง จำนวน 0.12 และ 0.14 ตัวต่อใบ เพลี้ยอ่อนฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง จำนวน 96 และ 98 ต้นต่อ100 ต้น หนอนหนามเจาะสมอฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง จำนวน 0.23 ตัวต่อต้น หนอนเจาะสมอฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง จำนวนไข่ระหว่าง 1.08-1.75 ฟองต่อต้น และ เพลี้ยแป้งสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง จำนวน 1.00 ตัวต่อต้น สำหรับเพลี้ยจักจั่นฝ้าย และหนอนกระทู้ผัก พบต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจตลอดการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีของเกษตรกร พบแมลงหวี่ขาวยาสูบสูงเกินระดับ เศรษฐกิจ 3 ครั้ง จำนวนระหว่าง 0.10 - 0.27 ตัวต่อใบ หนอนกระทู้ผักสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 1 ครั้ง จำนวน 3.04 ตัวต่อต้น และหนอนเจาะสมอฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง จำนวนไข่ระหว่าง 1.49-2.10 ฟองต่อต้น (ตารางที่ 2)

ศัตรูธรรมชาติในแปลงวิธีผสมผสาน พบด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) จำนวน 5 ครั้ง ระหว่าง 1-6 ตัวต่อ 100 ต้น รวมทั้งหมด 11 ตัว และพบแมงมุม จำนวน 12 ครั้ง ระหว่าง 4-22 ตัวต่อ 100 ต้น รวมทั้งหมด 145 ตัว เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีของเกษตรกร พบด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) จำนวน 4 ครั้ง ระหว่าง 1-3 ตัวต่อ100 ต้น รวมทั้งหมด 7 ตัว พบแมงมุม จำนวน 9 ครั้ง ระหว่าง 1-20 ตัวต่อ100 ต้น รวมทั้งหมด 62 ตัว (ตารางที่ 3) จะเห็นได้ว่าจากการสำรวจศัตรูธรรมชาติในแปลงกระเจี๊ยบเขียว พบด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) และแมงมุมตัวห้ำในแปลงแบบวิธีผสมผสาน มากกว่าแปลงของเกษตรกร แสดงให้เห็นว่าแบบวิธีผสมผสาน เป็นวิธีที่เหมาะสมกว่าและสามารถอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติได้

จากการตรวจนับเปอร์เซ็นต์การทำลายของโรคพืชชนิดต่างๆ ในแปลงกระเจี๊ยบเขียว โดยสุ่มสำรวจชนิด และเปอร์เซ็นต์การทำลายของโรคพืช พบโรคเส้นใบเหลืองเฉพาะในแปลงวิธีของเกษตรกร จำนวน 1 ต้นต่อ 100 ต้น ที่พืชอายุ 70 วัน ส่วนโรคพืชอื่นๆ ทั้ง 2 แปลง พบการทำลายในระดับต่ำไม่ก่อให้เกิดความเสียหาย ส่วนวัชพืชสำคัญที่พบในแปลงทั้ง 2 วิธี ได้แก่ หญ้านกสีชมพู ข้าว หญ้าตีนนก และผักเบี้ยหิน ทำการป้องกันกำจัดโดยพ่นสารป้องกันกำจัดวัชพืช หลังหยอดเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว 1 ครั้ง หลังจากนั้นใช้วิธีการถอนต้น

เปรียบเทียบชนิด และอัตราการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกระเจี๊ยบเขียว (ตารางที่ 4) ในแปลงวิธีผสมผสาน มีการใช้สารกำจัดแมลง ได้แก่ imidacloprid 10 %SL, chlorfluazuron 5 %EC, imidacloprid 10 %SL+chlorfluazuron 5 %EC ด้วยอัตราตามคำแนะนำ และ สารสกัดสะเดา 0.1 %Aza. อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร จำนวน 3, 3, 1 และ 1 ครั้ง ตามลำดับ พ่นเมื่อพบแมลงศัตรูพืชสูงเกินระดับเศรษฐกิจ และสาป้องกันกำจัดวัชพืช alachlor 48 %EC อัตรา อัตรา 160 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร รวมพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช รวม 9 ครั้ง ส่วนวิธีของเกษตรกร มีการใช้สารป้องกันกำจัดแมลง 4 ชนิด ได้แก่ abamectin 1.8 %EC อัตรา 15 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร dinotefuran 10 %WP อัตรา 10 กรัม น้ำ 20 ลิตร, acetamiprid 2.85 %EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร และ petroleum spray oil 99 %EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกระเจี๊ยบเขียว ซึ่งเป็นสารป้องกันกำจัดแมลง ที่ไม่อยู่ในคำแนะนำ โดยผสมสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป มี 4 แบบ คือ แบบที่ 1-4 จำนวน 1, 2, 4 และ 1 ครั้ง ตามลำดับ และสารป้องกันกำจัดวัชพืช alachlor 48 %EC อัตรา อัตรา 160 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร รวมพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช รวม 9 ครั้ง เช่นกัน

อัตราการพ่นสารต่อไร่ เมื่อพืชอายุ 1-45 วันในแปลงวิธีผสมผสาน ใช้อัตราการพ่น 100 ลิตรต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร ใช้อัตราการพ่น 120 ลิตรต่อไร่ สามารถลดปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชลงได้ 16.67 % และเมื่อพืชอายุมากกว่า 45 วัน ในแปลงวิธีผสมผสานใช้อัตราการพ่น 120 ลิตรต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร ใช้อัตราการพ่น 200 ลิตรต่อไร่ สามารถลดปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชลงได้ 40.00 % (ตารางที่ 5)

เปรียบเทียบผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียว ระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร จากการเก็บผลผลิตทุกวันเป็นเวลา 49 วัน พบว่า ได้น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด 1,581.80 และ 1,343.00 กิโลกรัมต่อไร่ เป็นน้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐานส่งออก 1,388.60 และ 1,168.60 กิโลกรัมต่อไร่ และ

น้ำหนักผลผลิตไม่ได้มาตรฐานส่งออก 193.20 และ 174.40 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคาผลผลิต 28,738.00 และ 24,244.00 บาทต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

เมื่อเปรียบเทียบผลตอบแทนระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร โดยคำนึงถึงค่าใช้จ่ายในการลงทุน เป็นเงิน 11,063.00 และ 11,538.00 บาทต่อไร่ ราคาผลผลิต เป็นเงิน 28,738.00 และ 24,244.00 บาทต่อไร่ เพราะฉะนั้นจะมีรายได้สุทธิ เป็นเงิน 17,675.00 และ 12,706.00 บาทต่อไร่ ตามลำดับ ผลวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์ พบว่าวิธีแบบผสมผสานมีสัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.6 เท่า ส่วนวิธีของเกษตรกร 2.1 เท่า (ตารางที่ 7)

ในปี 2550 จากการตรวจนับศัตรูกระเจี๊ยบเขียว จำนวน 100 ต้นต่อไร่ ทุก 7 วัน จำนวน 13 ครั้ง ในแปลงวิธีผสมผสาน พบแมลงศัตรูพืชสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ชนิด ได้แก่ แมลงหวี่ขาวยาสูบสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 5 ครั้ง จำนวน 0.36-1.92 ตัวต่อใบ เพลี้ยอ่อนฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง จำนวน 92 และ 99 ต้นต่อ100 ต้น และหนอนเจาะสมอฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง จำนวนไข่ระหว่าง 1.01-1.41 ฟองต่อต้น และหนอน 0.65 ตัวต่อต้น สำหรับเพลี้ยจักจั่นฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม และเพลี้ยแป้ง พบต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจตลอดการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีของเกษตรกร พบแมลงหวี่ขาวยาสูบสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 9 ครั้ง จำนวนระหว่าง 0.24 – 2.71 ตัวต่อใบ เพลี้ยจักจั่นฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 6 ครั้ง จำนวนระหว่าง 1.38 – 5.15 ตัวต่อใบ เพลี้ยอ่อนฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง จำนวน 94 และ 100 ต้นต่อ100 ต้น และหนอนเจาะสมอฝ้ายสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง จำนวนไข่ระหว่าง 1.01-1.65 ฟองต่อต้น (ตารางที่ 8)

ศัตรูธรรมชาติในแปลงวิธีผสมผสาน พบด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) จำนวน 2 ครั้ง ระหว่าง 1-3 ตัวต่อ 100 ต้น รวมทั้งหมด 4 ตัว และพบแมงมุม จำนวน 10 ครั้ง ระหว่าง 2-14 ตัวต่อ 100 ต้น รวมทั้งหมด 62 ตัว เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีของเกษตรกร พบด้วงเต่า *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius) จำนวน 2 ครั้ง ระหว่าง 3-7 ตัวต่อ100 ต้น รวมทั้งหมด 10 ตัว พบแมงมุม จำนวน 8 ครั้ง ระหว่าง 2-9 ตัวต่อ100 ต้น รวมทั้งหมด 42 ตัว (ตารางที่ 9) จะเห็นได้ว่าจากการสำรวจศัตรูธรรมชาติในแปลงกระเจี๊ยบเขียว พบศัตรูธรรมชาติในแปลงแบบวิธีผสมผสาน มากกว่าแปลงของเกษตรกร แสดงให้เห็นว่าแบบวิธีผสมผสานเป็นวิธีที่เหมาะสมกว่าและสามารถอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติได้

เปรียบเทียบชนิด และอัตราการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกระเจี๊ยบเขียว (ตารางที่ 10) ในแปลงวิธีผสมผสาน มีการใช้สารกำจัดแมลง ได้แก่ imidacloprid 10 %SL ,chlorfluazuron 5 %EC, imidacloprid 10 %SL+chlorfluazuron 5 %EC และไวรัส NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย จำนวน 4, 1, 2 และ 1 ครั้ง ตามลำดับ ด้วยอัตราตามหนังสือคำแนะนำการใช้สารฯ 2549 พ่นเมื่อพบแมลงศัตรูพืชสูงเกินระดับเศรษฐกิจ และพ่นสาร pendimethalin 33 %EC อัตรา 195 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตรจำนวน 1 ครั้ง ป้องกันกำจัดวัชพืชหลังยอดเมล็ด รวมพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้งหมด จำนวน 9 ครั้ง ส่วนวิธีของเกษตรกร มีการใช้สารกำจัดแมลง ได้แก่ imidacloprid 10 %SL อัตรา 20-40 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร, imidacloprid 10 %SL + emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 20+10 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร, emamectin benzoate 1.92 %EC อัตรา 10-15 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร และเชื้อราบิววาเรีย อัตรา 50 มล./น้ำ 20 ลิตร จำนวน 4, 3, 2 และ 3 ครั้ง ตามลำดับ เพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกระเจี๊ยบเขียว ซึ่งเป็นสารกำจัดแมลงบางชนิดไม่อยู่ในคำแนะนำ และพ่นสาร alachlor 48 %EC+ paraquat 27.6 %SL อัตรา 200+100 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดวัชพืช รวมพ่นสารทั้งหมด จำนวน 13 ครั้ง แปลงวิธีผสมผสานสามารถลดจำนวนครั้งของการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชลงได้ 30.77 % (ตารางที่ 11)

อัตราการพ่นสารต่อไร่ เมื่อพืชอายุ 1-45 วันในแปลงวิธีผสมผสาน ใช้อัตราการพ่น 100 ลิตรต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร ใช้อัตราการพ่น 120 ลิตรต่อไร่ สามารถลดปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชลงได้ 16.67 % และเมื่อพืชอายุมากกว่า 45 วัน ในแปลงวิธีผสมผสานใช้อัตราการพ่น 120 ลิตรต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกร ใช้อัตราการพ่น 200 ลิตรต่อไร่ สามารถลดปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชลงได้ 40.00 % (ตารางที่ 11)

จากการตรวจนับเปอร์เซ็นต์การทำลายของโรคพืชชนิดต่างๆ ในแปลงกระเจี๊ยบเขียว โดยสุ่มสำรวจชนิด และเปอร์เซ็นต์การทำลายของโรคพืช พบโรคใบจุดในแปลงวิธีของเกษตรกร จำนวน 100 ต้นต่อ 100 ต้น ต้น ที่พืชอายุ 60 วัน ส่วนโรคพืชอื่นๆ ทั้ง 2 แปลง พบการทำลายในระดับต่ำไม่ก่อให้เกิดความเสียหาย ส่วนวัชพืชสำคัญที่พบในแปลง ได้แก่ หญ้านกสีชมพู ข้าววัชพืช ผักเบี้ยหิน หญ้าตีนนก หญ้าแห้วหมู และผักปุ้ง ทำการป้องกันกำจัดโดยพ่นสารป้องกันกำจัดวัชพืช หลังหยอดเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว 1 ครั้ง หลังจากนั้นใช้วิธีการถอนต้น

เปรียบเทียบผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียว ระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร จากการเก็บผลผลิตทุกวันเป็นเวลา 52 วัน พบว่า ได้น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด 1,417.30 และ 1,326.00 กิโลกรัมต่อไร่ เป็นน้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐานส่งออก (M) 1,084.50 และ 987.50 กิโลกรัมต่อไร่

น้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐานส่งออก (L) 130.80 และ 163.50 กิโลกรัมต่อไร่ และน้ำหนักผลผลิตไม่ได้มาตรฐานส่งออก 202.00 และ 175.00 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคาผลผลิต 24,008.00 และ 22,260.00 บาทต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

เมื่อเปรียบเทียบผลตอบแทนระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร โดยคำนึงถึงค่าใช้จ่ายในการลงทุน เป็นเงิน 10,385.00 และ 11,374.00 บาทต่อไร่ ราคาผลผลิต เป็นเงิน 24,008.00 และ 22,260.00 บาทต่อไร่ เพราะฉะนั้นจะมีรายได้สุทธิ เป็นเงิน 13,623.00 และ 10,886 บาทต่อไร่ ตามลำดับ ผลวิเคราะห์เชิงเศรษฐศาสตร์ พบว่า วิธีแบบผสมผสาน มีสัดส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.31 เท่า ส่วนวิธีของเกษตรกร 1.96 เท่า (ตารางที่ 13)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การบริหารศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสานเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียว พบแมลงศัตรูที่สำคัญ ได้แก่ หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยอ่อนฝ้าย เพลี้ยแป้ง และแมลงหวี่ขาวยาสูบ การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูดังกล่าว ใช้สารสกัดสะเดา ไวรัส NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย และสารฆ่าแมลง ได้แก่ imidacloprid 10 %SL และ chlorfluazuron 5 %EC เมื่อแมลงสูงเกินระดับเศรษฐกิจ ใช้อัตราการพ่นสาร 100 ลิตรต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกรพ่นด้วยอัตรา 120 ลิตรต่อไร่ เมื่อกระเจี๊ยบเขียวอายุ 1-45 วัน ลดการใช้สารลงได้ 16.67 % หลังจากนั้นเมื่อกระเจี๊ยบเขียวอายุมากกว่า 45 วัน วิธีผสมผสานใช้อัตราการพ่นสาร 120 ลิตรต่อไร่ ส่วนวิธีของเกษตรกรพ่นด้วยอัตรา 200 ลิตรต่อไร่ ลดการใช้สารลงได้ 40.00 %

โรคพืชในแปลงวิธีของเกษตรกร พบอาการของโรคเส้นใบเหลือง และ โรคใบจุด ส่วนโรคพืชอื่นๆ ทั้ง 2 วิธี มีการทำลายในระดับต่ำไม่ก่อให้เกิดความเสียหาย ส่วนวัชพืชสำคัญที่พบในแปลงทั้ง 2 วิธี ได้แก่ หญ้าข้าวนก ข้าว ผักเบี้ยหิน หญ้าตีนนก หญ้าแห้วหมู และผักบุ้ง แปลงวิธีผสมผสาน ทำการป้องกันกำจัดโดยพ่นสารป้องกันกำจัดวัชพืช alachlor 48 %EC หรือ pendimethalin 33 %EC หลังหยอดเมล็ดกระเจี๊ยบเขียว 1 ครั้ง หลังจากนั้นใช้วิธีการถอนต้น

ในปี 2549 วิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จำนวน 9 ครั้งเท่ากัน วิธีผสมผสาน ได้น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด 1,581.80 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.60 เท่า ส่วนวิธีของเกษตรกรได้น้ำหนักผลผลิต 1,343.00 กิโลกรัมไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.10 เท่า ส่วนในปี 2550 วิธีผสมผสาน ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 9 ครั้ง วิธีของเกษตรกร ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช 13 ครั้ง สามารถลดจำนวนครั้งของการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชลงได้ 30.77 % วิธีผสมผสาน ได้น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด 1,417.30 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.31 เท่า ส่วนวิธีของเกษตรกรได้น้ำหนักผลผลิต 1,326.00 กิโลกรัมต่อไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 1.96 เท่า ผลจากการทดสอบสามารถถ่ายทอดเป็นคำแนะนำให้เกษตรกร และผู้ที่เกี่ยวข้องนำไปปฏิบัติได้

เอกสารอ้างอิง

เกษตรดีที่เหมาะสม สำหรับกระเจี๊ยบเขียว. 2545. เอกสารวิชาการ.กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. 24 หน้า.

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ นงพร กิจบำรุง จักรพงศ์ พิริยพล ศรีสุดา โท้ทอง สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น ลัดดาวัลย์ อินทร์สังข์ อุราพร ใจเพ็ชร ศรีจำนรรจ์ พิชิตสุวรรณชัย สมรวย รุ่งรัตนวารี และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2542. เอกสารวิชาการ แมลงศัตรูผัก. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. 97 หน้า

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข อนันต์ วัฒนธัญกรรม วินัย รัชตปกรณ์ชัย และจักรพงศ์ พิริยพล. 2531. การทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนหนามเจาะสมอฝ้ายในกระเจี๊ยบเขียว. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2531. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 16-24

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข อนันต์ วัฒนธัญกรรม จักรพงศ์ พิริยพล และเสริม สีมา. 2532. การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นฝ้ายในกระเจี๊ยบเขียว. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2532. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยากรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 78-84.

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข อนันต์ วัฒนธัญกรรม และแพรวพรรณ พันธุ์เรณู. 2533. แมลงกระเจี๊ยบเขียว. เคหะการเกษตร 14(3) : 44-48

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข อุทัย เกตุนุติ อัจฉรา ตันติโชดก ลัดดาวัลย์ งามวงศ์ธรรม อุราพร ใจเพ็ชร ไพศาล รัตนเสถียร ศิริณี พูนไชยศรี และเครือพันธุ์ กิตติปกรณ์. 2540. ทดสอบการป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียวแบบผสมผสาน. รายงานผลการค้นคว้า และวิจัยปี 2540. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 177-196.

อุราพร หนูนารถ ปิยรัตน์ เขียนมีสุข สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2547. รายงานผลการค้นคว้า และวิจัยปี 2547. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 1-9.

ตารางที่ 1 ชนิดของศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ ที่สำคัญบนกระเจี๊ยบเขียว ในวิธีผสมผสาน และ2 วิธีของเกษตรกร ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม 2549-เมษายน 2550

ชนิดศัตรูพืช		ศัตรูธรรมชาติ
แมลงศัตรูพืช		ด้วงเต่า *Menochilus*
1. หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย	*Earias fabia* Stoll	*sexmaculatus* (Fabricius)
2. หนอนเจาะสมอฝ้าย	*Helicoverpa armigera* Hubner	แมงมุม
3. หนอนกระทู้ผัก	*Spodoptera litura* (Fabicius)	1. แมงมุมขาหวี
4. หนอนกระทู้หอม	*Spodoptera exigua* (Hubner)	*Anelosimne* sp.
5. เพลี้ยจักจั่นฝ้าย	*Amrasca biguttula biguttula*	วงศ์ Theridiidae
	(Ishida)	2. แมงมุมปู
6. เพลี้ยไฟฝ้าย	*Thrips palmi* Karny	*Thomisus* sp.
7. แมลงหวี่ขาวยาสูบ	*Bemisia tabaci* (Gennadius)	วงศ์ Thomisidae
8. เพลี้ยอ่อนฝ้าย	*Aphid gossypii* Glover	3. แมงมุมกระโดด
9. เพลี้ยแป้ง	*Phenococcus solani* Ferrris	วงศ์ Salticidae
		4. แมงมุม[1/]
ไรศัตรูพืช		วงศ์ Philodromidae
1. Red mite	*Tetranychus macfarianei* BaKer	5. แมงมุมใยกลม
	and Pritchard	*Larinia* sp.
โรคพืช		วงศ์ Araneidae
1. โรคเส้นใบเหลือง	Germinivirus A	
2. โรคใบจุด		
วัชพืช		
1. หญ้านกสีชมพู	*Echinochloa colonum* (L.) Link	
2. ข้าว	*Oryza sativa* L.	
3. ผักเบี้ยหิน	*Trianthema portulacastrum* L.	
4. หญ้าตีนนก	*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.	
5. แห้วหมู	*Cyperus rotundus* Linn.	
6. ผักบุ้ง	*Ipomoea aquatica* Forsk.	

ตารางที่ 3 จำนวนศัตรูธรรมชาติ ระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2549

วัน เดือน ปี ที่ตรวจนับ	วิธีแบบผสมผสาน (ตัวต่อ 100 ต้น)		วิธีของเกษตรกร (ตัวต่อ 100 ต้น)	
	ด้วงเต่า	แมงมุม	ด้วงเต่า	แมงมุม
12 ม.ค.	1	0	1	0
20 ม.ค.	2	15	2	20
27 ม.ค.	1	11	3	8
3 ก.พ.	6	13	1	9
9 ก.พ.	1	21	0	8
16 ก.พ.	0	22	0	2
23 ก.พ.	0	10	0	1
2 มี.ค.	0	11	0	4
9 มี.ค.	0	22	0	4
16 มี.ค.	0	5	0	6
23 มี.ค.	0	5	0	0
30 มี.ค.	0	4	0	0
4 เม.ย.	0	6	0	0
รวม	11	145	7	62

ตารางที่ 4 ชนิด และจำนวนครั้งในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ที่อำเภอดู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม–เมษายน 2549

อายุพืช (วัน)	ชนิด และจำนวนการพ่นสารกำจัดศัตรูพืช (ชนิด/ครั้ง)	
	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
1-105	สารฆ่าแมลง imidacloprid 10 %SL / 3 chlorfluazuron 5 %EC / 3 imidacloprid 10 %SL+ chlorfluazuron 5 %EC / 1 สารสกัดธรรมชาติ สารสกัดสะเดา 0.1 %Aza / 1 สารป้องกันกำจัดวัชพืช alachlor 48 %EC / 1	สารป้องกันกำจัดแมลง สารผสมแบบที่ 1 / 1 สารผสมแบบที่ 2 / 2 สารผสมแบบที่ 3 / 4 สารผสมแบบที่ 4 / 1 สารป้องกันกำจัดวัชพืช alachlor 48 %EC / 1
	4 ชนิด / 9 ครั้ง	5ชนิด / 9 ครั้ง

สารผสมแบบที่ 1 = abamectin 1.8 %EC + dinotefuran 10 %WP

สารผสมแบบที่ 2 = abamectin 1.8 %EC+dinotefuran 10 %WP+ petroleum spray oil 99 %EC

สารผสมแบบที่ 3 = acetamiprid 2.85 %EC + dinotefuran 10 %WP + petroleum spray oil 99 %EC

สารผสมแบบที่ 4 = acetamiprid 2.85 %EC + petroleum spray oil 99 %EC

ตารางที่ 5 อัตราการพ่นสาร และเปอร์เซ็นต์ลดการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ที่อำเภอจู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2549

อายุพืช (วัน)	การพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
1-45	อัตราการพ่นสาร (ลิตรต่อไร่)	100	120
	ลดการใช้สารในแต่ละครั้ง (%)	16.67	0
มากกว่า 45	อัตราการพ่นสาร (ลิตรต่อไร่)	120	200
	ลดการใช้สารในแต่ละครั้ง (%)	40.00	0

ตารางที่ 6 น้ำหนักผลผลิต ราคาผลผลิตต่อไร่ ระหว่างวิธีผสมผสานและวิธีของเกษตรกร ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2549

	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด (กิโลกรัมต่อไร่)	1,581.80	1,343.00
น้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐานส่งออก (กิโลกรัมต่อไร่)	1,388.60	1,168.60
น้ำหนักผลผลิตไม่ได้มาตรฐานส่งออก (กิโลกรัมต่อไร่)	193.20	174.40
น้ำหนักผลผลิตไม่ได้มาตรฐานส่งออก (%)	12.21	13.00
ราคาผลผลิตทั้งหมด (บาทต่อไร่)[1/]	28,738.00	24,244.00

[1/] คำนวณจากน้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐาน ราคา 20 บาทต่อกิโลกรัม และน้ำหนักไม่ได้มาตรฐาน ราคา 5 บาทต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 7 ต้นทุนการผลิต ราคาผลผลิต รายได้สุทธิต่อไร่ และผลตอบแทนต่อการลงทุนระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ที่อำเภอจู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2549

	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
ต้นทุนการผลิต (C) (บาทต่อไร่)		
-ค่าเตรียมดิน	1,000.00	1,000.00
-ค่าจ้างปลูก	300.00	300.00
-ค่าสารกำจัดศัตรูพืช	3,429.00	3,335.25
-ค่าจ้างพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช	1,000.00	1,000.00
-ค่าปุ๋ย และฮอร์โมน	1,834.00	2,402.75
-ค่าจ้างเก็บผลผลิต	3,500.00	3,500.00
รวม	11,063.00	11,538.00
ราคาผลผลิต (R) บาทต่อไร่	28,738.00	24,244.00
รายได้สุทธิ บาทต่อไร่	17,675.00	12,706.00
ผลตอบแทนต่อการลงทุน (R/C)	2.60	2.10

ตารางที่ 9 จำนวนศัตรูธรรมชาติ ระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2550

วัน เดือน ปี ที่ตรวจนับ	วิธีแบบผสมผสาน (ตัวต่อ 100 ต้น)		วิธีของเกษตรกร (ตัวต่อ 100 ต้น)	
	ด้วงเต่า	แมงมุม	ด้วงเต่า	แมงมุม
19 ม.ค.	3	0	3	0
26 ม.ค.	0	0	0	0
2 ก.พ.	1	9	0	3
9 ก.พ.	0	0	0	0
16 ก.พ.	0	5	7	3
23 ก.พ.	0	9	0	9
2 มี.ค.	0	14	0	5
8 มี.ค.	0	8	0	2
15 มี.ค.	0	3	0	9
22 มี.ค.	0	5	0	9
29 มี.ค.	0	4	0	2
4 เม.ย.	0	3	0	0
11 เม.ย	0	2	0	0
รวม	4	62	10	42

ตารางที่ 10 ชนิด และจำนวนครั้งในการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกรที่อำเภอดู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2550

อายุพืช (วัน)	ชนิด และจำนวนการพ่นสารกำจัดศัตรูพืช (ชนิด/ครั้ง)	
	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
1-97	สารฆ่าแมลง imidacloprid 10 %SL / 4 chlorfluazuron 5 %EC / 1 imidacloprid 10 %SL+ chlorfluazuron 5 %EC / 2 เชื้อจุลินทรีย์ ไวรัส NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย / 1 สารป้องกันกำจัดวัชพืช pendimethalin 33 %EC / 1	สารป้องกันกำจัดแมลง imidacloprid 10 %SL / 4 imidacloprid 10 %SL+ emamectin benzoate 1.92%EC / 3 emamectin benzoate 1.92%EC / 2 เชื้อจุลินทรีย์ เชื้อรา buvaria / 3 สารป้องกันกำจัดวัชพืช alachlor 48 %EC+paraquat 27.6 %SL /1
	4 ชนิด / 9 ครั้ง	5 ชนิด / 13 ครั้ง

ตารางที่ 11 อัตราการพ่นสาร และเปอร์เซ็นต์ลดการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช ระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2550

อายุพืช (วัน)	การพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
1-45	อัตราการพ่นสาร (ลิตรต่อไร่)	100	120
	ลดการใช้สารในแต่ละครั้ง (%)	16.67	0
มากกว่า 45	อัตราการพ่นสาร (ลิตรต่อไร่)	120	200
	ลดการใช้สารในแต่ละครั้ง (%)	40.00	0
	จำนวนพ่นสาร (ครั้ง)	9	13
	ลดจำนวนครั้งในการพ่นสารฯ (%)	30.77	0

ตารางที่ 12 น้ำหนักผลผลิต ราคาผลผลิตต่อไร่ ระหว่างวิธีผสมผสานและวิธีของเกษตรกร ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2550

	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด (กิโลกรัมต่อไร่)	1,417.30	1,326.00
น้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐานส่งออก (M) (กิโลกรัมต่อไร่)	1,084.50	987.50
น้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐานส่งออก (L) (กิโลกรัมต่อไร่)	130.80	163.50
น้ำหนักผลผลิตไม่ได้มาตรฐานส่งออก (กิโลกรัมต่อไร่)	202.00	175.00
น้ำหนักผลผลิตไม่ได้มาตรฐานส่งออก (%)	14.25	13.20
ราคาผลผลิตทั้งหมด (บาทต่อไร่)[1/]	24,008.00	22,260.00

[1/] คำนวณจาก 1. น้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐาน (M) ราคา 20 บาทต่อกิโลกรัม
2. น้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐาน (L) ราคา 10 บาทต่อกิโลกรัม
3. น้ำหนักไม่ได้มาตรฐาน ราคา 5 บาทต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 13 ต้นทุนการผลิต ราคาผลผลิต รายได้สุทธิต่อไร่ และผลตอบแทนต่อการลงทุนระหว่างวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ที่อำเภอจู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2550

	วิธีผสมผสาน	วิธีของเกษตรกร
ต้นทุนการผลิต (C) (บาทต่อไร่)		
-ค่าเตรียมดิน	1,000.00	1,000.00
-ค่าจ้างปลูก	300.00	300.00
-ค่าสารกำจัดศัตรูพืช	3,035.00	3,524.00
-ค่าจ้างพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช	1,000.00	1,500.00
-ค่าปุ๋ย และฮอร์โมน	1,800.00	1,800.00
-ค่าจ้างเก็บผลผลิต	3,250.00	3,250.00
รวม	10,385.00	11,374.00
ราคาผลผลิต (R) บาทต่อไร่	24,008.00	22,260.00
รายได้สุทธิ บาทต่อไร่	13,623.00	10,886.00
ผลตอบแทนต่อการลงทุน (R/C)	2.31	1.96

ภาคผนวก

ชนิดและราคาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช	ราคาจำหน่าย (บาท/กิโลกรัมหรือลิตร)
สารฆ่าแมลง	
abamectin (Jacket 1.8 %EC)	700
dinotefuran (Starkle 10 %WP)	1,800
acetamiprid (Sabilan 2.85 %EC)	500
imidacloprid (Confidor 100 SL 10 %SL)	2,300
chlorfluazuron (Atabron 5 %EC)	2,000
emamectin benzoate (Procam)1.92 %EC	5,000
สารสกัดธรรมชาติ	
petroleum spray oil (SK Enspray 99 99 %EC)	180
สารสกัดสะเดา (สะเดาไทย 111 0.1 %Aza)	600
ไวรัส NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย	2,000
เชื้อราบิววาเรีย	500
สารป้องกันกำจัดวัชพืช	
pendimethalin (BK.methal 33 %EC)	240
alachlor (Alachlor 48 %EC)	130
paraquat (Grummoczone 27.6 %SL)	150

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบจำนวนประชากรเพลี้ยจักจั่นฝ้าย แมลงหวี่ขาว เพลี้ยอ่อน หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และเพลี้ยแป้ง บนกระเจี๊ยบเขียว จำนวน100 ต้น/ไร่ ในแปลงวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ที่อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2549

อายุพืช (วัน)	แปลงวิธีผสมผสาน								แปลงวิธีของเกษตรกร							
	เพลี้ยจักจั่นฝ้าย (ตัว/ใบ)	แมลงหวี่ขาว (ตัว/ใบ)	เพลี้ยอ่อน (ต้น/ 100 ต้น)	หนอนหนามฯ (ตัว/ต้น)	หนอนกระทู้ผัก (ตัว/ต้น)	หนอนเจาะสมอฝ้าย		เพลี้ยแป้ง (ตัว/ต้น)	เพลี้ยจักจั่นฝ้าย (ตัว/ใบ)	แมลงหวี่ขาว (ตัว/ใบ)	เพลี้ยอ่อน (ต้น/ 100 ต้น)	หนอนหนามฯ (ตัว/ต้น)	หนอนกระทู้ผัก (ตัว/ต้น)	หนอนเจาะสมอฝ้าย		เพลี้ยแป้ง (ตัว/ต้น)
						ไข่	หนอน							ไข่	หนอน	
12 ม.ค.	0.15	0.12*	35	0.00	0.03	0.00	0.00	0.01	0.05	0.10*	34	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00
20 ม.ค.	0.21	0.14*	34	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.27*	40	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
27 ม.ค.	0.21	0.08	10	0.00	0.11	0.00	0.00	0.00	0.11	0.10*	4	0.00	0.06	0.00	0.00	0.01
3 ก.พ.[1/]	0.15	0.02	30	0.00	0.51	0.00	0.00	0.00	0.07	0.06	14	0.00	0.12	0.00	0.00	0.00
9 ก.พ.	0.38	0.03	75	0.23*	0.28	0.04	0.02	0.04	0.03	0.01	6	0.00	0.27	0.04	0.01	0.00
16 ก.พ.	0.22	0.04	96*	0.00	0.03	0.09	0.13	0.06	0.01	0.01	2	0.00	0.10	0.05	0.06	0.00
23 ก.พ.	0.30	0.01	98*	0.00	0.00	0.02	0.00	0.01	0.01	0.00	1	0.00	0.45	0.02	0.01	0.00
2 มี.ค.	0.14	0.02	53	0.02	0.01	0.13	0.02	0.10	0.01	0.01	2	0.00	3.04*	0.00	0.00	0.01
9 มี.ค.	0.15	0.02	53	0.00	0.02	1.75*	0.30	0.34	0.02	0.00	4	0.00	0.14	0.17	0.08	0.01
16 มี.ค.	0.22	0.00	41	0.00	0.00	1.08*	0.19	1.00*	0.00	0.00	0	0.00	0.00	1.49*	0.25	0.00
23 มี.ค.	0.00	0.00	1	0.00	0.00	1.38*	0.19	0.62	0.00	0.00	0	0.00	0.00	2.10*	0.41	0.00
30 มี.ค.	0.00	0.00	3	0.00	0.00	0.45	0.07	0.19	0.00	0.00	0	0.00	1.00	1.84*	0.16	0.00
4 เม.ย.	0.00	0.00	10	0.00	0.00	0.42	0.01	0.22	0.00	0.00	2	0.00	0.00	1.87*	0.15	0.00

* จำนวนแมลงสูงกว่าระดับเศรษฐกิจ

[1/] ตรวจนับต้นละ 5 ใบจากยอด

689

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบจำนวนประชากรเพลี้ยจักจั่นฝ้าย แมลงหวี่ขาว เพลี้ยอ่อน หนอนหนามเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และเพลี้ยแป้ง บนกระเจี๊ยบ

อายุพืช (วัน)	วิธีผสมผสาน								วิธีของเกษตรกร							
	เพลี้ยจักจั่นฝ้าย (ตัว/ใบ)	แมลงหวี่ขาว (ตัว/ใบ)	เพลี้ยอ่อน (ต้น/ 100 ต้น)	หนอนหนามฯ (ตัว/ต้น)	หนอนกระทู้ผัก (ตัว/ต้น)	หนอนเจาะสมอฝ้าย		เพลี้ยแป้ง(ตัว/ต้น)	เพลี้ยจักจั่นฝ้าย (ตัว/ใบ)	แมลงหวี่ขาว (ตัว/ใบ)	เพลี้ยอ่อน (ต้น/ 100 ต้น)	หนอนหนาม (ตัว/ต้น)	หนอนกระทู้ผัก (ตัว/ต้น)	หนอนเจาะสมอฝ้าย		เพลี้ยแป้ง (ตัว/ต้น)
						ไข่	หนอน							ไข่	หนอน	
19 ม.ค.	0.15	0.52*	99*	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.17	0.74*	100*	0.00	0.05	0.00	0.00	0.02
26 ม.ค.	0.67	0.09	36	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.16	2.49*	45	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
2 ก.พ.	0.54	1.92*	14	0.00	0.00	0.04	0.00	0.01	0.60	2.71*	42	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
9 ก.พ.	0.44	0.74*	92*	0.02	0.08	0.26	0.14	0.00	0.15	0.85*	94*	0.00	0.00	0.19	0.00	0.00
16 ก.พ.	0.18	0.73*	63	0.00	0.64	1.41*	0.33	0.00	0.09	0.83*	40	0.00	0.20	1.01*	0.04	0.00
23 ก.พ.	0.19	0.36*	32	0.00	0.18	0.90	0.21	0.00	0.76	0.91*	39	0.00	0.02	0.69	0.02	0.01
2 มี.ค.	0.36	0.05	5	0.00	0.02	1.07*	0.65*	0.00	0.45	0.69*	6	0.00	0.13	1.65*	0.04	0.01
8 มี.ค.	0.06	0.07	1	0.00	0.05	1.01*	0.37	0.01	1.38*	1.43*	4	0.00	0.00	1.06*	0.11	0.01
15 มี.ค.	0.58	0.02	6	0.03	0.05	0.86	0.30	0.00	2.75*	0.24*	4	0.00	0.00	1.03*	0.01	0.01
22 มี.ค.	0.70	0.01	9	0.16	0.00	0.69	0.07	0.01	3.53*	0.01	7	0.03	0.00	0.41	0.03	0.17
29 มี.ค.	0.10	0.01	20	0.09	0.00	1.19*	0.11	0.06	5.15*	0.01	10	0.02	0.00	0.56	0.00	0.18
4 เม.ย.	0.06	0.02	13	0.03	0.01	0.74	0.04	0.02	6.29*	0.01	9	0.00	0.00	0.33	0.02	0.56
11 เม.ย.	0.74	0.02	2	0.06	0.00	0.31	0.11	0.00	3.61*	0.00	0	0.18	0.00	0.10	0.06	0.93

เขียว จำนวน 100 ต้น/ไร่ ในแปลงวิธีผสมผสาน และวิธีของเกษตรกร ที่อำเภอจู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างเดือนมกราคม-เมษายน 2550

* จำนวนแมลงสูงกว่าระดับเศรษฐกิจ

[1/] ตรวจนับต้นละ 5 ใบ

690

การบริหารศัตรูมังคุดแบบผสมผสาน

Integrated Pest Management in Mangosteen

เกรียงไกร จำเริญมา[1] ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช[2]
เพ็ญศรี นันทสมสราญ[3] ศรุต สุทธิอารมณ์[1]
ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา[1] พรพิมล อธิปัญญาคม[2]
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การบริหารศัตรูมังคุดแบบผสมผสาน ดำเนินการระหว่าง ตุลาคม 2548 - กันยายน 2549 ในแปลงเกษตรกร จังหวัดจันทบุรี จำนวน 3 แปลง เป็นแปลงทดสอบ (IPM) 1 แปลงและแปลงเปรียบเทียบ 2 แปลง โดยแปลง IPM จะมีการสำรวจศัตรูพืชทุกๆ 2 สัปดาห์และป้องกันกำจัดตามคำแนะนำเมื่อพบว่าปริมาณศัตรูพืชแต่ละชนิดสูงเกินระดับ ET ส่วนแปลงเปรียบเทียบ เกษตรกรจะดูแลรักษาเอง ระหว่างช่วงมังคุดออกดอกติดผลในแปลง IPM พบเพลี้ยไฟระบาดสูงเกินระดับ ET (0.25 ตัว/ดอกหรือผลอ่อน) 3 ครั้ง จึงพ่นสารฆ่าแมลง imidacloprid 10%SL, cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC และ carbosulfan 20%EC อัตรา 10, 40, 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ แปลงเปรียบเทียบที่ 1 เกษตรกรพ่น abamectin 1.8%EC อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร 6 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ ส่วนแปลงเปรียบเทียบแปลงที่ 2 เกษตรกรพ่นน้ำหมักชีวภาพ (สาบเสือ+สะเดา+กล้วย) 8 ครั้งและพ่นสารฆ่าแมลง abamectin 1.8%EC อัตรา 30 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร 2 ครั้ง ในระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตจากแปลง IPM มีคุณภาพดี ผลโตและมีลักษณะผิวลายเนื่องจากการทำลายของเพลี้ยไฟน้อยกว่าผลผลิตจากแปลงเปรียบเทียบ ส่วนการศึกษาระหว่างธันวาคม 2549 - กรกฎาคม 2550 ปีนี้อากาศแปรปรวน มังคุดออกดอกดกมาก 2 รุ่น แปลง IPM ศัตรูมังคุดที่พบ คือ เพลี้ยไฟ ระบาดสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง พ่น imidacloprid 10%SL, cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC และ fipronil 5%SC อย่างละ 1 ครั้ง โรคใบจุด (*Pestalotiopsis flagisetula*) พบ ระบาดเพียง 3% วัชพืชที่พบหนาแน่นที่สุดได้แก่ หญ้าสาบ *Chromolaena* sp. (79 ต้น/ตร.ม.) และกระดุมใบใหญ่ *Borreria latifolia* (43 ต้น/ตร.ม.) แปลงเปรียบเทียบที่ 1 พ่นน้ำหมักชีวภาพ (กลอย+ขมิ้นชัน) 2 ครั้ง พ่น cypermethrin 35%EC 1 ครั้ง abamectin 1.8%EC 2 ครั้ง และ cypermethrin 35%EC +

รหัสโครงการ 07- 01- 49- 04

1 กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

2 กลุ่มวิจัยโรคพืช

3 กลุ่มวิจัยวัชพืช

abamectin (1.8%EC) 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พบโรคใบจุด 5% วัชพืชที่พบ คือ ผักกระสัง *Peperomia pellucida* (87 ต้น/ตร.ม.) และผักเสี้ยน *Cleome rutidosperma* (39 ต้น/ตร.ม.) ส่วนแปลงเปรียบเทียบที่ 2 พ่น cypermethrin 35%EC 1 ครั้ง และ abamectin 1.8%EC 2 ครั้ง กำจัดเพลี้ยไฟ พบโรคใบจุด 5% วัชพืชที่พบ ได้แก่ หญ้าสาบ (276 ต้น/ตร.ม.) และกระดุมใบใหญ่ (63 ต้น/ตร.ม.) จากการศึกษาแปลง IPM มีต้นทุนการผลิต 11,196.50 บาท/ไร่ รายได้จากผลผลิต 31,100.00 บาท/ไร่ สัดส่วนผลตอบแทน/การลงทุน = 2.78 แปลงเปรียบเทียบที่ 1 มีต้นทุนการผลิต 13,442.50 บาท/ไร่ รายได้ 20,050.00 บาท/ไร่ สัดส่วนผลตอบแทน/การลงทุน = 1.49 ส่วนแปลงเปรียบเทียบที่2 มีต้นทุนการผลิต 17,116.00 บาท/ไร่ รายได้ 43,400.00 บาท/ไร่ สัดส่วนผลตอบแทน/การลงทุน = 2.54

คำนำ

มังคุด เป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 25 - 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ ประมาณ 75 - 85% ปกติมังคุดจะเริ่มให้ผลผลิตประมาณปีที่ 7 หลังปลูก แต่จะให้ผลผลิตเต็มที่ประมาณปีที่ 13 โดยเฉลี่ย 60 กิโลกรัมต่อต้น เมื่อผ่านช่วงแล้งและต้นสมบูรณ์ มังคุดจะมีการออกดอก ช่วงการพัฒนาการของดอกจากผลิตาดอกถึงดอกบาน ใช้เวลาประมาณ 30 วัน ส่วนการพัฒนาในระยะผล ใช้เวลา 11 - 12 สัปดาห์ ประเทศผู้นำเข้าผลผลิตมังคุด จะนำเข้าเฉพาะมังคุดที่มีคุณภาพดีเท่านั้น เห็นได้ว่าประเทศไทยนับเป็นผู้นำการผลิต แต่ปริมาณการส่งออกยังมีน้อย เนื่องจากผลผลิตส่วนใหญ่มีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน ปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตมังคุดไม่ได้มาตรฐาน คือ การระบาดเข้าทำลายของศัตรูพืชไม่ว่าจะเป็นแมลง โรค หรือวัชพืช ศัตรูมังคุดล้วนเป็นปัจจัยที่ทำให้ผลผลิตมังคุดมีคุณภาพต่ำทั้งสิ้น มีรายงานว่า ศัตรูสำคัญของมังคุด ได้แก่ โรคใบจุดและโรคแผลแตก ยางไหล เกิดจากเชื้อรา *Pestalotiopsis flagisetula* เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* หนอนชอนใบ *Phyllocnistis* sp. หนอนกินใบอ่อน *Stictoptera cucullioides* เพลี้ยแป้ง *Dysmicoccus neobrevipes* หญ้าสาบเสือ *Eupatorium odoratum* และหญ้าสาบแร้งสาบกา *Ageratum conyzoides* เป็นต้น จึงจำเป็นต้องทำการป้องกันกำจัดเพื่อลดปัญหาศัตรูสำคัญของมังคุดดังกล่าว โดยนำวิธีการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพวิธีต่าง ๆ มาประกอบกันเป็นเทคนิคการจัดการศัตรูมังคุดอย่างเหมาะสม สำหรับการผลิตมังคุดคุณภาพดี มีมาตรฐาน ลดการใช้สารเคมี ลดปัญหาสารพิษตกค้างและปัญหามลพิษ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- สวนมังคุดอายุ 20-30 ปี
- สารป้องกันกำจัดแมลง เชื้อรา และวัชพืช

- เครื่องพ่นสารแรงดันน้ำสูงและเครื่องพ่นสารสูบโยกสะพายหลัง
- อุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล

วิธีการ

ศึกษาในสวนมังคุดที่ให้ผลผลิตเต็มที่แล้ว อายุประมาณ 20-30 ปี ขนาด 5 ไร่ จำนวน 3 สวน โดย 2 สวนแรกใช้เป็นแปลงเปรียบเทียบให้เกษตรกรปฏิบัติและดูแลรักษาตามวิธีการของเกษตรกรเอง สวนที่ 3 มีการดำเนินการดูแลรักษาและจัดการศัตรูพืชที่ระบาด โดยใช้การป้องกันกำจัดแบบผสมผสาน ดังนี้

กรณีของแมลงศัตรูมังคุด

ระยะแตกใบอ่อนนอกฤดูการออกดอก ติดผล แมลงศัตรูสำคัญที่ต้องป้องกันกำจัด ได้แก่

1. หนอนกินใบอ่อน ป้องกันกำจัดเมื่อพบยอดอ่อนเพิ่งคลี่ถูกทำลาย 20%
2. หนอนชอนใบ ป้องกันกำจัดเมื่อพบยอดอ่อนเพิ่งคลี่ถูกทำลาย 30%
3. เพลี้ยไฟ ป้องกันกำจัดเมื่อเคาะพบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 0.5 % ตัวต่อยอด

ระยะใบอ่อน แทงดอก ดอกบาน และติดผลอ่อน แมลงศัตรูสำคัญได้แก่

เพลี้ยไฟ ป้องกันกำจัดเมื่อเคาะพบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 2.5 ตัวต่อ 10 ดอก/ผล

เพลี้ยแป้ง ป้องกันกำจัดเมื่อสำรวจพบเพลี้ยแป้งเฉลี่ยเกิน 1 ตัว/ผล

หลังเก็บเกี่ยวมังคุดอาจมีการแตกใบอ่อน 1 - 2 ครั้ง เมื่อเริ่มแตกใบอ่อนทำการสำรวจยอดอ่อน 10 ยอด/ต้น เพื่อดูการทำลายของหนอนกินใบอ่อน และหนอนชอนใบ ส่วนการสำรวจเพลี้ยไฟจะใช้วิธีเคาะเพลี้ยไฟจากยอดอ่อนลงบนแผ่นพลาสติกสีขาว ขนาด 1 ตารางฟุต ถ้าพบการทำลายหนอนกินยอดอ่อน หนอนชอนใบ อย่างใดอย่างหนึ่งเกิน 20, 30 เปอร์เซ็นต์ของยอดสำรวจ และเพลี้ยไฟเกิน 0.5 ตัวต่อยอด, ดอกหรือผลอ่อน ตามลำดับ จึงพ่นสารป้องกันกำจัด

กรณีหนอนชอนใบและหนอนกินใบอ่อน พ่นด้วย carbaryl (Sevin 85% WP) อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ถ้าเพลี้ยไฟระบาดพ่นด้วย imidacloprid (Confidor 10% SL) fipronil (Ascend 5% SC) อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือ carbosulfan (Posse 20% EC) อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร หรือ cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร อย่างใดอย่างหนึ่งสลับกัน ส่วนระยะออกดอกติดผล แมลงศัตรูสำคัญได้แก่ เพลี้ยไฟ จะทำให้ผิวมังคุดเป็นขี้กลาก จนเกษตรกรแทบไม่ให้ผลผลิตถูกทำลายเลยในระยะนี้ และเป็นเหตุให้เกษตรกรพ่นสารฆ่าแมลงเพื่อป้องกันกำจัดบ่อยครั้ง เพื่อไม่ให้ผลผลิตถูกทำลาย สำรวจเพลี้ยไฟทุกสัปดาห์โดยเคาะดอกหรือผลอ่อนลงบนแผ่นพลาสติกขาว ตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟ ถ้าพบเฉลี่ย 2.5 ตัว/10 ดอกหรือผล ให้พ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ เช่นเดียวกับการระบาดในช่วงแตกใบอ่อน สัปดาห์ละครั้งจนผลมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตรจึงหยุดพ่น สำหรับเพลี้ยแป้งจะมีมดเป็นพาหะนำเพลี้ยแป้งไปปล่อยยังจุดต่างๆ ควรกำจัดมดด้วยการพ่น carbaryl (Sevin 85%WP) อัตรา 50 กรัม/น้ำ

20 ลิตร แล้วใช้เศษผ้าชุบน้ำมันเครื่องผูกรอบต้นกันมด กรณีกำจัดเพลี้ยแป้งบนผลควรกำจัดในระยะผลยังเล็ก เพราะเพลี้ยแป้งจะอยู่ที่ก้นผล พ่นสารสัมผัสได้ง่าย สารที่ใช้คือ carbosulfan (Posse 20% EC) หรือ imidacloprid (Confidor 10% SL) อัตรา 50 และ 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ

กรณีของโรคศัตรูมังคุด

ทำการสำรวจและติดตามสถานการณ์โรคของมังคุด โดยการสำรวจโรคใบจุด และโรคแผลแตกยางไหล ที่เกิดจากเชื้อ *Pestalotiopsis flagisetula* ทุก ๆ 2 เดือน โดยเดินสำรวจต้น 10% บันทึกอาการโรค ความเสียหาย ตลอดจนความรุนแรงของโรคที่พบ และทำการป้องกันกำจัดโดยการตัดแต่งใบที่แสดงอาการของโรค นำไปทำลายโดยการเผาหรือฝังดิน โดยเฉพาะในช่วงแตกใบอ่อน ถ้าพบอาการใบจุดให้พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim 50% WP หรือ copper oxy-chloride 80% WP อัตรา 10 และ 20 กรัม /น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ

กรณีของวัชพืช

ทำการประเมินจำนวนวัชพืชที่ขึ้นคลุมพื้นที่ ถ้าพบวัชพืชขึ้นคลุมพื้นที่สวนมากกว่า 90% ของพื้นที่ทั้งหมดและทำการจำแนกวัชพืช ส่วนการป้องกันกำจัดจะใช้วิธีตัดด้วยเครื่องตัดวัชพืชแบบต่างๆ 2 - 3 เดือน/ครั้ง หรือพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช เช่น paraquat 27.6% SL หรือ glyphosate 48% SL อัตรา 75 - 150 หรือ 150 - 200 มิลลิลิตร ผสมน้ำ 20 ลิตร

ในระยะเก็บเกี่ยว จะเก็บเกี่ยวผลผลิต 3 รุ่น แต่ละรุ่นห่างกัน 2 สัปดาห์ รุ่นละ 500 ผล วัดขนาดเส้นรอบวง ประเมินเปอร์เซ็นต์การเป็นขี้กลาก เนื้อแก้ว และยางไหลภายในผล (วิเคราะห์โดยใช้หลักเกณฑ์ของ อัมพิกา และคณะ, 2540) ดังตาราง

ระดับ	พื้นที่ผิวของผล		อาการเนื้อแก้วที่เนื้อผล
	อาการผิวขี้กลาก	อาการยางไหล	
1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
2	พบ 1 - 25%	พบ 1 - 25%	พบ 1 - 25%
3	พบ 26 - 50%	พบ 26 - 50%	พบ 26 - 50%
4	พบ 51 - 75%	พบ 51 - 75%	พบ 51 - 75%
5	พบ 76 - 100%	พบ 76 - 100%	พบ 76 - 100%

เวลาและสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550 ที่สวนเกษตรกรจังหวัดจันทบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาระหว่าง ตุลาคม 2548 - กันยายน 2549 ได้แปลงทดลองจำนวน 3 แปลง เป็นแปลงทดสอบ 1 แปลง และแปลงเปรียบเทียบ 2 แปลง มีการสำรวจการระบาดของศัตรูมังคุดทุกๆ 2 สัปดาห์ ระหว่างตุลาคม - ธันวาคม 2548 พบ มังคุดอยู่ในระยะใบแก่ยังไม่มีการพัฒนาของดอกหรือใบอ่อน ยังไม่พบการระบาดของศัตรูพืช ในแปลงทดลองทั้ง 3 แปลง ระหว่าง มกราคม - มีนาคม พบมังคุดเริ่มแทงดอกและมีการพัฒนาของดอกและผลอ่อน แปลงทดสอบ IPM พบ มีการระบาดของเพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* ได้ทำการพ่นสารฆ่าแมลง 3 ครั้ง คือ ครั้งแรก เริ่มพ่นเมื่อวันที่ 3 มีนาคม 2549 มังคุดอยู่ในระยะดอกตูม โดยใช้สารฆ่าแมลง imidacloprid (Confidor 100SL 10%SL) อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และพ่นครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 14 มีนาคม 2549 มังคุดอยู่ในระยะดอกบาน โดยใช้สารฆ่าแมลง cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25%/22.5%EC) อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และเมื่อวันที่ 17 เมษายน 2549 มังคุดอยู่ในระยะผลอ่อน พ่นสาร carbosulfan (Posse 20%EC) อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อสำรวจ พบ ปริมาณเพลี้ยไฟเฉลี่ยเกิน 1 ตัว/ดอกหรือผลอ่อน ส่วนแปลงเปรียบเทียบได้ทำการสำรวจศัตรูพืชเช่นกัน แต่การป้องกันกำจัดเกษตรกรจะตัดสินใจเอง โดยแปลงเปรียบเทียบแปลงแรก เกษตรกรจะกำจัดศัตรูพืชโดยใช้สารเคมีเป็นหลัก มีการพ่น abamectin 1.8%EC อัตรา 15 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร รวม 6 ครั้ง เริ่มจากมังคุดออกดอก ส่วนแปลงเปรียบเทียบแปลงที่สอง เกษตรกรพ่นน้ำหมักชีวภาพ ทุกๆ 10 วัน รวม 10 ครั้ง โดยพ่นครั้งแรกเมื่อวันที่ 24 กุมภาพันธ์ สำหรับวัชพืชในสวนมังคุด พบ สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) กระดุมใบใหญ่ [*Borreria laifolia* (Aubl.) K.Sch] หญ้าลูกเห็บ (*Paspalum conjugatum* Berg) หญ้าตีนนก (*Digitaria adscendens* Henry) และหญ้ามาเลเซีย (*Axonopus compressus* P.Beauv.) แต่มีปริมาณไม่มากและอยู่ภายนอกทรงพุ่ม เช่นเดียวกับโรคพืชที่พบในมังคุด พบ ในปริมาณเล็กน้อย ได้แก่ โรคใบจุด เกิดจากเชื้อรา *Pestalotiopsis flagisetula* (Guba) และโรคราดำ มีสาเหตุจากรา *Meliola garcinae* ไม่จำเป็นต้องป้องกันกำจัด

ในระยะเก็บเกี่ยว ทำการเก็บเกี่ยวมังคุด 3 รุ่น คือ มังคุดรุ่นแรก รุ่นกลางและรุ่นหลัง แต่ละรุ่นห่างกันประมาณ 2 สัปดาห์ โดยการสุ่มเก็บเกี่ยวในแปลงละ 10 ต้น แต่ละรุ่นเก็บต้นละ 20 ผล นำมาดูคุณภาพภายนอกผล โดยการชั่งน้ำหนักผลและดูความรุนแรงเนื่องจากการทำลายของเพลี้ยไฟจากลักษณะผิวลายหรือผิวขี้กลากของผลมังคุดโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ผิวลายจากพื้นที่ผิวทั้งหมด พบว่า แปลงทดสอบ (IPM) มีคุณภาพผลมังคุดค่อนข้างดี มังคุดที่เก็บเกี่ยวทั้ง 3 รุ่น มีคุณภาพขนาดผลโดยเฉลี่ยโตกว่าผลมังคุดจากแปลงเปรียบเทียบทั้ง 2 แปลง คือ ผลผลิตมังคุดรุ่นแรก รุ่นกลางและรุ่นหลังมีน้ำหนักเฉลี่ย 93.96, 88.99 และ 89.50 กรัม/ผล ตามลำดับ ขณะที่น้ำหนักผลมังคุดจากแปลงเปรียบเทียบที่1 และ 2 มีน้ำหนักเฉลี่ย 87.08, 76.59 และ 87.97, 92.75, 85.86 กรัมต่อ

ผล ตามลำดับ ส่วนลักษณะผิวลายบนผลมังคุด พบ ผลมังคุดจากแปลง IPM มีลักษณะผิวลายเฉลี่ย 5.37-13.98% ขณะที่มังคุดจากแปลงเปรียบเทียบมีลักษณะผิวลาย 14.68-47.88% (ตารางที่ 1)

เนื่องจากในปีนี้มังคุดมีการออกดอกติดผลน้อย และแต่ละต้นติดผลไม่สม่ำเสมอ โดยเฉพาะในแปลงเปรียบเทียบที่ 1 ไม่สามารถเก็บผลผลิตในรุ่นที่ 3 ได้ ดังนั้นจึงไม่สามารถเปรียบเทียบผลผลิตโดยรวมของแปลงทดสอบ (IPM) และแปลงเปรียบเทียบได้

จากการศึกษาระหว่างธันวาคม 2549 – กรกฎาคม 2550 ปีนี้อากาศแปรปรวน มังคุดมีการออกดอกดกมาก 2 รุ่น โดยเฉพาะในแปลง IPM และแปลงเกษตรกรแปลงที่ 1 ส่วนแปลงเกษตรกรแปลงที่ 2 ออกดอกดกในรุ่นแรกรุ่นเดียว ผลผลิตรุ่น 2 มีเพียงเล็กน้อย

แปลง IPM ศัตรูมังคุดที่พบระบาด คือ เพลี้ยไฟพริก (*Scirtothrips dorsalis*) ระบาดสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง คือ 17.0, 25.9 และ 4.0 ตัว/10 ดอกหรือผลอ่อน เมื่อวันที่ 21 กุมภาพันธ์, 8 มีนาคม และ 21 มีนาคม 2550 ตามลำดับ จึงพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ ได้แก่ imidacloprid 10%SL อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ fipronil 5%SC อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ สำหรับโรค พบ โรคใบจุด (*Pestalotiopsis flagisetula*) 3% ขณะที่วัชพืชซึ่งพบหนาแน่น ได้แก่ หญ้าสาบ (*Chromolaena* sp.) พบ หนาแน่น 79 ต้น/ตารางเมตร รองลงมาคือ กระดุมใบใหญ่ (*Boraria latifolia*) หนาแน่น 43 ต้น/ตารางเมตร (ตารางที่ 2, ตารางที่ 3) สำหรับแปลงเปรียบเทียบ (เกษตรกรแปลงที่ 1) มีเพลี้ยไฟระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง คือ 8.0, 10.1 และ 6.5 ตัว/10 ดอกหรือผลอ่อน เมื่อวันที่ 27 ธันวาคม 2549, 10 มกราคม และ 24 มกราคม 2550 เกษตรกรมีการพ่นน้ำหมักชีวภาพ (กลอย + ขมิ้นชัน) 2 ครั้ง เมื่อวันที่ 27 ธันวาคม 2549 และ 10 มกราคม 2550 แต่เนื่องจากน้ำหมักชีวภาพไม่สามารถป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟได้ เกษตรกรได้พ่นสาร cypermethrin 35%EC 1 ครั้ง และ abamectin 1.8%EC 2 ครั้ง ป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟเมื่อวันที่ 24 มกราคม, 27 กุมภาพันธ์ และ 21 มีนาคม 2550 ตามลำดับ ส่วนโรคมังคุด พบ โรคใบจุด ระบาดเพียง 5% วัชพืชที่พบ คือ ผักกระสัง (*Peperromia pellucida*) 87 ต้น/ตารางเมตร (ตารางที่ 2, ตารางที่ 3) ซึ่งไม่ต้องพ่นสารป้องกันกำจัด ขณะที่แปลงเปรียบเทียบ (เกษตรกรแปลงที่ 2) ผลมังคุดออกดอกดกมากรุ่นแรกรุ่นเดียว มีรุ่น 2 เพียงเล็กน้อย เกษตรกรจึงดูแลผลผลิตในรุ่นแรกอย่างดี พบ เพลี้ยไฟระบาดสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง คือ 5.1 และ 23.2 ตัว/ดอก เมื่อวันที่ 21 กุมภาพันธ์ และ 8 มีนาคม 2550 เกษตรกรมีการพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ 3 ครั้ง คือ cypermethrin 35%EC 1 ครั้ง เมื่อวันที่ 27 ธันวาคม 2549 และพ่น abamectin 1.8%EC 2 ครั้ง เมื่อวันที่ 24 มกราคม และ 7 กุมภาพันธ์ 2550 พบ โรคใบจุดระบาดเพียง 5% เช่นกัน ขณะมีวัชพืชที่พบ ได้แก่ หญ้าสาบ และกระดุมใบใหญ่ หนาแน่น 276 และ 63 ต้น/ตารางเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2, ตารางที่ 3) จากการวิเคราะห์ผลตอบแทน/การลงทุน พบ แปลง IPM มีต้นทุนการผลิต (ค่าสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช,

ปุ๋ย รวมทั้งค่าจ้างค่าแรง) = 11,196.50 บาท ขณะที่รายได้จากผลผลิตคิดเป็นเงิน 31,100.00 บาท และมีสัดส่วนผลตอบแทน/การลงทุน เป็น 2.78 สำหรับแปลงเกษตรกรที่ 1 และ 2 มีสัดส่วนผลตอบแทน/การลงทุน เป็น 1.49 และ 2.54 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) จากการศึกษาเห็นได้ว่า แปลง IPM ให้ผลผลิตรวม 2,150 กิโลกรัม/ไร่ ผลผลิตโดยเฉลี่ยมีคุณภาพค่อนข้างดี จึงทำให้มีรายได้จากผลผลิตสูง ประกอบกับมีการจัดการเรื่อง การเก็บเกี่ยวที่ดี ต้นทุนในส่วนของค่าแรงจึงต่ำกว่าแปลงเปรียบเทียบทั้ง 2 แปลง ขณะที่แปลงเกษตรกรแปลงแรก พ่นน้ำหมักชีวภาพ จนเห็นว่าไม่สามารถควบคุมเพลี้ยไฟได้แล้วจึงหันมาใช้สารเคมี ทำให้ผลมังคุดที่ถูกทำลายมีผิวขี้กลากค่อนข้างสูง คุณภาพและราคาจึงต่ำ ส่วนแปลงเกษตรกรแปลงที่ 2 เน้นการผลิตมังคุดรุ่นเดียว ผลผลิตมังคุดรุ่นแรกจึงมีคุณภาพดี ราคาดี แต่มีการจัดการในขณะเก็บเกี่ยวไม่ดี ทำให้มีค่าแรงการเก็บเกี่ยวค่อนข้างสูง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การบริหารศัตรูมังคุดแบบผสมผสาน ดำเนินการระหว่างตุลาคม 2548 - กันยายน 2549 ในแปลงเกษตรกร จังหวัดจันทบุรี จำนวน 3 แปลง เป็นแปลงทดสอบ (IPM) 1 แปลง และแปลงเปรียบเทียบ 2 แปลง จากการสำรวจทุกๆ 2 สัปดาห์ พบเฉพาะเพลี้ยไฟเท่านั้นที่ระบาดสูงเกินระดับ ET ในระยะดอกและผลอ่อน (เกิน 1 ตัว/4 ดอกหรือผลอ่อน) ในแปลง IPM มีการพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ 3 ครั้ง ขณะที่แปลงเปรียบเทียบแปลงเกษตรกรเน้นการใช้สารเคมี มีการพ่นสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ 6 ครั้ง ส่วนแปลงเปรียบเทียบแปลงที่ 2 เกษตรกรใช้น้ำหมักชีวภาพพ่นสลับกับสารฆ่าแมลง มีการพ่นสารทั้ง 2 ชนิด รวม 10 ครั้ง ระหว่างช่วงมังคุดออกดอกติดผล การระบาดของโรคและวัชพืชมีเพียงเล็กน้อยไม่จำเป็นต้องป้องกันกำจัด ในระยะเก็บเกี่ยว พบผลผลิตจากแปลง IPM มีคุณภาพค่อนข้างดี มีน้ำหนักผลมากกว่าและมีลักษณะผิวลาย เนื่องจากการทำลายของเพลี้ยไฟ น้อยกว่าผลผลิตจากแปลงเปรียบเทียบทั้งสองแปลง ในช่วงธันวาคม 2549 – กรกฎาคม 2550 ปีนี้อากาศแปรปรวน มังคุดออกดอกดกมาก 2 รุ่น แปลง IPM ศัตรูมังคุดที่พบ คือ เพลี้ยไฟ ระบาดสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 3 ครั้ง พ่น imidacloprid 10%SL, cypermethrin/phosalone 6.25/22.5%EC และ fipronil 5%SC อย่างละ 1 ครั้ง โรคใบจุด (*Pestalotiopsis flagisetula*) พบ ระบาดเพียง 3% วัชพืชที่พบหนาแน่นที่สุดได้แก่ หญ้าสาบ *Chromolaena* sp. (79 ต้น/ตร.ม.) และกระดุมใบใหญ่ *Borreria latifolia* (43 ต้น/ตร.ม.) แปลงเปรียบเทียบที่ 1 พ่นน้ำหมักชีวภาพ (กลอย+ขมิ้นชัน) 2 ครั้ง พ่น cypermethrin 35%EC 1 ครั้ง abamectin 1.8%EC 2 ครั้ง และ cypermethrin 35%EC + abamectin (1.8%EC) 1 ครั้ง เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ พบโรคใบจุด 5% วัชพืชที่พบ คือ ผักกระสัง *Peperomia pellucida* (87 ต้น/ตร.ม.) และผักเสี้ยน *Cleome rutidosperma* (39 ต้น/ตร.ม.) ส่วนแปลงเปรียบเทียบที่ 2 พ่น cypermethrin 35%EC 1 ครั้ง และ abamectin 1.8%EC 2 ครั้ง กำจัดเพลี้ยไฟ พบโรคใบจุด 5% วัชพืชที่พบ ได้แก่ หญ้าสาบ (276 ต้น/ตร.ม.) และกระดุมใบใหญ่ (63 ต้น/ตร.ม.) จากการศึกษาแปลง IPM มีต้นทุนการผลิต 11,196.50 บาท/ไร่ รายได้จากผลผลิต 31,100.00 บาท/ไร่ สัดส่วนผลตอบแทน/การลงทุน = 2.78

แปลงเปรียบเทียบที่ 1 มีต้นทุนการผลิต 13,442.50 บาท/ไร่ รายได้ 20,050.00 บาท/ไร่ สัดส่วนผลตอบแทน/การลงทุน = 1.49 ส่วนแปลงเปรียบเทียบที่2 มีต้นทุนการผลิต 17,116.00 บาท/ไร่ รายได้ 43,400.00 บาท/ไร่ สัดส่วนผลตอบแทน/การลงทุน = 2.54

จากการศึกษาทั้ง 2 ปี พบว่า ศัตรูสำคัญที่ระบาดทำให้เกิดความสูญเสียในมังคุด คือ แมลงศัตรูมังคุดโดยเฉพาะเพลี้ยไฟ ซึ่งช่วงวิกฤตอยู่ในระยะดอกและผลอ่อน การป้องกันกำจัดที่ดี คือ พ่นสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัด 3 ครั้ง ในระยะก่อนดอกบาน 1 สัปดาห์ ขณะดอกบานและหลังดอกบาน 1 สัปดาห์ ส่วนเพลี้ยแป้ง ควรป้องกันกำจัดในระยะผลเล็ก เนื่องจากขณะผลเล็กเพลี้ยแป้งจะฝังตัวที่ก้นผล สามารถพ่นสารฆ่าแมลงสัมผัสตัวได้โดยตรง

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2546. เอกสารวิชาการศัตรูมังคุด. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 45 หน้า.

เกรียงไกร จำเริญมา ศรุต สุทธิอารมณ์ วิทย์ นามเรืองศรี และอรุณี วงษ์กอบรัษฎ์. 2542. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมังคุดโดยวิธีผสมผสาน. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย ประจำปี 2542 กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูไม้ผล สมุนไพรและเครื่องเทศ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. น. 133-145.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. หน้า 136 - 141. ใน โรคไม้ผลเขตร้อนและการป้องกันกำจัด. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร หมอพืช - ไม้ผล ฉบับที่ 1 โครงการเพื่อบรรเทาผลกระทบทางสังคมเนื่องจากวิกฤตการณ์ทางเศรษฐกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิรนาม. 2538. การควบคุมวัชพืชในไม้ผล. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช, กลุ่มวิทยาการวัชพืช กองพฤกกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 77 - 84.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2535. ชนิดของเพลี้ยไฟที่พบในไม้ผล. แมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2535. น. 386 - 434. ใน เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการ ครั้งที่ 8, 23 - 26 มิถุนายน 2535. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สมควร คีรีวัลย์. 2505. โรคใบจุดของมังคุด. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 22 หน้า.

อัมพิกา ปุนนจิต เสริมสุข สลักเพ็ชร ชลธี นิ่มหนู สุขวัฒน์ จันทรปรรณิก หิรัญ หิรัญประดิษฐ์ และวันทนีย์ ชุ่มจิตต์. 2540. วิทยาการผลิตมังคุดให้มีคุณภาพ. ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. น. 1-18.

Kuroko, H. and A. Lewvanich. 1993. Lepidopterous Pests of Tropical Fruit Trees in Thailand (with Thai Text). Japan International Institute of Entomology.

ตารางที่ 1 แสดงคุณภาพผลผลิตมังคุดในแปลงทดสอบ (IPM) และแปลงเปรียบเทียบ (สวนเกษตรกร จังหวัดจันทบุรี มีนาคม - พฤษภาคม 2549)

กรรมวิธี	คุณภาพผลผลิตมังคุดในแต่ละรุ่น					
	รุ่นแรก		รุ่นกลาง		รุ่นหลัง	
	น.น. (กรัม/ผล)	% ผิวลาย	น.น. (กรัม/ผล)	% ผิวลาย	น.น. (กรัม/ผล)	% ผิวลาย
แปลง IPM	93.96	5.37	88.99	6.06	89.50	13.78
แปลงเปรียบเทียบ 1	87.08	36.52	76.59	14.68	-	-
แปลงเปรียบเทียบ 2	87.97	29.28	92.75	29.24	85.86	47.88

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณความหนาแน่นประชากรศัตรูมังคุดในแปลงทดสอบ (IPM) และแปลงเปรียบเทียบ (สวนเกษตรกรจังหวัดจันทบุรี เดือนธันวาคม 2549 – เมษายน 2550)

ระยะเวลา	IPM		เปรียบเทียบ 1		เปรียบเทียบ 2	
	จำนวนเพลี้ยไฟ/ 10 ดอก/ผล	% โรคใบจุด	จำนวนเพลี้ยไฟ/ 10 ดอก/ผล	% โรคใบจุด	จำนวนเพลี้ยไฟ/ 10 ดอก/ผล	% โรคใบจุด
27 ธ.ค. 2549	0	-	8.0*	-	0*	-
10 ม.ค. 2550	0.6	-	10.1*	-	1.2	-
24 ม.ค. 2550	0.1	-	6.5*	-	0*	-
7 ก.พ. 2550	1.3	-	0.1*	-	0.2*	-
21 ก.พ. 2550	17.0*	-	0.4	-	5.1	-
8 มี.ค. 2550	25.9*	3	1.7	5	23.2	5
21 มี.ค. 2550	4.0*	-	0*	-	3.8	-
11 เม.ย. 2550	0	3	0	5	1.3	5
23 เม.ย. 2550	0	-	0	-	0	-

* = วันที่พ่นสารป้องกันกำจัดแมล'

ตารางที่ 3 แสดงชนิดและความหนาแน่นของวัชพืชในแปลงทดสอบ (IPM) และแปลงเปรียบเทียบ (สวนเกษตรกรจังหวัดจันทบุรี เดือนธันวาคม 2549 – เมษายน 2550)

ชนิดของวัชพืช	IPM		เปรียงเทียบ 1		เปรียงเทียบ	
	จำนวน/ตารางเมตร	RD(%)[1/]	จำนวน/ตารางเมตร	RD(%)	จำนวน/ตารางเมตร	RD(%)
Chromolaena sp.	79	48.76	10	3.46	276	53.08
Borreria latifolia	43	26.54	1	0.34	63	12.11
Axonopus compressis	16	9.88	-	-	-	-
Fimbristylis globulosa	7	4.32	19	6.57	17	3.27
Digitaria ciliaris	6	3.70	1	0.34	24	4.61
Tiliacora triandra	3	1.86	-	-	-	-
Phyllanthus amarus	2	1.23	12	4.15	24	4.61
Paspalum conjugatum	2	1.23	-	-	-	-
Cyperus rotundus	1	0.62	-	-	-	-
Commclina diffusa	1	0.62	-	-	-	-
Peperomia pellucida	1	0.62	87	30.10	28	5.38
Cyperus pilosus	1	0.62	-	-	-	-
Cleome rutidosperma	-	-	39	13.49	6	1.15
Axonopus compressis	-	-	31	10.73	-	-
Cyperus brevifolius	-	-	26	8.49	-	-
Ageratum congzoides	-	-	23	7.96	-	-
Celosia argentea	-	-	14	4.84	-	-
Aeternanthera sessilis	-	-	10	3.46	-	-
Davallia fejcensis	-	-	6	2.08	-	-
Mimosa pudica	-	-	5	1.73	2	0.38
Panicum repens	-	-	1	0.34	-	-
Amaranthus viridis	-	-	-	-	35	6.73

1/ RD = relative density

ตารางที่ 4 แสดงต้นทุนการผลิต ปริมาณผลผลิตต่อไร่ รายได้ต่อไร่ และผลตอบแทนต่อการลงทุนในแปลง (IPM) และแปลงเปรียบเทียบ (สวนเกษตรกรจังหวัดจันทบุรี เดือนธันวาคม 2549 – มิถุนายน 2550)

รายการ	**IPM**	**เปรียบเทียบ 1**	**เปรียบเทียบ 2**
ต้นทุนการผลิต (C) บาท/ไร่	11,196.50	13,442.50	17,116.00
- ค่าสารป้องกันกำจัดแมลง	1,512.50	1,532.50	640.00
- ค่าสารป้องกันกำจัดวัชพืช	684.00	600.00	576.00
- ค่าปุ๋ย	3,625.00	3,310.00	3,900.00
- ค่าแรง	5,375.00	8,000.00	12,000.00
รายได้ (R) บาท/ไร่	31,100.00	20,050.00	43,400.00
- ผลผลิต (กก./ไร่)	2,150	1,520	2,080
ผลตอบแทน/การลงทุน (R/C)	2.78	1.49	2.54

การทำลายของเพลี้ยไฟ

การทำลายของหนอนกินใบอ่อน

การทำลายของหนอนชอนใบ

การทำลายของเพลี้ยแป้ง

การบริหารศัตรูหน่อไม้ฝรั่งแบบผสมผสาน

Integrated Pest Control On Asparagus

อุราพร หนูนารถ ปิยรัตน์ เขียนมีสุข ทัศนาพร ทัศคร[1]
เสริมศิริ คงแสงดาว[2] ดำรง เวชกิจ อัจฉรา ตันติโชดก
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ดำเนินการทดสอบการบริหารศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยวิธีผสมผสานที่ อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี ในแปลงเกษตรกร 2 รายๆละ 1 ไร่ เป็นแปลงทดสอบแบบผสมผสาน 1 แปลง และแปลงเกษตรกรเปรียบเทียบ 1 แปลง ทำการสุ่มตรวจนับแมลงศัตรู โรคพืช วัชพืชและศัตรูธรรมชาติ ทุก 7 วัน ครั้ง จากผลการสุ่มตรวจนับชนิดและปริมาณศัตรูพืช รวม 18 ครั้ง ในแปลงทดสอบแบบผสมผสานพบแมลงศัตรู 4 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก และเพลี้ยไฟ โดยพบหนอนเจาะสมอฝ้ายระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง พ่นด้วย NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย 3 ครั้ง lufenuron 1 ครั้ง และพบเพลี้ยไฟระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง พ่นด้วยคอนฟิดอร์ (imidacloprid) 2 ครั้ง และในแปลงเกษตรกรพบ หนอนเจาะสมอฝ้ายสูงเกินระดับ 3 ครั้ง เพลี้ยไฟสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง เกษตรกรทำการพ่นสาร abamectin 14 ครั้ง, พ่น methomyl 16 ครั้ง, chlofluazuron 6 ครั้ง , *Bacillus thuringiensis* (delfin) 1 ครั้ง dinotefuran 1 ครั้ง และ indoxacarb 1ครั้ง จากการเปรียบเทียบน้ำหนักและราคาผลผลิตในแปลงทดสอบแบบผสมผสานพบว่า ได้น้ำหนักผลผลิตรวม 2,119 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคาผลผลิต 65,691 บาทต่อไร่ ส่วนแปลงเกษตรกรพบว่า ได้ผลผลิต 1,790 กิโลกรัม ต่อไร่คิดเป็นราคา 57,437 บาทต่อไร่ และเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตพบว่าในแปลงทดสอบแบบผสมผสาน มีต้นทุนการผลิต 27,632 บาทต่อไร่ คิดเป็นรายได้สุทธิ 38,059 บาทต่อไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.38 ส่วนในแปลง เกษตรกรพบว่า มีต้นทุนการผลิต 33,088 บาทต่อไร่ รายได้สุทธิ 24,349 บาท ต่อไร่ ได้ผลตอบแทนการลงทุน 1.74

รหัสโครงการ 07-01-49-04

1 กลุ่มวิจัยโรคพืช

2 กลุ่มวิจัยวัชพืช

คำนำ

หน่อไม้ฝรั่ง (*Asparaqus officinalis* Linnaeus) เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญผลิตเพื่อการส่งออกทั้งในรูปบริโภคสดและผลิตเพื่อแปรรูปทางอุตสาหกรรม ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกจำนวน 6,123 ไร่ ตลาดส่งออกรายใหญ่ของประเทศไทยได้แก่ ญี่ปุ่น แต่การผลิตหน่อไม้ฝรั่งเพื่อส่งออกไปจำหน่ายในตลาดต่างประเทศนั้น จำเป็นต้องมีการผลิตเพื่อให้ได้มาตรฐานตามที่กำหนดไว้ ปัญหาสำคัญที่ทำให้ผลผลิตของหน่อไม้ฝรั่งไม่ได้มาตรฐานส่งออกคือ ศัตรูพืช ซึ่งได้แก่ โรค และวัชพืช แมลงศัตรูพืชที่สำคัญ ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และเพลี้ยไฟ โรคพืชที่สำคัญได้แก่ โรคต้นไหม้ ใบเทียมร่วง และโรคแอนแทรคโนส ส่วนวัชพืชที่สำคัญ คือ แห้วหมู เกษตรกรมีการพ่นสารฆ่าแมลงผสมกับสารกำจัดโรคพืชเป็นประจำ เพื่อป้องกันกำจัดศัตรูดังกล่าวจากการสำรวจในปี 2538 - 2539 พบว่า เกษตรกรมีการใช้สารฆ่าแมลง 8 กลุ่มสาร และนิยมใช้สารฆ่าแมลงในกลุ่ม Organophos phate มากที่สุด คือ 21.10% รองลงมาได้แก่ Carbamate 18.40% พบเกษตรกรมีการใช้สารฆ่าแมลงมีพิษร้ายแรงสูง 16.71% มีพิษร้ายแรง 31.00% พิษปานกลาง 33.33% พิษน้อย 2.40% ส่วนสารกำจัดโรคพืช พบเกษตรกรใช้สารพวก carbendazim , mancozeb , propineb , metalaxyl , captan , copper – oxychloride เป็นต้น ด้วยช่วงพ่น 7 – 10 วันครั้ง (ปิยรัตน์ และคณะ 2540) ตกค้างในผลผลิตหรือต่ำกว่าค่า MRL ดังนั้นในปี 2550 จึงทำการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูหน่อไม้ฝรั่งโดยวิธีผสมผสาน เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ ค่าตอบแทนสูงคุ้มต่อการลงทุน ขบวนการผลิตปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค และไม่เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงหน่อไม้ฝรั่ง จำนวน 2 แปลง
- เชื้อไวรัส NPV หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้ผัก
- สารฆ่าแมลง imidacloprid (Confidor 100 SL 10% SL) และ lufenuron (Math10% EC)
- สารกำจัดโรคพืช,propineb (Antracol 70% WP) prochloraz (Octave 50% WP) carbendazim และ mancozeb (Mancozeb 80% WP)
- สารจับใบ
- ปุ๋ยสูตร 19– 19 – 19 , 16 – 16 – 16 ,17-17-17, 20-20-20 และปุ๋ยอินทรีย์
- เครื่องยนต์พ่นสารแบบใช้แรงดันน้ำ

- กล้องจุลทรรศน์, กล่องพลาสติก, ป้ายปักแปลง

วิธีการ

วิธีผสมผสาน (IPM)

1. สำรวจศัตรูพืชทุก 7-10 วัน (100 กอ/ไร่)
2. ระดับเศรษฐกิจ
   - หนอนกระทู้หอม, หนอนกระทู้ผัก : กลุ่มไข่ 0.2 กลุ่ม หรือหนอน 1 ตัว/กอ
   - หนอนเจาะสมอฝ้าย : 0.5 ตัว/กอ
   - เพลี้ยไฟ : 20 ตัว/กอ
   - โรคพืช : พบการทำลาย 5 เปอร์เซ็นต์
3. สารชีวินทรีย์ : ไวรัส NPV (หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก และหนอนเจาะสมอฝ้าย)เมื่อพบแมลงศัตรูเกินระดับเศรษฐกิจ
4. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ได้แก่สารฆ่าแมลง/สารสกัดสะเดา สารป้องกันกำจัดโรคพืช และสารป้องกันกำจัดวัชพืช
5. เทคนิคการพ่นสาร อัตรา 120 ลิตร/ไร่

วิธีการของเกษตรกร

เกษตรกรเป็นผู้ดูแลเองทั้งหมด

การบันทึกข้อมูล

บันทึกชนิดและจำนวนประชากรของแมลงศัตรูพืชและแตนเบียนศัตรูธรรมชาติบนพืช ชนิดวัชพืชและโรคพืช ชนิดของสารกำจัดศัตรูพืช และอัตราการใช้น้ำ น้ำหนักและราคาของผลผลิตต้นทุนการผลิต และการตรวจวิเคราะห์พิษตกค้างในผลผลิตทั้งในวิธีผสมผสานและวิธีของเกษตรกร

เวลาและสถานที่

เวลา ระหว่างเดือน มีนาคม 2550 –สิงหาคม 2550

สถานที่ดำเนินการ แปลงเกษตรกร ตำบลแพงพวย อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี

1.คุณอรรณนพ ลิ้มสมวงศ์ (วิธีทดสอบแบบผสมผสาน)

2. คุณกวี แซ่โง้ว (วิธีการของเกษตรกร)

ผลการดำเนินการและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจนับชนิดของศัตรูพืชบนหน่อไม้ฝรั่งทุก 7 วัน พบแมลงศัตรูพืช 4 ชนิด ได้แก่ หนอนกระทู้หอม,หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย และเพลี้ยไฟ โรคพืช 2 ชนิด ได้แก่ โรคต้นไหม้, และแอนแทรคโนส วัชพืช 4 ชนิด ได้แก่ หญ้านก,หญ้าน้ำนมราชสีห์ , ผักเบี้ยใหญ่ และกะเม็ง

ทำการสุ่มตรวจนับแมลงศัตรู โรคพืช วัชพืชและศัตรูธรรมชาติ ทุก 7 วัน ครั้ง จากผลการสุ่มตรวจนับชนิดและปริมาณศัตรูพืช รวม 18 ครั้ง ในแปลงทดสอบแบบผสมผสานพบแมลงศัตรู 4 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก และเพลี้ยไฟ โดยพบหนอนเจาะสมอฝ้ายระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง พ่นด้วย NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย 3 ครั้ง lufenuron 1 ครั้ง และพบเพลี้ยไฟระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง พ่นด้วยคอนฟิดอร์ (imidacloprid)2 ครั้ง และในแปลงเกษตรกรพบ หนอนเจาะสมอฝ้ายสูงเกินระดับ 3 ครั้ง เพลี้ยไฟสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง เกษตรกรทำการพ่นสาร abamectin 14 ครั้ง, พ่น methomyl 16 ครั้ง, chlofluazuron 6 ครั้ง , *Bacillus thuringiensis* (delfin) 1 ครั้ง dinotefuran 1 ครั้ง และ indoxacarb 1ครั้ง ส่วน การระบาดของหนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก พบระบาดต่ำ ทั้งวิธีแบบผสมผสาน และวิธีเกษตรกร ในแปลง วิธีการแบบผสมผสาน มีเปอร์เซ็นต์การทำลายของแตนเบียนหนอน (Microplitis manilae) เฉลี่ย 52.04% ส่วนแปลงเกษตรกรพบ เปอร์เซ็นต์การทำลายของแตนเบียนหนอน (Microplitis manilae) เฉลี่ย 44.03 % (ตารางที่ 1 และ 2) จากการเปรียบเทียบน้ำหนักและราคาผลผลิตในแปลงทดสอบแบบผสมผสานพบว่า ได้น้ำหนักผลผลิตรวม 2,119 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคาผลผลิต 65,691 บาทต่อไร่ ส่วนแปลงเกษตรกรพบว่า ได้ผลผลิต 1,790 กิโลกรัม ต่อไร่ คิดเป็นราคา 57,437 บาทต่อไร่ (ตารางที่ 3 และ 4) และเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตพบว่าในแปลงทดสอบแบบผสมผสาน มีต้นทุนการผลิต 27,632 บาทต่อไร่ คิดเป็นรายได้สุทธิ 38,059 บาทต่อไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.38 ส่วนในแปลง เกษตรกรพบว่า มีต้นทุนการผลิต 33,088 บาทต่อไร่ รายได้สุทธิ 24,349 บาท ต่อไร่ ได้ผลตอบแทนการลงทุน 1.74 (ตารางที่ 5)

สรุปผลการทดลอง

จากผลการสุ่มตรวจนับชนิดและปริมาณศัตรูพืช รวม 18 ครั้ง ในแปลงทดสอบแบบผสมผสานพบแมลงศัตรู 4 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก และเพลี้ยไฟ โดยพบหนอนเจาะสมอฝ้ายระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง พ่นด้วย NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย 3 ครั้ง lufenuron 1 ครั้ง และพบเพลี้ยไฟระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ 2 ครั้ง พ่นด้วยคอนฟิดอร์ (imidacloprid)2 ครั้ง และในแปลงเกษตรกรพบ หนอนเจาะสมอฝ้ายสูงเกินระดับ 3 ครั้ง เพลี้ยไฟสูงเกินระดับเศรษฐกิจ 4 ครั้ง เกษตรกรทำการพ่นสาร abamectin 14 ครั้ง, พ่น methomyl 16

ครั้ง, chlofluazuron 6 ครั้ง , *Bacillus thuringiensis* (delfin) 1 ครั้ง dinotefuran 1 ครั้ง และ indoxacarb 1ครั้ง จากการเปรียบเทียบน้ำหนักและราคาผลผลิตในแปลงทดสอบแบบผสมผสาน พบว่า ได้น้ำหนักผลผลิตรวม 2,119 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็นราคาผลผลิต 65,691 บาทต่อไร่ ส่วนแปลงเกษตรกรพบว่า ได้ผลผลิต 1,790 กิโลกรัม ต่อไร่คิดเป็นราคา 57,437 บาทต่อไร่ และเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตพบว่าในแปลงทดสอบแบบผสมผสาน มีต้นทุนการผลิต 27,632 บาทต่อไร่ คิดเป็นรายได้สุทธิ 38,059 บาทต่อไร่ ได้ผลตอบแทนต่อการลงทุน 2.38 ส่วนในแปลง เกษตรกรพบว่า มีต้นทุนการผลิต 33,088 บาทต่อไร่ รายได้สุทธิ 24,349 บาท ต่อไร่ ได้ผลตอบแทนการลงทุน 1.74

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนประชากรหนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก เพลี้ยไฟ และเปอร์เซ็นต์พาราไซต์ ต่อ 100 กอ บนหน่อไม้ฝรั่ง ระหว่างแปลงวิธีผลมผสานและวิธีเกษตรกร ตำบลแพงพวย อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม –สิงหาคม2550

วัน เดือน ปี	หนอนเจาะสมอฝ้าย		หนอนกระทู้หอม		หนอนกระทู้ผัก		เพลี้ยไฟ		เปอร์เซ็นต์พาราไซต์	
	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร
6/3/2550	43	0	19	0	0	0	63	0	22.22	0
12/3/2550	140	0	3	0	0	0	43	0	41.67	0
19/3/2550	4	3	4	0	0	0	277	14	96.99	0
26/3/2550	26	10	6	8	0	0	71	205	57.38	0
2/4/2550	16	16	0	2	1	1	49	420	70.77	60.00
9/4/2550	51	16	0	1	0	2	241	1214	55.65	7.35
30/4/2550	18	13	4	3	0	0	0	0	82.35	48.00
8/5/2550	61	17	4	12	0	4	292	415	62.80	65.31
18/5/2550	120	52	7	77	3	2	27	95	40.59	38.82
30/5/2550	0	5	0	11	0	0	0	405	0	89.80
14/6/2550	14	4	25	6	0	0	3	34	6.67	91.13
21/6/2550	22	0	35	4	0	0	48	0	26.67	100
29/6/2550	28	0	21	0	0	2	28	38	24.32	0
5/7/2550	26	3	10	1	0	0	14	40	49.02	0
19/7/2550	41	27	12	12	0	0	91	58	65.38	30.77
2/8/2550	24	145	0	3	0	1	432	66	79.31	45.12
9/8/2550	2	60	2	2	0	0	250	76	97.65	62.03
16/8/2550	10	7	0	1	0	1	781	75	83.87	94.21
เฉลี่ย									52.04	44.03
เกินET (ครั้ง)	4	3	0	0	0	0	2	4		

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบชนิดและจำนวนครั้งในการใช้สารกำจัดศัตรูพืช ในหน่อไม้ฝรั่ง ระหว่างแปลงวิธีผสมผสานและวิธีเกษตร ตำบลแพงพวย อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ระหว่างเดือน มีนาคม –สิงหาคม 2550

ชนิดและจำนวนครั้งในการพ่นสารกำจัดศัตรูพืช (ชนิด / ครั้ง)			
วิธีผสมผสาน		**วิธีเกษตรกร**	
สารฆ่าแมลง			
		สารฆ่าแมลง	
imidacloprid	2	abamectin	14
lufenuron	1	methomyl	16
		chlorfluazuron	6
		dinotefuran	1
		indoxacarb	1
เชื้อจุลินทรีย์		เชื้อจุลินทรีย์	
NPV หนอนเจาะสมอฝ้าย	3	delfin	1
รวม	3 ชนิด 6 ครั้ง	**รวม**	6 ชนิด 21 ครั้ง
สารกำจัดโรคพืช			
		สารกำจัดโรคพืช	
mancozeb	3	mancozeb 80% WP	8
prochloraz 50% WP	1	carbendazim 50% WP	20
anthacol	3	metalaxyl 25% WP	2
carbendazim 50% WP	3	prochloraz 50% WP	1
		anthacol	4
		copper oxychloride	4
รวม	4 ชนิด 12 ครั้ง	**รวม**	6 ชนิด 24 ครั้ง

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตรวม น้ำหนักผลผลิตที่ได้มาตรฐานและไม่ได้มาตรฐานต่อไร่ ระหว่างแปลงวิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกร ตำบลแพงพวย อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ระหว่างเดือน มีนาคม – สิงหาคม 2550

	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร
น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด (ก.ก/ไร่)	2,119	1,790
น้ำหนักผลผลิตได้มาตรฐาน (ก.ก/ไร่)		
น้ำหนักผลผลิตเกรด A ตูม	794	721
น้ำหนักผลผลิตเกรด B ตูม	435	667
น้ำหนักผลผลิตเกรด C	175	186
น้ำหนักผลผลิตไม่ได้มาตรฐาน (ก.ก/ไร่)		
น้ำหนักผลผลิตเกรด A บาน	192	65
น้ำหนักผลผลิต ตกเกรด	477	32
ฝอย	46	119

ตารางที่ 4 แสดงราคาผลผลิตทั้งหมด ราคาผลผลิตที่ได้มาตรฐานและไม่ได้มาตรฐานต่อไร่ ระหว่างแปลงวิธีผสมผสานและวิธีเกษตรกร ตำบลแพงพวย อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ระหว่างเดือน มีนาคม – สิงหาคม 2550

	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร
ราคาผลผลิตทั้งหมด (บาท/ไร่)	65,691	57,437
ราคาผลผลิตได้มาตรฐาน (บาท/ไร่)		
ราคาผลผลิตเกรด A ตูม	35,706	32,454
ราคาผลผลิตเกรด B ตูม	12,167	17,335
ราคาผลผลิตเกรด C	3,857	4,088
ราคาผลผลิตไม่ได้มาตรฐาน (บาท/ไร่)		
ราคาผลผลิตเกรด A บาน	5,376	1,815
ราคาผลผลิต ตกเกรด	8,123	544
ราคาผลผลิตฝอย	461	1,199

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบต้นทุนการผลิต รายได้สุทธิ ผลตอบแทนการลงทุนต่อไร่ ระหว่างแปลงวิธีผสมผสานและวิธีของเกษตรกร ตำบลแพงพวย อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี ระหว่างเดือน มีนาคม – สิงหาคม 2550

	วิธีผสมผสาน	วิธีเกษตรกร
1.ต้นทุนการผลิต (C) บาท/ไร่		
- ค่าสารกำจัดแมลงศัตรูพืช	2,796	3,870
- ค่าสารกำจัดโรคพืช	2,676	3,415
- ค่าปุ๋ย	6,360	8,443
- ค่าอาหารเสริม	600	960
- ค่าแรงพักต้น	5,000	5,000
- ค่าแรงเก็บผลผลิต	9,000	9,000
- ค่าพ่นสารฆ่าแมลง/โรค	1,200	2,400
รวมต้นทุนการผลิต (C)	27,632	33,088
ราคาผลผลิต (R) บาท/ไร่	65,691	57,437
รายได้สุทธิ (บาท/ไร่)	38,059	24,349
ผลตอบแทนต่อการลงทุน (R/C)	2.38	1.74

วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหลเพื่อกำจัดศัตรูพืช

Study on Effect of *Stemona* sp.and *Derris* sp. on Animal Pests

กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด ดาราพร รินทะรักษ์
ทรงทัพ แก้วตา รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา* พรรณีกา อัตตนนท์*
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหล DOA ในปี 2549 ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2549 โดยสุ่มให้หางไหล DOA อัตราความเข้มข้นอัตราต่างๆ กับหนูท้องขาวทางปาก และค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของหางไหลกับหนูท้องขาวบ้านมีค่า30.47มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม(0.003 เปอร์เซ็นต์)(Table 1, 2 และ Figure 1) สำหรับการ ทดสอบสารสกัดหนอนตายหยากDOAทางปาก อัตรา 0.1% และ2%,3% กับหนูท้องขาวบ้านมีผลทำให้หนูตาย 0%,90%และ100%ตามลำดับ

ในปี 2550 ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 ได้ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลDOA กับหนูพุกใหญ่ โดยสุ่มให้หางไหล DOA อัตราความเข้มข้น 0.001% 0.0015 % 0.002 % และ 0.0025% และน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบกับหนูพุกใหญ่ทางปาก อัตราละ 10 ตัว มีผลทำให้หนูพุกใหญ่ตาย70%,80%, 70% และ 90% ตามลำดับ และไม่มีหนูตายในกลุ่มเปรียบเทียบ เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อหางไหลกับหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 2 อัตราๆ ละ 10 ตัว ผลการทดสอบไม่มีหนูตายทั้งอัตรา 0.2 % และ 2 % เนื่องจากเหยื่อที่ผสมหางไหลมีกลิ่นที่รุนแรงหนูทุกตัวไม่กินเหยื่อที่ให้ จึงยังไม่สามารถสรุปผลการทดลองได้และได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมในปี 2551

รหัสโครงการ 07-01-49-05

* กลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กลุ่มวิจัยวัตุมีพิษการเกษตร

คำนำ

หนู เป็นสัตว์ศัตรูที่ทำความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจหลายชนิด คิดเป็นมูลค่าความเสียหายของพืชผลเหล่านี้ไม่ต่ำกว่า1,000 ล้านบาทต่อปี จึงต้องมีการป้องกันกำจัดเพื่อป้องกันความเสียหายของผลผลิตพืชเศรษฐกิจเหล่านี้ ซึ่งเกษตรกรมักนิยมใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดสัตว์ศัตรูพืชเหล่านี้ ปัจจุบันนโยบายด้านการเกษตรเน้นการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยลดการใช้สารเคมี เพื่อลดการปนเปื้อนของสารเคมีในพืชอาหาร ทำให้พืชมีสุขอนามัย (phytosanitary) ผู้บริโภคปลอดภัย และ ลดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม จึงเน้นการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี ซึ่งยุวลักษณ์ และคณะ (2541) ได้ทดสอบใช้ โปรโตซัว *Sarcocystis singaporensi* กำจัดหนูในสวนปาล์มน้ำมัน ชมพูนุทและคณะ (2539) ทดสอบการใช้สารสกัดจากพืชกำจัดหอยเชอรี่ เป็นต้น สารสกัดจากพืชนั้นเป็นสารที่พืชผลิตขึ้นมาเพื่อป้องกันตัวเองจากโรค แมลง และสัตว์ศัตรูที่มาทำลายหรือกัดกินต้นพืช สารที่พืชผลิตขึ้นมานี้อาจมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของศัตรูพืช เป็นสารฆ่าศัตรูพืช สารดึงดูด หรือสารขับไล่ศัตรูพืช เป็นต้น และปัจจุบันเกษตรกรไทยหันมานิยมใช้สารธรรมชาติในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชมากขึ้น ถึงแม้ว่ายังไม่มีบทบาทมากเท่ากับสารเคมี แต่สามารถช่วยลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ลงได้ ปัจจุบันเริ่มมีเอกชนบางรายสั่งผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปในต่างประเทศเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาวิจัยสารสกัดจากพืชโดยเฉพาะสารสกัดจากหนอนตายหยากและหางไหลที่กรมวิชาการเกษตรได้ผลิตขึ้นมาว่ามีความเป็นพิษและมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนูศัตรูพืชได้มากน้อยเพียงใด เพื่อนำไปใช้ป้องกันกำจัดสัตว์ศัตรูพืชต่อไป โดยคำนึงถึงความปลอดภัยต่อมนุษย์ ศัตรูธรรมชาติ สัตว์ที่เป็นประโยชน์ และสิ่งแวดล้อม รวมทั้งผลกระทบต่อสัตว์น้ำ และทดแทนสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดสัตว์ศัตรูพืชต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สิ่งที่ใช้ในการทดลอง
    1.1 สารสกัดหางไหล DOA และหนอนตายหยากDOA ที่สกัดโดยกลุ่มงานวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรจากสารธรรมชาติ กรมวิชาการเกษตร
    1.2 หนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*)
    1.3 หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*)
    1.4 กรงดักหนู กรงเลี้ยงหนู อาหารเลี้ยงหนู
    1.5 เหยื่อพิษ ประกอบด้วย ข้าวโพดป่น ปลายข้าว รำ น้ำตาลทราย แป้งสาลี น้ำมันพืช ปลายข้าว ปลาย่าง แป้งมัน ผสมสารสกัดหางไหล อัตราต่างๆ
    1.6 กรงทดลองขนาด 10 x 13 x 13 นิ้ว และ 8 x 9 x14 นิ้ว

1.7 เครื่องชั่งไฟฟ้า กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope

1.8 หลอดฉีดยาที่มีเข็มปลายทู่(Feeding tube)

1.9 พาราฟิน สไลด์ แผ่นปิดสไลด์ กระบอกตวง ขวดดอง beaker, petri dish , pararfin,blood lancet สีย้อมเนื้อเยื่อ ใบมีดตัดเนื้อเยื่อ กรรไกรและมีดผ่าตัด เป็นต้น

2.0 สารเคมี เช่น alcohol ,diethyl ether,xyline, dioxan, และอุปกรณ์ที่จำเป็น

2 แผนการทดลอง(Experimental Design) : CRD(Completely Randomized Design)

กรรมวิธี(Treatment)

การทดลองที่ 1 มี 5 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

กรรมวิธีที่ 1 หางไหล DOA อัตรา 0.001%

กรรมวิธีที่ 2 หางไหล DOA อัตรา 0.0015 %

กรรมวิธีที่ 3 หางไหล DOA อัตรา 0.002%

กรรมวิธีที่ 4 หางไหล DOA อัตรา 0.0025%

กรรมวิธีที่ 5 น้ำกลั่น เป็นตัวเปรียบเทียบ

การทดลองที่ 2 มี 3 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว)

กรรมวิธีที่ 1 เหยื่อพิษหางไหล DOA อัตรา 0.2 %

กรรมวิธีที่ 2 เหยื่อพิษหางไหล DOA อัตรา 2%

กรรมวิธีที่ 3 อาหารหนู เป็นตัวเปรียบเทียบ

3 .วิธีปฏิบัติการทดลอง (Methods or cultural Practice)

3.1ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลกับหนูพุกใหญ่

ดักจับหนูพุกใหญ่จากนาข้าวของเกษตรกรในเขตจังหวัดนครปฐม นำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ เป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ คัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย แข็งแรง มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันทั้ง 2 เพศ ก่อนการทดลองให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากหางไหล DOA กับหนูพุกใหญ่ ตามวิธีการของ ASTM (1977) โดยสุ่มให้หางไหล อัตราความเข้มข้น 0.001%,0.0015 %, 0.002%, 0.0025% และน้ำกลั่นเ เป็นตัวเปรียบเทียบกับหนูพุกใหญ่ อายุ 4-5 เดือน ที่มีน้ำหนักระหว่าง 400-500 กรัม จำนวน 50 ตัว โดยให้สารละลายทางปากอัตราละ 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัวและเพศเมีย 5 ตัว) หลังจากนั้น ให้อาหารและน้ำตามปกติ บันทึกอาการ และ การตายของหนูภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์ เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายของหนูในอัตราความเข้มข้นต่างๆ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์เพื่อหาค่าความเป็นพิษของหางไหลตามวิธีการของ Finney,1971 นำเนื้อเยื่อ และอวัยวะของหนูที่ตายจากการได้รับหางไหลมาศึกษาทางไมโครเทคนิค

3.2 ศึกษาผลของเหยื่อพิษหนอนตายหยากและหางไหลในรูปแบบต่าง ๆที่มีประสิทธิภาพกำจัดหนูศัตรูพืช

ดักจับหนูท้องขาวบ้านจากสวนของเกษตรกรในเขตจังหวัดนครปฐม นำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลาประมาณ2สัปดาห์คัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย แข็งแรง มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกันทั้ง 2 เพศ ก่อนการทดลองให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการทดลองดังนี้

ทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อหางไหล (เหยื่อประกอบด้วย ข้าวโพดป่น 15% ปลายข้าว 15% รำข้าว 15% น้ำตาลทราย 5% แป้งสาลี 15% น้ำมันพืช 5%ปลาย่างป่น 20% แป้งมัน10%) ผสมสารสกัดหางไหลอัตรา 0.2% และ 2% โดยให้หนูท้องขาวบ้าน จำนวน 2 อัตราๆ ละ 10 ตัว บันทึกน้ำหนักเหยื่อที่หนูกินเป็นเวลา 1วัน บันทึกผลการตายของหนูภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์

การบันทึกข้อมูล(Observation or Measurements)

1. น้ำหนักหนูก่อนและหลังการทดลอง
2. ปริมาณอาหารและเหยื่อพิษที่หนูกินก่อนและหลังการทดลอง
3. บันทึกอาการและการตายของหนูหลังการทดลองเป็นเวลา 3 สัปดาห์
4. ผ่าดูความผิดปกติของอวัยวะต่างๆของหนูที่ได้รับหางไหลและหนอนตายหยากในอัตราความเข้มข้นต่างๆ และเก็บไปดูผลทางไมโครเทคนิค

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2553 รวม 5 ปี

สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลการทดลอง

ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหล DOA โดยสุ่มให้หางไหล DOAอัตรา0.0005%, 0.001%, 0.0015%,0.002%,0.0031%,0.0062%,0.125%,0.025% และน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบกับหนูท้องขาวทางปาก อัตราละ 10 ตัว ทำให้หนูตาย 10%,10% , 20%, 30% 50%, 80%, 90%,100% ตามลำดับและค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของหางไหล กับหนูท้องขาวบ้าน มีค่า 30.47 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม (0.003 เปอร์เซ็นต์) (Table1,2 และ Figure 3) สำหรับการทดสอบสารสกัดหนอนตายหยาก DOA ทางปากอัตรา 0.1% และ 2%,3% กับหนูท้องขาวบ้านอัตราละ 10 ตัว ผลการทดลองหนูตาย 0%,90%และ 100% ตามลำดับ การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหลDOAกับหนูพุกใหญ่ โดยสุ่มให้หางไหล DOA อัตราความเข้มข้น 0.001%, 0.0015 %ม 0.002 % และ 0.0025% และน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบกับหนูพุกใหญ่ทางปาก อัตราละ 10 ตัว ผลการทดสอบหางไหลอัตรา 0.001%, 0.0015 %,0.002 % และ 0.0025% ทำให้หนูพุกใหญ่ตาย 70%, 80 %,70% และ 90% ตามลำดับ และไม่มีหนูตายในกลุ่มเปรียบ

เทียบ เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อหางไหลกับหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 2 อัตราๆ ละ 10 ตัว ผลการทดสอบไม่มีหนู ตายทั้งอัตรา 0.2% และ 2% เนื่องจากเหยื่อที่ผสมหางไหลมีกลิ่นที่รุนแรงหนูทุกตัวไม่กินเหยื่อที่ให้

เอกสารอ้างอิง

กรแก้ว เสือสะอาด เกษม ทองทวี สุทธิชัย สมสุข พวงทอง บุญทรง ชมพูนุท จรรยาเพศ ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และ ชูเกียรติ สุวรรณชัย. 2529. การศึกษาความเป็นพิษของโปรไดฟาคูมที่มีต่อหนูรายงานผลการค้นคว้าและวิจัย ปี 2529. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.19 หน้า

กรแก้ว เสือสะอาด ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ปิยาณี หนูกาฬ และทรงทัพ แก้วตา. 2539. การเข็ดขยาดสารซิงฟอสไฟด์ของหนูนาเล็ก, *Rattus losea*. รายงายผลการค้นคว้าและวิจัยกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 70-79.

เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ กรแก้ว เสือสะอาด ปิยาณี หนูกาฬ และ ปราสาททอง พรหมเกิด. 2541. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาในการกำจัดหอยเชอรี่ รายงานผลการวิจัยประจำปี 2541. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคม และ ทรงทัพ แก้วตา. 2535. เปรียบเทียบประสิทธิภาพเมทัลดีไฮด์กับนิโคลซาไมด์ในการกำจัดหอยเชอรี่. รายงานผลการค้นคว้าวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ศิริพร ซึงสนธิ และ ทักษิณ อาชวาคม. 2539.ทดสอบสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดหอยเชอรี่และผลกระทบต่อสัตว์น้ำ. รายงายผลการค้นคว้าวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 264-265.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ศิริพร ซึงสนธิ ปราสาททอง พรหมเกิด และ ธีระเดช เจริญรักษ์. 2540. ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากลำโพง (*Datura metel* Linn.) ในการกำจัดหอยเชอรี่. รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2541 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ดาราพร รินทะรักษ์. 2545. ผลกึ่งเรื้อรังของสารสกัดใบยาสูบ *Nicotiana tabacum* Linn. ต่อตับและไตของปลานิล *Oreochromis niloticus* Linn. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 138 หน้า.

เทพ เชียงทอง และ วิจิตรา ภัคเกษม. 2520. สารประกอบเคมีบางอย่างที่มีในรากหนอนตายหยาก .วารสาร วิทยาศาสตร์ ปีที่ 31 เล่มที่ 11 หน้า 33-34.

นิตยา เลาหะจินดา จารุวรรณ สมศิริ และนิพนธ์ มาฆทาน. 2542. แนวทางการควบคุม และกำจัดหอยเชอรี่เพื่อสิ่งแวดล้อมที่ดีกว่า. เอกสารประกอบการสัมมนา"หอยเชอรี่". กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 24 กันยายน 2542.

พวงทอง บุญทรง เสริมศักดิ์ หงส์นาค และ กรแก้ว เสือสะอาด. 2532. การแปลี่ยนแปลงประชากรหนูหลังการใช้สารกำจัดหนูโฟลคูมาเฟนในสวนปาล์มน้ำมัน. รายงายผลการค้นคว้าวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 82-92.

มานะ สุวรรณรักษ์. 2543. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดกระเทียมและหางไหลต่อ เพลี้ยไฟไรแดง และเอกสารประชุมวิชาการประจำปี 2543 ณ ศูนย์แสดงสินค้านานาชาติอิมแพ็ค เมืองทองธานี หน้า 14.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ปราสาททอง พรหมเกิด กรแก้ว เสือสะอาด เสริมศักดิ์ หงส์นาค และ ทรงทัพ แก้วตา. 2540. ผลของโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ต่อหนูนาใหญ่. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 10-16.

วินัย ปิติยนต์ และอารมย์ แสงวนิชย์. 2540. การศึกษาสารสกัดจากหางไหล เพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช. ในรายงานการประชุมวิชาการกองวัตถุมีพิษการเกษตร 2540 วันที่ 8-10 กรกฎาคม 2540 ณ โรงแรมเฟสิกซ์ริเวอร์แคว จังหวัดกาญจนบุรี. หน้า 84-92.

วีระพล จันทร์สวรรค์ สถาพร จิตตปาลพงค์ และ นงนุช จันทรราช. 2536. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากหนอนตายหยากต่อเห็บโค ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย์) 27:336-340.

สมสุข ศรีจักรวาฬ อรนุช เกษมประเสริฐ ปราโมทย์ เกิดศิริ และนพรัตน์ หยีดจันทร. 2534.การเจริญติบ โตและปริมาณสารพิษในต้นหางไหล (โล่ติ๊น) เมื่ออายุต่างกัน หน้า 25-35 ในรายงานการสัมมนา การใช้สารจากพืชเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูทางการเกษตร ปี 2534 วันที่ 7-9 มกราคม 2534 ณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เสริมศักดิ์ หงส์นาค ทักษิณ อาชวาคม เกษม ทองทวี และ ชูเกียรติ สุวรรณชัย. 2534. ทดสอบสารกำจัดหนู . ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว 7-9 สิงหาคม 2534 อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก.

Alba, M.C;Vertosio, E; Palis FV.,Macatula RF. 1993. The effect of botanicl and chemical pesticides against golden apple snail (*Pomacea* sp.) in rice Pest Management Coumcil of the Philippines, Cebu City. 4-7 May 1993.

Areekul, S.; Sinchaisri, P. and Tigvatananon, S. 2531. Effect of Thai Plant Extracts on Oriental Fruit Fly II Repellency Test Kasetsart J. (*Nat.Sci.*) 22:56-61.

Dubock, Ac. 1979. The development and practial use of the novel anticoagulant rodenticide brodifacoum. Paper Preseted at the 25 th Aniversary Symposium of Chinese Plant Protection Society, Taiwan.15p.

Fukami H. and Nakajima M. 1971. Rotenone and the Rotenoids. In Naturally Occurring Insecticides. (Eds). M. Jacobson and D.G. Crosioy. Marcel Dekker, Inc. N.Y.

Grainge M. and Ahmed S. 1988. Handbook of Plants with Pest-Control Properties. A Wiley-Insecticides Publication John Wiley & Sons. New York. 262 pp.

Godfrey, M.E.R. 1984. Acute toxicity of brodifacoum to wallabies, Macropus rufogrisens New Zealand J. Exp. Agr. 12:63-64.

Table1 Percent kill of the roof rat(Rattus rattus) after Derris sp. Extract was administered by stomach tube using water as carrier.

Dose of *Derris* sp (mg/kg)	Log dose (x)	%Kill	Empirical probits	Expected probits (y)
5	0.6990	10	3.72	3.223
10	1.0000	10	3.72	3.905
15	1.1761	20	4.16	4.303
20	1.3010	30	4.48	4.586
31	1.4948	50	5.00	5.025
62	1.7959	80	5.84	5.707
125	2.0969	90	6.28	6.388
250	2.3979	100	7.40	7.070

Table2 Comparison of observed mortality,r and expected mortality,nP for testing *Derris* sp. Against *Rattus rattus*

Log dose (x)	Expected probits (y)	Probability (P)	No. of rats (n)	No. affected		r-nP	X2=(r-nP)2/nP(1-P)
				Observed (r)	Expected (nP)		
0.6990	3.223	0.0378	10	1	0.378	0.622	1.0638
1.0000	3.905	0.1367	10	1	1.367	-0.367	0.1141
1.1761	4.303	0.2430	10	2	2.430	-0.430	0.1005
1.3010	4.586	0.3395	10	3	3.395	-0.395	0.0696
1.4948	5.025	0.5100	10	5	5.100	-0.100	0.0040
1.7959	5.707	0.7601	10	8	7.601	0.399	0.0873
2.0969	6.388	0.9174	10	9	9.174	-0.174	0.0400
2.3979	7.070	0.9808	10	10	9.808	0.192	0.1960
							PooledX^2= 1.6753

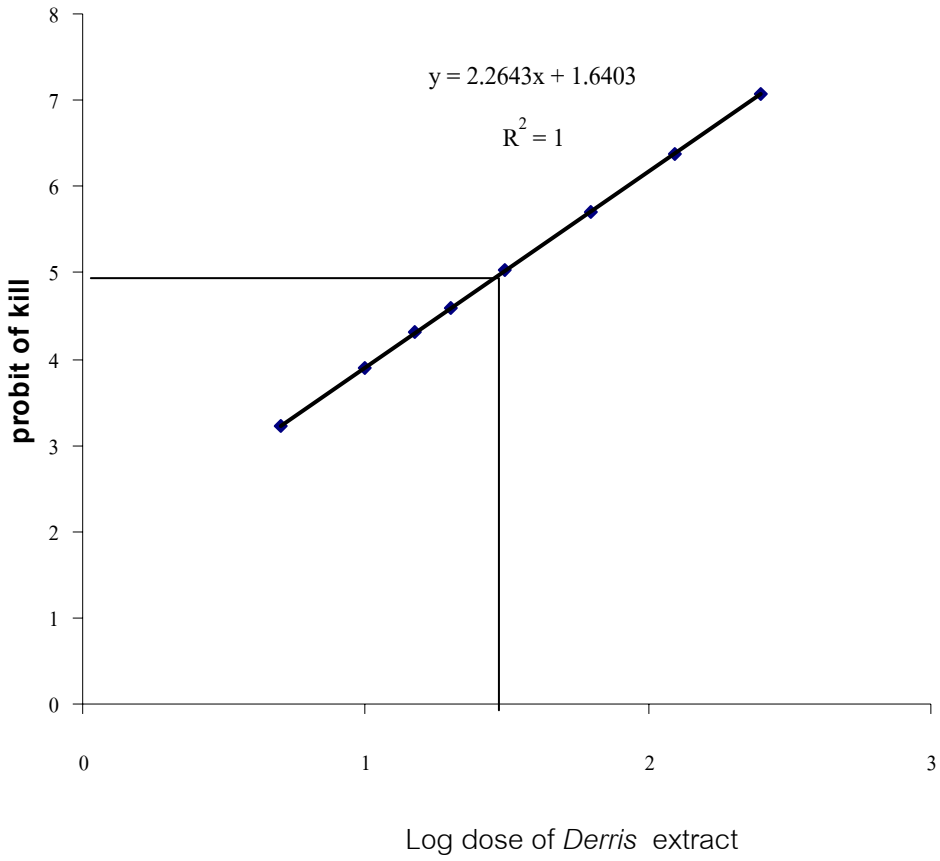


Figure 1 Dose-effect curve of *Derris* sp. extract against the roof rat (*Rattus rattus*)

ศึกษาการใช้หนอนตายหยาก และหางไหล เพื่อกำจัดหอยเชอรี่และหอยทากบกในห้องปฏิบัติการ

Study on *Stemona sp*. And *Derris sp*. For Controlling of Golden Apple Snail and Land Snails:In Laboratory

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ กรแก้ว เสือสะอาด
รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา[1] พรรณีกา อัตตนนท์[1]
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหางไหล และหนอนตายหยากกับหอยเชอรี่ และหอยทากบก 6 ชนิด ในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ตามแผนการทดลอง CRD 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ คือ สารสกัดหางไหลที่ความเข้มข้น 0.05และ 0.1 มล.ต่อลิตร และหนอนตายหยาก 2 และ 4 กรัมต่อลิตร กับหอยเชอรี่ ที่ความเข้มข้น 25 และ 50 ไมโครลิตรต่อกล่องหนอนตายหยาก 0.75 และ1 กรัมต่อกล่อง กับหอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ และที่ความเข้มข้นหางไหล 0.5และ 1 มล.ต่อกล่องหนอนตายหยาก 3 และ 5 กรัมต่อกล่อง กับหอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำ หลังจากทดสอบ 72 ชั่วโมง พบว่าหอยเชอรี่ตาย 8.33 ± 0.5, 100, 33.0 ± 0.95, 100และ0 % ตามลำดับ หอยซัคซิเนียตาย 66.67 ± 1.41, 100, 25.0 ± 1.06, 50.0 ± 0และ 0 % ตามลำคับ หอยเลขหนึ่งตาย 83.33±0.5, 100, 16.67±0.57, 16.67±0.57และ 0% ตามลำดับ หอยเจดีย์ตาย 66.66±0.81, 100, 25.0±0.5, 66.66±1.41 ,และ 0 % ตามลำดับ หอยดักดานตาย 0, 100, 0, 0และ 0 % ตามลำดับ หอยสาริกาตาย 50.0±1.73, 100, 0, 0และ0 % ตามลำดับ หอยทากยักษ์ตาย 33.5±1.5, 75.0±1.41, 8.33±0.5, 8.33±0.5 และ0 % ตามลำดับ และได้ทำการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหอยแต่ละชนิดหลังทดสอบด้วยสารสกัดโดยทำสไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินซึ่งอยู่ระหว่างตรวจเนื้อเยื่อ

รหัสโครงการ 07-01-49-05

1 สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

คำนำ

ปัจจุบันหอยทากหลายชนิดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทั้งในสวนผลไม้ ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชผักตลอดจนในนาข้าวที่พบหอยเชอรี่เป็นศัตรูที่สำคัญ เนื่องจากหอยจะกัดกินส่วนต่าง ๆ ของพืชทั้งที่อยู่ใต้ดิน ได้แก่ ราก ลำต้น (Barker and Addison,1992) ส่วนที่อยู่เหนือพื้นดิน ได้แก่ ลำต้น ใบ ดอก ผล ทำให้เกิดความเสียหายหรือทำให้การเจริญเติมโตชะงัก (Srivastava,1992) การออกดอก ติดผล ลดลง และบางครั้งบริเวนแผลของพืชที่ถูกหอยกัดทำลายจะถูกเข้าทำลายจากเชื้อรา แบคทีเรีย ซึ่งเป็นสาเหตุโรคพืช (Watson et. al.,1989) ทำให้พืชเหล่านั้นตายในที่สุด ในด้านกักกันพืชหอยมักติดไปกับพืชส่งออกโดยเฉพาะ ต้น และดอกกล้วยไม้ที่ส่งไปขายต่างประเทศ ในกลุ่มสหภาพยุโรป อเมริกา ญี่ปุ่น ถ้าด่านตรวจพืชของประเทศเหล่านั้นตรวจพบหอยที่ติดมากับกล้วยไม้หรือพืชผักจะเผาทันที จึงเป็นการสูญเสียทั้งเงินและสิ่งของตลอดจนชื่อเสียงประเทศและสินค้าเกษตรอื่นๆ จะถูกมาตรการกีดกันเข้มงวดมากขึ้นทำให้เป็นอุประสรรคต่อการส่งออก ดังนั้นเกษตรกรจะปล่อยปะละเลยต่อการป้องกันกำจัดหอยทากบกอีกต่อไปไม่ได้ จะต้องให้ความสนใจป้องกันกำจัดอย่างจริงจังไม่ยิ่งหย่อนไปกว่าโรคและแมลง จะต้องทำการตรวจแปลงอย่างสม่ำเสมอถ้าพบหอยระบาดจะต้องป้องกันกำจัด ซึ่งมีหลายวิธีตามความเหมาะสม เช่น ถ้าเป็นหอยขนาดใหญ่ คือ หอยเชอรี่ หอยทากยักษ์ จะเก็บมาทุบทำลายหรือนำมารับประทาน นำมาผสมอาหารเลี้ยง เป็ด ไก่ ปลา หรือเป็นทำปุ๋ยชีวภาพจะเป็นการลดประชากรหอยได้บ้าง แต่ถ้าหอยมีการระบาดจะต้องใช้สารเคมีกำจัดเฉพาะหอย ได้แก่ เมทัลดีไฮด์ นิโคลซาไมด์ ฉีดพ่นให้ถูก ตัวหอย (ชมพูนุทและคณะ,2542) แต่เนื่องจากหอยทากบกออกหากินเวลากลางคืนจึงป้องกันกำจัดค่อนข้างยาก ดังนั้นการใช้เหยื่อพิษจึงเป็นวิธีการกำจัดที่ได้ผลดีโดยวางเหยื่อพิษบนพื้นดินที่มีความชื้น บริเวณที่หอยอาศัยอยู่หอยจะมากินเหยื่อและตายในที่สุด (Port and Port,1986) ปัจจุบันมีการรณรงค์ให้ลดการใช้สารเคมี เพื่อลดมลพิษทางธรรมชาติมุ่งไปสู่เกษตรที่ยั่งยืนจึงหันมาใช้สารจากธรรมชาติ เช่น ใช้สารสกัดสะเดา สารสกัดมะคำดีควาย มาใช้กำจัดหอยเชอรี่ และผลกระทบต่อปลานิล ใช้สารสกัดเทียนหยด ลำโพง มะไฟนกคุ่ม เป็นต้น กำจัดหอยเชอรี่ โดยสารสกัดนั้นจะมีสารออกฤทธิ์ต่างกัน เช่น สะเดา มีสารยับยั้งการกินอาหาร การทำงานของเซลล์ประสาท มีผลทำให้สัตว์ตายในที่สุด (ชัยพัฒน์, 2539) มะคำดีควายมีสารซาโปนิน ทำให้เซลล์แตก (Hostettmann et. al.,1991) และทำให้ผนังเซลล์ของอวัยวะต่างๆ ในหอยเชอรี่แตกและตายในที่สุด (ปราสาททองและคณะ, 2546) จึงได้ทำการศึกษาทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหางไหลและหนอนตายหยากกับหอยเชอรี่และหอยทากบก 6 ชนิด ได้แก่ หอยสาริกา หอยดักดาน หอยทากยักษ์ หอยเจดีย์ หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง ซึ่งเป็นศัตรู

ของพืชเศรษฐกิจ เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกรและนำมาพัฒนาประยุกต์ใช้กำจัดหอยแต่ละชนิดอย่างเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.สัตว์ทดลอง

- หอยเชอรี่

-หอยทากบก 6 ชนิดได้แก่ หอยซัคซิเนียหอยเลขหนึ่ง หอยทากยักษ์ หอยดักดาน หอยเจดีย์หอยสาริกา

2.เครื่องมือ

-กล่องพลาสติกขนาด 75 และ 300 ตารางเซนติเมตร

-กระดาษทีชชู

-กล้องจุลทรรศน์และกล้องสเตอริโอ

- อาหารเลี้ยงหอย

-เครื่องมือทางเนื้อเยื่อวิทยา

- สีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน

3. สารสกัดจากพืชได้แก่ หางไหลและหนอนตายหยาก

วิธีการ

1.เตรียมสารสกัดจากพืช

- สารสกัดหางไหลได้จากกรมวิชาการเกษตรซึ่งสกัดด้วยแอลกอฮอล์แล้วกลั่นเอาแอลกอฮอล์ออกได้สารสกัดเข้มข้นมีสารออกฤทธิ์โรติโนน 5.7 %

- สารสกัดหนอนตายหยาก อบรากหนอนตายหยากจนแห้ง แล้วบดเป็นผงจนละเอียดแล้วนำไปทดสอบต่อไป

2. เตรียมสัตว์ทดลอง

2.1 หอยเชอรี่ เก็บรวบรวมจากแปลงนาของเกษตรกร จ.สุพรรณบุรี มาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ในโรงเรือนของกลุ่มงานสัตว์วิทยาการเกษตรให้อาหารปลาชนิดเม็ดและพืชน้ำ เช่น สาหร่าย จอกแหนเป็นต้น

2.2 หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ เก็บรวบรวมจากแปลงสวนกล้วยไม้ จ.กาญจนบุรี จ.สมุทรสาครมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด75 ตารางเซนติเมตร เพื่อเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

2.3 หอยทากยักษ์ หอยดักดาน หอยสาริกา เก็บรวบรวมจากแปลงสวนผลไม้ จ.นทบุรี จ.ลพบุรี มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 300 ตารางเซนติเมตร เพื่อเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

3.การทดลอง

3.1 หอยเชอรี่ คัดเลือกหอยที่ตัวเต็มวัยและสมบูรณ์มาใส่บิคเกอร์ขนาด 1,000มล. ที่บรรจุน้ำไว้ 500 มล. บิคเกอร์ละ 3 ตัว เมื่อหอยเปิดฝาคลานดีแล้วใส่ สารสกัดหางไหลอัตรา 0.05 และ 0.1มล.ต่อลิตรหรือหนอนตายหยากอัตรา 2 และ 4 กรัมต่อลิตรตามแผนการทดลอง CRD5 กรรมวิธี 4ซ้ำ หลังทดสอบ 24,48,และ 72 ชม.ตรวจดูการตายของหอย

3.2 หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ คัดเลือกหอยที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด75 ตารางเซนติเมตรจำนวน 5 ตัวต่อกล่องที่พื้นกล่องแต่ละกล่องบุด้วยกระดาษทีชชูที่ฉีดน้ำพอชุ่มชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่สารสกัดหางไหลอัตรา 25 และ 50 ไมโครลิตร.ต่อกล่อง หรือหนอนตายหยากอัตรา 0.75 และ1 กรัมต่อกล่องตามแผนการทดลอง CRD 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หลังทดสอบ 24, 48 และ 72 ชม. ตรวจนับการตายของหอย

3.3. หอยทากยักษ์ หอยดักดาน หอยสาริกาคัดเลือกหอยที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 300 ตารางเซนติเมตร จำนวน 3 ตัวต่อกล่อง ที่พื้นกล่องแต่ละกล่องบุด้วยกระดาษทีชชูที่ฉีดน้ำพอชุ่มชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่สารสกัดหางไหลอัตรา 0.5 และ 1.0มล.ต่อกล่องหรือหนอนตายหยากอัตรา 3 และ 5กรัมต่อกล่อง ตามแผนการทดลอง CRD 5 กรรมวิธี 4ซ้ำ หลังทดสอบ 24, 48 และ 72 ชม. ตรวจนับการตายของหอย

4. ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาด้วยการเก็บหอยแต่ละชนิดที่มีชีวิตมาคงสภาพด้วยฟอร์มาลีน 10 % แล้วผ่านขบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยาได้สไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินตรวจดูด้วยกล้องจุทรรศน์

5. บันทึกข้อมูล

5.1 อัตราการตายของหอยแต่ละชนิดที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

5.2 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหอยชนิดต่างๆ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่ม ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองสารสกัดหนอนตายหยากและหางไหลกับหอยเชอรี่และหอยทากบก 6 ชนิด พบว่าหอยแต่ละชนิดมีอัตราการตายดังนี้

1. หอยเชอรี่หลังทดสอบ72 ชั่วโมง หอยที่ทดสอบสารสกัดหางไหลอัตรา 0.05และ0.1มล.

ต่อลิตร หรือหนอนตายหยากอัตรา 2 และ 4 กรัมต่อลิตรเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำ มีอัตราการตาย 8.33±0.5, 100, 33.0±0.95, 100และ 0 % ตามลำดับ

2. หอยซัคซิเนียหลังทดสอบ 72 ชั่วโมง หอยที่ทดสอบสารสกัดหางไหลอัตรา 25 และ 50 ไมโครลิตรต่อกล่องหรือหนอนตายหยากอัตรา 0.75 และ 1.0 กรัมต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำ มีอัตราการตาย 66.67±1.41, 100, 25.0±1.06, 50.0±0และ 0 % ตามลำดับ

3. หอยเลขหนึ่งหลังทดสอบ 72 ชั่วโมง หอยที่ทดสอบสารสกัดหางไหลอัตรา 25 และ 50 ไมโครลิตรต่อกล่อง หรือหนอนตายหยากอัตรา 0.75 และ 1.0 กรัมต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำ มีอัตราการตาย 83.33±0.57, 100, 16.67±0.57, 16.67±0.57และ 0 % ตามลำดับ

4. หอยเจดีย์หลังทดสอบ 72 ชั่วโมง หอยที่ทดสอบสารสกัดหางไหลอัตรา 25 และ 50 ไมโครลิตรต่อกล่องหรือหนอนตายหยากอัตรา 0.75 และ 1.0 กรัมต่อกล่องเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำ มีอัตราการตาย 66.66±0.81, 100, 25.0±0.5, 66.66±1.41 และ 0 % ตามลำดับ

5. หอยดักดานหลังทดสอบ 72 ชั่วโมง หอยที่ทดสอบสารสกัดหางไหลอัตรา 0. 5 และ 1 มล.ต่อลิตรหรือหนอนตายหยากอัตรา 3และ 5 กรัมต่อลิตรเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำ มีอัตราการตาย 0, 100, 0, 0และ 0 %ตามลำดับ

6. หอยสาริกาหลังทดสอบ 72 ชั่วโมง หอยที่ทดสอบสารสกัดหางไหลอัตรา 0. 5 และ 1 มล.ต่อลิตรหรือหนอนตายหยากอัตรา 3 และ 5 กรัมต่อลิตรเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำ มีอัตราการตาย 50.0±1.73, 100, 0, 0และ 0 %ตามลำดับ

7. หอยทากยักษ์หลังทดสอบ 72 ชั่วโมง หอยที่ทดสอบสารสกัดหางไหลอัตรา 0. 5 และ 1 มล.ต่อลิตรหรือหนอนตายหยากอัตรา 3 และ 5 กรัมต่อลิตรเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำ มีอัตราการตาย 33.5±1.5, 75.0±1.41, 8.33±0.5, 8.33±0.5และ 0 %ตามลำดับ

8. ผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาอยู่ระหว่างการตรวจดูเนื้อเยื่อหอยจะรายงานต่อไป

การที่หอยเชอรี่และหอยทากบกทั้ง 6 ชนิดหลังทดสอบด้วยสารสกัดหางไหลที่ความเข้มข้นสูงขึ้นอัตราการตายก็จะสูงขึ้นตามไปด้วยเนื่องจากสารสกัดหางไหลมีสารออกฤทธิ์โรติโนนที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์ เมื่อหอยเหล่านั้นได้รับสารเข้าไปจึงไปทำลายเซลล์ในอะวัยวะต่างๆของหอย เช่น ทางเดินอาหาร หายใจ แผ่นเท้าจึงส่งผลให้หอยตายในที่สุดสอดคล้องกับสารสกัดมะคำดีควายที่ทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อหอยเชอรี่(ปราสาททองและคณะ, 2546) ส่วนสารสกัดหนอนตายหยากพบว่ามีประสิทธิภาพฆ่าหอยได้ไม่ดี เนื่องจากหนอนตายหยากชนิดผงอาจจะมีความเข้มข้นไม่สูงพอที่จะฆ่าหอยได้

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหางไหลมี่ประสิทธิภาพฆ่าหอยทั้ง 7 ชนิด ได้สูง ส่วนหนอนตายหยาก นั้นมีประสิทธิภาพไม่ค่อยดี อาจจะเนื่องมาจากไม่ได้สกัดด้วยแอลกอฮอล์ จึงมีฤทธิ์ไม่เข้มข้นพอที่จะฆ่าหอยได้ ซึ่งจะต้องทำการทดสอบต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ. 2542. หอยทากศัตรูกล้วยไม้. เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จังหวัดราชบุรี. สำนักงานเกษตรจังหวัดราชบุรี 5 หน้า.

ชัยพัฒน์ จิระธรรม. 2539. ทำอย่างไรจึงจะใช้สารสกัดสะเดาให้ได้ผลดี. วารสารกีฏและสัตววิทยา 18(1) 55-60.

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ และเรวดี พรหมเกิด. 2546. ประสิทธิภาพของสารสกัดมะคำดีควายต่อเซลล์และอัตราการตายของหอยเชอรี่. การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 41 .มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร หน้า 393-401.

Barker, G.M. and P.J. Addison. 1992. Pest Status of Slug in Two New Zealand Partures. Crop Protection 11 439 - 442.

Hostettmann, K.,M. Hotettmann and A. Marston. 1991. Saponins. pp. 435-471. In B. V. Chariwood and D. V. Banthorpe Z ed.X Vol. 7 of Methods in Plant Biochemistry. J.B. Harborne and P. M. Dey (ed.) Terpenoids. Academic Press. London.

Port, G. R.,J. M. Hogan and C. M. Port. 1992. Factors affecting the time of slug control in winter wheat. Pp. 257-261.In Proceeding of the Ninth International Malacological Congress, 1986. Unitas Malacologica the Netherland.

Watson, R.N., R.A.S.Kipp and B.I.P. Barratt. 1989. Initiatives in Pest and desease control in New Zealand towards in Proving legume production and persistence. pp 441-464. In G.C. Marten A.G. Matches ,R.F. Barnes, R.N. Brongham, R.J. Clementes and G.R. Sheath (ed.) Persistence of Forage Legumes, American Society of Agronomy Crop Science Society of America / Soil Science Society of America, Madison Wisconsin.

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

Efficiency of Botanical Pesticides for Controling Insect Pests

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต วัชรี สมสุม สาทิพย์ มาลี
ลัดดาวัลย์ อินทร์สังข์[1] พรรณีกา อัตตานนท์[2] รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา[2]
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ ระหว่าง เดือนตุลาคม 2549 ถึง เดือน กันยายน 2550 พบว่า ประสิทธิภาพหางไหล สูตร K0/800, K0/1000, K5F1/800, K5F1/1000, K5.8F1/800 และ K5.8F1/1000 กับหนอนกระทู้หอมวัยที่ 3 มีอัตราการตาย พบว่า ทำให้หนอนตาย 7.5, 27.5, 27.5, 32.5, 12.5, 20 % ภายใน 7 วัน ตามลำดับ และทดสอบกับด้วงหมัดผักตัวเต็มวัย ตาย 100% ภายใน 3 วัน ทุกความเข้มข้น ส่วนหางไหล สูตรอัตราความเข้มข้น 600, 800, 1000, 1200 และ 1,400 ppm พบว่า ทำให้หนอนกับหนอนกระทู้หอม วัยที่ 3 ตาย 35.0, 45.0, 65.0, 70.0 และ 82.5 % ตามลำดับ ภายใน 72 ชั่วโมง และทดสอบกับหนอนกระทู้หอมรุ่นถัดมา พบว่า ทำให้หนอนกระทู้หอม วัยที่ 1 ตาย 7.5, 45.12, 45.71, และ 39.17 % ตามลำดับ ภายใน 48 ชั่วโมง และ ทำให้หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 ตาย 40.0, 67.5, 73.23, 77.5 และ 85 % ตามลำดับ ภายใน 72 ชั่วโมง และทดสอบหนอนกระทู้ผักรุ่นถัดมา พบว่า ทำให้หนอนกระทู้ผัก วัยที่ 1 ตาย 87.50, 82.50, 87.5, 50 และ 90 นอนกระทู้ผัก วัยที่ 2 ตาย 52.50, 40.00, 72.50, 60.00 และ 57.50 และ ทำให้หนอนกระทู้ผัก วัยที่ 3 ตาย 40.0, 77.50, 67.50, 72.50 และ 85.00 โดยเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น ผลการทดสอบประสิทธิภาพหนอนตายหยาก สูตรความเข้มข้น 2, 1, 0.5, 0.25 % กับหนอนกระทู้หอมวัยที่ 3 พบว่า ทำให้หนอนตาย 22.50, 12.50, 17.50, 5 % ตามลำดับ ภายใน 7 วัน และ สารสกัดหนอนตายหยาก สูตรสายพันธุ์ที่ 1-6 พบว่า ทำให้หนอนกระทู้หอม วัยที่ 1 ตาย 25.0, 25.0, 20.0, 10.0, 30.0 และ 37.5% หนอนกระทู้หอม วัยที่ 2 ตาย 10.0, 25.0, 25.0, 20.0, 50.0 และ 75.0% หนอนกระทู้หอม วัยที่ 3 ตาย 2.5, 5.0, 0.0, 27.5, 20.0 และ 65.0% ตามลำดับ ภายใน 48 ชั่วโมง และทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก วัยที่ 1 ทำให้หนอนตาย

รหัสโครงการ 07-01-49-05

สถาบันวิจัยพืชสวน[1] สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร[2]

2.50, 10.00, 10.00, 47.50, 95.00 และ 95.00 % ตามลำดับ ภายใน 72 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองสารสกัดทั้ง 2 ชนิดไปวิเคราะห์ผลทางสถิติและคัดเลือกไปใช้ทดสอบในสภาพแปลงทดลอง ปีงบประมาร 2551 ต่อไป

คำค้น สารสกัด หางไหล หนอนตายหยาก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย ด้วงหมัดผัก

คำนำ

นับแต่ปี 2522 -2534 มีรายงานคุณสมบัติเป็นสารฆ่าแมลง 1,053 ชนิด สารฆ่าเชื้อรา 100 ชนิด สารฆ่าไส้เดือนฝอย 58 ชนิด สารฆ่าสัตว์ฟันแทะ 29 ชนิด สารฆ่าวัชพืช 14 ชนิด สารฆ่าหอย 6 ชนิด สารฆ่าแบคทีเรีย 4 ชนิด สารฆ่าไร 2 ชนิด สารยับยั้งการกินอาหาร 230 ชนิด สารไล่แมลง 225 ชนิด สารยับยั้งการเจริญเติบโต 32 ชนิด และ สารดึงดูด 26 ชนิด นอกจากนี้ยังมีรายงานการทดสอบพืชในรูปแบบต่างๆ 231 ชนิด พบว่าเป็นพิษต่อเพลี้ยอ่อน 18 ชนิด เป็นพิษต่อหนอนกระทู้ 9 ชนิด เป็นพิษต่อแมลงวัน 4 ชนิด เป็นพิษแมลงวันทอง 18 ชนิด นอกจากนี้ยังมี สารดึงดูดแมลงวันทอง 23 ชนิด มีสารไล่แมลงวันทอง 14 ชนิด ซึ่งในกลุ่มพืชที่มีผลต่อกลุ่มหนอนกระทู้ ได้แก่ ว่านเศรษฐี แสลงใจ หนอนตายหยาก มะกล่ำตาหนู ว่านน้ำ น้อยหน่า สะเดา สลอด มันแกว (อำนวย,2534 ; เกรียงไกร,2543) สุภราดาและคณะ (2542) ได้ทำการศึกษาการใช้สารสกัดสะเดาสำเร็จรูปของกรมวิชาการเกษตรในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่วเขียว พบว่า การใช้สารสกัดสะเดาของกรมวิชาการเกษตรผสมน้ำให้มีปริมาณสาร Azadiractin A เข้มข้น 40 ppm สามารถใช้ป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่วเขียวได้โดยพ่นต้นถั่วเขียวตั่งแต่ถั่วเขียวเริ่มงอกมีใบจริง 2 คู่ พ่นทุก 4วัน รวม 3 ครั้ง ทวีศักดิ์ (2543) รายงานว่า สารสกัดจากใบมะระขี้นกมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการป้องกันกำจัดด้วงหมัดผัก มยุรา (2545) ได้ทำการทดสอบในปี 2543 โดยใช้สารสกัดจากพืช จำนวน 20 ชนิด ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในห้องปฏิบัติการ พบว่าสารสกัดจากใบยาสูบมีประสิทธิภาพดีที่สุด ทำให้หนอนใยผัก วัย 3 ตาย 96 % รองลงมา คือ สารสกัดจากเปลือกลำต้นอบเชย และผลโป๊ยกั๊ก ทำให้หนอนใยผักตาย 80 และ 78 % ตามลำดับ

การระบาดของหนอนแมลงศัตรูพืชพบได้สม่ำเสมอตลอดปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงศัตรูพืชผักที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนใยผัก หนอนคืบกะหล่ำ เป็นต้น เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดกันอย่างมาก และใช้อัตราที่สูงกว่าความจำเป็น ทำให้เกิดปัญหาตามมาอย่างต่อเนื่อง ไม่ว่าจะเป็นปัญหาการดื้อยาฆ่าแมลง ปัญหาพิษตกค้างในผลิตผลการเกษตรและสิ่งแวดล้อม รวมทั้งปัญหาสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้สารฆ่าแมลงและผู้เกี่ยวข้อง ดังนั้นการศึกษาถึงแนวทางที่จะใช้สารสกัดจากพืช (Botanical

Insecticide) ที่มีคุณสมบัติ หรือแนวโน้ม ที่จะสามารถควบคุมหรือกำจัดแมลงได้ดี มาใช้ทดแทนสารฆ่าแมลงที่เป็นอันตรายนั้น จึงมีความจำเป็นอย่างมากและเป็นงานที่ต้องมีการศึกษาพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ผลงานวิจัยที่ได้สามารถถ่ายทอดและนำไปปรับใช้ได้จริงสู่เกษตรกร และการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงกำลังมีปัญหาเกิดขึ้นมากมาย โดยเฉพาะกับตัวผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนผู้บริโภค ทำให้เกิดกระแสตื่นตัวในด้านสุขภาพอนามัย หลายหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง จึงหันมาสนใจและศึกษากันอย่างจริงจังในการที่จะหาสารสกัดจากสิ่งมีชีวิต เช่น พืช ที่มีคุณสมบัติในการใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช เพื่อศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ทดแทนสารเคมีกำจัดแมลงที่มีอันตราย ดังนั้นการจะหาสารจากพืชที่มีคุณสมบัติดังกล่าวมาใช้ได้นั้น ต้องมีการศึกษา ค้นคว้า วิจัยกันอย่างจริงจัง โดยเฉพาะการศึกษาจะต้องทำกันทั้งในห้องปฏิบัติการและสภาพแปลงทดลอง เพื่อให้ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชที่จะนำมาใช้ทดแทนสารเคมีกำจัดแมลง

วัตถุประสงค์

เพื่อทราบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ได้แก่ สารสกัดหางไหลและหนอนตายหยากในการใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูที่สำคัญในพืชเศรษฐกิจ เพื่อเป็นแนวทางในการนำมาใช้ทดแทนสารเคมีฆ่าแมลง เช่น ด้วงหมัดผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย เป็นต้น ในห้องปฏิบัติการ เพื่อหาความเป็นไปได้ในการนำมาใช้จริง และทำการทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลองเพื่อนำข้อมูลที่ได้มาปรับใช้ได้จริงในสภาพไร่ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนอนแมลงที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ ด้วงหมัดผัก หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย
2. สารสกัดหางไหล และ หนอนตายหยาก จากสำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
3. วัสดุ-อุปกรณ์การทดสอบสารสกัด เช่น ขวดสเปรย์สาร ปากคีบ พู่กัน อาหารเทียมเลี้ยงแมลง ใบผัก

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหางไหลและหนอนตายหยากเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ (2549-2550)

1. วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวนจำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี
2. วิธีปฏิบัติการทดลอง
    2.1 เตรียมวัสดุ-อุปกรณ์เพื่อใช้ในการทดลอง สารสกัด อาหารเทียมเลี้ยงแมลง และ วัสดุอื่นๆ เพื่อใช้ในการทดลอง และเลี้ยงขยายแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ
    2.2 ทดสอบสารสกัดหางไหล สูตร K0/800, K0/1000, K5F1/800, K5F1/1000, K5.8F1/800 และ K5.8F1/1000 และ สูตรอัตราความเข้มข้น 600, 800, 1000, 1200 และ 1,400 ppm โดยการพ่นสารสกัดบนตัวหนอนทดลองแต่ละชนิด และตรวจนับจำนวนหนอนตาย ภายใน 48-72 ชั่วโมง
    2.3 ทดสอบสารสกัดหนอนตายหยาก สูตร ความเข้มข้น 2, 1, 0.5, 0.25 % และสูตรสกัดหนอนตายหยาก สายพันธุ์ที่ 1-6
3. บันทึกผลการทดลองและวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างทางสถิติ

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหางไหลและหนอนตายหยากเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในสภาพแปลงทดลอง (2551)

1. วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี
2. วิธีปฏิบัติการทดลอง
    2.1 เตรียมวัสดุ-อุปกรณ์เพื่อใช้ในการทดลอง สารสกัด อาหารเทียมเลี้ยงแมลง และ วัสดุอื่นๆ เพื่อใช้ในการทดลอง และเลี้ยงขยายแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ
    2.2 ทดสอบสารสกัดหางไหล และหนอนตายหยาก สูตรที่ได้ผลดีในระดับห้องปฏิบัติการมาทดสอบในสภาพแปลงทดลอง
3 บันทึกผลการทดลองและวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างทางสถิติ

เวลาและสถานที่ดำเนินการ

ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในระดับห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ ระหว่าง เดือนตุลาคม 2549 ถึง เดือน กันยายน 2550

ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในระดับแปลงทดลอง ท้องที่จังหวัดกาญจนบุรี ระหว่าง เดือนตุลาคม 2550 ถึง เดือน กันยายน 2551

ผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ ได้ผลการทดลอง ดังนี้

ผลการทดสอบประสิทธิภาพหางไหล เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ

ได้ดำเนินการวางแผนการทดลอง-เตรียมวัสดุ-อุปกรณ์เพื่อใช้ในการทดลองวางแผนการทดลอง แบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ และ จัดเตรียมพ่อแม่พันธุ์แมลง สารสกัด แล ะ วัสดุอื่นๆเพื่อใช้ในการทดลอง และ เลี้ยงขยายแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบสารสกัดหางไหล สูตร K0/800, K0/1000, K5F1/800, K5F1/1000, K5.8F1/800 และ K5.8F1/1000 กับหนอนกระทู้หอมวัยที่ 3 มีอัตราการตาย พบว่า ทำให้หนอนตาย 7.5, 27.5, 27.5, 32.5, 12.5, 20 % ภายใน 7 วัน ตามลำดับ และทดสอบกับด้วงหมัดผักตัวเต็มวัย ตาย 100% ภายใน 3 วัน ทุกความเข้มข้น

ทำการทดสอบสารสกัดหางไหล สูตรอัตราความเข้มข้น 600, 800, 1000, 1200 และ 1,400 ppm พบว่า ทำให้หนอนกับหนอนกระทู้หอม วัยที่ 3 ตาย 35.0, 45.0, 65.0, 70.0 และ 82.5 % ตามลำดับ ภายใน 72 ชั่วโมง และทดสอบกับหนอนกระทู้หอมรุ่นถัดมา พบว่า ทำให้หนอนกระทู้หอม วัยที่ 1 ตาย 7.5, 45.12, 45.71, และ 39.17 % ตามลำดับ ภายใน 48 ชั่วโมง และ ทำให้หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 ตาย 40.0, 67.5, 73.23, 77.5 และ 85 % ตามลำดับ ภายใน 72 ชั่วโมง และทดสอบหนอนกระทู้ผักรุ่นถัดมา พบว่า ทำให้หนอนกระทู้ผัก วัยที่ 1 ตาย 87.50, 82.50, 87.5, 50 และ 90 นอนกระทู้ผัก วัยที่ 2 ตาย 52.50, 40.00, 72.50, 60.00 และ 57.50 และ ทำให้หนอนกระทู้ผัก วัยที่ 3 ตาย 40.0, 77.50, 67.50, 72.50 และ 85.00 โดยเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น

ซึ่งผลการทดลองจะนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติและคัดเลือกไปใช้ทดสอบในสภาพแปลงทดลอง ปีงบประมาร 2551 ต่อไป

ผลการทดสอบประสิทธิภาพหนอนตายหยากเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดสอบประสิทธิภาพหนอนตายหยากเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจ โดยดำเนินการวางแผนการทดลอง-เตรียมวัสดุ-อุปกรณ์เพื่อใช้ในการทดลองวางแผนการทดลอง แบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ และ จัดเตรียมพ่อแม่พันธุ์แมลง สารสกัด แล ะ วัสดุอื่นๆเพื่อใช้ในการทดลอง และ เลี้ยงขยายแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบสารสกัดหนอนตายหยาก สูตรความเข้มข้น 2, 1, 0.5, 0.25 % กับหนอนกระทู้หอมวัยที่ 3 มีอัตราการตายพบว่าให้หนอนตาย 22.50, 12.50, 17.50, 5 % ตามลำดับ ภายใน 7 วัน

ทำการทดสอบประสิทธิภาพหนอนตายหยาก สูตร สายพันธุ์ที่ 1-6 พบว่า ทำให้หนอนกระทู้หอม วัยที่ 1 ตาย 25.0, 25.0, 20.0, 10.0, 30.0 และ 37.5% หนอนกระทู้หอม วัยที่ 2 ตาย 10.0, 25.0, 25.0, 20.0, 50.0 และ 75.0% หนอนกระทู้หอม วัยที่ 3 ตาย 2.5, 5.0, 0.0, 27.5, 20.0 และ 65.0% ตามลำดับ ภายใน 48 ชั่วโมง และทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก วัยที่ 1 ทำให้หนอนตาย 2.50, 10.00, 10.00, 47.50, 95.00 และ 95.00 % ตามลำดับ ภายใน 72 ชั่วโมง

ซึ่งผลการทดลองนี้จะนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติและคัดเลือกไปใช้ทดสอบในสภาพแปลงทดลอง ปีงบประมาร 2551 ต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหางไหล และหนอนตายหยาก เพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจในห้องปฏิบัติการ แต่ละสูตรสามารถใช้ได้ดีกับแมลงแต่ละชนิดไม่เท่ากัน ซึ่งควรจะมีการปรับปรุงสูตรให้เหมาะสมต่อไป ส่วนสูตรที่มีประสิทธิภาพดีจะนำไปใช้ทดสอบในสภาพแปลงทดลอง ในปี 2551 ต่อไป เพื่อที่จะสามารถแนะนำ เผยแพร่ ให้เกษตรกร และ ผู้สนใจนำไปใช้ประโยชน์ได้

เอกสารอ้างอิง

เกรียงไกร จำเริญมา. 2543. การทดสอบสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงจากพืช. หน้า 14-33. *ใน* เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการ เรื่อง การวิจัยหาสารควบคุมศัตรูพืชจากธรรมชาติ. ในวันที่ 17 ตุลาคม 2543. ณ ห้องประชุมคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

ทวีศักดิ์ ชโยภาส. 2543. มะระขี้นกใช้กำจัดวัชพืช. ว.กีฏและสัตววิทยา 22(4) : 346-347

มยุรา สุนย์วีระ. 2545. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก *Plutella xylostella* (Linnaeus). ว. กีฏและสัตววิทยา 24 (3) : 2197-202.

สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง, พัชราพร หนูวิสัย และ สุทธิพงษ์ ฉลาดธัญกิจ. 2542. การศึกษาการใช้สารสกัดสะเดาสำเร็จรูปของกรมวิชาการเกษตรในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันเจาะลำต้นในถั่วเขียว. ว.กีฏและสัตววิทยา 21 (3) : 167-174.

อำนวย อิศรางกูร ณ อยุธยา. 2534. การใช้สารสกัดจากพืชควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 198-206. ใน เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

วิจัยและพัฒนาสารจากแมงลักป่าเพื่อการป้องกันกำจัดวัชพืช : I.ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารจากแมงลักป่าเพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชสูงสุด

Research on Allelochemicals effect of Wild Spikenard (*Hyptis suaveolens* Poit) for Weed Control : I. Study on Soaking Period of Wild Spikenard (*Hyptis suaveolens* Poit) Water Extraction for high Effectiveness

ชอุ่ม เปรมัษเฐียร ศิริพร ซึงสนธิพร
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสกัดสารฯจากแมงลักป่าด้วยน้ำเพื่อให้ได้สารสกัดฯที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูงด้วยน้ำโดยนำแมงลักป่าทั้งต้น(ต้น+ใบ) ที่เจริญเติบโตในฤดูฝน ส่วนของใบ ส่วนของลำต้น และแมงลักป่าทั้งต้น(ต้น+ใบ) ที่เจริญเติบโตในฤดูแล้ง มาแช่น้ำเป็นระยะเวลาต่างๆกันตั้งแต่ 1-8 สัปดาห์แล้วนำสารสกัดฯที่ได้ในแต่ละช่วงเวลาการสกัดสารฯมาทดสอบประสิทธิภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยใช้ หญ้าข้าวนกและผักกาดหอมเป็นพืชทดสอบ พบว่าสารสกัดฯจากแมงลักป่าที่เจริญเติบโตในฤดูฝน ฤดูแล้งและจากส่วนใบและส่วนลำต้นของแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้ระยะเวลาต่างๆกันนั้นให้สารสกัดฯที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชทุกระยะการแช่น้ำ แต่ระยะที่เหมาะสมในการแช่ส่วนต่างๆของแมงลักป่าให้ได้สารสกัดฯที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูงแตกต่างกัน แมงลักป่าทั้งต้น(ต้น+ใบ) ที่เจริญเติบโตสมบูรณ์ในฤดูฝนและส่วนของใบแมงลักป่าจะให้สารสกัดฯที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชตั้งแต่สัปดาห์แรกของการแช่น้ำและสารสกัดฯที่ได้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นเมื่อแช่น้ำไว้ 2 และ 3 สัปดาห์ ส่วนสารสกัดฯจากส่วนลำต้นแมงลักป่าจะมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูงเมื่อแช่น้ำไว้ 2-3 สัปดาห์ ส่วนสารสกัดฯจากแมงลักป่าทั้งต้นที่เจริญเติบโตในฤดูแล้งจะให้สารสกัดฯที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูงเมื่อแช่น้ำไว้ 2-4 สัปดาห์ ส่วนสารสกัดฯจากแมงลักป่าทั้งต้นหรือจากส่วนต่างๆของแมงลักป่าที่ได้จากการแช่น้ำไว้ 5-8 สัปดาห์ยังมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชแต่ประสิทธิภาพนั้นลดลงและสามารถนำมาใช้ได้แต่ต้องเพิ่มอัตราการใช้ให้สูงขึ้น

รหัสโครงการ 07-01-49-05

คำค้น (Keywords)

แมงลักป่า (*Hyptis suaveolens* Poit) การสกัดสารด้วยน้ำ (Water Extraction) ระยะเวลาการแช่ (Soaking Period) ความเป็นพิษต่อพืช (Phytotoxicity)

คำนำ

เพื่อความมีชีวิตอยู่รอดของพืชในธรรมชาติ พืชจะสร้างสารขึ้นมาเพื่อป้องกันการทำลายจากศัตรูต่างๆซึ่งได้แก่โรค แมลงและสัตว์ศัตรูพืช ซึ่งเรียกขบวนการที่พืชสร้างสารขึ้นมาและปล่อยสารนั้นออกมาสู่สิ่งแวดล้อมและมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆอันได้แก่ พืช จุลินทรีย์ นี้ ว่า อัลลิโลพาธี่ (Allelopathy) ซึ่งผลกระทบนั้นมีทั้งด้านบวกและลบและเรียกสารที่พืชสร้างนั้นว่าสาร อัลลิโลเคมิคัล (allelochemical) หรือ อัลลิโลพาธิค (allelopathic) ปัจจุบันสารที่มีในพืชนี้ได้ถูกนำพัฒนาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชกันอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะ สารจากไพรีทรัม (*Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis.)ได้ถูกนำมาใช้แพร่หลายในการควบคุมแมลงศัตรูพืชตั้งแต่ปี 1851และพบว่าสารออกฤทธิ์ที่มีในไพรีทรัมได้แก่ Pyrethrin I, II , Cenerin I, II, Jusmolin I, II (Musumura, 1975, Moorman and Nguyen, 1997) สารที่มีในใบเบญจมาศหนู(*Chrysanthemum morfolium* cv. Ramat)เมื่อนำมาสกัดด้วย เมทานอล จะได้สาร chlorogenic acid, 3,5-*O* – dicaffeoylquinic acid และ 3’,4’ 5-trihydroxyflavanone 7- *O* –glucuronide ซึ่งสารเหล่านี้ยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนคืบกะหล่ำ (*Trichoplusia ni* Hubner) และยับยั้งการสังเคราะห์แสงของ วัชพืชพวกแหน (*Lemna gibba* L.)ได้ด้วย (Clifford W.B. et al., 2004) สารที่มีในพืชหลายชนิดพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช Singh et al. (2002) พบว่าสาร parthenin สกัดจากวัชพืช *Parthenium hysterophorus* ซึ่งเป็นวัชพืชร้ายแรงในการปลูกพืชไร่ในประเทศอินเดียสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชสาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) อย่างรุนแรง และ ชอุ่ม และ ศิริพร (2538) ได้นำวัชพืชที่พบทั่วไปในสภาพไร่มาสกัดหาว่าวัชพืชแต่ละชนิดมีสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชมากน้อยแตกต่างกันอย่างไรซึ่งพบว่าวัชพืชร้ายแรงในไร่หลายชนิด เช่น สาบเสือ(*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Robinson) กระเพราผีหรือแมงลักป่า(*Hyptis suaveolens* Poit.) และหญ้างวงช้าง (*Heliotropium indicum* L.) ฯลฯ มีสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นอ่อนข้าวอย่างรุนแรง จึงได้นำวัชพืชเหล่านี้มาศึกษารายละเอียดเพิ่มขึ้นเพื่อนำไปพัฒนาใช้ในการควบคุมวัชพืชต่อไป

แมงลักป่าหรือกระเพราผีหรือแมงลักคามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hyptis suaveolens* Poit. จัดอยู่ใน Family Labiatae เป็นวัชพืชอายุปีเดียวลำต้นตั้งตรงแตกกิ่งก้านสาขามากมีขนปกคลุม ใบเป็นใบเดี่ยวแตกตรงข้ามเป็นคู่แผ่นใบรูปไข่ ขอบใบหยักเล็กน้อยเป็นร่องบริเวณเส้นใบ ใบมีขนและมีกลิ่น ดอกเป็นช่อตามซอกใบมีสีม่วง เจริญเติบโตได้ในดินทุกชนิด และเป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาใน

สภาพไร่ Premasthira and Zungsontiporn (1997) ได้สกัดสารจากส่วนต่างๆของแมงลักป่า แล้วนำมาหาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชพบว่า สารอัลลิโลเคมิคที่มีในส่วนต่างๆของแมงลักป่ามีระดับความเป็นพิษแตกต่างกัน ส่วนของเมล็ดมีสารที่มีความเป็นพิษมากที่สุด รองลงมาคือสารที่มีในส่วนของใบ และลำต้นตามลำดับ แมงลักป่าเป็นวัชพืชที่พบได้ทั่วไป เจริญเติบโตได้ในทุกสภาพความอุดมสมบูรณ์ของดินและพบได้ทั้งปี แมงลักป่าจึงเป็นวัชพืชที่มีศักยภาพสูงที่จะนำมาพัฒนาใช้ในการควบคุมวัชพืช การสกัดสารจากพืชสามารถใช้ตัวสกัดได้หลายชนิด เช่น ตัวทำละลายเคมี ได้แก่ เมทานอล เฮกเซน เอธิล-อซิเตต คลอโรฟอร์ม หรือสกัดด้วยน้ำ ซึ่งตัวสกัดแต่ละชนิดให้สารสกัดฯที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชแตกต่างกัน แต่เพื่อให้ผลการทดลองนี้มีประโยชน์แก่เกษตรกรในการนำสารสกัดจากแมงลักป่าไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมวัชพืชจึงสกัดสารจากแมงลักป่าด้วยน้ำและเพื่อให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูงจึงควรทราบว่าในการสกัดหรือแช่แมงลักป่าด้วยน้ำนั้นควรใช้เวลานานเท่าใดจึงจะได้สารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แมงลักป่า
- ถ้วยพลาสติกพร้อมฝาปิด
- ถังพลาสติกพร้อมฝาปิด
- เมล็ดหญ้าข้าวนก
- เมล็ดผักกาดหอม
- วุ้น
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
- ตู้อบแห้งและตาชั่ง ฯลฯ

วิธีการ

นำแมงลักป่าสดซึ่งมีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้วมาตัดเป็นท่อนเล็กๆประมาณ 1 ซม แบ่งแมงลักป่าที่ตัดได้เป็น ถุงๆละ 100 กรัมแล้วนำมาสกัดสารฯโดยการแช่น้ำในอัตราส่วน 1:5 เพื่อหาว่าต้องแช่น้ำไว้นานเท่าใดจึงจะได้สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูงสุดจึงแช่แมงลักป่าด้วยน้ำไว้ในระยะเวลาต่างๆ คือ 1 2 3 4 5 6 7 และ 8 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดตามแผนที่วางไว้แยกสารสกัดที่ได้ออกจากกากแมงลักป่าแล้วนำสารสกัดฯที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพของสารฯดังกล่าวโดยใช้หญ้าข้าวนกและผักกาดหอมเป็นพืชทดสอบโดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ชุด

ชุดที่1 ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากแมงลักป่าโดยใช้หญ้าข้าวนกเป็นพืชทดสอบ นำสารสกัดฯที่ได้จาการแช่น้ำไว้ในแต่ละสัปดาห์มาใส่ในถ้วยแก้วซึ่งบรรจุวุ้น 20 มิลลิลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดฯ 3 อัตรา คือ 1.0, 2.5 และ 5.0 % แล้วปลูกหญ้าข้าวนก การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดฯที่ได้จากการแช่น้ำ1 สัปดาห์มีกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกหญ้าข้าวนกไม่ใส่สารสกัดแมงลักป่าเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกหญ้าข้าวนกในสารสกัดแมงลักป่าที่แช่น้ำ1 สัปดาห์ความเข้มข้น 1.0 %

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกหญ้าข้าวนกในสารสกัดแมงลักป่าที่แช่น้ำ1 สัปดาห์ความเข้มข้น 2.5 %

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกหญ้าข้าวนกในสารสกัดแมงลักป่าที่แช่น้ำ1 สัปดาห์ความเข้มข้น 5.0 % การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดฯที่ได้จากการแช่น้ำ 1 สัปดาห์ต่อการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก ทุกกรรมมี 4 ซ้ำแล้วนำแก้วทดลองดังกล่าวปิดฝาและนำไปเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสให้แสงตลอดเวลา หลังจากปลูกพืชแล้ว 7 วันทำการวัดความยาวของรากและยอดของหญ้าข้าวนก การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากแมงลักป่าที่ได้จากการแช่น้ำในระยะเวลาต่างคือ 2-8 สัปดาห์ต่อการเจริญเติบโตหญ้าข้าวนกปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากแมงลักป่าทั้งต้นที่ได้จากการแช่น้ำ 1 สัปดาห์

ชุดที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากแมงลักป่าโดยใช้ผักกาดหอมเป็นพืชทดสอบ นำสารสกัดฯที่ได้จาการแช่น้ำไว้ในแต่ละสัปดาห์มาใส่ในถ้วยแก้วซึ่งบรรจุวุ้น 20 มิลลิลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดฯ 3 อัตรา คือ 1.0 % 2.5%และ 5.0% แล้วปลูกผักกาดหอม การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดฯที่ได้จากการแช่น้ำ1 สัปดาห์มีกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกผักกาดหอมไม่ใส่สารสกัดแมงลักป่าเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกผักกาดหอมใส่สารสกัดแมงลักป่าที่แช่น้ำ1 สัปดาห์ความเข้มข้น 1.0 %

กรรมวิธีที่ 3 ปลูกผักกาดหอมใส่สารสกัดแมงลักป่าที่แช่น้ำ1 สัปดาห์ความเข้มข้น 2.5%

กรรมวิธีที่ 4 ปลูกผักกาดหอมใส่สารสกัดแมงลักป่าที่แช่น้ำ1 สัปดาห์ความเข้มข้น 5.0 % การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดฯที่ได้จากการแช่น้ำ 1 สัปดาห์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม ทุกกรรมมี 4 ซ้ำ แล้วนำแก้วทดลองดังกล่าวปิดฝาและนำไปเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสให้แสงตลอดเวลา หลังจากปลูกพืชแล้ว 7 วันทำการวัดความยาวของรากและยอดของผักกาดหอม

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากแมงลักป่าทั้งต้นที่ได้จากการแช่น้ำ 2-8 สัปดาห์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากแมงลักป่าทั้งต้นที่ได้จากการแช่น้ำ 1 สัปดาห์

การหาเวลาสกัดที่เหมาะสมและการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนของใบและส่วนลำต้นของแมงลักป่าปฏิบัติเช่นเดียวกับการหาเวลาสกัดที่เหมาะสมและการทดสอบประสิทธิภาพของสกัดสารจากแมงลักป่าทั้งต้น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ประสิทธิภาพของสารสกัดฯจากแมงลักป่าทั้งต้นที่เจริญเติบโตเต็มที่ซึ่งสกัดโดยแช่น้ำไว้ระยะเวลาต่างๆกันคือ 1-8 สัปดาห์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมแสดงดังรูปที่ 1 พบว่าสารสกัดฯอัตรา 1 กรัมน้ำหนักสดที่ได้จากการแช่แมงลักป่าทั้งต้นไว้ในน้ำ 1, 2 3 และ 4 สัปดาห์มีความเป็นพิษต่อความยาวรากผักกาดหอมโดยผักกาดหอมมีความยาวราก 64, 18, 11 และ79 เปอร์เซ็นต์หรือรากผักกาดหอมถูกยับยั้งการเจริญเติบโต 36, 82, 89 และ 21 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และยอดมีความยาว29, 9, 50 และ 116 เปอร์เซ็นต์หรือยอดผักกาดหอมถูกยับยั้งการเจริญเติบโต 71, 91, 50 และ -16เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าสารสกัดที่ได้จากการแช่แมงลักป่าทั้งต้นไว้ 1 2 3 สัปดาห์ยับยั้งการเจริญเติบโตของรากและยอดของผักกาดหอมมากกว่าสารสกัดที่ได้จากการแช่แมงลักป่าทั้งต้นไว้ 4 สัปดาห์และสารสกัดที่ได้จากการแช่แมงลักป่าทั้งต้นไว้ 4 สัปดาห์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของยอดผักกาดหอมและสารสกัดฯอัตราเดียวกันจากแมงลักป่าทั้งต้นที่แช่น้ำไว้ 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์ ทำให้ผักกาดหอมมีความยาวราก 20-80 เปอร์เซ็นต์ ที่สารสกัดฯอัตราสูงขึ้นความยาวรากและยอดของผักกาดหอมถูกยับยั้งการเจริญเติบโตมากขึ้น และความยาวยอดผักกาดหอมถูกยับยั้งการเจริญเติบโตน้อยกว่าส่วนของราก ส่วนความยาวรากของหญ้าข้าวนกเมื่อได้รับสารสกัดฯที่แช่น้ำไว้ 1, 2, 3 และ 4สัปดาห์มีความยาว 50, 70, 84 และ 84 เปอร์เซ็นต์หรือรากหญ้าข้าวนกยับยั้งการเจริญเติบโต 50, 30 ,16 และ16 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อได้รับสารสกัดฯจากแมงลักป่าทั้งต้นที่แช่น้ำไว้ 5-8 สัปดาห์ หญ้าข้าวนกมีความยาวราก 93 - 100 เปอร์เซ็นต์หรือรากหญ้าข้าวนกถูกยับยั้งการเจริญเติบโต 0- 7 เปอร์เซ็นต์และรากของหญ้าข้าวนกถูกยับยั้งการเจริญเติบโตมากขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดอัตราสูงขึ้น และส่วนยอดของหญ้าข้าวนกถูกยับยั้งการเจริญเติบโตน้อยกว่าส่วนของราก(รูปที่ 2) จากผลการทดลองแสดงว่าสารสกัดจากแมงลักป่าทั้งต้นที่เจริญเติบโตเต็มที่เมื่อแช่น้ำไว้ตั้งแต่ 1-3 สัปดาห์จะได้สารสกัดฯที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูงกว่าเมื่อแช่น้ำไว้ 4-8 สัปดาห์ แมงลักป่าทั้งต้นเมื่อแช่น้ำไว้ 1 สัปดาห์จะให้สารที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชและเมื่อแช่ไว้ 2-3 สัปดาห์สารสกัดที่ได้มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชมากขึ้นแต่เมื่อแช่ไว้ 4 สัปดาห์สารสกัดที่ได้มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชน้อยลงซึ่งอาจเกิดจากการแช่แมงลักป่าไว้นานสารสกัดฯที่ได้อาจเกิดการสลายตัวทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชลดลง

สารสกัดฯของใบแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้1-8 สัปดาห์เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมแสดงดังรูปที่ 3 พบว่า สารสกัดฯที่ได้จากการแช่ใบของแมงลักป่าไว้ 1 และ 2 สัปดาห์ที่อัตรา 1 กรัมน้ำหนักสดทำให้ผักกาดหอม,มีความยาวราก 121, 150 และความยาวยอด 185, 130 เปอร์เซ็นต์ หรือส่งเสริมการเจริญเติบโต ของรากผักกาดหอม 21, 50 และความยาวยอด 85 , 30 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ สารสกัดจากใบแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้ 4-8 สัปดาห์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากและยอดของผักกาดหอม ทำให้ผักกาดหอมมีความยาวราก 100 – 160 และความยาวยอด 107- 163 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารอัลลิโลพาธิกหรือสารที่มีในพืชนั้นจะแสดงความเป็นพิษต่อพืชเมื่อพืชได้รับสารสกัดฯในปริมาณมากและจะส่งเสริมการเจริญเติบโตเมื่อพืชได้รับสารสกัดฯปริมาณน้อย ส่วนประสิทธิภาพของสารสกัดฯจากใบของแมงลักป่าที่มีต่อหญ้าข้าวนกแสดงดังรูปที่ 4 พบว่าสารสกัดจากใบแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้ 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ที่อัตรา 1 กรัมน้ำหนักสด หญ้าข้าวนกมีความยาว 117, 121, 119 และ 152 เปอร์เซ็นต์ ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากใบแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้ 1, 2 และ 3สัปดาห์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกน้อยกว่าสารสกัดที่ได้จากการแช่ใบแมงลักป่าไว้ 4 สัปดาห์ และสารสกัดที่ได้จากการแช่ใบแมงลักป่าไว้ 5-8 สัปดาห์มีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากหญ้าข้าวนก 57-74เปอร์เซ็นต์คือหญ้าข้าวนกมีความยาวราก157-174 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าใบแมงลักป่าเมื่อแช่น้ำไว้1-3 สัปดาห์ จะให้สารสกัดฯที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช สูงและประสิทธิภาพของสารสกัดจะลดลงถ้าแช่ใบแมงลักป่าไว้ 4-8 สัปดาห์

ส่วนลำต้นแมงลักป่าเมื่อแช่น้ำไว้1-8 สัปดาห์เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมแสดงดังรูปที่ 5 พบว่า สารสกัดฯที่ได้จากการแช่ต้นของแมงลักป่าไว้ 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ที่อัตรา 2.5 กรัมน้ำหนักสดทำให้ผักกาดหอม,มีความยาวราก 113, 74, 106 และ 120 เปอร์เซ็นต์และความยาวยอด 108, 115, 114 และ 107 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับแสดงว่าสารสกัดจากต้นแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้ 1 สัปดาห์ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากผักกาดหอม 13 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากต้นแมงลักป่าที่แช่น้ำ 2, 3 และ 4 สัปดาห์ ยับยั้งการเจริญเติบโตของรากผักกาดหอม 26 เปอร์เซ็นต์ และ ส่งเสริมการเจริญเติบโต รากผักกาดหอม 6 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่สารสกัดจากต้นแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้ 5-8 สัปดาห์ ทำให้ผักกาดหอมมีความยาวราก 100 – 120 และความยาวยอด 107- 146 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารสกัดฯที่ได้จากการแช่ใบแมงลักป่าในน้ำไว้ 2 -3สัปดาห์มีความเป็นพิษต่อผักกาดหอมมากกว่าสารสกัดฯที่ได้จากการแช่น้ำไว้ในระยะเวลา 1 และ 4 - 8 สัปดาห์ ผลของสารสกัดจากต้นของแมงลักป่าที่มีต่อหญ้าข้าวนกแสดงดังรูปที่ 6 พบว่าสารสกัดจากต้นแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้ 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ที่อัตรา 5 กรัมน้ำหนักสดหญ้าข้าวนกมีความยาว 135, 103, 102 และ 138 เปอร์เซ็นต์ ชี้ให้เห็นสารสกัดจากต้นแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้ 1 และ 4 สัปดาห์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกมากกว่าสารสกัดที่ได้จากการแช่

ต้นแมงลักป่าไว้ 2 และ 3 สัปดาห์แสดงว่าการแช่ต้นแมงลักป่าไว้ 2-3 สัปดาห์จะได้สารสกัดที่มีความเป็นพิษมากกว่าเมื่อแช่ต้นแมงลักป่าไว้ 1 และ 4สัปดาห์ และสารสกัดที่ได้จากการแช่ต้นแมงลักป่าไว้ 5-8 สัปดาห์ก็มีผลต่อการเจริญเติบโตของรากและยอดหญ้าข้าวนกโดยส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากประมาณ 13-70 เปอร์เซ็นต์และส่งเสริมการเจริญเติบโตของยอดประมาณ 42-49 เปอร์เซ็นต์ซึ่งแสดงว่าส่วนของต้นแมงลักป่าเมื่อแช่น้ำไว้ 2-3 สัปดาห์จะได้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูง

แมงลักป่าเป็นวัชพืชที่พบได้ทั่วไปและเจริญได้ดีทุกสภาพพื้นที่แต่ในฤดูฝนและฤดูแล้งการเจริญเติบโตของต้นแมงลักป่าจะแตกต่างกันคือในฤดูฝนต้นแมงลักป่าจะมีลำต้นอวบสีเขียวสดและใบมีขนาดใหญ่สีเขียวสดสัดส่วนของใบจะมีมากกว่าส่วนของลำต้น แต่ต้นแมงลักป่าที่เจริญเติบในฤดูแล้งจะมีลำต้นเล็กแข็งสีเขียวเข้มและใบมีขนาดเล็กสีเขียวเข้มดังนั้นจึงนำแมงลักป่าที่เจริญเติบโตในฤดูแล้งมาหาช่วงเวลาสกัดสารฯให้ได้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตสูง

จากการนำแมงลักป่าที่เจริญเติบโตในฤดูแล้งซึ่งมีต้นแคระแกรน ลำต้นมีขนาดเล็กมีสีเขียวปนน้ำตาลและใบมีขนาดเล็กมีสีเขียวเข้มสัดส่วนของใบจะมีน้อยกว่าส่วนของลำต้น มาสกัดหาสารฯโดยการแช่น้ำไว้เป็นระยะเวลาต่างๆกัน ปรากฏว่าเมื่อนำสารสกัดฯที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกพบว่า หญ้าข้าวนกที่ได้รับสารสกัดฯจากการแช่แมงลักป่าทั้งต้นในน้ำเป็นเวลา 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์อัตรา 1 กรัมน้ำหนักสด มีความยาวราก 149, 115, 120 และ 118 เปอร์เซ็นต์และความยาวยอด 113, 104, 107 และ 109 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และหญ้าข้าวนกที่ได้รับสารสกัดฯจากแมงลักป่าที่แช่น้ำไว้ 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์ ความยาวราก 144, 129, 125 และ 137 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับซึ่งแสดงว่าสารสกัดจากแมงลักป่าทั้งต้นที่เจริญเติบโตในฤดูแล้งเมื่อแช่น้ำไว้ 2- 4 สัปดาห์ จะให้สารสกัดฯที่มีประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของพืชสูงกว่าสารสกัดฯที่ได้จากการแช่น้ำ1 และ 5 - 8 สัปดาห์

จากผลการทดลองแสดงว่าสารสกัดฯด้วยน้ำจากแมงลักป่าทั้งต้นที่เจริญเติบโตสมบูรณ์ซึ่งลำต้นและใบมีขนาดใหญ่สีเขียวสดและสัดส่วนของใบมีมากกว่าส่วนของลำต้นนั้น เมื่อแช่น้ำไว้ 1 สัปดาห์ จะได้สารที่มีประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของพืชสูงเช่นเดียวกับสารที่ได้จากส่วนของใบที่แช่น้ำไว้ 1 สัปดาห์ แต่ส่วนของลำต้นต้องแช่น้ำไว้ 2-3 สัปดาห์จึงจะให้สารที่มีประสิทธิภาพสูง ส่วนแมงลักป่าที่เจริญเติบโตในฤดูแล้งซึ่งต้นแคระแกรน ลำต้นมีขนาดเล็กมีสีเขียวปนน้ำตาลและใบมีขนาดเล็กมีสีเขียวเข้มและสัดส่วนของใบจะมีน้อยกว่าส่วนของลำต้นนั้นจะให้สารที่มีประสิทธิภาพสูงจะต้องแช่น้ำไว้ 2-4 สัปดาห์

การสกัดสารจากแมงลักป่าด้วยน้ำเป็นวิธีการที่ง่ายและเกษตรกรสามารถปฏิบัติได้และการที่ทราบช่วงเวลาในการสกัดให้ได้สารที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชสูงจากส่วน

ต่างๆของแมงลักป่าและจากแมงลักป่าที่เจริญเติบโตในฤดูต่างจะช่วยให้เกษตรกรใช้ประโยชน์จากแมงลักป่าได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

ชอุ่ม เปรมัษเฐียร, ศิริพร ซึงสนธิพร 2538 สารที่เป็นพิษต่อวัชพืชใบกว้าง วารสารวิทยาศาสตเกษตร ปีที่ 28 หน้า 9-20

Clifford W. B., M. M. Abou-Zaid., A. L.E. Kistner., R. H. Hallett., M. J. Iqbal., B. Grodzinski and J. C. Hall. 2004. A Flavanone and Two Phenolic Acids from *Chrysanthemum morfolium* with phytoxic and insect growth regulating activity *J.Chem. Ecol* :30 589-606.

Matsumura F. 1975. Toxicology of Pesticides. Plenum Press, New York pp. 97-98.

Moorman, R. and Guyen, K.T. 1997. Identification and Quantitation of the six active compounds in a pyrethrin standard. *J. of AOAC International*. 80:5 pp. 966-973.

Singh, H.P., D. R. Batish, R.K. Kohli. D. B. Saxena and V. Arora, 2002 Effect of Parthenin – A Sesquiterpene Lactone from *Parthenium hysterophorus* – On Eary growth and physiology of *Ageratum conyzoides J. Chem. Ecol*. :28. 2169-2179

Premasthira, C. and Zungsontiporn, 1997. Allelopathic effects of wild spikenard (*Hyptis suaveolens* Poit.) on growth of rice seedlings. The Proceeding of 16th Asian-Pacific Weed Science Society Conference. Kuala Lampur Malaysia p. 377-379

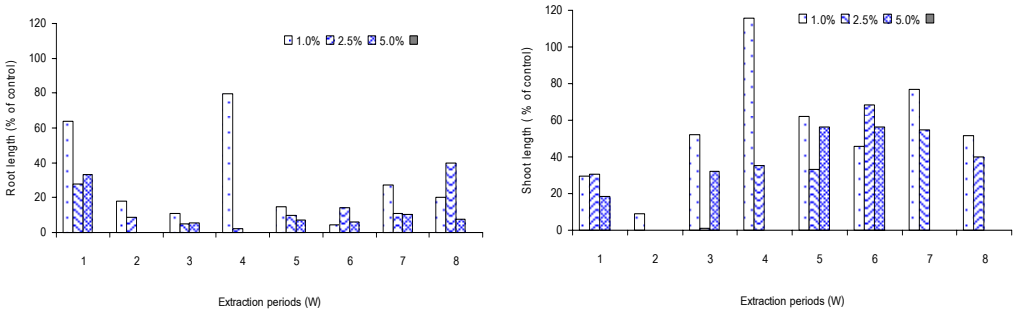


Fig. 1. The effects of whole plant extraction of wildspikenard(*Hyptis sueveolens* Poit.) on root and shoot length of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings

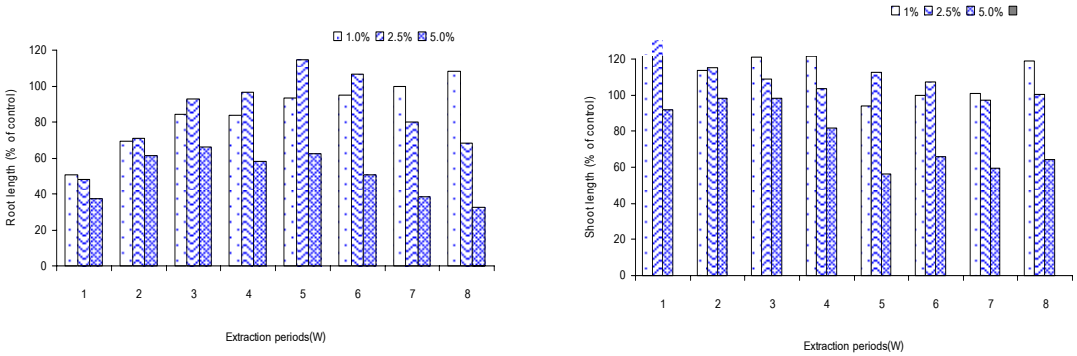


Fig. 2. The effects of whole plant extraction of wildspikenard(*Hyptis sueveolens* Poit.) on root and shoot length of barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. seedlings

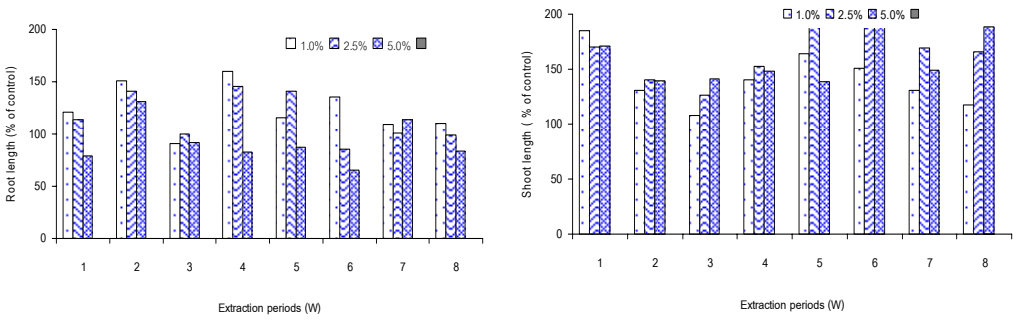


Fig. 3. The effects of wildspikenard(*Hyptis sueveolens* Poit.) leaves extraction on root and shoot length of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings

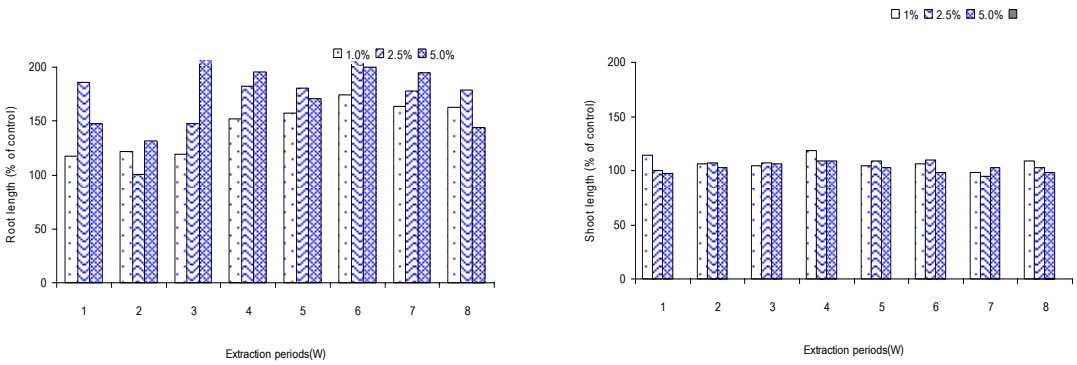


Fig. 4. The effects of wildspikenard(*Hyptis sueveolens* Poit.) leaves extraction on root and shoot length of barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. seedlings

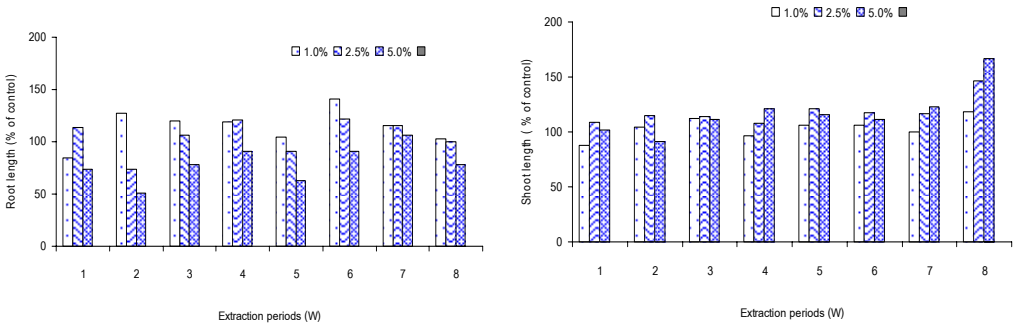


Fig. 5. The effects of wildspikenard(*Hyptis sueveolens* Poit.) stem extraction on root and shoot length of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seedlings

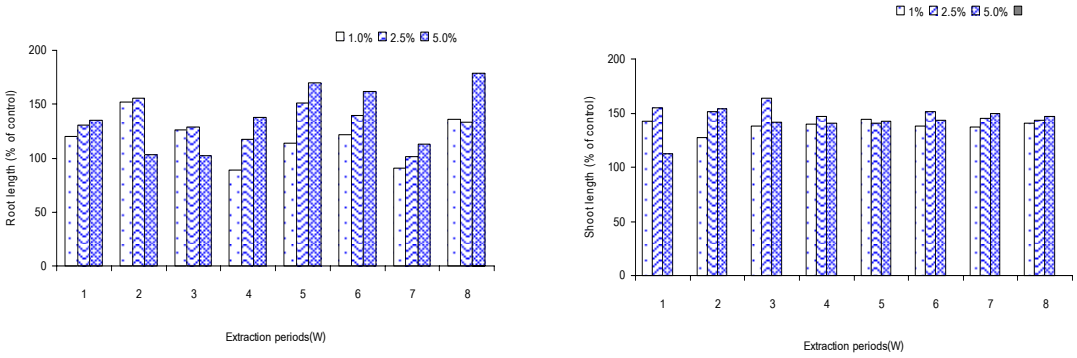


Fig.6. The effects of wildspikenard(*Hyptis sueveolens* Poit.) stem extraction on root and shoot length of barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. seedlings

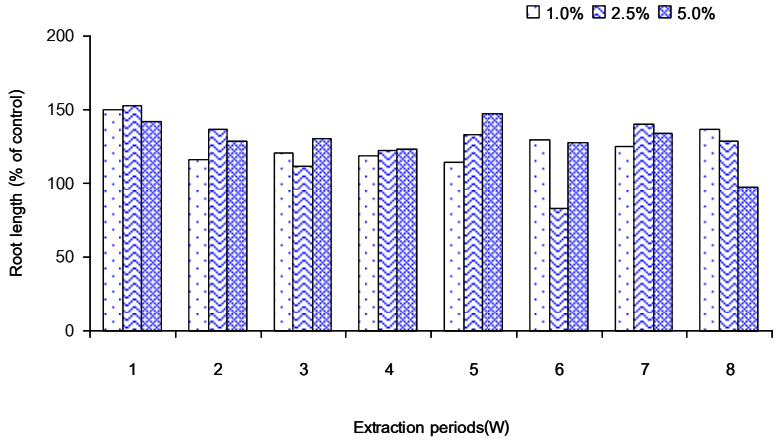


Fig. 7. The effects of wildspikenard(*Hyptis sueveolens* Poit.) extraction on root length of barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. seedlings (dry season)

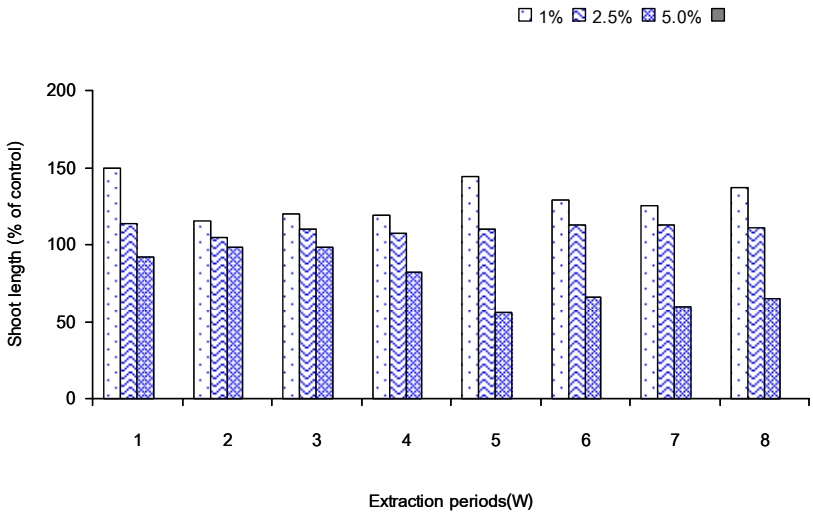


Fig. 8. The effects of wildspikenard(*Hyptis sueveolens* Poit.) extraction on shoot length of barnyard grass (*Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv. seedlings(dry season)

วิจัยและพัฒนาการการผลิตขยายและใช้แตนเบียนแมลงวันผลไม้ *Diachasmimorpha longicaudata* เพื่อการควบคุมโดยชีววิธี

Research and development of mass production and utilization of parasitoid, *Diachasmimorpha longicaudata*, for biological control of fruit fly

อัมพร วิโนทัย รจนา ไวยเจริญ ประภัสสร เชยคำแหง รุจ มรกต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดลองเรื่องวิจัยและพัฒนาการผลิตขยายและการใช้แตนเบียนแมลงวันผลไม้เพื่อการควบคุมโดยชีววิธีแบ่งออกเป็น 2 โครงการย่อย ได้แก่ วิจัยและพัฒนาการผลิตและการใช้แตนเบียน *Diachasmimorpha longicaudata* เพื่อควบคุมแมลงวันผลไม้โดยชีววิธี และ วิจัยพัฒนาการผลิตและใช้แตนเบียน *Fopius arisanus* เพื่อควบคุมแมลงวันผลไม้โดยชีววิธี จากการสำรวจศัตรูธรรมชาติของแมลงวันผลไม้ พบว่า แตนเบียน *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) และแตนเบียน *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae) เป็นแตนเบียนที่ลงทำลายหนอนแมลงวันผลไม้ และพบทั่วประเทศ แตนเบียน *D. longicaudata* เป็นแตนเบียนที่ลงทำลายหนอนแมลงวันผลไม้วัย 3 เจริญเติบโต และเป็นตัวเต็มวัยเจาะออกจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้ การวิจัยพัฒนาเพื่อผลิตขยายแตนเบียน *D. longicaudata* และศึกษาต้นทุนการผลิตในอัตรา 40,000 ตัว/สัปดาห์ โดยไม่รวมค่าสาธารณูปโภค มีราคาต้นทุนการผลิตประมาณ 7.02 บาทต่อการผลิตแตนเบียน 100 ตัว *F. arisanus* เป็นแตนเบียนที่ลงทำลายแมลงวันผลไม้โดยวางไข่ในไข่ของแมลงวันผลไม้ ระยะหนอนเจริญเติบโตภายในตัวหนอนแมลงวันผลไม้ และตัวเต็มวัยจะเจาะออกมาจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้ จากการศึกษาวงจรชีวิตแตนเบียน *F. arisanus* ที่ลงทำลายไข่แมลงวันผลไม้ที่วางในผลฝรั่ง พบว่า ระยะเวลาตั้งแต่แตนเบียนลงเบียนไข่แมลงวันผลไม้ถึงระยะตัวเต็มวัยเจาะออกจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้นาน 18-23 วัน ตัวเต็มวัยมีอายุนาน 4-21 วัน แตนเบียนเพศเมียเริ่มวางไข่ ประมาณ 12-14 วัน หลังจากเจาะออกจากดักแด้

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

แมลงวันผลไม้เป็นแมลงศัตรูไม้ผลที่สำคัญ พบลงทำลายไม้ผลหลายชนิด เช่น มะม่วง มังคุด ชมพู่ ฝรั่ง ส้ม เป็นต้น ผลไม้จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพสูงในการส่งออกขายต่างประเทศ แต่เนื่องจากการปลูกไม้ผลในประเทศไทยยังขาดการจัดการที่ดี ทำให้มีปัญหาแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะการที่แมลงวันผลไม้ติดไปกับไม้ผลส่งออกหลายชนิด ทำให้เกิดมีปัญหากับต่างประเทศซึ่งเป็นผู้รับซื้อผลไม้จากประเทศไทยใช้เป็นข้อกีดกันการนำเข้าผลไม้ไทยหลายชนิด การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ทำได้หลายวิธี เช่น การใช้กับดัก Methyl Eugenol การใช้รังสี การอบไอน้ำร้อนผลไม้ (Hot vapor treatment) การควบคุมโดยชีววิธีเป็นวิธีการหนึ่งที่มีการนำไปใช้อย่างกว้างขวางในหลายประเทศ เช่นในรัฐฟลอริดา และรัฐฮาวาย สหรัฐอเมริกา (Baranowski *et al*., 1993 และ Sivinski *et al*., 1995) ได้ทำการเพาะเลี้ยงและปลดปล่อยแตนเบียนของแมลงวันผลไม้ *Diachasmimorpha longicaudata* เพื่อควบคุมแมลงวันผลไม้และพบว่าปริมาณแมลงวันผลไม้ลดลงถึง 40% และ 90-95% ตามลำดับ นอกจากแตนเบียน *D longicaudata* แล้ว ยังมีการนำแตนเบียนไข่แมลงวันผลไม้ *Fopius arisana* Sonan ไปทดสอบเพื่อใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้ในฮาวาย คอสตาริกา สเปน ออสเตรเลีย ปากีสถาน เม็กซิโก กัวเตมาลา อิตาลี ฟิจิ ได้รับผลการทดลองแตกต่างกันไป (Rousse et.al, 2005)

แตนเบียน *D. longicaudata* ลงทำลายหนอนของแมลงวันผลไม้ และเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยในระยะดักแด้ของแมลงวันผลไม้ (larval - pupal parasitoid) ตัวหนอนเจริญเติบโตอยู่ภายในลำตัวของหนอนแมลงวันผลไม้ จัดเป็นแมลงเบียนภายใน (endo-parasitoid) ดักแด้แมลงวันผลไม้ 1 ตัวจะมีแมลงเบียนเจริญเติบโตออกมาเพียง 1 ตัว เท่านั้น ในสภาพธรรมชาติพบว่า แตนเบียน *D. longicaudata* มีอัตราการเบียนหนอนแมลงวันผลไม้โดยเฉลี่ย 0.44-29.23 % (Aluja et al., 1990) แต่ในสวนผลไม้บางแห่งพบแตนเบียนชนิดนี้ลงทำลายหนอนแมลงวันผลไม้สูงถึง 90 % (Boller and Prokopy, 1976)

จากการสำรวจศัตรูธรรมชาติของแมลงวันผลไม้ในประเทศไทย กฤษณา(2538) รายงานว่าพบแตนเบียนของแมลงวันผลไม้อย่างน้อย 4 ชนิด ได้แก่ แตนเบียน *Diachasmimorpha longicaudata*, *Diachasmimorpha angaleti*, *Fopius arisanus* และ *Psyttalia* sp. (Hymenoptera: Braconidae) ในจำนวนนี้ แตนเบียน *D. longicaudata* เป็นแตนเบียนที่พบมากที่สุดและ แตนเบียน *F. arisanus* พบมากรองลงมา

จากข้อมูลเหล่านี้คณะนักวิจัยจึงได้ทำการศึกษาและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* และต้นทุนการผลิต เพื่อใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้โดยชีววิธี นอกจากนั้นยังได้ทำการศึกษาวงจรชีวิตของแตนเบียน *F. aris*anus เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานวิจัยพัฒนาการผลิตและนำไปใช้รวมกับแตนเบียน *D. longicaudata*

ในรายงานวิจัยฉบับนี้เป็นรายงานที่รวบรวมผลการดำเนินงานวิจัยพัฒนาเพื่อการผลิตขยายแตนเบียน *D. longicaudata* และต้นทุนการผลิต นอกจากนั้นยังมีข้อมูลพื้นฐานการศึกษาวงจรชีวิตของแตนเบียน *F. arisanus* เท่านั้น

การศึกษาวิจัยแบ่งงานทดลองเป็น 3 ส่วน คือ

ก. การเก็บรวบรวมแตนเบียน *D. longicaudata* และ *F. arisanus* จากธรรมชาติ

ข. ศึกษาวงจรชีวิต และพฤติกรรมการทำลายของแตนเบียน *D. longicaudata* และ *F. arisanus*

ค. ศึกษาพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนที่สำรวจพบให้มีปริมาณมากเพื่อนำออกใช้ช่วยควบคุมแมลงวันผลไม้ในสภาพไร่

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ:

1. การเก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้ แตนเบียน *D. longicaudata* และ *F. arisanus* จากธรรมชาติ
   1.1 เก็บรวบรวมผลไม้ที่ถูกแมลงวันผลไม้ทำลาย นำมาใส่ไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 60x45x30 เซนติเมตร รองก้นกล่องด้วยทรายละเอียดหรือขี้เลื่อยที่อบฆ่าเชื้อแล้ว
   1.2 เก็บผลไม้ในกล่องประมาณ 7-10 วัน แล้วให้เก็บแยกผลไม้ออกจากกล่อง ใช้ตะแกรงลวดร่อนแยกดักแด้แมลงวันผลไม้ออกจากทรายหรือขี้เลื่อย นำดักแด้ที่ได้ไปเก็บไว้ในกล่องพลาสติกปิดฝาสนิท
   1.3 เมื่อตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้หรือแมลงเบียนออกจากดักแด้แมลงวันผลไม้ ตรวจจำแนกชนิดของแมลงวันผลไม้และแตนเบียน แล้วนำไปแยกเลี้ยงในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 45 x 45 x 45 เซนติเมตร
   1.4 เฝ้าสังเกตพฤติกรรมของแมลงวันผลไม้ แมลงเบียน บันทึกข้อมูล วิเคราะห์ และสรุปผล
2. การผลิตขยายแมลงวันผลไม้ Bactrocera dorsalis เป็นปริมาณมากโดยใช้อาหารเทียม
   2.1 เก็บรวบรวมไข่แมลงวันผลไม้โดยใช้ถ้วยเก็บไข่เป็นอุปกรณ์
   2.2 เตรียมอาหารเทียมสำหรับเพาะเลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้ ใส่ในกล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงหนอน
   2.3 นำไข่แมลงวันผลไม้ที่ได้จากข้อ 2.1 ใส่ในอาหารเทียม
   2.4 หลังจากฟักออกจากขา หนอนแมลงวันผลไม้จะกินอาหารเทียม เจริญเติบโตอยู่ภายในกล่องเลี้ยงประมาณ 4-5 วัน จะได้หนอนที่เหมาะสำหรับนำไปใช้เพาะเลี้ยงแตนเบียน

3. ศึกษาพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudatata* ให้มีปริมาณมากเพื่อนำออกใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้โดยชีววิธี
    3.1 เพาะเลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหารเทียมเมื่อได้หนอนวัย 3 ซึ่งมีอายุประมาณ 4-5 วัน จึงนำไปใช้เพาะเลี้ยงแตนเบียน
    3.2 ตักแบ่งอาหารเทียมที่มีหนอนแมลงวันผลไม้วัย 3 ใส่ถาดเบียน คลุมทับด้วยผ้าขาวบาง รัดด้วยยางวง เพื่อยึดผ้าให้ปิดส่วนบนของถาดเบียนที่ใส่หนอนอยู่ภายใน เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวหนอนหนีออกจากถาดเบียน
    3.3 นำถาดเบียนใส่ในกรงเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* ทิ้งไว้ 4-6 ช.ม. เพื่อให้แตนเบียน *D. longicaudatata* วางไข่ในหนอนแมลงวันผลไม้ที่อยู่ในถาดเบียน
    3.4 นำหนอนแมลงวันผลไม้ที่ถูกเบียนแล้วจากข้อ 2 ออกจากกรงแตนเบียน และคว่ำอาหารทัยมที่มีหนอนซึ่งถูกเบียนแล้วลงบนชี้เลื่อยที่รองพื้นกล่องพลาสติก ปิดฝากล่องให้สนิท หนอนแมลงวันผลไม้ที่โตเต็มที่แล้ว จะดีดตัวออจากอาหารเทียม ทิ้งตัวลงบนขี้เลื่อย และมุดลงเข้าดักแด้ใต้ขี้เลื้อย ทิ้งไว้ประมาณ 10 วัน
    3.5 ใช้ตะแกรงร่อนแยกดักแด้แมลงวันผลไม้ที่ได้จากชี้เลื่อย แล้วนำมาเก็บไว้จนกระทั่งตัวเต็มวัยของแตนเบียนออกจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้
    3.6 ตรวจนับจำนวนแตนเบียนที่เพาะเลี้ยงได้ในแต่ละวัน
    3.7 บันทึกข้อมูลจำนวนแตนเบียนที่เพาะเลี้ยงได้ และปริมาณอาหารเทียม รวมทั้งวัสดุต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงทั้งหมด เพื่อนำมาคำนวณค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงแตนเบียน
4. ศึกษาวงจรชีวิต พฤติกรรมการเบียนของแตนเบียน *F. arisanus*
    4.1 ใส่ผลฝรั่งในกรงเลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ทิ้งไว้ในกรงประมาณ 1 ชม. เพื่อให้แมลงวันผลไม้วางไข่ในผลฝรั่ง
    4.2 นำผลฝรั่งจากข้อ 4.1 ใส่ในกรงเลี้ยงแตนเบียน *F. arisanua* ทิ้งไว้ 1 วัน นำผลฝรั่งออกจากกรง และนำไปเก็บในกล่องพลาสติก ทิ้งไว้ประมาณ 5-6 วัน หนอนแมลงวันผลไม้ที่โตเต็มที่จะเจาะออกจากผลฝรั่ง ทิ้งตัวเข้าดักแด้ในขี้เลื่อยที่ใส่รองพื้นไว้ในกล่องพลาสติก
    4.3 ใช้ตะแกรงร่อนแยกดักแด้แมลงวันผลไม้นำไปเก็บรวมกันไว้ในกล่องพลาสติก เพื่อรอให้แตนเบียน *F. arisanus* เจาะออกจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้
    4.4 แตนบียนที่ออกจากดักแด้แมลงวันผลไม้นำไปเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อไป

4.5 บันทึกข้อมูลจำนวนผลฝั่งที่ใส่ให้แมลงวันผลไม้วางไข่ จำนวนดักแด้แมลงวันผลไม้ที่เก็บรวบรวมได้ จำนวนและเวลาที่แตนเบียนเจาะออกจากดักแด้ นำผลที่ได้มาวอเคราะห์และจัดทำรายงาน

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเก็บรวบรวม แมลงวันผลไม้ แตนเบียน *D. longicaudata* และ *F. arisanus* จากธรรมชาติ

จากการรวบรวมผลฝรั่ง ชมพู่ จากสวนเกษตรกรใน อ.สาริกา อ.เมือง จ. นครนายก อ.บางเลน อ. กำแพงแสน จ.นครปฐม อ.สวี จ.ชุมพร และอ.บ้านโฮ่ง จ.ลำพูน พริกประดับเก็บจากพระตำหนักภูพิงคราชนิเวศน์ จ.เชียงใหม่ พริกชี้ฟ้าเก็บจาก อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี และนำมาเก็บไว้จนกระทั่งพบแตนเบียนออกจากดักแด้แมลงวันผลไม้ที่เก็บได้จากผลไม้แต่ละชนิด นำแตนเบียนมาตรวจสอบและจำแนกชนิดตาม Carmichael et.al. (2005) เมื่อพบแตนเบียน *D. longicaudata* และแตนเบียน *F. arisanus* จึงนำไปแยกเลี้ยงในกรงเลี้ยงแตนเบียนแต่ละกรง

แตนเบียน *D. longicaudata* และ แตนเบียน *F. arisanus* เป็นแตนเบียนใน subfamily Opiinae ซึ่งมีลักษณะสำคัญ คือ ส่วนปากมี mandibles ที่อยู่ชิดหรือประกบกัน เห็นได้ชัดเจน ความแตกต่างระหว่าง *D. longicaudata* และ *F. arisanus* ที่สำคัญได้แก่ เส้นปีกและเซลปิดบนปีกคู่หน้า และคู่หลัง นอกจากนั้นยังมีลักษณะ scultured notauli และ Unscultured notauli ที่ด้านบนของอกปล้องกลาง

แตนเบียน *D. longicaudata* เป็นแตนเบียนที่ลงทำลายตัวหนอนวัยสุดท้ายของแมลงวันผลไม้ และเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย เจาะออกจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้ แตนเบียนเพศเมียจะใช้อวัยวะวางไข่ที่ยาวมากแทงผ่านเนื้อผลไม้เข้าไปหาตัวหนอน และแทงเข้าไปวางไข่ภายในลำตัวหนอนแมลงวันผลไม้วัยสุดท้าย ไข่ฟักเป็นตัวหนอนกัดกินอยู่ภายในลำตัวหนอน ไม่ได้ทำให้หนอนแมลงวันผลไม้ตายทันที หนอนที่ถูกเบียนจะยังคงเจริญเติบโตจนถึงระยะเข้าดักแด้ ตัวหนอนแตนเบียน *D. longicaudata* มีระยะหนอน 3 ระยะ รวมระยะหนอนนาน 8-12 วัน จากนั้นจะเข้าดักแด้ภายในดักแด้แมลงวันผลไม้ ระยะดักแด้นาน 5-7 วัน รวมระยะเวลาเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่ ถึงตัวเต็มวัยเจาะออกมานาน 15-18 วัน

แตนเบียน *D. longicaudata* เพศผู้มีอายุนาน 5-11 วัน เพศเมียมีอายุนาน 6-14 วัน แตนเบียนเพศเมียที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์จะสามารถวางไข่ และไข่ฟักเป็นตัวหนอนเจริญเติบโต เข้าดักแด้ และเป็นตัวเต็มวัยได้ แต่ตัวเต็มวัยที่ได้ทั้งหมดจะเป็นเพศผู้ ส่วนแตนเบียนเพศเมียที่ได้รับการผสมพันธุ์และวางไข่ที่เจริญเป็นตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียในสัดส่วนที่เหมาะสม

2. **การวิจัยและพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* เป็นปริมาณมาก** ในห้องปฏิบัติการปรับปรุงวิธีการและเทคนิคการเพาะเลี้ยงจาก อัมพร และคณะ, 2544 ดังนี้

2.1 การผลิตขยายแมลงวันผลไม้ปริมาณมากโดยใช้อาหารเทียม แบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

ก. รวบรวมไข่ของแมลงวันผลไม้: เก็บรวบรวมไข่แมลงวันผลไม้โดยใช้ถ้วยเก็บไข่เป็นอุปกรณ์ วิธีทำถ้วยเก็บไข่แมลงวันผลไม้ทำได้ง่าย ๆ โดยใช้เข็มขนาดเล็กเจาะข้างถ้วยพลาสติกเป็นรูเล็กหลาย ๆ รู ทาภายในถ้วยด้วยน้ำส้ม หรือผลไม้สุก เช่น กล้วย มะละกอ และฝรั่ง และเทน้ำส้มเล็กน้อย หรือตัดชิ้นผลไม้สุกชิ้นเล็กใส่ในถ้วย ปิดฝาให้สนิท แล้วนำไปวางในกรงเลี้ยงแมลงวันผลไม้ แมลงวันเพศเมียที่ผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่ จะใช้อวัยวะวางไข่ (ovipositor) แทงสอดเข้าในรูเล็กที่ถูกเจาะอยู่ข้างถ้วย และวางไข่ไว้ภายในถ้วย ปล่อยให้แมลงวันผลไม้วางไข่ 1-2 ชั่วโมง ตามปริมาณแมลงวันผลไม้ที่เลี้ยงในกรง จากนั้นใช้น้ำสะอาดล้างไข่แมลงวันผลไม้ แล้วนำไปหยดลงในอาหารเทียมที่เตรียมไว้

ข. การเตรียมอาหารเทียมสำหรับเพาะเลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้: สูตรอาหารเทียมสำหรับเพาะเลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้ประกอบด้วย:

● ข้าวโพดสดฝานบาง ๆ	150 กรัม	● Sodium benzoate	0.6 กรัม
● กล้วยสุก	150 กรัม	● น้ำตาลทราย	30 กรัม
● Brewer's yeast	30 กรัม	● กระดาษชำระ	30 กรัม
● Hydrochloric acid	1.2 มิลลิลิตร	● น้ำสะอาด	300 มิลลิลิตร

วิธีการ: ใส่ส่วนผสมทั้งหมดยกเว้นกระดาษชำระลงในเครื่องผสมอาหาร ปั่นส่วนผสมให้เข้ากัน จากนั้นฉีกกระดาษชำระเป็นชิ้นเล็กใส่ลงในเครื่องผสมอาหาร ปั่นผสมส่วนผสมทั้งหมดจนเข้ากันดีแล้ว กระดาษชำระจะทำให้อาหารเทียมที่เตรียมมีลักษณะโปร่งเบา เหมาะกับการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันผลไม้ เทส่วนผสมลงในกล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงหนอนแมลงวันผลไม้ ปาดผิวหน้าอาหารเทียมให้เรียบ และปูทับด้วยกระดาษชำระแผ่นใหญ่ เพื่อป้องกันไม่ให้ไข่แมลงวันผลไม้จมลงในเนื้ออาหารเทียม

ค. หยดไข่แมลงวันผลไม้ที่ได้จากข้อ ก. ลงบนแผ่นกระดาษชำระ โดยใช้สัดส่วนไข่ประมาณ 2,500 ฟอง ต่ออาหาร 600 มิลลิลิตร ปิดฝากล่องให้สนิท นำไปเก็บไว้ ไข่แมลงวันผลไม้จะฟักเป็นตัวหนอน และกินอาหารเทียมที่เตรียมไว้เป็นอาหาร เจริญเติบโต เมื่อตัวหนอนมีอายุประมาณ 4-5 วัน จะเป็นระยะที่เหมาะสำหรับนำมาให้แตนเบียน *D. longicaudata* เข้าเบียน

2.2 การผลิตขยายแตนเบียน *D. longicaudata* ปริมาณมาก ดำเนินการ ดังนี้:

ก. แบ่งอาหารเทียมที่มีตัวหนอนแมลงวันผลไม้อายุ 4 วันใส่ในถาดเบียน ซึ่งเป็นถาดพลาสติกขนาด 10x6 x1 ซม. ปิดทับด้วยผ้าขาวบาง ใช้ยางรัดยึดผ้ากับขอบถาดพลาสติกให้แน่นสนิท ป้องกันไม่ให้หนอนหนีออกจากถาดเบียน

ข. นำอาหารเทียมที่เตรียมไว้ในถาดพลาสติกไปใส่ในกรงที่เลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* แตนเบียนเพศเมียที่ผสมพันธุ์และพร้อมวางไข่แล้วจะใช้อวัยวะวางไข่แทงเข้าไปวางไข่ในลำตัวหนอนแมลงวันผลไม้ที่อยู่ในถาดเบียน ปล่อยให้แตนเบียนลงเบียนตัวหนอนประมาณ 3-4 ชั่วโมง

ค. นำตัวหนอนที่ถูกเบียนแล้ว และอยู่ในอาหารเทียมออกจากกรงแตนเบียน เปิดผ้าขาวบางออก นำไปเก็บไว้ในกล่องพลาสติกขนาด 40x34x12 เซนติเมตร ใส่ขี้เลื่อยละเอียดที่อบฆ่าเชื้อแล้วไว้ที่พื้นกล่อง โดยอบขี้เลื่อยในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำมาใช้ ปิดฝากล่องให้สนิท หนอนที่ถูกเบียนและโตเต็มที่แล้วจะดีดตัวออกมาเข้าดักแด้ในขี้เลื่อย ทิ้งไว้ประมาณ 4 วัน

ง. ใช้ตะแกรงลวดร่อนแยกดักแด้แมลงวันผลไม้ออกจากขี้เลื่อย แล้วนำมาเก็บในกล่องพลาสติกที่มีฝาปิดสนิท ตัวหนอนที่ไม่ถูกเบียนจะเจริญเติบโต เข้าดักแด้ และเจริญเติบโตเป็นแมลงวันผลไม้ ส่วนตัวหนอนที่ถูกเบียน แตนเบียนจะเจริญเติบโตและเจาะออกมาจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้

จ. คัดแยกแมลงวันผลไม้และแตนเบียนออกเลี้ยงในแต่ละกรง นำไปเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการ หรือนำออกปล่อย

ฉ. นำแตนเบียนที่ต้องการเพาะเลี้ยงเพื่อการผลิตขยายในห้องปฏิบัติการใส่กรงเลี้ยงแมลงขนาด 45x45x45 เซนติเมตร ให้น้ำสะอาดและสารละลายน้ำผึ้ง 30%เป็นอาหาร

ช. ส่วนแมลงวันผลไม้นำไปเลี้ยงในกรงเลี้ยง ภายในกรงเลี้ยงแมลงวันผลไม้ จะมีกล่องพลาสติกที่เจาะเป็นช่องสี่เหลี่ยมกว้างประมาณ 0.2 เซนติเมตร ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร ภายในกล่องพลาสติกใส่น้ำสะอาดไว้ประมาณ 3/4 ของความสูงของกล่อง สอดฟองน้ำเนื้อละเอียดไว้ในช่องที่เจาะ ปล่อยด้านหนึ่งจุ่มอยู่ในน้ำและส่วนที่เหลือพาดไว้บนฝากล่อง มีความยาวเท่ากับความยาวของฝากล่อง เพื่อให้น้ำเปียกซึมขึ้นมาทั่วแผ่นฟองน้ำ ใช้สำหรับเป็นกล่องให้น้ำแมลงวันผลไม้ นอกจากนั้นในกรงยังใส่อาหารซึ่งเป็นส่วนผสม Yeast Extract และน้ำตาลปน อัตราส่วน 1:1 ในจานแก้ว สำหรับเป็นอาหารของแมลงวันผลไม้ แมลงวันผลไม้จะผสมพันธุ์และเริ่มวางไข่เมื่อมีอายุประมาณ 10-12 วัน

การคำนวณค่าใช้จ่ายในการผลิตขยายแตนเบียนแมลงวันผลไม้ ประกอบด้วย

1. ค่าวัสดุและสารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงแมลงวันผลไม้
2. ค่าจ้างนักวิชาการผู้ช่วยนักวิจัย
3. ค่าจ้างคนงาน
4. ค่าครุภัณฑ์และอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้และแตนเบียน โดยคิดเป็นค่าเสื่อมราคาในระยะเวลา 10 ปี

รวมค่าใช้จ่ายทั้งสิ้น 146,100 บาท

ในปี 2548-49 ผลิตขยายแตนเบียนได้ ประมาณ 40,000 ตัว/สัปดาห์ เฉลี่ยต้นทุนการผลิตแตนเบียน 100 ตัว มีค่าใช้จ่ายประมาณ 7.02 บาท

สำหรับค่าสาธารณูปโภค ซึ่งปกติจะคิดมูลค่าประมาณ 60% ของค่าใช้จ่ายทั้งหมดไม่ได้นำมาคิดรวมในการคำนวณครั้งนี้ รายละเอียดต้นทุนการผลิตแตนเบียนแมลงวันผลไม้ *D. longicaudata* แสดงในตารางที่ 1

3. **ศึกษาวงจรชีวิต พฤติกรรมการเบียนของแตนเบียน *F. arisanus***

ในปี 2550 ได้เก็บรวบรวมแตนเบียน *Fopius arisanus* จากแปลงปลูก ฝรั่ง พุทรา และพริก ในอำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ดำเภอบางเสน และดำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม และอำเภอสวี จังหวัดชุมพร พบแตนเบียน *F. arisanus* รวม 60 ตัว นำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยเพาะเลี้ยงแตนเบียนด้วยไข่แมลงวันชนิด *Bactrocera dorsalis* ที่เลี้ยงในผลฝรั่ง สรุปผลการศึกษาวงจรชีวิตของแตนเบียน *Fopius arisanus* พบแตนเบียนลงเบียนไข่ของแมลงวันผลไม้ที่วางในผลฝรั่ง ตัวหนอนแตนเบียนเมื่อฟักออกจากไข่แล้วจะอาศัยและเจริญเติบโตอยู่ภายในลำตัวหนอนแมลงวันผลไม้ หนอนแมลงวันผลไม้ที่ถูกเบียนจะยังมีชีวิตเจริญเติบโตจนถึงระยะดักแด้ ตัวเต็มวัยของแตนเบียน *F. arisanus* เจาะออกจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้ ระยะเวลาตั้งแต่แตนเบียนลงเบียนไข่ถึงตัวเต็มวัยแตนเบียนเจาะออกจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้นาน 18-23 วัน ตัวเต็มวัยของ *F. arisanus* มีอายุนาน 4-21 วัน แตนเบียนเพศเมียเริ่มวางไข่ ประมาณ 12-14 วัน หลังจากเจาะออกจากดักแด้

ตารางที่ 1 แสดงต้นทุนการผลิต หรือประมาณการค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงแตนเบียนแมลงวันผลไม้ *Diachasmimorpka longicaudata* อัตรา 40,000 ตัว/สัปดาห์

รายการค่าใช้จ่าย	งบประมาณ (บาท)	หมายเหตุ
4. ค่าวัสดุและสารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงแมลงวันผลไม้	49,200	ค่าสารเคมีและวัสดุอื่น ๆ ที่ใช้เตรียมอาหารเทียม และอาหารเลี้ยงแมลงวันผลไม้และแตนเบียน
5. ค่าจ้างนักวิชาการผู้ช่วยนักวิจัย	34,400	ค่าจ้างนักวิชาการปฏิบัติงานห้องปฏิบัติการ อัตราค่าจ้าง เดือนละ 8,600 บาท จำนวน 1/3 แรงงาน และจ้าง 12 เดือน
3. ค่าจ้างคนงาน	27,000	ค่าจ้างเหมาคนงานทำความสะอาดเครื่องมือและอุปกรณ์ รวมทั้งห้องปฏิบัติการ โดยใช้อัตราค่าจ้าง เดือนละ 4,500 บาท จำนวน 1/2 แรงงาน และจ้าง 12 เดือน
4. ค่าครุภัณฑ์และอุปกรณ์	35,500	ค่าอุปกรณ์ ค่าเสื่อมราคาครุภัณฑ์และค่าซ่อมแซมเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยง ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์, ตู้อบลมร้อน, เครื่องผสมอาหารเทียม, กรงเลี้ยงแมลง และกล่องพลาสติกขนาดต่าง ๆ โดยคิดค่าเสื่อมราคาในระยะเวลา 10 ปี
รวม	146,100	ผลิตขยายแตนเบียนได้จำนวน 2,080,000 ตัว/ปี เฉลี่ยค่าใช้จ่ายในการผลิตแตนเบียน 100 ตัว เป็นเงิน 7.02 บาท

หมายเหตุ: การคิดต้นทุนในครั้งนี้ยังไม่รวมค่าสาธารณูปโภค

สรุปผลการทดลอง

แตนเบียนชนิด *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) เป็นแตนเบียนเข้าทำลายหนอนวัยสุดท้าย และตัวเต็มวัยเจาะออกมาจากดักแด้แมลงวันผลไม้ เรียกว่า Larval-pupal parasitoids พบในทุกท้องที่ทั่วประเทศ ระยะเวลาตั้งแต่หนอนแมลงวันผลไม้ถูกเบียน ถึงตัวเต็มวัยแตนเบียนเจาะออกจากดักแด้ 15-18 วัน แตนเบียน *D. longicaudata* เพศผู้มีอายุนาน 5-11 วัน เพศเมียมีอายุนาน 6-14 วัน แตนเบียนเพศเมียที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์จะสามารถวางไข่ และไข่ฟักเป็นตัวหนอนเจริญเติบโต เข้าดักแด้ และเป็นตัวเต็มวัยได้ แต่ตัวเต็มวัยที่ได้ทั้งหมดจะเป็นเพศผู้ ส่วนแตนเบียนเพศเมียที่ได้รับการผสมพันธุ์และวางไข่ที่เจริญเป็นตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียในสัดส่วนที่เหมาะสมและสามารถนำมาใช้เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ โดยใช้หนอนแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera dorsalis* ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเทียม เป็นแมลงอาศัย เมื่อคำนวณต้นทุนการผลิตโดยไม่รวมค่าสาธารณูปโภค พบว่า ในการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *D. longicaudata* อัตรา 40,000 ตัว/สัปดาห์ มีต้นทุนประมาณ 7.02 บาทต่อการผลิตแตนเบียน 100 ตัว สำหรับแตนเบียน *Fopius arisanus* Sonan (Hymenoptera: Braconidae) ที่ลงทำลายแมลงวันผลไม้โดยวางไข่ในไข่ของแมลงวันผลไม้ ไข่ของแมลงวันผลไม้ยังสามารถฟักเป็นตัวหนอน เจริญเติบโต เข้าดักแด้ และฟักออกเป็นตัวเต็มวัยในระยะดักแด้ของแมลงวันผลไม้ จัดเป็น Egg-pupal parasitoid ระยะเวลาตั้งแต่แตนเบียน *F. arisanus* ลงเบียนไข่ถึงตัวเต็มวัยแตนเบียนเจาะออกจากดักแด้ของแมลงวันผลไม้ 18-23 วัน ตัวเต็มวัยของ *F. arisanus* มีอายุนาน 4-21 วัน แตนเบียนเพศเมียเริ่มวางไข่ ประมาณ 12-14 วัน

เอกสารอ้างอิง

Aluja, M., J. Guillen, P. Liedo, M. Cabrera, E. Rios, G. De - la – Rosa, H. Celedonio and D. Mota. 1990. Fruit infesting tephritids (Dipt.: Tephritidae) and associated parasitoids in Chapas, Mexico. Entomophage. 35 (1): 39 – 48.

Bess, H.A. 1961. Fruit fly parasites and their activities in Hawaii. Proc. Hawaii. Entomol. Soc. 17: 367-378.

Boller, E.F., and R.J. Prokopy. 1976. Bionomies and management of *Rhagoletis*. Ann.Rev.Entomol. 21: 213-246.

Carmichael1 A.E., R.A. Wharton, and A.R. Clarke. 2005. Opiine parasitoids (Hymenoptera: Braconidae) of tropical fruit flies (Diptera: Tephritidae) of the Australian and South Pacific region. Bulletin of Entomological Research 95: 545–569

Clausen, C.P., Clancy, D.W. and Cheock, Q.C. 1965. "Biological Control of the Oriental Fruit Fly (*Dacus dorsalis* Hendel) and Other Fruit Flies in Hawaii", USDA Technical BulletinNo. 322.

Rousse, P., Harris E.J. Quillici S. 2005. *Fopius arisanus*, an egg-pupal parasitoid of Trephitidae: Overview. Biocontrol News and Information 26 (2): N59-N69

Sivinski, J., C.O. Calkins, R.M. Baranowski. 1994. A novel container for holding insects prior to mass release. Florida Entomologist 22: 635-644.

Sivinski, J.M., C.O. Calkins, R, Baranowski, D. Harris, J. Brambila, J. Diaz, R.E. Burns, T. Holler and G. Dodson. 1996. Suppression of a Caribbean Fruit Fly (*Anastrepha suspensa* (Loew) Diptera : Tephritidae)) Population through Augmentative Releases of the Parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). Biological Control 6: 177-185.

กฤษณา รุ่งโรจน์วนิชย์. 2538. การสำรวจปริมาณของแตนเบียนในวงศ์บราโคนิดที่เป็นศัตรูธรรมชาติของแมลงวันผลไม้ในสวนชมพู่ พุทราและฝรั่ง. รายงานผลงานวิจัยกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 10 หน้า.

อัมพร วิโนทัย, วิภาดา วังศิลาบัตร, วัชรี สมสุข. 2544. บทบาทของศัตรูธรรมชาติในการควบคุมแมลงวันผลไม้. ใน*:* เอกสารวิชาการ เรื่อง แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย. มนตรี และคณะ, กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, หน้า 151-167.

ศึกษาศักยภาพการผลิตและการใช้ประโยชน์จากแมลงช้างปีกใส *Mallada* sp. และ *Plesiochrysa* sp.ในการควบคุมศัตรูพืช

Study on the mass protential and utilization of green lacewing *Mallada* sp and *Plesiochrysa* sp. for Control of insect Pests

ประภัสสร เชยคำแหง รุจ มรกต รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในปีงบประมาณ 2549 -2550 ได้สำรวจ และเก็บรวบรวมแมลงช้างปีกใสที่พบในธรรมชาติ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548- เมษายน 2549 ณ จังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี ฉะเชิงเทรา เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎ์ธานี เชียงใหม่ และในเขตกรุงเทพฯ พบแมลงช้างปีกใส 2 ชนิดด้วยกัน คือชนิด *Mallada* sp และ *Plesiochrysa* sp.นำมาศึกษาชีววิทยา และการเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการพบว่าแมลงช้างปีกใสทั้ง 2 ชนิดสามารถเลี้ยงได้โดยใช้เหยื่ออาหารคือ เพลี้ยแป้ง และไข่ผีเสื้อข้าวสาร จากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ แมลงช้างปีกใสชนิด *Mallada* sp มีระยะไข่ 2-3 วันระยะตัวอ่อนมี 3 วัยใช้เวลา 8-11 วัน ระยะดักแด้ 7-9 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมีย 23-30 วัน เพศผู้ 14- 28 วัน แมลงช้างปีกใสชนิด *Plesiochrysa* sp.มีระยะไข่ 2-3วันตัวอ่อนมี 3 วัย 7-10 วัน ระยะดักแด้ 9-10 วัน และตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุ 18-25 วัน เพศผู้ 14- 20 วัน ตัวอ่อนของ *Mallada* sp จะเก็บซากเหยื่อไว้บนหลัง ส่วน *Plesiochrysa* sp.จะนำผงแป้งมาปกคลุม จากการทดลองชนิด เหยื่ออาหารพบว่า ไข่ผีเสื้อข้าวสารใช้เลี้ยงตัวอ่อนแมลงช้างปีกใสชนิด *Mallada* sp.ได้ดีกว่า ใช้เพลี้ยแป้ง เลี้ยงได้รอบละ 2,000 ตัว/45 วัน/คนเลี้ยง 2 คน โดยใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นเหยื่ออาหาร ตลอดวงจรชีวิตของตัวอ่อน *Mallada* sp 1 ตัว สามารถกินไข่ผีเสื้อข้าวสารได้ประมาณ 400-600 ฟอง สำหรับการเลี้ยงแมลงช้างปีกใสชนิด *Plesiochrysa* sp.เลี้ยงโดยใช้เพลี้ยแป้งได้ดีกว่าใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารมีเปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัวเต็มวัย 68.6% , 32.2% ตามลำดับ และอัตราส่วนเพศเมียเป็น 53.35% ,39.75% สามารถเลี้ยงตัวอ่อนได้รอบละ 3,000 ตัว/30วัน/คนเลี้ยง 1 คน โดยใช้เพลี้ยแป้ง ตัวอ่อน *Plesiochrysa* sp. 1 ตัวสามารถกินเพลี้ยแป้งได้ประมาณ 50-100 ตัว ได้อัตราเพศผู้ :เพศเมีย 1: 2 ในปี 2551จะทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงช้างปีกใสชนิด *Plesiochrysa* sp.เพื่อนำไป

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ทดสอบในแปลงทีมีเพลี้ยแป้งระบาด ทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลอง และเพื่อหาอัตราการใช้แมลงช้างปีกใสที่เหมาะสมในการควบคุมศัตรูพืช

คำนำ

แมลงช้างปีกใส เป็นแมลงห้ำที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง เนื่องจากสามารถกินเหยื่อหรือแมลงศัตรูพืชได้หลากหลายชนิด มีประสิทธิภาพในการช่วยทำลายแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจบางชนิด เช่น เพลี้ยไฟพริก เพลี้ยไฟฝ้าย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อนข้าวโพด ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว ตัวอ่อนเพลี้ยหอย ไข่ และตัวหนอนขนาดเล็กของผีเสื้อหลายชนิด และสามารถนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชร่วมกับวิธีการอื่นๆได้ดีโดยเฉพาะในระบบการปลูกพืชที่ไม่ต้องการใช้สารเคมี ดังนั้นการพัฒนารูปแบบการผลิตและการนำไปใช้ประโยชน์ จะช่วยให้มีการนำแมลงศัตรูธรรมชาติชนิดนี้ไปใช้ได้แพร่หลายมากขึ้นประเทศไทย นอกจากนั้นยังมีความหลากหลายของสายพันธุ์ของแมลงช้างปีกใส ตามรายงานของ ศิริวรรณ และคณะ 2547 ได้สำรวจแมลงศัตรูธรรมชาติในภาคกลางของประเทศไทย พบแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla* sp. และแมลงช้างปีกสีน้ำตาล *Hemerobius* sp. นอกจากนี้ อรพรรณ และคณะ 2547 สำรวจพบ แมลงช้างปีกใส *Mallada* sp. Walker. และรายงานว่าเป็นชนิดที่พบมากในประเทศไทย สำหรับในต่างประเทศมีการผลิตแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* และ *Chrysoperla rufilabris* ขายเป็นการค้ามาตั้งแต่ปี 2530 (J.C.van Lenteren, 2003)นอกจากนี้ในประเทศแถบยุโรปมีการใช้แมลงช้างปีกใสในการควบคุมเพลี้ยอ่อนในพืชหลายชนิด เช่น พริกไทย มันฝรั่ง มะเขือเทศ และมะเขือชนิดต่างๆ(Hoffman and Fredsham, 1993) จากผลการวิจัยในต่างประเทศยังพบว่ามีการใช้แมลงช้างปีกใสควบคุมเพลี้ยอ่อนในพริกด้วย(Hassan,1976) นอกจากนี้ยังใช้ควบคุมเพลี้ยจักจั่นในไร่องุ่นโดยใช้อัตราแมลงช้างปีกใส 1-16 ตัวต่อต้น สามารถควบคุมเพลี้ยจักจั่นลดลง 31% (Daana and YoKota, 1997) ในอเมริกาได้นำแมลงช้างปีกใส *Chrysoperla carnea* ไปปล่อยในไร่ฝ้ายของรัฐเท็กซัส สามารถลดประชากรของหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ถึง 96% และยังนำไปใช้ในพืชอื่นๆ เช่น ข้าวโพด ถั่ว กะหล่ำปลี และแอปเปิ้ลเพื่อควบคุมเพลี้ยอ่อนศัตรูพืชดังกล่าว แต่ต้องปล่อยเป็นปริมาณมาก (Tauber and Tauber, 1993) และได้มีการนำแมลงช้างปีกใสมาทำการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์หลายชนิดด้วยเช่นกันได้แก่ชนิด *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) และ *Mallada basalis* (Neuroptera: Chrysopidae) (Tauber *et al*. 1997) ต่อจากนั้น Tauber *et al*. 2001 พบว่า แมลงช้างปีกใสในวงศ์ Chrysopidae อีกชนิดหนึ่งที่น่าจะมีบทบาทสำคัญสามารถนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในกลุ่ม Homoptera คือแมลงช้างปีกใส *Plesiochrysa brasiliensis* (Neuroptera: Chrysopidae) ซึ่งแมลงช้างปีกใสใน

สกุล Plesiochrysa เคยมีรายงานว่าเป็นตัวห้ำในการกำจัดแมลงศัตรูพืชในแปลงพืชเศรษฐกิจที่สำคัญในประเทศ บราซิล เปรู และ อินเดีย (Mehar, 1966) แมลงช้างปีกใสในสกุล *Plesiochrysa* เป็นแมลงห้ำที่พบได้แพร่หลายในแถบภูมิภาคที่มีอากาศร้อนของทวีปอเมริกา เอเชีย และออสเตรเลีย และพบอยู่ประมาณ 5 ชนิด (Monserrat *et al*. 2001)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เหยื่ออาหารไข่ผีเสื้อข้าวสาร และเพลี้ยแป้ง
2. โหลแก้วเลี้ยงตัวเต็มวัยแมลงช้างปีกใส
3. กล่องเลี้ยงแมลงเลี้ยงตัวอ่อนแมลงช้างปีกใส
4. ขันน้ำ ผ้าขาวบาง ยางรัด
5. สำลี น้ำผึ้ง ยีสต์ กระดาษไข
6. พู่กัน กระดาษ กระดาษทิชชู
7. กระบอกฉีดน้ำ
8. ถ้วยพลาสติก ปากคีบ
9. กระถางต้นไม้ กรงเลี้ยงแมลง

วิธีการ

1. สำรวจ และเก็บรวบรวมแมลงช้างปีกใสจากธรรมชาติ นำมาศึกษาชีววิทยา และวิธีการเพาะเลี้ยง

2. ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงแมลงช้างปีกใสในห้องปฏิบัติการ แบ่งเป็น 5 งานทดลอง ได้แก่

งานที่ 1. งานการผลิตเหยื่ออาหาร

1.1 ผลิตไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephaloniga* (Stainton)

1.2 เลี้ยงขยายเพลี้ยแป้ง โดยใช้ฟักทอง และต้นซบา

1.3 เลี้ยงเหยื่ออาหารชนิดอื่นๆ เช่น เพลี้ยอ่อน แมลงหวี่ขาว เป็นต้น

งานที่ 2. ศึกษาชีววิทยาของแมลงช้างปีกใส 2 ชนิด

- เลี้ยงแมลงช้างปีกใส ด้วยเหยื่ออาหารต่างๆ ศึกษาวงจรชีวิต การเลี้ยงต่อรอบ การผลิต ต้นทุนการผลิต

งานที่ 3. ศึกษาเหยื่ออาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง ตัวอ่อน ตัวเต็มวัย

- ใช้เหยื่ออาหาร 3 ชนิด ในการเลี้ยงตัวอ่อน เปรียบเทียบการเจริญเติบโต
- ใช้ อาหารน้ำผึ้ง และยีสต์ สูตรต่างๆเลี้ยงตัวเต็มวัย

งานที่ 4. ศึกษาการเลี้ยงให้ครบวงจร รอบการผลิต

งานที่ 5. ศึกษาการนำแมลงช้างปีกใสไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในสภาพแปลงทดลอง

เวลาและสถานที่ เวลา เริ่ม ตุลาคม 2548- ตุลาคม 2553

- สถานที่ จังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม ราชบุรี สุราษฎธานี นครราชสีมา และเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2549 สำรวจ และเก็บรวบรวมแมลงช้างปีกใส ณ จังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎธานี และเขตกรุงเทพฯ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548- เมษายน 2549 พบแมลงช้างปีกใส 2 ชนิดด้วยกัน เมื่อนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ *Mallada* sp และ *Plesiochrysa* sp.และแมลงช้างปีกใสทั้ง 2 ชนิดจะพบในบริเวณที่มีเพลี้ยแป้งระบาด นำมาศึกษาชีววิทยา และการเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการพบว่าแมลงช้างปีกใสทั้ง 2 ชนิดสามารถเลี้ยงได้โดยใช้เหยื่ออาหารเพลี้ยแป้ง และไข่ผีเสื้อข้าวสาร ปี 2550 ได้ศึกษาวิธีการเลี้ยงพบว่า *Mallada* sp มีระยะไข่ 2-3 วันตัวอ่อน 8-10 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมีย 32-80 วัน เพศผู้ 14- 32 วัน *Plesiochrysa* sp.มีระยะไข่ 3-5 วันตัวอ่อน 7-10 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมีย 28-70 วัน เพศผู้ 14- 30 วัน ตัวอ่อนของ *Mallada* sp จะเก็บซากเหยื่อไว้บนหลัง ส่วน *Plesiochrysa* sp.จะนำผงแป้งมาปกคลุม ในปี 2549 สามารถเลี้ยง *Mallada* sp ได้รอบละ 2,000 ตัว/45 วัน/คนเลี้ยง 2 คน โดยใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นเหยื่ออาหารตัวอ่อน *Mallada* sp 1 ตัว ใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร 400-600 ฟอง และนำไปปล่อยควบคุมเพลี้ยแป้งในพระราชวังไกลกังวล สำหรับการเลี้ยงแมลงช้างปีกใสชนิด *Plesiochrysa* sp.ทดลองโดยเลี้ยงด้วยไข่ผีเสื้อข้าวสาร (ตารางที่ 1)และเลี้ยงด้วยเพลี้ยแป้ง(ตารางที่ 2)พบว่าเลี้ยงโดยใช้เพลี้ยแป้งได้ดีกว่าใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารมีเปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัวเต็มวัย 68.6% , 32.2% ตามลำดับ และอัตราส่วนเพศเมียเป็น 53.35% ,39.75% (ตารางที่ 3) สามารถเลี้ยงตัวอ่อนได้รอบละ 3,000 ตัว/30วัน/คนเลี้ยง 1 คน โดยใช้เพลี้ยแป้ง ตัวอ่อน *Plesiochrysa* sp. 1 ตัวสามารถกินเพลี้ยแป้งได้ประมาณ 50-100 ตัว ได้อัตราเพศผู้ :เพศเมีย 1: 2

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในปีงบประมาณ 2549 – 2550 ได้สำรวจ และเก็บรวบรวมแมลงช้างปีกใสที่พบในธรรมชาติ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548- เมษายน 2549 พบแมลงช้างปีกใส 2 ชนิด คือ *Mallada* sp และ *Plesiochrysa* sp.นำมาศึกษาชีววิทยา และการเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการพบว่าแมลงช้างปีกใสทั้ง 2 ชนิดสามารถเลี้ยงได้โดยใช้เหยื่ออาหารเพลี้ยแป้ง และไข่ผีเสื้อข้าวสาร *Mallada* sp มีระยะไข่ 2-3 วันตัวอ่อน 8-10 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมีย 32-80 วัน เพศผู้ 14- 32 วัน *Plesiochrysa* sp.มีระยะไข่ 3-5 วันตัวอ่อน 7-10 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมีย 28-70 วัน เพศผู้ 14- 30 วัน ตัวอ่อนของ *Mallada* sp จะเก็บซากเหยื่อไว้บนหลัง ส่วน *Plesiochrysa* sp.จะนำผงแป้งมาปกคลุม สามารถเลี้ยง *Mallada* sp ได้รอบละ 2,000 ตัว/45 วัน/คนเลี้ยง 2 คน โดยใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารเป็นเหยื่ออาหาร ตัวอ่อน *Mallada* sp 1 ตัว ใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร 400-600 ฟอง แมลงช้างปีกใสชนิด *Plesiochrysa* sp.เลี้ยงโดยใช้เพลี้ยแป้งได้ดีกว่าใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสารมีเปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัวเต็มวัย 68.6% , 32.2% ตามลำดับ และอัตราส่วนเพศเมียเป็น 53.35% ,39.75% สามารถเลี้ยงตัวอ่อนได้รอบละ 3,000 ตัว/30วัน/คนเลี้ยง 1 คน โดยใช้เพลี้ยแป้ง ตัวอ่อน *Plesiochrysa* sp. 1 ตัวสามารถกินเพลี้ยแป้งได้ประมาณ 50-100 ตัว ได้อัตราเพศผู้ :เพศเมีย 1: 2 แสดงว่าวิธีการที่ 2 มีอัตราส่วนของเพศเมียต่อเพศผู้สูงกว่าวิธีที่ 1 ถึง 13.6% ดังนั้นถ้าเราจำเป็นที่จะเลี้ยงแมลงช้างปีกใสศัตรูธรรมชาติชนิดนี้ เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ในปริมาณมากก็จะต้องคำนึงถึงการใช้อาหารในการเลี้ยงในช่วงการเพาะขยายพันธุ์ เนื่องจากมีผลค่อนข้างมากในการได้ปริมาณเพศเมียและอัตราการรอดที่เหมาะสม การเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงศัตรูธรรมชาติจำเป็นที่จะต้องเลือกอาหารที่เหมาะสมสามารถเพิ่มปริมาณได้รวดเร็ว ทั้งยังต้องคำนึงถึงความเป็นไปได้ในการจัดหาอาหาร ควรเน้นความสะดวก สามารถปฏิบัติได้และต้นทุนที่ไม่สูงเกินไป (Nordulund *et al* 2001) ในปี 2551จะทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงช้างปีกใสชนิด *Plesiochrysa* sp.เพื่อนำไปทดสอบในแปลงที่มีเพลี้ยแป้งระบาด ทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลอง และเพื่อหาอัตราการใช้แมลงช้างปีกใสที่เหมาะสมในการควบคุมศัตรูพืช

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณสุเทพ สหายา ที่อนุเคราะห์ช่วยเก็บตัวอย่างแมลงช้างปีกใสจากแปลงสับปะรด จึงเป็นแรงบันดาลใจในการศึกษาแมลงช้างปีกใสชนิดนี้รวมทั้ง คุณสราญจิต ไกรฤกษ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เพลี้ยแป้งส่วนหนึ่งในการเลี้ยงแมลงช้างปีกใส ขอขอบคุณค่ะ

เอกสารอ้างอิง

พิมลพร นันทะ. 2545. แมลงช้างปีกใส. ใน : ศัตรูธรรมชาติหัวใจของ IPM. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 14-17

ศิริวรรณ ทุนคุ้มทอง และคณะ. 2547. การสำรวจรวบรวมและประเมินผลศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในประเทศไทย. รายงานผลงานประชุมวิชาการประจำปี 2547. ศูนย์ควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ประจำปี 2547 (22-25 มิถุนายน 2547) โรงแรมโนโวเทล โคราเลีย ริมเพ อำเภอแกลง จังหวัดระยอง

อรพรรณ เก็บรักษา และคณะ.2547. การสำรวจรวบรวมและประเมินผลศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในเขตภาคกลางของประเทศไทย.

Daane KM, Yokota GY, Rasmussen YD, et al. 1997. Effectiveness of leafhopper control varies with Lacewing release methods. Cal Ag 47(6):19-23

Hoffman, M.P. and Frodsham, A.C. 1993. Natural Enemies of Vegetable Insect Pests. Cooperative Extension, Cornell University Ithaca, N.Y 63 pp.

Monserrat,V.J., J.D Oswald ,C.A.Tauber,and L.M. Diaz-Aranda.2001. Recognition of larval Neuroptera. *In*: pp 43-81: Lawings in the crop environment. P.K. Mcewen.T.R. New andA.E.Whitting. Cambridge university Press. Cambridge.

Nordlund,D.A.,a.c.Cohen and R.A.Smith.2001.Mass-rearing release techniques and augment ation.*In*:pp.303-319. Lacewings in the crop environment,P.K. Mcewen.T.R. New andA.E.Whitting. Cambridge University Press. Cambridge

Tauben, M.J. and Tauben, C.A. 1993. Adaptation to temporal variation in habitata: categorizing, predicting and influencing their evolution in agro ecosystems In: Evolution of insect pest. Pp 103-127. John Wiley&Sons. NY.

Tauber, C.A., M.J. Tauder and G.S.Albuquebque. 2001. *Plesiochrysa brasiliensis* (Neuroptera:Chrysopidae) Larval Stages, Biology, and Taxonomic Relationships. Annals of the Entomological Society of America 94:858-865.

Van Lenteren. 2003. Quality control and production of biological control agents' laboratory of entomology Netherland.

Table 1 Numbers of pupa and adult *Plesiochrysa ramburi* produced from method 1.

No	Egg	Pupa	No.of Adult		
			male	female	total
1	100	60	19	13	32
2	100	50	16	10	26
3	100	63	22	16	38
4	100	69	22	15	37
5	100	52	18	10	28
Total	**500**	**294**	**97**	**64**	**161**
$\bar{X}$±SD		**58.8±7.85**	**19.4 ±2.61**	**12.8±2.77**	**32.2±5.31**

Table 2 Numbers of pupa and adult *Plesiochrysa ramburi* produced from method 2.

No	Egg	Pupa	No.of Adult		
			male	female	total
1	100	87	34	53	87
2	100	75	33	38	71
3	100	62	25	31	56
4	100	55	25	26	51
5	100	85	43	35	78
Total	**500**	**364**	**160**	**183**	**343**
$\bar{X}$±SD		**72.8±14.04**	**32 ±7.48**	**36.6± 10.21**	**68.6±15.01**

Table 3 Numbers of pupa and adult *Plesiochrysa ramburi* produced from method under laboratory condition.

Method	Egg	Mean±SD	Adult	Mene±SD	Male:Femal	%Femal
1	500	58.8±7.87	161	32.2±5.37	1.52 : 1	39.75
2	500	72.8±14.04	343	68.6±15.01	0.87 : 1	53.35

ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ด้วยแมลงอาศัย

Study on Culture Method of *Telenomus* sp. (Hymenoptera: Scelionidae) on Insect Host Egg

รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย รุจ มรกต ประภัสสร เชยคำแหง
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เพื่อศึกษาหาวิธีเพาะเลี้ยงแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ด้วยแมลงอาศัยในห้องปฏิบัติการ ซึ่งแตนเบียนชนิดนี้เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่สำคัญชนิดหนึ่งของหนอนกออ้อยที่พบในแปลงอ้อย

ศึกษานิเวศวิทยาของแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. สำรวจและเก็บรวบรวมกลุ่มไข่และหนอนกออ้อยจากแปลงอ้อยอายุครึ่งเดือนถึง 6 เดือน ที่จังหวัดนครสวรรค์ ระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึง พฤษภาคม ปี 2548-2550 นำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการ แยกกลุ่มไข่แต่ละกลุ่มเลี้ยงในหลอดทดลองเพื่อตรวจดูแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. เพื่อนำไปทำเป็นพ่อแม่พันธุ์ หาเปอร์เซ็นต์การเบียน จากผลการทดลอง เริ่มพบกลุ่มไข่ของหนอนกออ้อย ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนในอ้อยอายุประมาณครึ่งเดือน และพบมากขึ้นในเดือนธันวาคมและมกราคม ในอ้อยตออายุ 1 เดือนครึ่งถึง 2 เดือน พบแตนเบียนไข่ 2 ชนิด ได้แก่ แตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. และ *Trichogramma* sp. ฟักออกจากกลุ่มไข่ของหนอนกอสีขาว (*Scirpophaga excerptalis* Walker) ซึ่งมีขนปกคลุม ถูกแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ทำลาย 20.00-89.19% เฉลี่ย 25.16-41.72% พบกลุ่มไข่มีอัตราการเบียนมากที่สุดช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงมกราคม ซึ่งเป็นช่วงที่พบกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวมาก

ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนไข่ชนิดที่นำมาศึกษา ซึ่งจำแนกชนิดได้เป็นแตนเบียนไข่ *Telenomus dignus* Gahan นำมาเลี้ยงด้วยไข่แมลงอาศัยในห้องปฏิบัติการ ทดสอบหาชนิดไข่แมลงอาศัยกับไข่หนอนผีเสื้อ 10 ชนิด ในห้องปฏิบัติการ นำไข่มาให้แตนเบียนไข่ *T. dignus* เบียนในหลอดทดลอง และในกรงเลี้ยงแมลง นำไข่ที่เบียนแล้วแต่ละกลุ่มไปแยกเลี้ยงไว้ พบว่าแตนเบียนไข่ *T. dignus* วางไข่เฉพาะในกลุ่มไข่ของหนอนกอสีขาวในห้องปฏิบัติการ และสามารถออกเป็นตัวเต็มวัยขยายพันธุ์ต่อไปได้ ทั้งวิธีใส่ในหลอดทดลอง และในกรงอะคริลิกขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ส่วนไข่แมลงชนิดอื่นยังไม่พบการเบียน

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ศึกษาชีววิทยาของแตนเบียนไข่ *T. dignus* พบว่า จากการศึกษาพฤติกรรมการเบียนของตัวเมียที่พบจากแปลง 1 ตัว สามารถเบียนไข่หนอนกอสีขาวได้ 3 กลุ่ม และแตนเบียนมีอายุนานถึง 14 วัน เมื่อเลี้ยงด้วยน้ำผึ้ง 15% ส่วนตัวเต็มวัยแตนเบียนที่เลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการ มีอายุ 1-4 วัน เฉลี่ย 2.42 วัน เมื่อไม่ให้อาหาร แต่เมื่อเลี้ยงด้วยน้ำผึ้ง 15% พบว่า แตนเบียน *T. dignus* มีอายุ 1-7 วัน เฉลี่ย 4.20 วัน แตนเบียนเพศเมียมีพฤติกรรมปกป้องกลุ่มไข่ที่เบียนแล้ว ในไข่หนอนกอสีขาวที่ถูกเบียน 1 กลุ่ม จะมีบางส่วนที่ฟักออกเป็นหนอนและบางส่วนถูกเบียน ซึ่งหนอนกอสีขาวจะฟักออกมาก่อนเมื่อไข่มีอายุ 3-4 วัน และแตนเบียนไข่ *T. dignus* จะออกเป็นตัวเต็มวัยที่อายุประมาณ 12-17 วัน หลังจากที่โดนเบียนแล้ว เฉลี่ย 14.60 วัน เมื่อแยกเลี้ยงกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวที่ถูกเบียน จากแปลงอ้อย พบว่ากลุ่มไข่หนอนกอสีขาวมีจำนวนไข่ 10-35 ฟอง เฉลี่ย 20.00 ฟอง พบไข่ถูกเบียน 64.29-90.00% เฉลี่ย 77.54% และพบแตนเบียนไข่ *T. dignus* ที่ออกจากกลุ่มไข่หนอนกอสีขาว 1 กลุ่ม จำนวน 9-27 ตัว เฉลี่ย 15.55 ตัว และมีอัตราส่วนเพศเมีย 18.18-60.00% เฉลี่ย 41.04%

แตนเบียน *T. dignus* สามารถเพาะเลี้ยงได้ด้วยไข่หนอนกอสีขาวในห้องปฏิบัติการ แต่การที่จะผลิตให้ได้เป็นปริมาณมากค่อนข้างยาก เนื่องจากไม่สามารถเลี้ยงหนอนกอสีขาวได้ในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียมหรือท่อนอ้อย วิธีที่จะทำให้ได้กลุ่มไข่หนอนกอสีขาวทำได้ 4 วิธี ได้แก่ วิธีที่ 1 ปลูกต้นอ้อยเพื่อเลี้ยงหนอนให้อยู่ในต้นอ้อย แต่สามารถเลี้ยงได้เพียงหน่อละ 1 ตัว วิธีที่ 2 เก็บหน่ออ้อยที่ถูกทำลายมาแช่น้ำเลี้ยงให้ได้ผีเสื้อ วิธีที่ 3 จับผีเสื้อจากแปลงอ้อย และวิธีที่ 4 เก็บไข่ใหม่จากแปลงอ้อย อย่างไรก็ดีวิธีดังกล่าวเหมาะสำหรับสถานที่เพาะเลี้ยงที่อยู่ใกล้แปลงอ้อย

คำนำ

แมลงเบียนเป็นแมลงที่มีประโยชน์จัดเป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่ใช้ช่วยควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยไม่ต้องใช้สารเคมี หรือใช้ร่วมกันกับสารเคมีควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หากมีการจัดการที่ดีและถูกต้อง แมลงเบียนนับเป็นทรัพยากรที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ การศึกษาวิจัยเพื่อการอนุรักษ์และเพิ่มพูนศักยภาพให้แมลงเบียนสามารถทำหน้าที่ได้อย่างเต็มที่ จะสามารถลดความเสียหายต่อพืชปลูกได้โดยไม่ต้องพึ่งพาสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

ในระบบการปลูกอ้อย หนอนกอจัดเป็นแมลงศัตรูกลุ่มที่สำคัญที่สุดเพราะทำความเสียหายมาก และยากแก่การป้องกันกำจัด การเข้าทำลายระยะแรกเห็นได้ยาก จะทราบต่อเมื่ออ้อยถูกทำลายไปแล้ว มักพบในแหล่งปลูกอ้อยทั่วประเทศ หนอนกออ้อยที่สำคัญมี 3 ชนิด คือ หนอนกอลายเล็ก (*Chilo infuscatellus* Snellen) หนอนกอสีชมพู (*Sesamia inferens* Walker) และหนอนกอสีขาว (*Scirpophaga excerptalis* Walker) (โอชา และเถลิงศักดิ์, 2523) แมลงศัตรูธรรมชาติมีบทบาทสำคัญมากในการควบคุมหนอนกออ้อย ไข่ของหนอนกอจะถูกทำลายโดยแตนเบียนไข่ *Trichogramma confusum* Viggiani และ *Telenomus beneficien* Zehntner และ

แมลงห้ำ *Anticus ruficollis* Sound และ *Formicomus braminus braminus* La Ferti-Senectere กินไข่หนอนกอลาย (โอชา และคณะ, 2524) แต่พบว่า แตนเบียนไข่มีความสำคัญมากกว่าตัวห้ำไข่ (โอชา และคณะ, 2535) ในการควบคุมหนอนกออ้อยนั้น การนำแตนเบียนไข่ไปปล่อยในไร่นับเป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับคำแนะนำและยอมรับว่าให้ผลดีและไม่มีผลต่อสภาพแวดล้อม ณัฐกฤต และอนุวัฒน์ (2545) รายงานว่า ในปี 2543 ในสภาพไร่พบแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. และ *Trichogramma* spp. แข่งขันกันเข้าทำลายไข่ของหนอนเจาะลำต้นอ้อย ประสิทธิภาพของแต่ละชนิดขึ้นกับช่วงเวลาการปลูกอ้อย โดยเริ่มพบ *Telenomus* sp. เข้าทำลายไข่ของหนอนเจาะลำต้นอ้อย (*Chilo tumidicostallis* (Hampson)) ในเดือน กันยายนถึงตุลาคม พบการทำลาย 57.57% มากกว่า *Trichogramma* spp. ซึ่งพบ 20.55% เนื่องจากฝนตกชุกมาก พบแตนเบียนไข่ทั้งสองชนิดนี้เข้าทำลายไข่ 17.13% แต่อย่างไรก็ตามในปี 2544 ไม่พบ *Telenomus* sp.

ในการควบคุมหนอนกออ้อยนั้น แตนเบียนเหล่านี้สามารถนำมาใช้เป็นทางเลือกในการควบคุมทดแทนสารเคมีหากผลิตได้เป็นปริมาณมาก จะสามารถช่วยแก้ปัญหาในเรื่องของประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกออ้อย รวมทั้งผลกระทบของการใช้สารเคมีได้ ปัจจุบันได้มีการผลิตแตนเบียนไข่ *Trichogramma* spp. ทั้งในภาครัฐและเอกชนเพื่อนำไปใช้ควบคุมหนอนกออ้อย อย่างไรก็ดีแตนเบียน *Trichogramma* spp. จะไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายไข่ของหนอนกอสีขาวซึ่งมีขนปกคลุม ซึ่งแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. จะมีประสิทธิภาพดีกว่า แต่ ณัฐกฤต (2546) รายงานว่า *Telenomus* sp. ของหนอนกออ้อยนี้ ยังไม่สามารถเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการได้ งานทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีเพาะเลี้ยงแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ด้วยแมลงอาศัย โดยสำรวจ รวบรวมและนำมาศึกษาหาวิธีการเลี้ยงขยายพันธุ์ ให้สามารถนำไปปล่อยควบคุมประชากรหนอนกออ้อย เพื่อเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งของการนำแตนเบียนไข่ไปใช้ในไร่อ้อยให้มีประสิทธิภาพสูงสุดตามภาวะสภาพแวดล้อม

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เลี้ยงแมลง ได้แก่ กรงเลี้ยงแมลง กล่องเลี้ยงแมลง กรงเลี้ยงแมลง กระป๋องพลาสติก ถ้วยพลาสติก ปากคีบ หลอดดูดแมลง หลอดทดลอง ผ้าดิบ พู่กัน น้ำผึ้ง กระดาษไข กระบอกฉีดน้ำ
2. กระถางต้นไม้ กระบะ และต้นอ้อย
3. ส่วนผสมอาหารเทียม ได้แก่

- น้ำกลั่น	- Brewer's yeast	- methyl p-hydroxybenzoate
- ascorbic acid	- sorbic acid	- vitamin E capsule (300 i.u.)

- ใบอ้อยอบแห้งป่น - ถั่วเขียวป่น - น้ำตาลซูโครส
- วุ้นผง - formaldehyde 40%

4. กล้องจุลทรรศน์
5. มีด กรรไกร
6. เครื่องผสมอาหาร หม้อแสตนเลส เตาไฟฟ้า ฯลฯ
7. อุปกรณ์อื่นเท่าที่จำเป็น

วิธีการ

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษานิเวศวิทยา

ศึกษาชนิดและอัตราการเบียนของแตนเบียนไข่หนอนกออ้อยในสภาพไร่ โดยการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และรวบรวมแตนเบียนไข่ *Telenomus* spp. จากไข่หนอนกออ้อยในสภาพไร่ โดยเก็บตัวอย่างกลุ่มไข่ของหนอนกออ้อยจากแปลง นำกลับมาแยกเลี้ยงในหลอดทดลองในห้องปฏิบัติการ จนกระทั่งได้ตัวเต็มวัยแตนเบียนสำหรับเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อไป ตรวจนับจำนวนแตนเบียนไข่ *Telenomus* spp. ที่ออกเป็นตัวเต็มวัย อัตราการเบียน อัตราส่วนเพศ และคัดเลือกแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. นำไปศึกษาชีววิทยา รวมทั้งวิธีการเลี้ยงที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมต่อไป

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของหนอนกออ้อยในสภาพไร่ โดยตรวจนับกลุ่มไข่หนอนกออ้อย และนับจำนวนหน่อทั้งหมด และหน่อที่ถูกทำลาย จากแปลงอ้อย จำนวน 3 แปลง แปลงละ 100 กอ โดยวิธี Sequential sampling นับ 1 กอ เว้น 10 กอ

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยง *Telenomus* sp. ด้วยไข่แมลงอาศัยในห้องปฏิบัติการ แบ่งเป็น 3 งาน ได้แก่

<u>งานที่ 1 ศึกษาชนิดของแมลงอาศัย</u>

เพื่อศึกษาหาไข่แมลงอาศัยชนิดที่เหมาะสม ต้องมีไข่ใหม่สำหรับนำไปทดสอบไข่แมลงอาศัยของ *Telenomus* sp. ทำการเพาะเลี้ยงหนอนผีเสื้อ 10 ชนิด หนอนกออ้อย 4 ชนิด คือ หนอนกอลายจุดเล็ก หนอนกอสีขาว หนอนกอสีชมพู (*Sesamia inferens* (Walker)) และหนอนกอลายแถบแดง (*Chilo sacchariphagus stramineelus*) ด้วยอาหารเทียมและอ้อย รวมทั้งหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* (Hubner)) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (F.)) หนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera* (Hubner)) หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*Ostrinia furnacalis* Guenee) และผีเสื้อข้าวสาร (*Corcyra cephalonica* (Stainton)) รวมทั้งเก็บรวมรวมผีเสื้อและนำหนอนกอสีขาวมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เมื่อได้ไข่ใหม่ นำไข่ที่ได้มาทดสอบให้แตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ลงเบียนในหลอดทดลอง และกรงเลี้ยงแมลงอะคริลิก

ขนาด 30x30x30 เซนติเมตร นำไข่ที่เบียนแล้วแต่ละกลุ่มไปแยกเลี้ยงไว้ จนกระทั่งได้ตัวเต็มวัยแตนเบียนสำหรับเลี้ยงขยายพันธุ์ จำแนกชนิดและศึกษาชีววิทยา และหาวิธีการเพาะเลี้ยงแมลงอาศัยชนิดที่เหมาะสมต่อไป

งานที่ 2 ศึกษาชีววิทยาของแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp.

– เลี้ยงแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ในหลอดทดลอง ศึกษาวงจรชีวิต อัตราส่วนเพศเมีย อัตราการเบียนไข่ และพฤติกรรมการวางไข่

งานที่ 3 งานการผลิตขยายแมลงอาศัย

– ศึกษาวิธีการเลี้ยงแมลงอาศัยชนิดที่เหมาะสมให้ได้ปริมาณมาก

งานที่ 4 งานการผลิตขยายแมลงอาศัย

– ศึกษาวิธีการเลี้ยงเพาะเลี้ยงแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ชนิดที่เลือกมาศึกษาให้ได้ปริมาณมาก โดยนำไข่แมลงอาศัยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาให้แตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ลงเบียนในหลอดทดลอง และกรงอะคริลิก นำไข่ที่เบียนแล้วแต่ละกลุ่มไปแยกเลี้ยงไว้ จนกระทั่งได้ตัวเต็มวัยแตนเบียนสำหรับเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อไป ศึกษาหาวิธีการเลี้ยงที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสม

การบันทึกข้อมูล

– บันทึกผล ชนิดของแมลงอาศัยที่สามารถเลี้ยงและสามารถวางไข่ในห้องปฏิบัติการ

– บันทึกวงจรชีวิต อัตราส่วนเพศเมีย อัตราการขยายพันธุ์ อัตราการเบียนไข่ของหนอนกออ้อย และพฤติกรรมการวางไข่ของแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp.

– วิเคราะห์ข้อมูลและแปลผลการทดลอง

เวลา และสถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2547 ถึง กันยายน 2550 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชและแปลงอ้อยของเกษตรกร จ.นครสวรรค์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

● **ขั้นตอนที่ 1 ศึกษานิเวศวิทยาของ *Telenomus* sp. ในสภาพไร่**

ชนิดและอัตราการเบียนของแตนเบียนไข่หนอนกออ้อย

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างกลุ่มไข่และหนอนกออ้อยจากแปลงอ้อย จังหวัดนครสวรรค์ ในอ้อยตอหลังจากตัดอ้อยแล้ว ในช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึง มิถุนายน นำกลุ่มไข่ที่เก็บได้มาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการ แยกกลุ่มไข่เลี้ยงในหลอดทดลองแต่ละกลุ่ม เพื่อตรวจสอบการเบียน และแตนเบียนไข่ นับจำนวนไข่ทั้งหมด จำนวนไข่ที่ถูกเบียน หาอัตราการเบียน

ผลการทดลองระหว่างปี 2548-2550 แสดงใน Table 1 ในช่วงระยะเวลาที่ทำการสำรวจและเก็บรวบรวมไข่หนอนกอสีขาว พบแตนเบียนไข่ 2 ชนิด ได้แก่ ได้แก่ แตนเบียนไข่ *Telenomus* sp และ *Trichogramma* spp. ฟักออกจากกลุ่มไข่ของหนอนกอสีขาวที่เก็บรวบรวมจากแปลงอ้อย โดยกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวที่ถูกเบียน 95-100% ถูกเบียนโดยแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ลักษณะของกลุ่มไข่ของหนอนกอสีขาวจะมีขนปุยสีน้ำตาลอ่อนปกคลุมอยู่ แตกต่างจากกลุ่มไข่หนอนกออ้อยชนิดอื่นซึ่งไม่มีขนปกคลุม เฉพาะในปี 2548 ที่พบ *Trichogramma* spp. คิดเป็นอัตราส่วนเท่ากับ 5.00% ของกลุ่มไข่ที่ถูกเบียน ซึ่งจะพบ *Trichogramma* spp. ในกลุ่มไข่ที่มีขนปกคลุมเบาบาง จากการสำรวจและเก็บรวบรวมกลุ่มไข่หนอนกอสีขาว พบกลุ่มไข่ทั้งหมด 159-917 กลุ่ม ถูกแตนเบียนไข่ทำลายคิดเป็นอัตราการเบียนทั้งหมดในสภาพไร่ 20.51-43.75%ของกลุ่มไข่ทั้งหมด หรือเฉลี่ย 25.16-40.36% ของการสำรวจแต่ละครั้งที่พบการเบียน โดยพบอัตราการเบียนมากที่สุดในปี 2549 พบอัตราการเบียน 43.75% ของกลุ่มไข่ที่นำมาทดสอบ ไม่แตกต่างจากปี 2550 ซึ่งพบ 42.76% ในการสำรวจแต่ละครั้งจะพบกลุ่มไข่ถูกเบียนมีพิกัดอยู่ระหว่าง 20.00-89.19% โดยที่การพบอัตราการเบียนสูงที่สุดระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึง มกราคม ซึ่งพบกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวถูกแตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. เบียนมากที่สุดถึง 89.19% (Figure 1) เมื่อ วันที่ 14 พฤศจิกายน 2550 จากจำนวนกลุ่มไข่ทั้งหมด 37 กลุ่ม ในระหว่างเดือน ธันวาคมถึง มกราคมเป็นช่วงที่พบกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวได้มากที่สุด (Figure 2 and 3) ทั้งนี้เนื่องจากเป็นช่วงที่อ้อยที่เพิ่งงอกหลังจากตัดอ้อยไปแล้ว อยู่ในระยะแตกหน่อ 1-2 เดือน แต่บริเวณที่ตัดอ้อยยังมีบริเวณไม่มากนัก ประชากรกลุ่มไข่ที่เกิดจากการวางไข่ของผีเสื้อหนอนกอสีขาวจึงยังไม่ขยายบริเวณมากนัก อัตราการเบียนจึงพบได้มากกว่าช่วงหลังจากเดือนมกราคมไปแล้ว (Figure 1) ซึ่งพื้นที่ตัดอ้อยจะเพิ่มขึ้นมากทำให้การกระจายตัวของทั้งหนอนกอสีขาวและแตนเบียนไข่ลดลง

การเปลี่ยนแปลงประชากรกลุ่มไข่ของหนอนกออ้อยในสภาพไร่

จากการสำรวจจำนวนกลุ่มไข่หนอนกออ้อยที่พบในแปลงอ้อย จำนวน 3 แปลง โดยสำรวจจากอ้อยแปลงละ 100 กอ ในท้องที่อำเภอตาคลี จ. นครสวรรค์ พบว่า ในปี 2549 เริ่มสำรวจพบกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวในเดือนพฤศจิกายน ในอ้อยตออายุประมาณ 15 วัน พบกลุ่มไข่จำนวน 21 กลุ่ม/100 กอ และพบจำนวนมากที่สุดในช่วงเดือนธันวาคม พบมากถึง 109 กลุ่ม/100 กอ เมื่ออ้อยอายุประมาณ 1.5 เดือน (Figure 2) และพบจำนวนน้อยลงเมื่ออ้อยอายุมากขึ้น สำหรับในปี 2550 พบจำนวนมากที่สุดในช่วงเดือนมกราคม พบ 23 กลุ่ม/100 กอ จะเห็นได้ว่าปริมาณกลุ่มที่สำรวจจากอ้อย 100 กอ ให้ผลสอดคล้องกันกับจำนวนกลุ่มไข่ที่เก็บรวบรวมมาศึกษา (Figure 3)

การทราบการเปลี่ยนแปลงประชากรของกลุ่มไข่จะทำให้สามารถวางแผนในการนำแตนเบียนไข่ไปปล่อย หรือเก็บรวบรวมจากธรรมชาติมาทำพ่อแม่พันธุ์เพาะเลี้ยงได้

- **ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยง *Telenomus* sp.**

นำแตนเบียนไข่ที่ได้จากแปลงอ้อยมาศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้ชนิดที่นำมาศึกษาจากการตรวจสอบลักษณะแตนเบียน เพื่อจำแนกชนิดแตนเบียนไข่ชนิดที่ศึกษาตามวิธีการของ Nishida and Torii (1970) พบว่าเป็น แตนเบียนไข่ *Telenomus dignus* Gahan ซึ่งสอดคล้องกับ ณัฐกฤต และอนุวัฒน์ (2545) ที่ได้รายงานว่า *T. dignus* เป็นแตนเบียนไข่ที่พบในสภาพธรรมชาติที่จังหวัดนครสวรรค์ เป็น new record ในประเทศไทย แตนเบียนไข่ตัวนี้เบียนได้ทั้งหนอนกอลายและหนอนกอสีขาว แต่ชอบเบียนไข่ของผีเสื้อหนอนกอสีขาวมากกว่า และ ณัฐกฤต (2549) แสดงให้เห็นว่า *T. dignus* เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติของหนอนกอสีขาว ซึ่งในกรณีนี้ก็มีพฤติกรรมและสถานที่สอดคล้องกับแตนเบียนชนิดที่ได้ทดลองเลี้ยง และสอดคล้องกับรายงานของ Mohammad et al. (2002) รายงานพบ *T. dignus* ในไข่หนอนกออ้อย *Scirpophaga novella* ในปากีสถาน

งานที่ 1 ทดสอบหาไข่แมลงอาศัย

ผลการเพาะเลี้ยงหนอนผีเสื้อ 10 ชนิด ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ หนอนกออ้อย 4 ชนิด คือ หนอนกอสีขาว หนอนกอลายจุดเล็ก และหนอนกอลายแถบแดง ด้วยอาหารเทียม และอ้อย นอกนี้ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนใยผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด และผีเสื้อข้าวสาร เพื่อนำไข่ที่ได้ใหม่ไปเพาะเลี้ยงแตนเบียนไข่ *T. dignus* พบว่าหนอนทุกชนิดสามารถเลี้ยงด้วยอาหารเทียมหรือพืชอาศัย เลี้ยงเจริญเติบโตและวางไข่ได้ในสภาพห้องปฏิบัติการ แต่ยกเว้นหนอนกอสีขาวซึ่งหนอนที่เพิ่งฟักออกมาจากไข่ไม่สามารถเลี้ยงได้ด้วยอาหารเทียมหรือท่อนอ้อย อีกทั้งหนอนที่เก็บจากแปลงที่อยู่ในหน่ออ้อย หากผ่าหน่อแล้วนำหนอนไปเลี้ยงด้วยท่อนอ้อยหรือต้นอ้อยตัดเป็นท่อน หนอนก็จะตาย เพราะตัวหนอนมีความบอบบาง อีกทั้งไม่กินอาหารเทียม จะตายภายใน 1-2 วัน หลังผ่าออกจากหน่อที่เคยอาศัยกัดกิน และจากการทดสอบไข่แมลงอาศัย พบว่า *T. dignus* ที่นำมาศึกษาลงเบียนเฉพาะไข่ของหนอนกอสีขาวในห้องปฏิบัติการ ทำให้ต้องทำการศึกษาหาวิธีเลี้ยงหนอนกอสีขาวเพื่อให้ได้ไข่ในห้องปฏิบัติการสำหรับนำมาเป็นไข่แมลงอาศัยให้ *T. dignus*. เพิ่มเติมต่อไป

งานที่ 2 ศึกษาลักษณะทางชีววิทยาของแตนเบียนไข่ Telenomus sp.

แตนเบียนไข่ *T. dignus* ที่ได้จากไข่หนอนกอสีขาว จากแปลงอ้อยจังหวัดนครสวรรค์ เป็นแตนเบียนขนาดเล็ก เพศเมียมีขนาดความยาวลำตัวมากกว่าเพศผู้แต่มีความยาวปีก และขนาดความกว้างของอกเล็กกว่า เพศเมียมีปลายท้องที่เรียวแหลม ค่าเฉลี่ยจากแตนเพศละ 60 ตัว

พบว่า เพศเมียมีขนาดความยาวตัววัดจากส่วนหัวถึงปลายลำตัว 0.838-1.000 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.924 มิลลิเมตร ยาวกว่าเพศผู้ซึ่งมีขนาดลำตัวยาว 0.750-0.888 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.834 มิลลิเมตร ความยาวปีกวัดจากปลายปีกถึงโคนปีก 1 ข้าง เพศเมียมีความยาวปีก 0.650-0.750 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.696 มิลลิเมตร สั้นกว่าปีกเพศผู้ซึ่งมีความยาว 0.725-0.813 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.770 มิลลิเมตร ความกว้างส่วนอกวัดจากส่วนที่กว้างที่สุด เพศเมียมีขนาด 0.250-0.300 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.273 มิลลิเมตร เพศผู้มีขนาด 0.263-0.313 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.89 มิลลิเมตร หนวดเป็นแบบพับข้อศอก (geniculate) ลักษณะของหนวดมีความแตกต่างกันระหว่างเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งจากการตรวจสอบลักษณะของหนวดคล้ายกับที่ รัตนา (2534) ได้อธิบายไว้แต่มีสีเข้มกว่าและค่อนข้างจะแกมสีดำ ดังนี้

ลักษณะ	เพศเมีย	เพศผู้
1. จำนวนปล้อง	11 ปล้อง	12 ปล้อง
2. scape	1 ปล้อง ครึ่งหนึ่งของปล้องทางด้านที่ติดกับลำตัวมีสีเหลืองอ่อนแกมน้ำตาล และส่วนที่เหลือมีสีน้ำตาลอ่อน	สีเหลืองแกมน้ำตาล
3. pedicel	1 ปล้อง สีน้ำตาลอ่อน	1 ปล้อง สีเหลืองอ่อนแกมน้ำตาล
4. flagellum	9 ปล้อง	10 ปล้อง : 4 ปล้องแรกมีสีเหลืองแกมน้ำตาล 6 ปล้องหลังมีสีน้ำตาล
5. funicle	5 ปล้อง สีน้ำตาลแกมดำ	
6. club	4 ปล้อง สีน้ำตาลดำ	

วงจรชีวิต

แตนเบียนไข่ *T. dignus* สามารถวางไข่ในกลุ่มไข่ของหนอนกอสีขาว ส่วนไข่ชนิดอื่นยังไม่พบ หลังจากที่โดนเบียนแล้ว จากการผ่าไข่ที่ถูกเบียนแล้ว 7 วัน เริ่มเข้าดักแด้เริ่มเห็นตาเป็นสีชมพูเรื่อๆ และเห็นเป็นสีแดงชัดที่ 9 วัน และเห็นส่วนอกและท้องเป็นสีดำ ที่ 12 วัน หลังจากเบียน (Figure 4) และแตนเบียนไข่ *Telenomus dignus* จะออกเป็นตัวเต็มวัยที่อายุประมาณ 12-17 วัน เฉลี่ย 14.76 วัน ตัวเต็มวัยแตนเบียน *Telenomus dignus* มีอายุ 1-4 วัน เฉลี่ย 2.42 วัน เมื่อไม่ให้อาหาร แต่เมื่อเลี้ยงด้วยน้ำผึ้ง 15% พบว่า แตนเบียน *Telenomus* sp. มีอายุ 1-7 วัน เฉลี่ย 4.20 วัน และจากตัวอย่างตัวเมียที่เก็บจากแปลง 1 ตัว มีอายุถึง 14 วัน เมื่อเลี้ยงด้วยน้ำผึ้ง 15%

บางครั้งในไข่หนอนกอสีขาว 1 กลุ่ม ที่พบมีการวางไข่ของแตนเบียนไข่ *Telenomus dignus* จะมีบางส่วนที่ฟักออกเป็นหนอนและบางส่วนถูกเบียน ซึ่งหนอนกอสีขาวจะฟักออกมาก่อนเมื่อไข่มีอายุ 3-4 วัน

อัตราการเบียนไข่

ในสภาพไร่ จากการตรวจนับกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวที่ถูกแตนเบียนไข่ *T. dignus* เบียนจากแปลงอ้อย จำนวน 20 กลุ่ม พบว่ากลุ่มไข่หนอนกอสีขาวมีจำนวนไข่ 10-35 ฟอง เฉลี่ย 20.00 ฟอง พบไข่ถูกเบียน 64.29-90.00% เฉลี่ย 77.54% ตรวจนับจำนวนแตนเบียนที่ออกจากกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวพบแตนเบียนไข่ *T. dignus* จากกลุ่มไข่ 1 กลุ่ม จำนวน 9-27 ตัว เฉลี่ย 15.55 ตัว และมีอัตราส่วนเพศเมีย 18.18-60.00% เฉลี่ย 41.04% (Table 2)

ในห้องปฏิบัติการ จากการตรวจนับกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวที่ถูกแตนเบียนไข่ *T. dignus* ที่ให้เบียนในห้องปฏิบัติการ จำนวน 20 กลุ่ม พบว่ากลุ่มไข่หนอนกอสีขาวมีจำนวนไข่ 9-89 ฟอง เฉลี่ย 20.55 ฟอง ตรวจนับจำนวนแตนเบียนที่ออกจากกลุ่มไข่หนอนกอสีขาว พบว่ามีแตนเบียนไข่ *T. dignus* จากกลุ่มไข่ 1 กลุ่ม จำนวน 4-110 ตัว เฉลี่ย 19.75 ตัว และมีอัตราส่วนเพศเมีย 31.25-83.33% เฉลี่ย 64.86% สูงกว่าจากที่พบในสภาพไร่ (Table 3) ผลลัพธ์ที่ได้ให้ผลดีแตกต่างจากในสภาพแปลงเล็กน้อย แต่มีกลุ่มไข่ที่ผีเสื้อวางไข่ในห้องปฏิบัติการบางกลุ่มติดต่อกันจนเป็นกลุ่มใหญ่ จนมีจำนวน 89 ฟอง

พฤติกรรมการเบียน

ศึกษาพฤติกรรมการเบียน พบว่าแตนเบียนไข่ *T. dignus* ลงเบียนกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวที่เลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการได้ และสามารถออกเป็นตัวเต็มวัยขยายพันธุ์ต่อไปได้ แตนเบียนไข่ *T. dignus* ตัวเมียที่เก็บจากแปลง 1 ตัว สามารถเบียนไข่ได้ 3 กลุ่ม จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่าตัวเมียมีพฤติกรรมเดินวนที่กลุ่มไข่แล้วใช้บริเวณส่วนปลายท้องที่แหลมเขี่ยบนขนที่ปกคลุมไข่ แล้วดันส่วนท้องผ่านชั้นขนลงไป แล้วจึงใช้อวัยวะวางไข่ในไข่ของหนอนกอสีขาว นอกจากนี้พบว่าตัวเมียมีพฤติกรรมปกป้องกลุ่มไข่ที่เบียนแล้ว

งานที่ 3 การเพาะเลี้ยงแมลงอาศัย

จากงานทดลองที่ 1 ทราบว่า *T. dignus* ที่นำมาศึกษาสามารถลงเบียนเฉพาะไข่ของหนอนกอสีขาว แต่ไม่สามารถเลี้ยงหนอนกอสีขาวได้ด้วยอาหารเทียมหรือท่อนอ้อย จึงได้ทดลองหาวิธีที่จะให้ได้ไข่ที่วางใหม่ 1-2 วัน ของหนอนกอสีขาวได้ 4 วิธี

*วิธีที่ 1 เลี้ยงในต้นอ้อย*ที่ปลูกในกระถาง หรือกระบะ โดยการปลูกต้นอ้อยในกระถางหรือกระบะ จนมีอายุ 1 เดือน แล้วเขี่ยหนอนกอสีขาวที่เพิ่งฟักออกจากไข่ลงบนต้นอ้อย วิธีการนี้ตัวหนอนจะกัดใบอ้อยที่ม้วนเจาะเข้าไปด้านหลังเส้นกลางใบ เข้าไปอยู่ตรงกลางลำต้นและกินบริเวณ

ใบอ่อนที่อยู่ภายแล้วค่อยเคลื่อนย้ายลงไปบริเวณโคนต้น ตัวหนอนจะเจริญเติบโตและเข้าดักแด้อยู่ภายในต้นอ้อย และออกเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 30-35 วัน สามารถผ่าต้นอ้อยในขณะที่เป็นดักแด้นำมารวบรวมใส่กรงไว้ด้วยกัน เพื่อรอให้ออกเป็นผีเสื้อจับคู่ผสมพันธุ์ และวางไข่โดยตัดใบอ้อยแช่น้ำในถ้วยพลาสติกเพื่อให้ผีเสื้อวางไข่ในกรง สามารถนำไข่ไปเลี้ยงแตนเบียนไข่ *T. dignus* ได้ จากการทดลองปล่อยหนอน 3 ครั้ง รวม 105 ตัว บนอ้อย 50 ต้น พบต้นอ้อยถูกทำลาย 29 หน่อ ได้ผีเสื้อ 28 ตัว

*วิธีที่ 2 โดยการเก็บหน่ออ้อย*ที่ถูกทำลายและมีหนอนกอสีขาวอยู่ภายในจากแปลง โดยสามารถสังเกตได้จากลักษณะหน่ออ้อยที่ถูกทำลายจะแตกต่างจากหน่อที่ถูกหนอนกออ้อยชนิดอื่นทำลาย ขณะที่อ้อยยังเป็นหน่อหนอนจะเจาะไชจากส่วนยอดเข้าไปกัดกินส่วนโคนยอดที่กำลังเจริญเติบโต ทำให้เกิดอาการยอดแห้งตายโดยเฉพาะใบที่ยังม้วนอยู่ ส่วนใบยอดใบอื่น ๆ ที่ถูกหนอนเข้าทำลายจะมีลักษณะหงิกงอและมีรูพรุน ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของการเข้าทำลายของหนอนกอสีขาว หรือเห็นใบถูกกัดเป็นรูเรียงกันเห็นได้ชัดเจน หรือใบยอดที่มีรอยกัดใบจากขอบใบกลายเป็นสีน้ำตาลและยอดเหี่ยวม้วน หนอนกอสีขาวเข้าทำลายทั้งในระยะแตกกอและระยะอ้อยเป็นลำ ตัดหน่ออ้อยดังกล่าวให้ลึกติดโคนเพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้โดนตัวหนอน นำมาใส่รวมกันในกระป๋องพลาสติกแล้วนำมาแช่น้ำไว้ ตั้งทิ้งไว้ในกรง รอจนออกเป็นผีเสื้อและจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่ นำไข่หนอนกอสีขาวที่ได้ไปให้แตนเบียนไข่ *T. dignus* ลงเบียนได้ทั้งวิธีใส่ในหลอดทดลองและในกรงอะคริลิกขนาด 30x30x30 เซนติเมตร จากการทดลองเก็บหน่อที่ถูกหนอนกอสีขาวทำลาย จำนวน 290 หน่อ ได้ผีเสื้อ 18 ตัว คิดเป็น 6.21% จากจำนวนหน่อทั้งหมด ได้ไข่ 33 กลุ่ม อัตราที่ได้ผีเสื้อต่ำ ทั้งนี้หน่อที่เก็บมาอาจไม่มีหนอนทุกหน่อ และหน่อที่มีหนอนวัยเล็กเกิน น่าจะไม่สามารถเจริญเติบโตจนออกเป็นตัวเต็มวัย เนื่องจากสารอาหารในหน่ออ้อยไม่เพียงพอ

วิธีที่ 3 การจับผีเสื้อ ผีเสื้อหนอนกอสีขาวเป็นผีเสื้อกลางคืนมีสีขาวทั้งตัว ในช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึง มกราคม เป็นช่วงที่อ้อยเพิ่งแตกหน่อหลังจากตัดอ้อยส่งโรงงานไปแล้ว ประมาณ 1- 3 เดือน ในแหล่งที่มีการระบาดของหนอนกอสีขาว จะพบผีเสื้อมาวางไข่ในตอนใกล้ค่ำและตอนกลางคืน วิธีการออกจับผีเสื้อที่บินมาเกาะต้นอ้อยเพื่อวางไข่ในแปลง หรือใช้แสงไฟล่อให้ผีเสื้อบินมา แล้วใช้สวิงโฉบจับมาใส่กรง ภายในกรงใส่ต้นอ้อยแช่ในน้ำเพื่อให้ผีเสื้อวางไข่บนใบ นำไข่ไปให้แตนเบียนไข่ *T. dignus*. เบียนในห้องปฏิบัติการ จากการทดลองจับผีเสื้อได้ เพศเมีย 4 ตัว และเพศผู้ 3 ตัว เลี้ยงได้ไข่ 11 กลุ่ม

วิธีที่ 4 หาไข่ผีเสื้อหนอนกอสีขาวใหม่จากแปลงอ้อย ในช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึง มกราคมดังกล่าวในวิธีที่ 3 ผีเสื้อหนอนกอสีขาวชอบวางไข่ใต้ใบแต่บนใบก็สามารถพบได้ ไข่เป็นสีน้ำตาลมีขนปกคลุม ในตอนเย็นทำการหาและเก็บกลุ่มไข่ที่พบทั้งหมดออกจากแปลงอ้อยในบริเวณที่

กำหนดพื้นที่ในแปลงอ้อย เช่น 10 – 15 แถว แล้วกลับมาหาไข่ใหม่ในตอนเช้าของวันถัดไป ก็จะได้ไข่หนอนกอสีขาวที่เพิ่งวางใหม่ ใช้กรรไกรตัดใบอ้อยที่พบไข่แช่น้ำในถ้วยพลาสติก นำกลับมาให้แตนเบียนไข่ *T. dignus* เบียนในห้องปฏิบัติการ จากการทดลองตามวิธีดังกล่าวในอ้อยยาวประมาณ 80 เมตร จำนวน 12 แถว ได้ไข่ผีเสื้อที่วางใหม่ 75 กลุ่ม ในช่วงที่มีการระบาดในเดือนมกราคม นำไปให้แตนเบียนในห้องปฏิบัติการ พบว่าได้แตนเบียนไข่ *T. dignus* จากกลุ่มไข่ 37 กลุ่ม คิดเป็นอัตราเบียน 49.33% กรณีอาจจะมีไข่บางกลุ่มถูกแตนเบียนไข่เบียนมาแล้วจากในแปลงอ้อย

งานที่ 4 การเพาะเลี้ยงแตนเบียนไข่ *T. dignus*

วิธีที่ 1 เตรียมหลอดทดลองใส่แตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. เข้าไป หรือโดยตัดกลุ่มไข่ที่มีการเบียนใส่ไว้ในหลอดทดลองขนาดใหญ่ นำไข่หนอนกอสีขาวที่วางใหม่ใส่เข้าไปในหลอดทดลอง ปิดปากหลอดด้วยผ้าขาวบาง

วิธีที่ 2 นำกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวที่ติดอยู่บนใบอ้อย ที่เก็บจากแปลงอ้อยแช่น้ำในถ้วยพลาสติก ใส่ไว้ในกรงอะคริลิกขนาด 30x30x30 เซนติเมตร รอให้ตัวเต็มวัยออกมา แล้วนำไข่หนอนกอสีขาวที่วางใหม่ที่ติดอยู่บนใบอ้อยแช่น้ำในถ้วยพลาสติกใส่ในกรง ใส่สำลีชุบน้ำผึ้ง 15% ให้เป็นอาหารแตนเบียน แล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แตนลงเบียนไข่ 24 ชั่วโมง นำไข่ที่ถูกเบียนแล้วไปเลี้ยงในหลอดทดลองใหม่ ให้ความชื้นจนกระทั่งออกเป็นตัวเต็มวัย ใส่ไข่ที่วางใหม่เพิ่มเข้าไปเพื่อให้แตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. ลงเบียนต่อไป วิธีการนี้จะเบียนได้ที่ละหลายกลุ่ม และมีคุณภาพดีกว่าเพราะจะมีพ่อแม่พันธุ์จากหลายกลุ่มไข่

แตนเบียน *T. dignus* สามารถเพาะเลี้ยงได้ด้วยไข่หนอนกอสีขาวในห้องปฏิบัติการ แต่การที่จะผลิตไข่ให้ได้เป็นปริมาณมากค่อนข้างยาก เนื่องจากไม่สามารถเลี้ยงหนอนกอสีขาวได้ในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียม วิธีที่จะทำให้ได้กลุ่มไข่หนอนกอสีขาวทำได้ 4 วิธี ได้แก่ วิธีที่ 1 ปลูกต้นอ้อยเพื่อเลี้ยงหนอนให้อยู่ในต้นอ้อย แต่สามารถเลี้ยงได้เพียงหน่อละ 1 ตัว วิธีที่ 2 เก็บหน่ออ้อยที่ถูกทำลายมาแช่น้ำเลี้ยงให้ได้ผีเสื้อ วิธีที่ 3 จับผีเสื้อจากแปลงอ้อย และวิธีที่ 4 เก็บไข่ใหม่จากแปลงอ้อย ทั้งนี้ วิธีการเหล่านี้ จะเหมาะสำหรับหน่วยงานหรือสถานเพาะเลี้ยงที่ตั้งอยู่ในแหล่งปลูกอ้อย จึงจะสามารถนำวิธีการเหล่านี้ไปใช้ได้ผล

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ในสภาพไร่เริ่มพบกลุ่มไข่ของหนอนกออ้อย ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนในอ้อยอายุประมาณครึ่งเดือน และพบมากขึ้นในเดือนธันวาคมและมกราคม ในอ้อยตออายุ 1 เดือนครึ่งถึง 2 เดือน พบแตนเบียนไข่ 2 ชนิด ได้แก่ แตนเบียนไข่ *Telenomus* sp. และ *Trichogramma* sp. ฟักออกจากกลุ่มไข่ของหนอนกอสีขาว (*Scirpophaga excerptalis* Walker) ซึ่งมีขนปกคลุม ถูกแตนเบียน

ไข่ *Telenomus* sp. ทำลาย 20.00-89.19% เฉลี่ย 25.16-41.72% พบกลุ่มไข่มีอัตราการเบียนมากที่สุดช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึงมกราคม ซึ่งเป็นช่วงที่พบกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวมาก

2. แตนเบียนไข่ชนิดที่นำมาศึกษา จำแนกชนิดได้เป็นแตนเบียนไข่ *Telenomus dignus* Gahan นำมาเลี้ยงด้วยไข่แมลงอาศัยในห้องปฏิบัติการ พบว่าแตนเบียนไข่ *T. dignus* วางไข่เฉพาะในกลุ่มไข่ของหนอนกอสีขาว

3. แตนเบียนไข่ *T. dignus* มีวงจรชีวิต 12-17 วัน หลังจากที่โดนเบียนแล้ว เฉลี่ย 14.60 วัน และพบแตนเบียนไข่ *T. dignus* ที่เลี้ยงได้ด้วยกลุ่มไข่หนอนกอสีขาวในห้องปฏิบัติการ 1 กลุ่ม จำนวน 4-110 ตัว เฉลี่ย 19.75 ตัว และมีอัตราส่วนเพศเมีย เฉลี่ย 64.86%

4. แตนเบียน *T. dignus* สามารถเพาะเลี้ยงได้ด้วยไข่หนอนกอสีขาวในห้องปฏิบัติการ แต่การที่จะผลิตไข่ให้ได้เป็นปริมาณมากค่อนข้างยาก เนื่องจากไม่สามารถเลี้ยงหนอนกอสีขาวได้ในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียมหรือท่อนอ้อย วิธีที่จะทำให้ได้กลุ่มไข่หนอนกอสีขาวทำได้ 4 วิธี ได้แก่ วิธีที่ 1 ปลูกต้นอ้อยเพื่อเลี้ยงหนอนให้อยู่ในต้นอ้อย แต่สามารถเลี้ยงได้เพียงหน่อละ 1 ตัว วิธีที่ 2 เก็บหน่ออ้อยที่ถูกทำลายมาแช่น้ำเลี้ยงให้ได้ผีเสื้อ วิธีที่ 3 จับผีเสื้อจากแปลงอ้อย และวิธีที่ 4 เก็บไข่ใหม่จากแปลงอ้อย อย่างไรก็ดีวิธีดังกล่าวเหมาะสำหรับสถานที่เพาะเลี้ยงที่อยู่ใกล้แปลงอ้อย

เอกสารอ้างอิง

ณัฐกฤต พิทักษ์. 2546. การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูอ้อยโดยวิธีผสมผสาน. หน้า 1-31. *ใน* : สัมมนาโครงการควบคุมหนอนกออ้อยโดยใช้แตนเบียน ปี 2546. กองทุนอ้อยและน้ำตาลทราย, สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร, กรมส่งเสริมการเกษตร. 10-12 ธันวาคม 2546, ณ โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ 2000 จังหวัดเชียงใหม่.

ณัฐกฤต พิทักษ์. 2545. การสูญเสียของอ้อยในระยะเป็นลำจากการเข้าทำลายของหนอนกอสีขาว. การประชุมวิชาการอ้อยและน้ำตาลทรายแห่งชาติ ครั้งที่ 6 . 17-19 สิงหาคม 2549, ณ โรงแรมเบเวอร์ลี่ ฮิลล์ ปาร์ค จังหวัดนครสวรรค์. http://www.ocsb.go.th/udon/Udon9/Proposed%202006_08_29_17.htm. online retrieved. วันที่ 21 ธันวาคม 2549.

ณัฐกฤต พิทักษ์ และอนุวัฒน์ จันทรสุวรรณ. 2545. บทบาทของแมลงศัตรูธรรมชาติในไร่อ้อย. หน้า 131-142. *ใน* การประชุมทางวิชาการ แมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2545, ครั้งที่ 13, 6-9 สิงหาคม 2545. ณ โรงแรมโกลเด้นแซนด์ อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

รัตนา นชะพงษ์. 2534. การควบคุมหนอนกออ้อยโดยใช้แตนเบียน. หน้า 45-55. ใน: เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

โอชา ประจวบเหมาะ และเถลิงศักดิ์ วีระวุฒิ. 2523. แมลงศัตรูอ้อยของประเทศไทย. หน้า 178-181. *ใน* : เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร เล่มที่ 1 เรื่องอ้อย. กรมวิชาการเกษตร.

โอชา ประจวบเหมาะ เถลิงศักดิ์ วีระวุฒิ องุ่น ลิ่ววนิช และบุญสม เมฆสองสี. 2524. แมลงศัตรูธรรมชาติของหนอนกอลายเล็ก หนอนกอสีขาว และแมลงหวี่ขาวอ้อย. หน้า 103-106. *ใน* : รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2524. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

โอชา ประจวบเหมาะ ชำนาญ พิทักษ์ และรจนา สุรการ. 2535. แมลงศัตรูอ้อยและแนวทางบริหาร. หน้า 97-110. *ใน* : เอกสารวิชาการ แมลงและสัตว์ศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Mohammad, I., R.D. Khuhro, H.A. Ghulam, M.A. Rustamani. 2002. Role of Telenomus dignus (Hymenoptera: Scelionidae) in synergizing parasitism by Trichogramma chilonis on sugarcane top borer, Scirpophaga novella (Lepidoptera: Pyralidae) eggs in Sindh Province, Pakistan. http://esa.confex.com/ 2002/techprogram/ paper_7516.htm. Online retrived on 27 /2/2007.

Nishida, T. and T. Torii. 1970. A Handbook of Field Methods for Research on Rice Stem-Borers and their Natural Enemies. F.A. Davis Company, Philadelphia PA. 132pp.

Table 1 Field data collected from sugarcane fields in Nakhon Sawan, 2004-2007

	2005	2006	2007
Period	Dec.04-Jun.05	Nov.05-May 06	Dec 06-Apr.07
No. of egg masses collected			
(egg masses)	159	917	903
No. of egg masses tested			
(egg masses)	159	448	283
Parasitization			
No. (egg masses)	40	196	121
Parasitization (%)	20.51	43.75	42.76
Range	20.00-32.08	28.30-63.00	33.33-89.19
Mean	25.16	40.26	40.36
Telenomus sp. found			
No. (egg masses)	38	196	121
Ratio of parasitoid (%)	95.00		
Range (%)	84.62-100	100	100
Trichogramma sp. found			
No. (egg masses)	2	-	-
Ratio of parasitoid (%)	5.00		
Range (%)	0-15.38	-	-
Telenomus sp. combination with *Trichogramma* sp. found			
No. (egg masses)	-	-	21
Ratio of parasitoid (%)	-	-	7.42
Range (%)	-	-	3.33-15.00
No. of egg masses peak	Jan.	Dec.	Jan.
Parasitization peak	Jan.	Dec.	Nov.

Table 2 Number, parasitization percentage and sex ratio of *Telenomus* sp. emerged from white top borer egg masses collected from sugarcane fields in Nakhon Sawan, 2005

Egg masses	No. eggs[1/] (eggs)	No. *Telenomus* (adults)	%*Telenomus* (%)	Male (adults)	Female (adults)	% female (%)
1	10	9	90.00	6	3	33.33
2	12	10	83.33	5	5	50.00
3	12	9	75.00	4	5	55.56
4	14	9	64.29	7	2	22.22
5	14	12	85.71	8	4	33.33
6	14	11	78.57	9	2	18.18
7	14	9	64.29	4	5	55.56
8	18	12	66.67	6	6	50.00
9	18	14	77.78	7	7	50.00
10	18	15	83.33	6	9	60.00
11	19	14	73.68	10	4	28.57
12	19	15	78.95	8	7	46.67
13	20	15	75.00	9	6	40.00
14	24	19	79.17	10	9	47.37
15	25	19	76.00	12	7	36.84
16	26	20	76.92	12	8	40.00
17	28	21	75.00	10	11	52.38
18	30	26	86.67	19	7	26.92
19	30	25	83.33	13	12	48.00
20	35	27	77.14	20	7	25.93
Mean	**20.00**	**15.55**	**77.54**	**9.25**	**6.30**	**41.04**

[1/] Number of white top borer eggs in each egg mass

Table 3 Number of eggs, parasitization percentage and sex ratio of *Telenomus dignus* emerged from white top borer egg masses rearing in the laboratory

Egg Masses	No. eggs[1/] (eggs)	Developmental[2/] period (days)	No. of *Telenomus* (adults)			% female (%)
			Total	Male	Female	
1	15	12	7	8	15	53.33
2	9	13	5	13	18	72.22
3	31	13	9	19	28	67.86
4	31	13	13	26	39	66.67
5	12	13	3	10	13	76.92
6	9	14	4	7	11	63.64
7	12	15	4	13	17	76.47
8	14	15	5	5	10	50.00
9	18	15	2	6	8	75.00
10	22	15	11	5	16	31.25
11	89	15	31	79	110	71.82
12	16	15	11	18	29	62.07
13	34	15	2	4	6	66.67
14	24	15	8	11	19	57.89
15	14	15	2	4	6	66.67
16	11	15	6	3	9	33.33
17	16	15	4	14	18	77.78
18	14	16	1	5	6	83.33
19	12	16	4	9	13	69.23
20	8	17	1	3	4	75.00
Mean	20.55	14.60	19.75	6.65	13.10	64.86

[1/] Number of white top borer eggs in each egg mass

[2/] Developmental period of *Telenomus dignus* Gahan

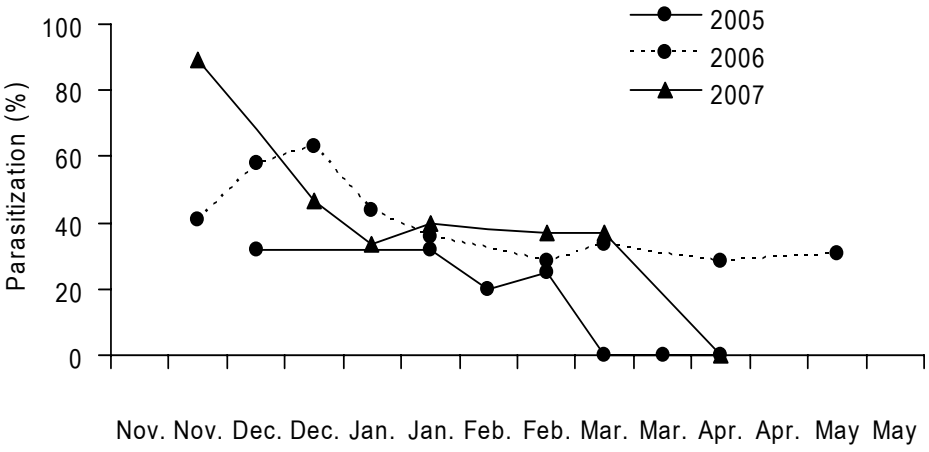


Figure 1 Parasitization percentage of *Telenomus* sp. on *Scirpophaga exceptalis* Walker egg masses collected from sugarcane fields in Nakhon Sawan, 2005-2007.

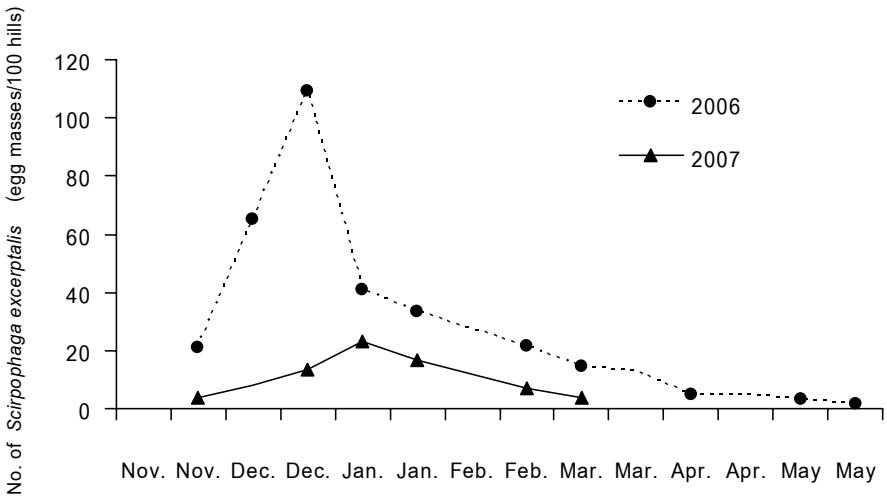


Figure 2 Seasonal change of white top borer, *Scirpophaga exceptalis* Walker egg masses in sugarcane fields in Nakhon Sawan, 2006-2007.

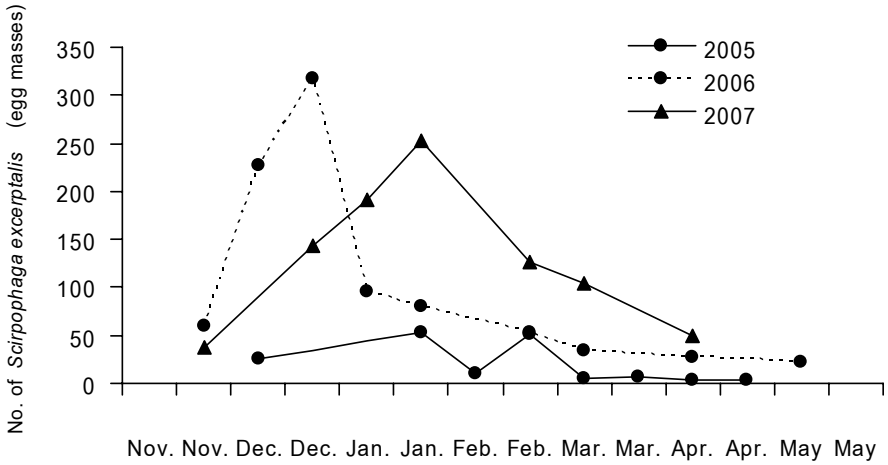


Figure 3 Numbers of white top borer, *Scirpophaga exceptalis* Walker egg masses collected from sugarcane fields in Nakhon Sawan, 2005-2007.

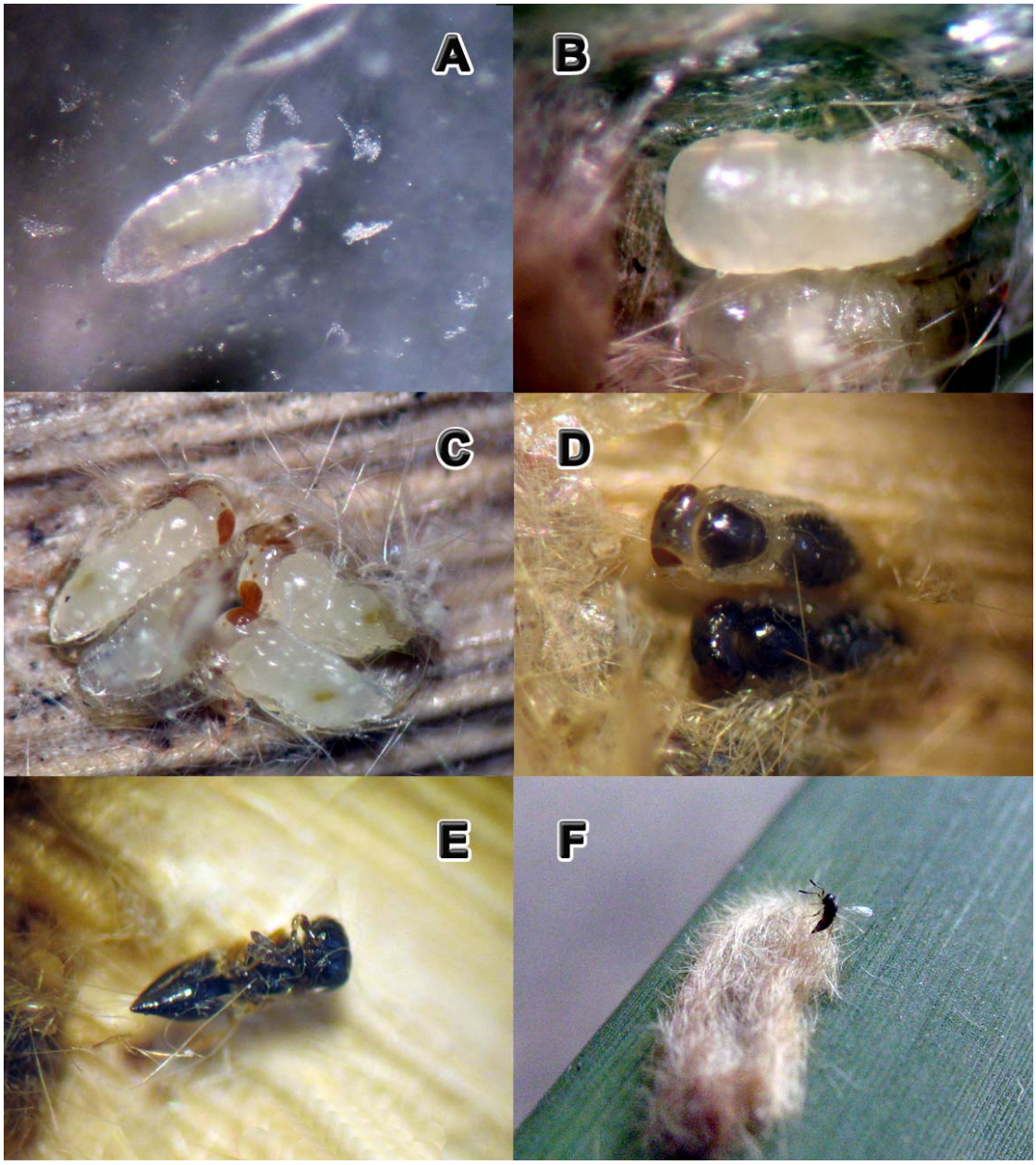


Figure 4 Life cycle of *Telenomus* sp.

A = Larval stage

B = 7 days old pupa

C = 9 days old pupa after parasitization

D = 12 days old pupa after parasitization

E = 14 days old pupa after parasitization

F = Adult laying eggs

การผลิตศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งส้ม *Planococcus citri* (Risso) เพื่อการควบคุมโดยชีววิธี

Mass Rearing of Natural Enemies of *Planococcus citri* (Risso) for Biological Control

รุจ มรกต ประภัสสร เชยกำแหง รจนา ไวยเจริญ อัมพร วิโนทัย
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจเพื่อเก็บรวบรวมศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งส้มในสวนส้มโอในเขตอำภอบางคณทีจังหวัดสมุทรสงครามระหว่างเดือนมกราคม ถึงเมษายน 2549 เดือนละ 1 ครั้งไม่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งส้ม *Planococcus citri* (Risso) และไม่พบศัตรูธรรมชาติ ดังนั้นจึงเลือกทำการทดลองผลิตขยายพันธุ์ด้วงเต่า *Nephus ryuguus* (H. Kamiya) ศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus cryptus* Hempel ซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญของมังคุด ซึ่งเคยศึกษาประสิทธิภาพของด้วงเต่าในการกินเพลี้ยแป้ง *P. cryptus* แล้วในปี2548 และยังมีสต็อคด้วงเต่าอยู่ ผลการทดลองตั้งแต่เดือนมกราคม 2549 - กันยายน 2550 ณ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ พบว่าสามารถเลี้ยงเพลี้ยแป้ง *P. cryptus* เพื่อใช้เป็นอาหารของด้วงเต่าได้ โดยใช้ผลฟักทองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณไม่เกิน 20 เซนติเมตรวางในกล่องพลาสติกขนาด 35x45x12 เซนติเมตร รองพื้นกล่องด้วยกระดาษเพื่อซับความชื้น นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งทำลายอยู่เต็มผลวางในกล่องเลี้ยง 1 ผลต่อฟักทองใหม่ 3 ผล ปิดกล่องด้วยผ้าขาวบางรัดด้วยยางยืดทิ้งไว้ประมาณ 15 วันก็จะได้เพลี้ยแป้งทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อนอยู่บนผลฟักทองใหม่ สามารถนำไปเลี้ยงด้วงเต่าได้ การทดลองเลี้ยงด้วงเต่าทำได้โดยนำฟักทองที่ได้จากการเลี้ยงขยายเพลี้ยแป้ง1 ผลไปวางในโหลพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ซม. สูง 30 ซม. ทดลองใช้ตัวด้วงเต่าพ่อแม่พันธุ์ 10, 20, 30, 40 และ 50 ตัวต่อฟักทอง 1 ผลที่มีตัวอ่อนระยะคลอว์เรอร์ ของเพลี้ยแป้ง *P. cryptus* จำนวนประมาณ 1000 ตัว ปิดโหลด้วยผ้าขาวบางรัดด้วยยางยืดทิ้งไว้ 5 วัน เพื่อให้ด้วงเต่าวางไข่แล้วเก็บด้วงเต่าออกจากโหล ทิ้งไว้ 20 วันจึงเริ่มเก็บเกี่ยวตัวเต็มวัยที่ฟักออกมาทุก

รหัสโครงการ 07-01-49-06

วันประมาณ 7 วัน ผลการทดลอง พบว่าได้ผลผลิตเฉลี่ยต่อรุ่นเท่ากับ 128.21 ± 74.35 (n=28), 336.92 ± 104.21 (n=13), 211.57 ± 114.07 (n=14), 462.30 ± 118.45 (n=11) และ 362.33 ± 138.93 (n=24) ตามลำดับ การศึกษาวงจรชีวิตของด้วงเต่าชนิดนี้พบว่าระยะจากไข่ถึงตัวเต็มวัยเฉลี่ย 26.30 ± 2.30 วัน (n=10) ระยะไข่เฉลี่ย 4.10 ± 0.74 วัน (n=10) ระยะตัวอ่อนวัย 1,2 และ 3เฉลี่ย 4.9 ± 1.66, 3.6 ± 0.70, 6.4 ± 0.84 วัน (n=10) ตามลำดับระยะดักแด้ เฉลี่ย 7.30 ± 1.42 วัน (n=10)ระยะตัวเต็มวัยเฉลี่ย 64.5 ± 13.73 วัน (n=10)

คำนำ

เพลี้ยแป้งส้ม *Planococcus citri* Risso (Homoptera:Pseudococcidae)ทำความเสียหายแก่พืชตระกูลส้มโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและผลส้มนอกจากนี้ยังมีผลต่อคุณภาพของผลผลิตโดยทำให้เกิดราดำ สำหรับตัวเพลี้ยแป้งส้มที่ติดอยู่บนผลผลิตส้มโอเป็นศัตรูพืชกักกัน หากตรวจพบเพลี้ยแป้งส้มติดอยู่บนผลผลิตจะไม่สามารถส่งออกผลผลิตไปต่างประเทศได้ การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งอาจมีผลกระทบในด้านต่างๆมากมายโดยเฉพาะเรื่องสารพิษตกค้างบนผลผลิตที่ต้องมีปริมาณต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดจากประเทศผู้นำเข้า การควบคุมเพลี้ยแป้งทำลายส้มโดยชีววิธีจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่ควรศึกษาความเป็นไปได้ บุปผาและชลิดา 2543 รายงานว่าพบด้วงเต่า *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant เป็นศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus. cryptus* Hempel ด้วงเต่า *Scymnus* sp.และหนอนผีเสื้อ *Spalgis epius epius* Westwood เป็นตัวห้ำของเพลี้ยแป้ง *Dyesmicoccus. neobrevipes* และ *Planococcus. minor* และพบแตนเบียน *Aprostocetus purpureus* (Cameron) *Allotropa* sp.เป็นตัวเบียนของเพลี้ยแป้ง *P. minor* ในประเทศออสเตรเลียมีการผลิตตัวห้ำเช่น ด้วงเต่า *C.montrouzieri* และแตนเบียน *Leptomastix dactylopii* Howard เป็นการค้าเพื่อใช้ควบคุมเพลี้ยแป้งส้ม *P. citri* (Papacek,1995) ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาชนิด และคัดเลือกศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งจากที่พบในสวนส้มเพื่อนำมาทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์เป็นปริมาณมากและหาแนวทางในการนำไปใช้ในการควบคุมเพลี้ยแป้งในสภาพไร่ เกรียงไกรและคณะ (2548) รายงานว่าด้วงเต่า *Nephus ryuguus* (H. Kamiya) เป็นศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *P. cryptus* ซึ่งเป็นศัตรูของมังคุด โดยตัวเต็มวัยด้วงเต่าสามารถกินตัวอ่อนเพลี้ยแป้งได้ 3.8 ตัวต่อวัน จึงควรทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ด้วงเต่าชนิดนี้เป็นปริมาณมากและหาแนวทางในการนำไปใช้ในการควบคุมเพลี้ยแป้งในสภาพไร่

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถุงพลาสติกเก็บแมลงขนาดต่างๆ
2. กล่องเลี้ยงแมลงพลาสติกขนาด 35x45x12 เซนติเมตร และขนาด 3x3x2.5 เซนติเมตร
3. โหลพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ซม. สูง 30 ซม.
4. หลอดดูดแมลง
5. กระดาษเนื้อเยื่อ
6. พู่กัน
7. แอลกอฮอล์
8. กล้องจุลทรรศน์
9. ฟองน้ำและ สำลี
10. ผ้าขาวบาง
11. ยางยืด
12. ฟักทอง
13. ด้วงเต่า *N. ryuguus*
14. เพลี้ยแป้ง *P. cryptus*

วิธีการ

สำรวจเก็บรวบรวมศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งส้ม *P. citri* จากสวนส้มโอของเกษตรกรในอำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงครามระหว่างเดือนมกราคม ถึงเมษายน 2549 เดือนละ 1 ครั้ง เพื่อการศึกษาชนิด และคัดเลือกศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งจากที่พบในสวนส้มเพื่อนำมาทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์เป็นปริมาณมากและหาแนวทางในการนำไปใช้ในการควบคุมเพลี้ยแป้งในสภาพไร่ ทำการทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์ด้วงเต่า *N. ryuguus* ศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *P. cryptus* ซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญของมังคุด ทดลองเลี้ยงขยายพันธุ์เพลี้ยแป้ง *P. cryptus* โดยใช้ผลฟักทอง เลือกใช้ฟักทองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณไม่เกิน 20 เซนติเมตรวางในกล่องพลาสติกขนาด 35x45x12 เซนติเมตร รองพื้นกล่องด้วยกระดาษเพื่อซับความชื้น นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งทำลายอยู่เต็มผลวางในกล่องเลี้ยง 1 ผลต่อฟักทองใหม่ 3 ผล ปิดกล่องด้วยผ้าขาวบางรัดด้วยยางยืดทิ้งไว้ประมาณ 15 วันก็จะได้เพลี้ยแป้งทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อนอยู่บนผลฟักทองใหม่ สามารถนำไปเลี้ยงด้วงเต่าได้ การทดลองเลี้ยงด้วงเต่าทำได้โดยนำฟักทองที่ได้จากการเลี้ยงขยายเพลี้ยแป้ง 1 ผลไปวางในโหลพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ซม. สูง 30 ซม. ทดลองใช้ตัวเต็มวัยด้วงเต่าพ่อแม่พันธุ์ 10, 20, 30, 40 และ 50 ตัวต่อฟักทอง 1 ผลที่มีตัวอ่อนระยะคลอว์เรอร์ ของเพลี้ย

แป้ง *P. cryptus* จำนวนประมาณ 1000 ตัว ปิดโหลด้วยผ้าขาวบางรัดด้วยยางยืดทิ้งไว้ 5 วัน เพื่อให้ด้วงเต่าวางไข่แล้วเก็บด้วงเต่าตัวเต็มวัยออกจากโหล ทิ้งไว้ 20 วันจึงเริ่มเก็บเกี่ยวตัวเต็มวัยด้วงเต่าที่ฟักออกมาทุกวันประมาณ 7 วันจึงหยุดการเก็บเกี่ยว การศึกษาวงจรชีวิตด้วงเต่าทำโดยเลือกเอาไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัยที่อายุเท่ากัน 10 ตัว มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 3x3x2.5 เซนติเมตรเพื่อบันทึก ระยะไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัย

เวลาและสถานที่ ต.ค. 2548- ก.ย. 2550
ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ และสวนส้มโอในเขตอำภอบางคนทีจังหวัดสมุทรสงคราม

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการสำรวจเพื่อเก็บรวบรวมศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งส้มในสวนส้มโอในเขตอำเภอบางคนที จังหวัดสมุทรสงครามระหว่างเดือนมกราคม ถึงเมษายน 2549 เดือนละ 1 ครั้ง ไม่พบการระบาดของเพลี้ยแป้งส้ม *Planococcus citri* และไม่พบศัตรูธรรมชาติ

การทดลองผลิตขยายพันธุ์ด้วงเต่า *Nephus ryuguus* (Fig. 1) ศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus cryptus* Hempel ซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญของมังคุด ทดลองในช่วงเดือนมกราคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2550 พบว่าการเลี้ยงเพลี้ยแป้ง *P. cryptus* เพื่อใช้เป็นอาหารของด้วงเต่าสามารถทำได้ โดยใช้ผลฟักทองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณไม่เกิน 20 เซนติเมตรวางในกล่องพลาสติกขนาด 35x45x12 เซนติเมตร รองพื้นกล่องด้วยกระดาษเพื่อซับความชื้น นำผลฟักทองที่มีเพลี้ยแป้งทำลายอยู่เต็มผลวางในกล่องเลี้ยง 1 ผลต่อฟักทองใหม่ 3 ผล ปิดกล่องด้วยผ้าขาวบางรัดด้วยยางยืดทิ้งไว้ประมาณ 15 วันก็จะได้เพลี้ยแป้งทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อนอยู่บนผลฟักทองใหม่ สามารถนำไปเลี้ยงด้วงเต่าได้ การเลี้ยงด้วงเต่าทำได้โดยนำฟักทองที่ได้จากการเลี้ยงขยายเพลี้ยแป้ง 1 ผลไปวางในโหลพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 ซม. สูง 30 ซม. ทดลองใช้ตัวด้วงเต่าพ่อแม่พันธุ์ 10, 20, 30, 40 และ 50 ตัวต่อฟักทอง 1 ผลที่มีตัวอ่อนระยะคลอว์เรอร์ ของเพลี้ยแป้ง *P. cryptus* จำนวนประมาณ 1000 ตัว ปิดโหลด้วยผ้าขาวบางรัดด้วยยางยืดทิ้งไว้ 5 วัน เพื่อให้ด้วงเต่าวางไข่แล้วเก็บด้วงเต่าออกจากโหล ทิ้งไว้ 20 วันจึงเริ่มเก็บเกี่ยวตัวเต็มวัยที่ฟักออกมาทุกวันประมาณ 7 วัน ผลการทดลอง (Table 1) พบว่าได้ผลผลิตเฉลี่ยต่อรุ่นเท่ากับ 128.21 ± 74.35 (n=28), 336.92 ± 104.21 (n=13), 211.57 ± 114.07 (n=14), 462.30 ± 118.45 (n=11) และ 362.33 ± 138.93 (n=24) ตามลำดับ

การศึกษาวงจรชีวิตของด้วงเต่าชนิดนี้ (Table 2) พบว่าระยะจากไข่ถึงตัวเต็มวัยเฉลี่ย 26.30 ± 2.30 วัน (n=10) ระยะไข่เฉลี่ย 4.10 ± 0.74 วัน (n=10) ระยะตัวอ่อนวัย 1,2 และ 3เฉลี่ย 4.9 ± 1.66, 3.6 ± 0.70, 6.4 ± 0.84 วัน (n=10) ตามลำดับระยะดักแด้ เฉลี่ย 7.30 ± 1.42 วัน (n=10)ระยะตัวเต็มวัยเฉลี่ย 64.5 ± 13.73 วัน (n=10)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ไม่พบการระบาดของเพลี้ยแป้ง *P. citri* และไม่พบศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งในสวนส้มโออำเภอบางคนทีจังหวัดสมุทรสงครามในการสำรวจระหว่างเดือนมกราคมถึงเมษายน 2549

2. การผลิตขยายพันธุ์ด้วงเต่า *N. ryuguus* ศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง *P. cryptus* มีขั้นตอนการผลิต 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนที่ 1 การผลิตเพลี้ยแป้ง *P. cryptus* เพื่อใช้เป็นอาหารของด้วงเต่าสามารถทำได้ โดยใช้ผลฟักทอง ใช้เวลาประมาณ 15 วันเพื่อให้ได้ตัวอ่อนเพลี้ยแป้งประมาณ 1,000 ตัวต่อผล ขั้นตอนที่ 2 การผลิตด้วงเต่าใช้เวลาประมาณ 32 วัน การใช้ตัวเต็มวัยด้วงเต่า 40 ตัวต่อฟักทอง 1 ผลที่มีตัวอ่อนระยะคลอว์เรอร์ ของเพลี้ยแป้ง จำนวนประมาณ 1000 ตัวได้ผลผลิตเฉลี่ย 462.30 ± 118.45 ตัวต่อรุ่น สูงกว่าใช้ตัวด้วงเต่าพ่อแม่พันธุ์ 10, 20, 30 และ 50 ตัว

3. ด้วงเต่า *N. ryuguus* มีวงจรชีวิตระยะจากไข่ถึงตัวเต็มวัยเฉลี่ย 26.30 ± 2.30 วัน ระยะไข่เฉลี่ย 4.10 ± 0.74 วัน ระยะตัวอ่อนวัย 1,2 และ 3เฉลี่ย 4.9 ± 1.66, 3.6 ± 0.70, 6.4 ± 0.84 วัน ตามลำดับระยะดักแด้ เฉลี่ย 7.30 ± 1.42 วัน และระยะตัวเต็มวัยเฉลี่ย 64.5 ± 13.73 วัน

เอกสารอ้างอิง

เกรียงไกร จำเริญมา ศรุต สุทธิอารมณ์ รุจ มรกต ทวีศักดิ์ ชโยภาส ไพศาล รัตนเสถียร และศุภชัย แก้วมีชัย. 2548. การจัดการเพลี้ยแป้งมังคุด. เอกสารประกอบการประชุมอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7. 2-4 พฤศจิกายน 2548. หน้า 190-205.

ชลิดา อุณหวุฒิ ศิริณีพูนไชยศรี สมหมาย ชื่นราม และเกรียงไกร จำเริญมา. 2545. การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอยศัตรูมังคุด. หน้า 309-317, *ใน*:รายงานผลการวิจัยปี 2545. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

Papacek D., R. Liewellyn, J. Altmann, A. Ryland and J. Seymour. 1995. The Good Bug Book: Beneficial Insects and Mites Commercially Available in Australia for Biological Pest Control Department of Primary Industries Research & Development Cooperation. Australaysian Biological Control Inc.

Table 1. Duration of various developmental stage of lady beetle, *Nephus ryuguus* (H.Kamiya) under laboratory condition (25±2C° and 70±2%RH)

Developmental stage	Number	Mean±SD (Days)	Range (Days)
Egg	10	4.10 ± 0.74	3-5
Larva 1	10	4.9 ± 1.66	3-9
Larvae 2	10	3.6 ± 0.70	3-5
Larvae 3	10	6.4 ± 0.84	5-8
Pupa	10	7.30 ± 1.42	5-9
Egg-adult	10	26.30 ± 2.30	19-33
adult	10	64.5 ± 13.73	42-95

Table 2 Comparative rearing of ladybeetle, Nephus ryuguus by using mealybug, Pseudococcus cryptus as pray at laboratory condition (25 $\pm$ 2 ^{O}C and 70 $\pm$ 2 %RH)

Replication	Number of beetles released per rearing unit				
	10	20	30	40	50
	Number of beetles obtained per rearing unit				
1	95	69	117	415	357
2	149	351	51	517	58
3	92	337	222	375	71
4	99	306	111	365	359
5	101	340	65	694	496
6	95	364	122	524	325
7	58	328	419	520	321
8	82	417	232	544	301
9	326	249	391	378	353
10	110	469	237	291	418
11	124	492	257	462.3	518
12	84	349	244		559
13	207	309	327		353
14	105		167		353
15	93				272
16	194				227
17	138				353
18	90				395
19	130				646
20	322				597
21	251				409
22	28				336
23	98				353
24	184				266
25	24				
26	128				
27	68				
28	115				
Mean	128.21	336.92	211.57	462.3	362.33
SD	74.35	104.21	114.07	114.07	138.93
min-max	24-326	309-492	51-419	51-419	58-646

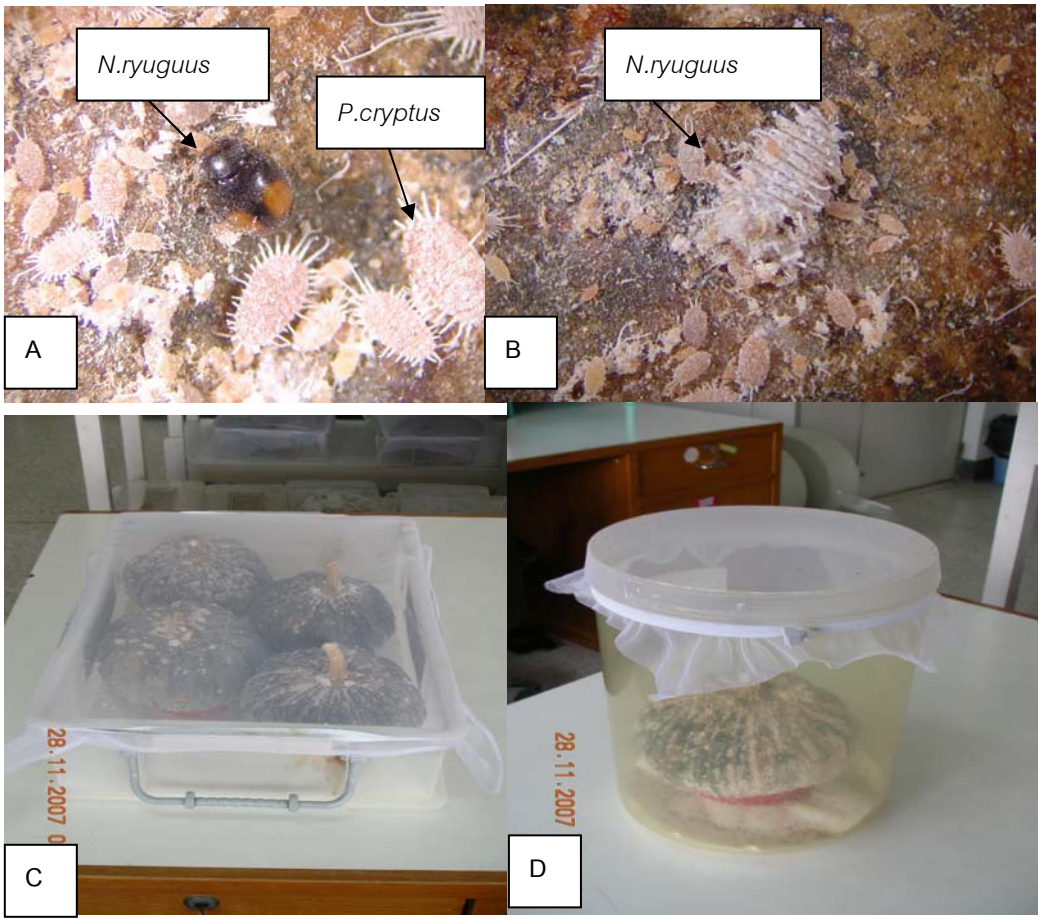


Fig. 1. A. Adult of ladybeetle, *Nephus ryuguus* (H.Kamiya) and mealy bug, *Pseudococcus cryptus* Hempel, B. Nymph of *N. ryuguus* C.rearing unit of *P cryptus* . D. rearing unit of *N. ryuguus*

พัฒนากระบวนการผลิตไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ให้มีคุณภาพสูงอย่างสม่ำเสมอ

Developing Process of Entomopathogenic Nematode Production Quality

วัชรี สมสุข
วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาปริมาณไข่ไส้เดือนฝอยที่เหมาะสมนำไปเพาะฟักในถาดหลุม ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.6 ซม. สูง 2 ซม. โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 10 ซ้ำ ซ้ำละ 10 หลุม 4 วิธีการ คือ เพาะฟักไข่ไส้เดือนฝอยด้วยวิธีปลอดเชื้อ จำนวน 230 460 690 และ 920 ฟอง/หลุม ซึ่งมีอาหารเลี้ยงเชื้อ Ys broth ปริมาณ 1 มล./หลุม เก็บที่ 25°ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการตรวจนับปริมาณไส้เดือนฝอยวัย 1 ที่ฟักออกจากไข่ ในแต่ละวิธีการ พบว่า วิธีการเพาะฟักไข่ไส้เดือนฝอย 920 ฟอง/หลุมในอาหาร Ys broth สามารถฟักเป็นวัย 1 สูงสุด 680 ตัว คิดเป็น 73.9% แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากวิธีการเพาะฟักไข่ 690 460 และ 230 ฟอง/หลุม ซึ่งสามารถฟักเป็นวัย 1 ได้จำนวน 461 268 และ 68 ตัว คิดเป็น 66.8 58.3 และ 29.6% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามลำดับในแต่ละวิธีการด้วย จากผลการทดลองนี้จำนวนไส้เดือนฝอยวัย 1 ที่ฟักได้จากการเพาะเลี้ยงในอัตราต่างๆ ต่อหลุม จะแปรผันตามกันคือเมื่อใส่ไข่ลงเพาะฟักจำนวนมากโอกาสที่ไส้เดือนฝอยฟักออกเป็นวัย 1 ก็สูงตามกัน

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae และ Heterorhabditidae เป็นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด โดยเฉพาะแมลงที่อาศัยในดินหรือที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม (Poinar, 1979; Kaya, 1985; Klein, 1990) ในประเทศ วัชรี และ สุทธิชัย (2541) ได้ทำการศึกษาและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงทั้งในแมลงอาศัย (*in vivo*) และในอาหารเทียม (*in vitro*) แต่มักจะประสบปัญหาของผลผลิตที่ได้มีคุณภาพไม่คงที่ทุกครั้ง ทำให้สิ้นเปลืองและต้นทุนสูงขึ้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีคุณภาพต้องทิ้งไป ฉะนั้นจำเป็นต้องศึกษาสาเหตุและการแก้ไข ปัจจัยสำคัญที่จะทำให้ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยที่มีคุณภาพสูงสม่ำเสมอ ได้แก่ 1) การคัดเลือกต้นเชื้อไส้เดือนฝอย (inoculom) ที่มีคุณภาพแข็งแรง 2) ลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ในกระบวนการผลิตพ่อแม่พันธุ์ไส้เดือนฝอยทำให้ได้พ่อแม่พันธุ์บริสุทธิ์ก่อนที่จะไปใช้ขยายพันธุ์ต่อ 3) ระยะเวลาในการนำต้นเชื้อไส้เดือนฝอยไปเลี้ยงในอาหารเทียมอย่างต่อเนื่อง ทั้ง 3 ปัจจัยดังกล่าวนี้ ถ้าสามารถปฏิบัติการควบคุมได้ดี เชื่อว่าจะทำให้ผลผลิตของไส้เดือนฝอยมีคุณภาพมีคุณภาพสูงสม่ำเสมอ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เครื่องมือ ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ ตู้อบนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้ปลอดเชื้อ เครื่องชั่งไฟฟ้า centrifuge vortex mixer
2. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ ได้แก่ beaker, cylinder, flask, test tube, pasture pipette, petri dish
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Ys broth, NLA
4. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella*
5. ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*
6. แบคทีเรีย *Xenorhabdus nematophila*
7. สารเคมีต่างๆ ได้แก่ Ringer's solution, Steriled egg's solution
8. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น ถาดนับไส้เดือนฝอย ผ้ากรองขนาด 50 ไมครอน เข็มเขี่ย จุกสำลี จุกยาง กระดาษอลูมิเนียม petri dish (พลาสติก), paraffin film, counter, multi-well plate, auto pipette+tip

แผนการทดลอง ขั้นตอนการเพาะฟักไข่ด้วยวิธีปลอดเชื้อ

ศึกษาปริมาณไข่ไส้เดือนฝอย ที่เหมาะสมที่นำไปเพาะฟักในถาดหลุม เพื่อให้ได้เปอร์เซ็นต์การฟักสูง

วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 ซ้ำ ซ้ำละ 10 หลุม 4 วิธีการ ดังนี้

1. เพาะฟักไข่ไส้เดือนฝอยจำนวน 230 ฟอง/หลุม
2. เพาะฟักไข่ไส้เดือนฝอยจำนวน 460 ฟอง/หลุม
3. เพาะฟักไข่ไส้เดือนฝอยจำนวน 690 ฟอง/หลุม
4. เพาะฟักไข่ไส้เดือนฝอยจำนวน 920 ฟอง/หลุม

วิธีปฏิบัติการทดลอง (Methods or Cultural Practices)

- นำหนอนกินรังผึ้ง (*Galleria mellonella*) วัย 5-6 ฉีดไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* เข้าในช่องลำตัวหนอน แล้วนำเก็บที่ 25°ซ เป็นเวลา 3 วัน
- นำหนอนกินรังผึ้ง ที่ตายด้วยไส้เดือนฝอย มาเขี่ยแยกเอาเฉพาะไส้เดือนฝอยเพศเมียออกมา (ภายใต้กล้องจุลทรรศน์) ล้างให้สะอาดด้วย Ringer's solution

- นำไส้เดือนฝอยเพศเมียที่ล้างสะอาดแล้ว ใส่หลอดแก้ว (test tube) นำไปเขย่าบนเครื่อง (vortex) ให้ลำตัวไส้เดือนฝอยเพศเมียแตก เพื่อให้ไข่หลุดออกมา

- นำไข่ที่ได้มาผ่านผ้ากรองขนาด 50 ไมครอน จากนั้นดูดใส่ลงใน micro tube แล้วปั่นเหวี่ยงเครื่อง centrifuge นานประมาณ 2 นาที ดูดน้ำส่วนบนทิ้งเติมสารละลาย Ringer's solution ล้างให้สะอาด

- เมื่อได้ไข่ที่สะอาด จึงนำไปใช้ในขั้นตอนการเพาะฟักไข่ในตู้ปลอดเชื้อ

- เตรียมถาดหลุม (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.6 ซม. สูง 2 ซม.) ปลอดเชื้อ ใส่อาหาร Ys broth 1 มล./หลุม

- นำไข่ไส้เดือนฝอยที่สะอาดลงเพาะเลี้ยงในถาดหลุม โดยสุ่มนับจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยก่อนลงเพาะเลี้ยงในหลุม ตามวิธีการต่างๆ ในแผนการทดลอง จากนั้นปิดฝา แล้วนำเก็บที่อุณหภูมิ 25°ซ เป็นเวลา 2 วัน

- นับจำนวนไส้เดือนฝอย วัย 1 ที่ฟักออกจากไข่ ในแต่ละวิธีการ

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- บันทึกจำนวนไส้เดือนฝอย วัย 1 ที่ฟักออกจากไข่ ในแต่ละวิธีการ

ผลการทดลอง

วิธีการเพาะฟักไข่ไส้เดือนฝอย 920 ฟอง/หลุมในอาหาร Ys broth สามารถฟักเป็นวัย 1 สูงสุด 680 ตัว คิดเป็น 73.9% แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากวิธีการเพาะฟักไข่ 690 460 และ 230 ฟอง/หลุม ซึ่งสามารถฟักเป็นวัย 1 ได้จำนวน 461 268 และ 68 ตัว คิดเป็น 66.8 58.3 และ 29.6% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามลำดับในแต่ละวิธีการด้วย (Table 1) จากผลการทดลองนี้จำนวนไส้เดือนฝอยวัย 1 ที่ฟักได้จากการเพาะเลี้ยงในอัตราต่างๆ ต่อหลุม จะแปรผันตามกันคือเมื่อใส่ไข่ลงเพาะฟักจำนวนมากโอกาสที่ไส้เดือนฝอยฟักออกเป็นวัย 1 ก็สูงตามกัน

Table 1 Numbers of the first stage juvenile (J_1) of *S. carpocapsae* emerging in a culture cell well containing 1 ml Ys broth and added with different number of nematode's egg.

No. egg/well	No. J_1 emerging J_1/well	% emergence
230	68 d*	29.6
460	268 c	58.3
690	461 b	66.8
920	680 a	73.9
CV(%)	25.8	

* In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2541. การเปรียบเทียบการเจริญเติบโต สืบพันธุ์ และประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ที่เลี้ยงในอาหารเหลว และแมลงอาศัย. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 20(2):75-88.

Kaya, H.K. 1985. Entomopathogenic nematodes for insect control in IPM Systems. pp. 283-302. *In*: M.A. Hoy and D.C. Herzog, eds. Biological Control in Agricultural IPM Systems. Orlando FL., Academic Press.

Klien, M.G. 1990. Efficacy against soil inhabiting insect pests. pp. 195-214. *In*: R. Gaugler and H.K. Kaya, eds. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boca Raton, Florida CRC Press.

Poinar, G.O. Jr. 1979. Nematodes for Biological Control of Insects. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 277 pp.

การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในรูปผง

Powder Formulation of Entomopathogenic Nematode

วัชรี สมสุข

วิไลวรรณ เวชยันต์ **สาทิพย์ มาลี**

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

รายงานความก้าวหน้า

เปรียบอัตราการอยู่รอด และประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ที่เก็บรักษาในสูตรดินผง และฟองน้ำ มี 3 การทดลองคือ ทดลองเก็บที่อุณหภูมิ 3 ระดับที่ 7 25 และ 30°ซ วางแผนการทดลอง แบบ Factorial in CRD 2 ปัจจัย 5 ซ้ำ ดังนี้

ปัจจัย A วิธีการเก็บ 2 แบบ ในสูตรดินผง และในฟองน้ำ

ปัจจัย B ระยะเวลาในการเก็บรักษา 6 ระยะ คือ

- ที่ 7°ซ ทุก 1 เดือน ระยะเวลา 6 เดือน
- ที่ 25°ซ ทุก 2 สัปดาห์ ระยะเวลา 12 สัปดาห์
- ที่ 30°ซ ทุกสัปดาห์ ระยะเวลา 6 สัปดาห์

ทำการตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในการเข้าทำลายแมลง ตามช่วงเวลาการเก็บรักษาในปัจจัย B ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ จากผลการทดลองพอสรุปได้ว่า

<u>ที่ 7°ซ</u> ในช่วง 3 เดือนแรก อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงและในฟองน้ำ มีค่าใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 92.7-98.6% แต่หลังจากนั้น (4-6 เดือน) การเก็บในสูตรดินผง ไส้เดือนฝอยมีอัตราการอยู่รอด (90.1-92.8%) สูงกว่าการเก็บในฟองน้ำ (84.8-89.5%) ส่วนประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย ในช่วง 5 เดือนแรก การเก็บในสูตรดินผงและฟองน้ำ มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 88.9-100% แต่พอถึงเดือนที่ 6 จะเห็นความแตกต่างว่าไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงมีประสิทธิภาพสูง (91.0%) กว่าที่เก็บในฟองน้ำ (86.7%)

<u>ที่ 25°ซ</u> ในช่วง 2 สัปดาห์แรก อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงและในฟองน้ำมีค่าใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 95.5-98.3% หลังจากนั้น 4-6 สัปดาห์ เริ่มเห็นความแตกต่าง

รหัสโครงการ 07-01-49-06

โดยที่เก็บในดินผง ไส้เดือนฝอยมีอัตราการอยู่รอด (83.7-95.3%) สูงกว่าที่เก็บในฟองน้ำ (79.5-90.3%) แต่พอสัปดาห์ที่ 8-12 อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยในการเก็บทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกัน (50.5-76.7%) เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงสัปดาห์ ส่วนประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในช่วง 2 สัปดาห์แรก การเก็บในสูตรดินผงและฟองน้ำ ประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 97.8-98.9% หลังจากนั้น (สัปดาห์ที่ 4-12) ไส้เดือนฝอยที่เก็บในดินผงจะมีประสิทธิภาพสูง (56.7-98.9%) กว่าการเก็บในฟองน้ำ (48.9-86.7%) เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงสัปดาห์

<u>ที่ 30°ซ</u> การเก็บรักษาในช่วง 1-5 สัปดาห์ อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงสูง (82.5-98.3%) กว่าการเก็บในฟองน้ำ (73.3-83.1%) แต่พอถึงสัปดาห์ที่ 6 ไส้เดือนฝอยที่เก็บในทั้ง 2 วิธี อัตราการอยู่รอดใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 70.3-71.8% ส่วนประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย ตลอดช่วงเวลาการเก็บ 1-6 สัปดาห์ ไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงมีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลง อยู่ระหว่าง 74.4-97.8% ซึ่งสูงกว่าที่เก็บในฟองน้ำ ซึ่งมีประสิทธิภาพอยู่ระหว่าง 36.7-85.6% เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงสัปดาห์ของทั้ง 2 วิธีการ

คำนำ

หลังจากได้ค้นพบสูตรดินผสมแบบผง วิธีการบรรจุภาชนะ อัตราการบรรจุไส้เดือนฝอย และปัจจัยต่างๆ ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยให้มีอัตราการอยู่รอด และมีประสิทธิภาพสูงตลอดระยะเวลาการเก็บ 6 เดือน ที่ระดับอุณหภูมิ 7°ซ จากผลการทดลองที่ได้นี้สามารถนำไปใช้ทดแทนวิธีการใช้ฟองน้ำในการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้ในเชิงพาณิชย์ (วัชรี, 2544) โดยการหยดไส้เดือนฝอยพร้อมน้ำลงในชิ้นฟองน้ำเล็กที่ถูกบรรจุในถุงพลาสติก ปิดผนึกถุงแล้วนำไปเก็บรักษาที่ 7°ซ การเก็บวิธีนี้มีข้อเสียหลายประการ ได้แก่ ไส้เดือนฝอยมี shelf life สั้นประมาณ 1 เดือน วิธีการนำไปใช้ในสภาพธรรมชาติค่อนข้างยุ่งยาก โดยจะต้องขยำฟองน้ำให้ได้ไส้เดือนฝอยออกมาอยู่ในน้ำ กรองเอาเศษฟองน้ำออก แล้วจึงนำไส้เดือนฝอยไปใช้พ่น ส่วนไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินสำเร็จแบบผง สามารถนำไปละลายน้ำแล้วทำการพ่นได้ทันที แต่ก่อนที่จะนำไส้เดือนฝอยสูตรสำเร็จแบบผงไปส่งเสริมให้ผู้ใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืชในธรรมชาติ จำเป็นต้องมีการทดสอบสภาพการเก็บเปรียบเทียบกับการเก็บในฟองน้ำให้ชัดเจน ที่ระดับอุณหภูมิ 7 25 และ 30°ซ ทั้งนี้เพื่อเป็นการยืนยันว่าไส้เดือนฝอยสูตรสำเร็จแบบผง สามารถนำไปทดแทนการใช้ฟองน้ำได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* วัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง
2. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella*
3. กล้องจุลทรรศน์
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้อบนึ่งฆ่าเชื้อ
5. สารเคมี ได้แก่ ฟอร์มาลีน แอลกอฮอล์ ฯลฯ
6. ดินชนิดต่างๆ
7. ฟองน้ำสังเคราะห์
8. ถุงพลาสติก

วางแผนแบบ Factorial in CRD มี 2 ปัจจัย (2x6) 12 วิธีการ 5 ซ้ำ ดังนี้

ปัจจัย A วิธีการเก็บ 2 แบบ ในสูตรดินผง และในฟองน้ำ

ปัจจัย B ระยะเวลาในการเก็บรักษา 6 ระยะ คือ

- ที่ 7°ซ ทุก 1 เดือน ระยะเวลา 6 เดือน
- ที่ 25°ซ ทุก 2 สัปดาห์ ระยะเวลา 12 สัปดาห์
- ที่ 30°ซ ทุกสัปดาห์ ระยะเวลา 6 สัปดาห์

วิธีปฏิบัติการทดลอง

การเก็บรักษาไส้เดือนฝอยในฟองน้ำสังเคราะห์

- นำชิ้นฟองน้ำสังเคราะห์ที่มีขนาด 1 ลบ.ซม. ไปอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจากฟองน้ำลดอุณหภูมิลงปกติ จึงนำใส่ถุงพลาสติกใสที่มีขนาด 4x6 นิ้ว ถุงละ 22 ชิ้น

- เตรียมไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง จำนวน 4 ล้านตัว ใส่ในถุงที่มีฟองน้ำ (4 ล้านตัว/ 1 ถุง)

- ปิดปากถุงให้สนิท นำเก็บ 3 ระดับ (7 25 และ 30°ซ) ตามแผนการทดลอง

การเก็บรักษาไส้เดือนฝอยในสูตรดินผสมแบบผง

- นำสูตรดินผสม อบแห้งที่ 100-120°

- เตรียมไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง จำนวน 40 ล้านตัว ในน้ำ 20 มล.

- นำไส้เดือนฝอยที่เตรียมไว้ผสมกับดินที่อบแห้ง จำนวน 59 กรัม ปรับความชื้นของส่วนผสมให้ได้ 40%

- แบ่งส่วนผสม 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกขนาด 4x6 นิ้ว 1 ถุง ปิดผนึกถุงให้สนิท นำเก็บที่ระดับอุณหภูมิ 3 ระดับ ตามแผนการทดลอง

<u>การตรวจผล</u>

- ที่อุณหภูมิ 7°ซ ตรวจนับปริมาณไส้เดือนฝอย ที่มีชีวิตรอดและทดสอบประสิทธิภาพทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน

- ที่อุณหภูมิ 25°ซ ตรวจเช่นเดียวกัน แต่ตรวจทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

- ที่อุณหภูมิ 30°ซ ตรวจเช่นเดียวกัน แต่ตรวจทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

<u>วิธีการตรวจนับ</u>

- สำหรับวิธีการที่เก็บในฟองน้ำ ตัดถุงพลาสติกฟองน้ำที่มีไส้เดือนฝอยอาศัย อยู่ลงในน้ำกลั่น ขยำหลายๆ ครั้ง ให้ไส้เดือนฝอยออกมาอยู่ในน้ำ แล้วจึงเติมน้ำให้ครบ 500 มล. จึงพร้อมนำไปตรวจ

- สำหรับวิธีการที่เก็บในสูตรดินผสม ตัดถุงพลาสติกออก ตักส่วนผสมดินผสม 5 กรัม ใส่ในภาชนะ เติมน้ำให้ครบ 500 มล. ซึ่งพร้อมจะนำไปตรวจตักอีก 5 กรัม นำไปวัดความชื้น

- นำไส้เดือนฝอยที่เตรียมพร้อมมาเจือจาง และตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอย ที่ยังมีชีวิตและตาย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นับ 3 ซ้ำ ในแต่ละครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ย

- นำหนอนกินรังผึ้งวัย 5-6 ใส่ในจานพลาสิตก (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม.) ที่ปูด้วยกระดาษกรองอบนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 10 ตัว/จาน หยดไส้เดือนฝอยในแต่ละวิธีการที่เก็บใส่ในจาน อัตรา 200

ตัว/น้ำ 1 มล./จาน ปิดฝานำเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของหนอน

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของไส้เดือนฝอย ที่เก็บในทุกวิธีการ ตามแผนการทดลอง
- บันทึกเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยที่ทำให้หนอนกินรังผึ้งตาย ในทุกวิธีการตามแผนการทดลอง
- บันทึกความชื้น และระดับความเป็นกรด-ด่าง ในแต่ละวิธีการก็บไส้เดือนฝอย

ผลการทดลอง

ที่ 7°ซ ในช่วง 3 เดือนแรก อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงและในฟองน้ำ มีค่าใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 92.7-98.6% แต่หลังจากนั้น (4-6 เดือน) การเก็บในสูตรดินผง ไส้เดือนฝอยมีอัตราการอยู่รอด (90.1-92.8%) สูงกว่าการเก็บในฟองน้ำ (84.8-89.5%) ส่วนประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย ในช่วง 5 เดือนแรก การเก็บในสูตรดินผงและฟองน้ำ มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 88.9-100% แต่พอถึงเดือนที่ 6 จะเห็นความแตกต่างว่าไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงมีประสิทธิภาพสูง (91.0%) กว่าที่เก็บในฟองน้ำ (86.7%)

ที่ 25°ซ ในช่วง 2 สัปดาห์แรก อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงและในฟองน้ำมีค่าใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 95.5-98.3% หลังจากนั้น 4-6 สัปดาห์ เริ่มเห็นความแตกต่างโดยที่เก็บในดินผง ไส้เดือนฝอยมีอัตราการอยู่รอด (83.7-95.3%) สูงกว่าที่เก็บในฟองน้ำ (79.5-90.3%) แต่พอสัปดาห์ที่ 8-12 อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยในการเก็บทั้ง 2 วิธีการไม่แตกต่างกัน (50.5-76.7%) เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงสัปดาห์ ส่วนประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในช่วง 2 สัปดาห์แรก การเก็บในสูตรดินผงและฟองน้ำ ประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 97.8-98.9% หลังจากนั้น (สัปดาห์ที่ 4-12) ไส้เดือนฝอยที่เก็บในดินผงจะมีประสิทธิภาพสูง (56.7-98.9%) กว่าการเก็บในฟองน้ำ (48.9-86.7%) เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงสัปดาห์

ที่ 30°ซ การเก็บรักษาในช่วง 1-5 สัปดาห์ อัตราการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงสูง (82.5-98.3%) กว่าการเก็บในฟองน้ำ (73.3-83.1%) แต่พอถึงสัปดาห์ที่ 6 ไส้เดือนฝอยที่เก็บในทั้ง 2 วิธี อัตราการอยู่รอดใกล้เคียงกัน อยู่ระหว่าง 70.3-71.8% ส่วนประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย ตลอดช่วงเวลาการเก็บ 1-6 สัปดาห์ ไส้เดือนฝอยที่เก็บในสูตรดินผงมีประสิทธิภาพ

ในการเข้าทำลายแมลง อยู่ระหว่าง 74.4-97.8% ซึ่งสูงกว่าที่เก็บในฟองน้ำ ซึ่งมีประสิทธิภาพอยู่ระหว่าง 36.7-85.6% เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงสัปดาห์ของทั้ง 2 วิธีการ

Table 1 Comparative survival percentage of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* maintained in powder formulation and in sponge during 6 months at 7°C.

Month	% Survival of entomopathogenic nematode in different formulation		Diff.
	Powder formula	Sponge	
1st	98.6 a	96.7 a	1.9 ns
2nd	96.7 ab	94.4 ab	2.3 ns
3rd	94.3 bc	92.7 bc	1.7 ns
4th	92.8 cd	89.5 cd	3.3 *
5th	92.9 cd	88.2 d	4.6 **
6th	90.0 d	84.8 e	5.2 **
CV = 2.0%			

- In a column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

* In a row, means between columns significantly different at 5% level.

** In a row, means between columns significantly different at 1% level.

ns = not significantly

Table 2 Comparative survival percentage of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* maintained in powder formulation and in sponge during 12 weeks at 25°C.

Week	% Survival of entomopathogenic nematode in different formulation		Diff.
	Powder formula	Sponge	
2nd	98.3 a	95.5 a	2.8 ns
4th	95.3 a	90.3 b	5.0 *
6th	83.7 b	79.5 c	4.2 *
8th	76.7 c	73.2 d	3.5 ns
10th	69.2 d	66.1 d	3.1 ns
12th	53.5 e	50.5 f	3.0 ns
CV = 2.9%			

- In a column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

* In a row, means between columns significantly different at 5% level.

ns = not significantly

Table 3 Comparative survival percentage of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* maintained in powder formulation and in sponge during 6 weeks at 30°C.

Week	% Survival of entomopathogenic nematode in different formulation		Diff.
	Powder formula	Sponge	
1st	98.3 a	83.1 a	15.3 **
2nd	97.6 a	81.1 ab	16.5 **
3rd	94.5 b	78.2 b	16.2 **
4th	92.2 b	75.0 c	17.7 **
5th	82.5 c	73.3 c	9.2 **
6th	71.8 d	70.3 d	1.4 ns
CV = 2.1%			

- In a column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

** In a row, means between columns significantly different at 1% level.

ns = not significantly

Table 4 Comparative mortality percentage of greater wax moth caused by entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* maintained in powder formulation and in sponge during 6 months at 7°C.

Month	% Mortarity of *G. mellonella* by *S. carpocapsae*		Diff.
	Powder formula	Sponge	
1st	100. 0 a	100.0 a	0.0 ns
2nd	97.8 a	95.6 b	2.2 ns
3rd	94.4 b	94.4 b	0.0 ns
4th	93.3 b	91.1 c	2.2 ns
5th	91.1 b	88.9 cd	2.2 ns
6th	91.1 b	86.7 d	4.4 **
CV = 1.9%			

- In a column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

** In a row, means between columns significantly different at 1% level.

ns = not significantly

Table 5 Comparative mortality percentage of greater wax moth caused by entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* maintained in powder formulation and in sponge during 12 weeks at 25°C.

Week	% Mortarity of *G. mellonella* by *S. carpocapsae*		Diff.
	Powder formula	Sponge	
2nd	98.9 a	97.8 a	1.1 ns
4th	98.9 a	86.7 b	12.2 **
6th	92.2 b	78.9 c	13.3 **
8th	83.3 c	74.4 d	8.9 **
10th	66.7 d	54.4 e	12.2 **
12th	56.7 e	48.9 f	7.8 **
CV = 2.9%			

- In a column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

** In a row, means between columns significantly different at 1% level.

ns = not significantly

Table 6 Comparative mortality percentage of greater wax moth caused by entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* maintained in powder formulation and in sponge during 6 weeks at 30°C.

Week	% Mortarity of *G. mellonella* by *S. carpocapsae*		Diff.
	Powder formula	Sponge	
1st	97.8 a	85.6 a	12.2 **
2nd	93.3 b	71.1 b	22.2 **
3rd	91.1 b	56.7 c	34.4 **
4th	86.7 c	53.3 c	33.3 **
5th	78.9 d	42.2 d	36.7 **
6th	74.4 e	36.7 e	37.8 **
CV = 3.6%			

- In a column, means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

** In a row, means between columns significantly different at 1% level.

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สมสุข 2544. ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง. ใน: เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีวิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 209-244.

คัดเลือกและพัฒนาไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ท้องถิ่น *Steinernema siamkayai*

Selection and Development of the Indigenous Entomopathogenic Nematode, *Steinernema siamkayai*

วิไลวรรณ เวชยันต์
สาทิพย์ มาลี วัชรี สมสุข

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การคัดเลือกและพัฒนาไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ท้องถิ่น ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย *Steinernema siamkayai* ให้มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงเพิ่มสูงขึ้น และมีความเฉพาะเจาะจงในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชชนิดที่เหมาะสม ได้แบ่งหัวข้องานวิจัยเป็น 2 การทดลอง คือ *1.* คัดเลือกไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงสูงกว่า 80% พบว่าไส้เดือนฝอยจากประชากร pop 1-3 สามารถเข้าทำลายแมลงได้มากกว่า 80% และไส้เดือนฝอยจากประชากรที่1 (pop1) ผ่านเข้าสู่ผนังลำตัวแมลงได้มากกว่า และมีการพัฒนาเป็นไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยเพศเมียมากกว่าไส้เดือนฝอยจากประชากรอื่นๆ *2.* เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของ *Steinernema siamkayai* ที่อุณหภูมิระดับต่างๆ ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบว่าไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* เข้าทำลายแมลงได้ในช่วงอุณหภูมิ 15-30 องศาเซลเซียส ขณะที่ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* และ *S. siamkayai* สามารถเข้าทำลายแมลงได้ในช่วงอุณหภูมิ 20-35 องศาเซลเซียส

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

ปี 2539 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆ ในประเทศ เพื่อแยกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง โดยใช้หนอนกินรังผึ้ง (*G. mellonella*) เป็นแมลงทดสอบ ซึ่งสามารถแยกไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงและได้ส่งตัวอย่างให้ผู้เชี่ยวชาญด้านอนุกรมวิธานประเทศสหรัฐอเมริกาจัดจำแนกชนิด พบว่าไส้เดือนฝอยที่แยกได้นี้เป็นไส้เดือนฝอยชนิดใหม่ที่ค้นพบในประเทศไทย และได้รับการตั้งชื่อว่า *S. siamkayai* (Stock *et al*, 1998) และเนื่องจากเป็นไส้เดือนฝอยที่ค้นพบใหม่จึงได้ทำการศึกษาเลี้ยงเพิ่มปริมาณ รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆจากการศึกษาเบื้องต้น พบว่าประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชอยู่ในระดับต่ำกว่าไส้เดือนฝอยที่ผลิตเป็นการค้า *S. carpocapsae* แต่ไส้เดือนฝอยชนิดใหม่นี้ยังคงประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงเมื่ออุณหภูมิสูง 35 °C ขณะที่ *S. carpocapsae* ไม่สามารถเข้าทำลายแมลงได้ เนื่องจากเหตุผลดังกล่าวจึงจำเป็นต้องคัดเลือกและพัฒนาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยที่ค้นพบใหม่นี้ให้มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงสูงขึ้น เพื่อนำไส้เดือนฝอยที่ค้นพบในท้องถิ่นไปควบคุมแมลงศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งต้องศึกษาความเฉพาะเจาะจงในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชชนิดที่เหมาะสมเพื่อพัฒนานำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในประเทศไทยต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้อบนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ดูดสารอัตโนมัติ (autopipette) และจานทดลอง (petridish) ถาดหลุมขนาด 24 หลุม/ถาด จานทดลอง กระดาษกรอง
2. ไส้เดือนฝอย *Steinernema siamkayai* , *S. carpocapsae* และ *S. riobrave*
3. แมลงที่ใช้ทดสอบ หนอนกินรังผึ้ง และ หนอนกระทู้ผัก
4. สารเคมีที่ใช้ เช่น ฟอร์มาลีน Nutrient agar Tryptic soy Alcohol
5. อาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง

วิธีทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u> คัดเลือกไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงสูงกว่า 80% มีขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานดังนี้

1. เลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนกินรังผึ้งเลี้ยงด้วยอาหารเทียมจนได้หนอนที่มีน้ำหนัก ประมาณ 0.45-0.50 กรัม

2. เลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยด้วยหนอนกินรังผึ้ง โดยใช้ต้นเชื้อไส้เดือนฝอยจากประชากรที่ต่างกัน เตรียมไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ระยะเข้าทำลายแมลง(IJ) ให้มีความหนาแน่น 2,000 ตัว/มล.ก่อนหยดไส้เดือนฝอยลงบนกระดาษกรองในจานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. ใส่หนอนกินรังผึ้งลงไปจานละ 10 ตัว จำนวน 20 จาน จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง 25 °ซ นาน 48 ชม. หนอนที่ตายนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนวางบนจานแก้วที่ปูด้วยผ้าขาวบาง ในกล่องพลาสติกซึ่งภายในหล่อน้ำ เพื่อล่อไส้เดือนฝอย (trap) เป็นเวลา 10 วัน ไส้เดือนฝอยที่ผ่านเข้าสู่ภายในลำตัวหนอนจะเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย จับคู่ ผสมพันธุ์ วางไข่ ไข่ที่ได้รับการผสมจะฟักเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1,2 และ 3 ซึ่งเป็นไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลง (IJ) จะออกจากซากหนอนลงสู่น้ำที่หล่อไว้ เทน้ำที่มีไส้เดือนฝอยเก็บใน culture flask ที่อุณหภูมิ 15 °ซ ดำเนินการเลี้ยงขยายไส้เดือนฝอยทั้งหมด 7 ประชากร

3. คัดเลือก ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* โดยทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงได้ทั้ง 7 ประชากร โดยวิธี paper bioassay ใช้หนอนกินรังผึ้งเป็นแมลงทดสอบ หยดน้ำที่มีไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลงแต่ละชุดที่จะทดสอบ ในอัตรา 2,000 ตัวต่อหนอน 10 ตัว ทำการทดลองทั้งหมด 7 จาน ต่อไส้เดือนฝอย 1 ประชากร เก็บจานทดลองที่อุณหภูมิ 25 °C จากนั้นตรวจนับจำนวนหนอนตายที่เวลา 48 ชั่วโมงคัดเลือกไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลง (สามารถทำให้แมลงตายไม่น้อยกว่า 80% ภายในเวลา 48 ชม.) นำมา trap ไส้เดือนฝอย และเก็บไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลงที่คัดเลือกได้ในน้ำกลั่นเก็บที่อุณหภูมิ 15 °C เพื่อทำการทดลองต่อไป

<u>การทดลองที่ 2</u> เปรียบเทียบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของ *Steinernema siamkayai*

<u>การทดลองที่ 2.1</u> ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง

วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD (3 x5 factors) มี 4 ซ้ำ

ปัจจัย A คือไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* , *S. riobrave* และ *S. carpocapsae*

ปัจจัย B คือ ระดับอุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 15, 20, 25, 30 และ 35 °ซ

ทำการทดลองในถาดหลุมขนาด 24 หลุม แต่ละหลุมมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 ซม. ภายในใส่ทรายที่อบฆ่าเชื้อแล้วหลุมละ 1 กรัม และหยดไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด ที่อัตราความหนาแน่น 100 ตัว/น้ำ 60 ไมโครลิตร/หลุม นำเข้าเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าว ข้างต้น เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง เพื่อการปรับตัวของไส้เดือนฝอยก่อนใส่หนอนกินรังผึ้งวัย 5-6 ลงในถาดหลุม หลุมละ 1 ตัว ปิดฝานำไปเก็บที่ระดับอุณหภูมิ 15,20,25,30 และ 35 °ซ นำมาตรวจนับจำนวนหนอนกินรังผึ้งที่ตายในแต่ละระดับอุณหภูมิที่ 24,48 และ 72 ชั่วโมง

การทดลองที่ 2.2 ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผักวัย 3

วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD (3 x4 factors) มี 4 ซ้ำ

ปัจจัย A คือไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* , *S. riobrave* และ *S. carpocapsae*

ปัจจัย B คือ ระดับอุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 35 °ซ

ทำการทดลองในถาดหลุมขนาด 24 หลุม/ถาด แต่ละหลุมมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร พร้อมฝาภายในใส่อาหารเทียมเลี้ยงหนอน หลุมละ 0.39 กรัม และใส่ไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลงชนิดต่างๆ ที่อัตราความหนาแน่น 50 ตัว/น้ำ 30 ไมโครลิตร/หลุม นำเข้าเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าวข้างต้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนปล่อยหนอนกระทู้ผักวัย 3 อายุ 1 วัน หลุมละ 1 ตัว และนำเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ นำมาตรวจนับหนอนกินรังผึ้งที่ตายเนื่องจากไส้เดือนฝอยในแต่ละระดับอุณหภูมิที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

การบันทึกข้อมูล และวิเคราะห์ผล

บันทึกเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงเนื่องจากไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดในแต่ละอุณหภูมิ และวิเคราะห์ผลเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ชนิด ณ อุณหภูมิ 20 25, 30 และ 35 °C โดยวิเคราะห์ variance ด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2548 – เดือนกันยายน 2550

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 คัดเลือกไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงสูงกว่า 80%

จากการคัดเลือกไส้เดือนฝอยโดยทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยที่เลี้ยงได้ทั้ง 7 ประชากร โดยวิธี paper bioassay ใช้หนอนกินรังผึ้งเป็นแมลงทดสอบ พบว่าประชากรไส้เดือนฝอยจาก pop1-7 มีประสิทธิภาพทำให้หนอนกินรังผึ้งตาย 48-90% ภายในเวลา 48 ชั่วโมง จึงทำการคัดเลือกไส้เดือนฝอยจาก pop 1 , 2 และ3 เนื่องจากมีประสิทธิภาพทำให้หนอนตายมากกว่า 80% ตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ (Table1) และเมื่อนำไส้เดือนฝอยทั้ง 3 ประชากร มาทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายแมลงที่อุณหภูมิ 30 °C โดยใช้ไส้เดือนฝอยอัตรา 50 ต่อหนอนกินรังผึ้ง 1 ตัว (Table 2) พบว่าไส้เดือนฝอย Pop3 ทำให้หนอนกินรังผึ้งตายสูงสุด

56.25 รองลงมาคือ Pop 1 และ 2 ทำให้หนอนกินรังผึ้งตาย 41.66 และ 22.91% และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยเป็น 100 ตัวต่อหนอน1 ตัว พบว่า Pop1 ทำให้หนอนตาย 75% สูงกว่า Pop3 และ Pop2 (45.83 และ 37.58% ตามลำดับ) เมื่อนำหนอนที่ตายมาผ่าเพื่อนับจำนวนไส้เดือนฝอยที่ผ่านเข้าสู่ตัวแมลงสำเร็จ พบว่า ไส้เดือนฝอยจาก Pop1 ผ่านเข้าสู่ตัวหนอนได้มากที่สุด 5.76% รองลงมาคือ Pop 2 (4.1%) และ Pop3 (2.2%) โดยพบไส้เดือนฝอยพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยเพศเมีย 48, 30 และ17 ตัว และตัวเต็มวัยเพศผู้ 27,11 และ 5 ตัว ตามลำดับ ทั้งนี้ไส้เดือนฝอยจาก Pop1 มีความแข็งแรงมีความสามารถในการค้นหาหนอนและผ่านเข้าสู่ผนังลำตัวสำเร็จก่อนปลดปล่อยแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุทำให้แมลงตายมากกว่าไส้เดือนฝอยจาก Pop 2 และ Pop3 นอกจากนั้นไส้เดือนฝอยจาก Pop 1 ที่ผ่านเข้าสู่ผนังลำตัวแมลงยังมีการพัฒนาเป็นไส้เดือนฝอยตัวเต็มวัยเพศเมียซึ่งทำหน้าที่สร้างไข่และขยายพันธุ์ได้มากกว่าไส้เดือนฝอยจากประชากรอื่นๆ ซึ่งเป็นเหตุผลในการคัดเลือกไส้เดือนฝอย Pop1 นำมาขยายปริมาณและทำการทดลองต่อไป

<u>การทดลองที่ 2.</u>1 ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง

จากการทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งของไส้เดือนฝอย 3 ชนิด คือ *S. siamkayai* *S. riobrave และ S. carpocapsae* จากตารางที่ 4 พบว่า ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* มีประสิทธิภาพทำให้หนอนกินรังผึ้งตายเท่ากับ 48.58, 47.21, 27.74 และ 23.6 % ที่อุณหภูมิ 25 30 20 และ 35 °ซ ตามลำดับ แต่ที่อุณหภูมิ 15 °ซ *S. siamkayai* ไม่พบหนอนตาย ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มีประสิทธิภาพทำให้หนอนกินรังผึ้งตายเท่ากับ 97.22,94.44,76.38, และ 76.38 % ที่อุณหภูมิ 25 30 35และ 20 °ซ ตามลำดับ แต่ที่อุณหภูมิ 15 °ซ *S. riobrave* ไม่พบหนอนตาย และ ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* มีประสิทธิภาพทำให้หนอนกินรังผึ้งตายเท่ากับ 100,100,92.52,และ 62.49 % ที่อุณหภูมิ 25 30 20และ 15 °ซ ตามลำดับ แต่ที่อุณหภูมิ 35 °ซ *S. carpocapsae* ไม่พบหนอนตาย

<u>การทดลองที่ 2.2</u> ทดสอบประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกระทู้ผัก

จากตารางที่ 5 พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 และ 25 °ซ ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* มีประสิทธิภาพทำให้หนอนกระทู้ผักวัย 3 ตาย สูงสุด 58.3 และ 100% รองลงมาคือ *S. riobrave* และ *S. siamkayai* ทำให้หนอนตาย 13.3, 96.7 และ13.3,61.7 % ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 30 °ซ *S. riobrave* มีประสิทธิภาพทำให้พบหนอนตาย 100 % รองลงมาคือ *S. carpocapsae* (98.3%) และ *S. siamkayai* (51.7%) และที่อุณหภูมิ 35 °ซ *S. riobrave* และ *S. siamkayai* มีประสิทะภาพทำให้หนอนตาย 61.7 และ 15 % แต่ไม่พบหนอนตายเนื่องจากไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae*

Table 1 Mean mortality percentages of *Galleria mellonella* larva infected with different population of *Steinernema siamkayai*

Population	Mean mortality percentage
Pop1	90
Pop2	82.85
Pop3	80
Pop4	78.57
Pop5	52
Pop6	48
Pop7	52

Table 2 Mean mortality percentages of *Galleria mellonella* larva infected with *Steinernema siamkayai* at 50 and 100 infective juveniles per larva at 30 °C

.

Population of *Steinernema siamkayai*	Mean mortality percentages at the concentration	
	50:1	100:1
Pop1	41.66	75
Pop2	22.91	37.5
Pop3	56.25	45.83

Table3 Nematode found in larva and means number of male and female per larva

Population of	nematode found/larva		mean of male and female/larva		
S. siamkayai	% invasion	Rang	Male (M)	Female(F)	M:F
Pop1	5.76	(2-11)	27 (0-5)	48 (2-8)	1:1.7
Pop2	4.1	(1-8)	11 (0-3)	30 (1-5)	1:2.7
Pop3	2.2	(1-5)	5 (0-2)	17 (1-3)	1:3.4

Table 4 Mean mortality percentages of *Galleria mellonella* larva infected with 100 infective of *Steinernemasiamkayai Steinernema riobrave* and *Steinernema carpocapsae* at at different temperatures.

Temperature	Mean mortality percentages of *G. mellonella* lava infected with [1/]		
(°C)	*S. siamkayai*	*S. riobrave*	*S. carpocapsae*
15	0 c	0 b	62.49 b
20	27.77 ab	76.38 a	93.05 a
25	51.38 a	97.22 a	100 a
30	47.21 ab	94.44 a	100 a
35	23.60 bc	76.38 a	0 c

[1/] In a column, means followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT.

Table 5 Mean mortality percentages of *Spodoptera litura* larva infected with 50 *Steinernema siamkayai, Steinernema riobrave* and *Steinernema carpocapsae* at different temperatures.

Temperature (°C)	Mean mortality percentage of *Spodoptera litura* larva by infected with[1] [2/]		
	S. siamkayai	*S. riobrave*	*S. carpocapsae*
20	13.3 b C	13.3 c C	58.3 b B
25	61.7 a B	96.7 a A	100 a A
30	51.7 a B	100 a A	98.3 a A
35	15 b C	61.7 b B	0 c C

[1/] In a column, means followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by DMRT.

[2/] In a row, means followed by the same capital letters are not significantly different at the 5% level by DMRT.

สรุปผลการทดลอง

ไส้เดือนฝอยที่คัดเลือกได้จาก Pop1 มีความแข็งแรง และมีความสามารถในการข้นหาและเข้าทำลายแมลงได้ดีกว่าไส้เดือนฝอยจาก Pop อื่นๆ ช่วงอุณหภูมิมีผลต่อการเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* สามารถเข้าทำลายแมลงในช่วงอุณหภูมิ 15-30 องศาเซลเซียส ขณะที่ไส้เดือนฝอย *S.riobrave* และ *S. siamkayai* สามารถเข้าทำลายแมลงในช่วง 20-35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่าไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae*

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สมสุข. 2544. เทคนิคในการค้นหาไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงจากดินในธรรมชาติ. *ว. กีฏ. สัตว.* 23(3) : 205-207.

วัชรี สมสุข และ สุทธิชัย สมสุข. 2544. ผลงานวิจัยโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับการค้า. รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ กรมวิชาการเกษตร,สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 172 น.

Grewal, P.S., S. Selvan and R. Gaugler. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *J. Thermal Biology*. 19: 245-253.

Hazir, S., S.P. Stock, H.K. Kaya, A.M. Koppenhofer and N. Keskin. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *J. Invertebr. Pathol*. 77: 243-250.

Kaya, H.K. 1985. Entomopathogenic Nematodes for Insect Control in IPM Systems. pp. 283-302. *In* M.A. Hoy and D.C. Herzog, (eds.), Biological control in agricultural IPM systems. Orlando, FL., Academic Press.

Poinar, G.O. Jr. 1979. Nematodes for Biological Control of Insects. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 277 pp.

Sasnarukkit, A. 2003. Efficacy of an Entomopathogenic Nematode, *Steinernema siamkayai* Stock, Somsook and Reid on Controlling Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus). Ph.D. Thesis, Kasetsart University.

Stock, S.P., V. Somsook and A.P. Reid. 1998. *Steinernema siamkayai* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Thailand. *Syst. Parasitol*. 41:105-113.

วิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ทนอุณหภูมิสูง *Steinernema riobrave* เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช

Research and development of Entomopathogenic Nematode, *Steinernema riobrave* for utilization in agriculture

วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี วัชรี สมสุข
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียร่วมอาศัย *Xenorhabdus* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YS broth โดยเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียร่วมอาศัยของไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave* จากหนอนกินรังผึ้งที่ได้รับการก่อโรคด้วยไส้เดือนฝอย *S. riobrave* เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมงและแยกน้ำเลือด (heamolymp) หนอนไปขีดเป็นแนวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NBTA นาน 48 ชั่วโมง และคัดเลือกโคโลนีบริสุทธิ์ลงเลี้ยงในอาหาร YS broth เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ YS broth นาน 24 ชม. แบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนได้สูงถึง 10^8 และเมื่อนำแบคทีเรียไปลี้ยงในอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอยสูตรมาตรฐาน Tsb3 พบว่า แบคทีเรียสามารถเพิ่มจำนวนได้ 10^5 10^7 และ 10^9 เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเทียมเป็นเวลานาน 24 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ และจากการทดลองเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ด้วยอาหารเหลวสูตรอาหารมาตรฐานที่ใช้เลี้ยง *S. carpocapsae* พบว่า เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียนาน 24-96 ชั่วโมงก่อนการใส่ไส้เดือนฝอยลงเลี้ยง สามารถเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ร่วมกับแบคทีเรีย ได้ผลผลิต 2.760×10^5 - 5.088×10^6 ตัว ทั้งนี้จำเป็นต้องศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับลักษณะการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp. ในอาหารเลี้ยงชื้อและอาหารเหลวเลี้ยงไส้เดือนฝอย (Tsb3) ซึ่งจำเป็นต่อการพัฒนาการเลี้ยงไส้เดือนฝอยด้วยอาหารเทียมให้มีปริมาณมากพอสำหรับนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

มีรายงานการค้นพบไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ในเขตภูมิอากาศใกล้แถบร้อนที่มลรัฐเท็กซัส (Cabanillas, 1994) ภายในลำไส้ของไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มี *Xenorhabdus sp.* เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย (Poinar and Thomas, 1965) โดยไส้เดือนฝอยทำหน้าที่เป็นพาหะนำแบคทีเรียเข้าสู่ภายในลำตัวแมลงทางช่องเปิดต่างๆ เช่น ปาก ทวาร ช่องรูหายใจ จากนั้นจะไชผ่านเข้าไปสู่ช่องว่างของลำตัว (haemocoel) และจะปล่อยแบคทีเรียออกมาสู่ช่องว่างภายในลำตัวแมลง แบคทีเรียจะมีการแบ่งเซลล์และเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วและทำให้แมลงตายภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง เพราะเลือดเป็นพิษ (septicemia) ในขณะเดียวกันแบคทีเรียก็จะสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยต่อไปจนอาหารภายในตัวแมลงหมด ไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มีความสามารถในการทนอุณหูมิสูงได้ถึง 35 ^{O}ซ จากผลการทดลองเบื้องต้น พบว่าไส้เดือนฝอย *S. riobrave* มีประสิทธิภาพสามารถเข้าทำลายแมลงที่อุณหภูมิ 35 ^{O}ซ ได้ ในขณะที่ *S. carpocapsae* ไม่สามารถเข้าทำลายแมลงที่อุณหภูมิดังกล่าว และพบว่า *S. riobrave* สามารถเลี้ยงขยายปริมาณในอาหารเทียม (สูตรอาหารสุนัขผสมฟองน้ำ) ที่ใช้เลี้ยง *S. carpocapsae* ได้ แต่ผลผลิตไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลายแมลง IJ ซึ่งเป็นเป้าหมายหลักของการเลี้ยงไส้เดือนฝอยด้วยอาหารเทียมยังไม่คงที่ จากข้อมูลดังกล่าวจึงควรพัฒนาวิธีการเลี้ยงและศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. riobrave* ซึ่งทนอุณหภูมิสูง เช่นแบคทีเรียร่วมอาศัย การเจริญเติบโตของแบคทีเรียร่วมอาศัยในอาหารเลี้ยงเชื้อและในอาหารเหลวเลี้ยงไส้เดือนฝอย รวมทั้งต้นเชื้อไส้เดือนฝอยที่นำมาใช้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาการผลิตขยายในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของแบคทีเรียร่วมอาศัย *Xenorhabdus sp.* ต่อผลผลิตและคุณภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave*

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไส้เดือนฝอย *Steinernema riobravee* วัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง
2. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella*
3. แบคทีเรียร่วมอาศัย *Xenorhabdus* sp.
4. อุปกรณ์เครื่องมือต่างๆ ได้แก่ ตู้อบนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้ปลอดเชื้อ เครื่องเขย่า กล้องจุลทรรศน์
5. เครื่องแก้วต่างๆ ได้แก่ flask, beaker, cylinder, petri dish และ test tube
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Ys broth, Yeast extract, และ Tryptic soy broth
7. สารเคมีต่างๆ ได้แก่ alcohol, formalin, hyamine, KH_2PO_4 , NaCl ฯลฯ
8. วัสดุอื่นๆ ได้แก่ สำลี กระดาษอลูมิเนียม ปากคีบ

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ดำเนินการทดลอง 2 การทดลองย่อย คือ

1. <u>ศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียร่วมอาศัย *Xenorhabdus* sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YS broth</u> (Yeast Salt Broth)

ทำการทดลองโดยแยกแบคทีเรียที่ได้จากหนอนกินรังผึ้งที่ก่อโรคด้วยไส้เดือนฝอยอัตรา 200 ตัว/หนอน 1 ตัว จากนั้น 24 ชั่วโมง ทำการตัดขาหนอน แล้วใช้ loop แตะเอาน้ำเลือดหนอน streak ลงบนอาหาร NBTA เมื่อครบ 48 ชั่วโมง ทำการคัดเลือก colony ที่สมบูรณ์นำลงเลี้ยงในอาหาร Ys broth ปริมาตร 150 มล. เขย่าเลี้ยงที่ความเร็ว 180 รอบ/นาที อุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบการปนเปื้อนของแบคทีเรียโดยวิธีย้อมแกรม จึงนำมาทดลอง ด้วยวิธีการ spread plate เพื่อนับจำนวนเซลล์แบคทีเรีย พร้อมทั้งตรวจนับจำนวนเซลล์ที่สร้าง crystalline inclusion protein และทำการวัดค่าดูดกลืนแสงความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ Ys broth ด้วยเครื่อง spectrophotometer

2. <u>เลี้ยงไส้เดือนฝอยที่ทนอุณหภูมิสูง *Steinernema riobrave* ด้วยอาหารเทียม (สูตร Tsb3)</u>

มีขั้นตอนการปฏิบัติงานดังนี้

1. การเตรียมแบคทีเรียร่วมอาศัย (inoculum)

แยกเชื้อบริสุทธิ์ แบคทีเรียร่วมอาศัยโดยการนำหนอนกินรังผึ้งที่ได้รับการปลูกเชื้อมาล้างฆ่าเชื้อที่ผิว จากนั้นใช้กรรไกรตัดบริเวณขาเทียมของหนอน ใช้ loop แตะน้ำเลือด (haemolymph) ขีดเป็นแนวลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NBTA (nutrient bromothymol blue triphenyl

tetrazolium chloride agar) และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรีย ซึ่งมีลักษณะสีน้ำเงินตรงกลางเข้ม ขอบไม่เรียบ ลงเลี้ยงขยายปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ YS broth นำไปเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อโดยวิธีย้อมแกรมแบคทีเรีย

2. การเตรียมต้นเชื้อไส้เดือนฝอย (inoculum)

นำไส้เดือนฝอยวัย 3 ระยะ IJ ที่เลี้ยงได้จากหนอนกินรังผึ้ง *G. mellonella* มาล้างให้สะอาดด้วยน้ำยา hyamine 0.1% แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่อบนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับปริมาณให้ได้ตามอัตราที่ต้องการ คือ 5,000 ตัว/ มล.

3. การเตรียมอาหารเทียมอาหารเหลว (Liquid media)

เตรียมอาหารสูตร Tsb3 (วัชรี และสุทธิชัย, 2544) ซึ่งประกอบด้วย Tryptic soy broth 0.75%, Yeast cell 0.50%,ไข่ 6.67%, น้ำมัน 1.6% และ น้ำกลั่น 100% ผสมให้เข้ากันก่อนเทใส่ขวดแก้ว (flask) ขนาด 500 มล. ขวดละ 40 มล. ปิดจุกสำลี และนำเข้าอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจึงนำไปทดลอง

4. การเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม

เลี้ยงขยายปริมาณแบคทีเรียร่วมอาศัย ในอาหาร Tsb3 เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ก่อนใส่ไส้เดือนฝอยที่ได้จากข้อ 2. ลงเลี้ยงในอาหาร Tsb_3ด้วยวิธีปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียร่วมอาศัย ที่ระดับอุณหภูมิ 25°ซ เป็นเวลาประมาณ 14 วัน จนไส้เดือนฝอยพัฒนาเจริญเติบโตเป็นวัย 3 ระยะ IJ 100% จึงทำการเก็บการผลิตและนับผลผลิตและนับผลผลิตที่ได้ในทุกวิธีการ

ผลและวิจารณ์การทดลอง

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Xenorhabdus* sp ที่ได้จากการตัดขาหนอนแล้วนำ hemolymph streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NBTA ไว้ 48 ชั่วโมง แล้วคัดเลือกโคโลนีลงเลี้ยงขยายปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อ Ys broth เขย่าเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำมาทดลองด้วยวิธีการ spread plate เพื่อนับจำนวนเซลล์แบคทีเรีย พบว่า หลังการเลี้ยงแบคทีเรียนาน 24 ชั่วโมงจำนวนเซลล์แบคทีเรียที่ตรวจนับได้ประมาณ 10^4 cell/ml ที่เวลา 0 - 12 ชั่วโมง หลังจากนั้นจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น การเจริญเติบโต หลังจากชั่วโมงที่ 24 จำนวนเซลล์จะอยู่ที่ 10^5 cell/ml เมื่อสุ่มนับ crystalline inclusion protein ในช่วง 0 – 12 ชั่วโมง ยังไม่พบเซลล์แบคทีเรียที่สร้าง crystalline inclusion protein ที่ 24 ชั่วโมง ตรวจพบจำนวนเซลล์แบคทีเรียที่สร้าง crystalline

inclusion protein จำนวน 60% ของเซลล์ที่สุ่มนับ และจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ที่เวลา 24 ชั่วโมงพบจำนวนเซลล์ที่สร้าง crystalline inclusion protein 88 % ทั้งนี้ควรมีการบันทึกค่าดูดกลืนแสงจากความขุ่นของ Ys broth และศึกษา growth curve อย่างละเอียดโดยวัดการเจริญของแบคทีเรียทุก 3 หรือ 6 ชั่วโมง เพื่อหาระยะการเจริญของแบคทีเรีย ในแต่ละระยะทั้งระยะ lag phase , log phase, stationary phase และ death phase ของแบคทีเรียที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ และอาหารเทียมเลี้ยงไส้เดือนฝอย

จากเลี้ยงไส้เดือนฝอยด้วยอาหารเหลวสูตรมาตรฐาน พบว่า ไส้เดือนฝอยมีการพัฒนาเติบโตช้า ใช้เวลาในการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียในอาหารเหลว ประมาณ 4 วัน และเมื่อเก็บล้างผลผลิตไส้เดือนฝอยพบว่า กรรมวิธีแรกที่มีการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว 48 ชั่วโมงก่อน แล้วจึงใส่ไส้เดือนฝอยลงไปเลี้ยงจะให้ผลผลิต 5.088×10^6 ตัว/มล สูงกว่ากรรมที่ 2 และ 3 ซึ่งให้ผลผลิตน้อยกว่า การเลี้ยงไส้เดือนฝอยและแบคทีเรียด้วยอาหารเทียม Tsb3 แบคทีเรียและไส้เดือนฝอยจะอาศัยอาหารเหลวในการขยายปริมาณโดยการแบ่งเซลล์เป็นจำนวนมากและมีการผลิตสารซึ่งมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย ทั้งนี้อาหารเทียมที่ใช้เลี้ยงไส้เดือนฝอยอาจมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียและอาจมีผลต่อการพัฒนาและการขยายพันธุ์ไส้เดือนฝอย ซึ่งต้องศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สมสุข และสุทธิชัย สมสุข. 2544. ศึกษาอาหารเหลวเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ใน “ผลงานวิจัย โครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในระดับการค้า” หน้า 28-40. จัดพิมพ์โดยกรมวิชาการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

Cabanillas, H.E., G.O. Jr. Poinar and J.R. Raulston. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae) from Texas. Fundam. Appl. Nematol. 17:123-131

Poiner, G.O. and G.M. Thomas 1965. A new bacterium, *Achromobacter nematophilus* sp. NOV (Achromobacteriaceae : Eubacteriales) associated with a nematode. International bulletin of bacteriological nomenclature and taxonomy Vol. 15: 4 , 249-252.

Table Effect of bacterial cell *Xenorhabdus* sp. on development of *Steinernema riobravee* in liquid culture.

Treatment bacteria and nematode in liquid medium	Yields of nematode/ml
1. culturing bact. 48 h prior nema. Inoculation	5.088×10^6
2. culturing bact. 72 h prior nema. Inoculation	3.088×10^5
3. culturing bact. 96 h prior nema. Inoculation	2.760×10^5

ศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

Study on Survival and Efficacy of Entomophatogenic Nematode Due to Pesticide Effect

สาทิพย์ มาลี
วัชรี สมสุข วิไลวรรณ เวชยันต์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาผลของสารฆ่าแมลงต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงโดยได้ทำการศึกษาผลของสารฆ่าแมลง chlorpyrophos cypermetrin imidaclorprid โดยใส่ไส้เดือนฝอยลงในสารฆ่าแมลงที่ผสมน้ำในอัตราที่แนะนำเปรียบเทียบกับน้ำเปล่านาน 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่า ที่ 24 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยสามารถอยู่รอดใน imidaclorprid ได้ 93.63% ใน chlorpyrophos ได้ 93.75% และ ใน cypermetrin ได้ 52.50 % และอยู่รอดในน้ำได้ 97.50% ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งหลังหลังจากแช่ในสารฆ่าแมลงไม่แตกต่างกัน โดยมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกินรังผึ้งหลังแช่ในสารฆ่าแมลงchlorpyrophos 78.33% แช่ในสารฆ่าแมลง cypermetrin 75% แช่ในสารฆ่าแมลง imidaclorprid 81.67 % ขณะที่ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำนาน 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกินรังผึ้ง 100 % ส่วนไส้เดือนฝอยที่ผสมในสารฆ่าแมลงนาน 48 ชั่วโมง พบว่า ไส้เดือนฝอยสามารถอยู่รอดใน imidaclorprid chlorpyrophos และ cypermetrin ได้ 81.25 81.25 30.10 และอยู่รอดในน้ำได้ 97.50 % ตามลำดับ แต่ไม่มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้เลย ขณะที่ไส้เดือนฝอยที่แช่ในน้ำนาน 48 ชั่วโมง สามารถเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้ 90%

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

จากปัญหาแมลงศัตรูพืชหลายชนิดสร้างความต้านทานต่อสารเคมีฆ่าแมลง การปนเปื้อนของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมและผลิตผลทางการเกษตร หน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชส่งออกชนิดหนึ่งที่มีปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูพืชทำลายหลายชนิด โดยเฉพาะหนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว การใช้สารฆ่าแมลงมากทำให้เกิดพิษตกค้างบนผลิตผลซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการส่งออก จึงต้องหาแนวทางในการแก้ไขเพื่อให้สอดคล้องกับนโยบาย GAP ของกรมวิชาการเกษตร โดยทำการเกษตรแบบถูกสุขลักษณะ หลีกเลี่ยงการทำลายสิ่งแวดล้อม และลดการใช้สารเคมีซึ่งอาจมีพิษตกค้างในผลิตผลทางการเกษตร ส่งผลกระทบต่อการส่งออกสินค้าเกษตร การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูเป็นทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้เพื่อลดการใช้สารเคมี โดยเฉพาะไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* เนื่องจากข้อดีของไส้เดือนฝอยคือ สามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูได้หลายชนิด เช่น หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง (*Cossus* sp.) ตัวอ่อนด้วงหมัดผักในผักกาดหัว , (*Phyllotretra sinuata*) ด้วงงวงมันเทศ (*Cylas formicarius*) หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง (*Spodoptera exigua*) เป็นต้น (วัชรี, 2538) หนอน Sciarid ในโรงเห็ด (Grewal and Smith; 1995) หนอนหญ้าสนาม (Gerogis and Gaugler , 1991; Hatsukade , 1994) โดยเข้าทำลายทั้งระยะตัวอ่อน ระยะก่อนเข้าดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยที่เพิ่งฟัก (Kaya and Arnold, 1981; Kaya and Grieve, 1982; Lindegren and Patrick,1986 ; Lindegren et *al.,* 1990)

ไส้เดือนฝอยชนิดนี้สามารถเลี้ยงขยายในอาหารเทียมได้ (Buecher and Popiel, 1989) ทั้งอาหารแข็งกึ่งเหลวในต้นทุนต่ำเพื่อใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช (Bedding, 1981) และการเลี้ยงไส้เดือนฝอยเพื่อพัฒนาไปสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรม (Bedding, 1984) นอกจากนี้ไส้เดือนฝอยยังสามารถผลิตด้วยอาหารเหลวในถังหมักได้ (Friedman, 1990) สำหรับในประเทศไทย วัชรี และพิมลพร (2535) ได้รายงานการผลิตไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ด้วยอาหารเทียมได้เป็นผลสำเร็จในราคาต้นทุน 2-3 บาท ต่อไส้เดือนฝอย 1 ล้านตัว ซึ่งต่อมาพัฒนาเทคนิคการใช้อาหารเทียมผสมเศษฟองน้ำสังเคราะห์สามารถเพิ่มผลผลิตให้เป็นปริมาณมากได้ต่อมาพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ (วัชรี และคณะ, 2539) และในปี 2544 วัชรี และสุทธิชัย ได้รายงานการผลิตไส้เดือนฝอยโดยใช้อาหารเหลวซึ่งจะเพิ่มขีดความสามารถในการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในเชิงการค้าต่อไปได้

อย่างไรก็ตามยังมีในการทำการเกษตร ยังมีแมลงศัตรูพืชบางชนิดที่ไม่สามารถใช้ไส้เดือนฝอยป้องกันกำจัด อีกทั้งมีปัญหาการระบาดของโรคพืช ซึ่งอาจมีความจำเป็นต้องใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ร่วมกับการใช้ไส้เดือนฝอย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการทดสอบผลกระทบของสารกำจัดศัตรูพืชต่างๆ ที่ใช้ในการเกษตรต่อการอยู่รอดและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย และเพื่อเป็นการทดสอบความแข็งแรงของต้นเชื้อที่ใช้ในการผลิตไส้เดือนฝอยอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* วัย 4-5
2. ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* วัย 3 ระยะเข้าทำลายแมลง (IJ)
3. สารกำจัดศัตรูพืช
4. จานพลาสติกพร้อมฝาปิด ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม.

วิธีการ

การทดลองย่อยที่ 1 ผลกระทบของสารกำจัดแมลงศัตรูพืชต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี จำนวน 4ซ้ำ

1.imidaclopid

2.cypermetrin

3.chlorpyrifos

4. control

ทำการผสมสารสารฆ่าแมลง ชนิดต่างๆ ในอัตราที่แนะนำของสารแต่ละชนิด ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในอัตราแนะนำคือ 2,000 ตัว/มล. ลงในสารผสมของสารฆ่าแมลงนั้นๆ หลังใส่ไส้เดือน 24 และ 48 ชั่วโมง สังเกตุพฤติกรรมของไส้เดือนฝอยแต่ละชนิด จำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอด ล้างไส้เดือนฝอยให้สะอาดและนำไส้เดือนฝอยไปทดสอบคุณภาพในการเข้าทำลายแมลง โดยใช้หนอนกินรังผึ้ง

การบันทึกข้อมูล (Observation or Measurements)

-ลักษณะอาการของไส้เดือนฝอย

-จำนวนไส้เดือนฝอยที่มีชีวิตรอด

-เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายแมลงของไส้เดือนฝอย

-นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผล

ผลการทดลอง

ดำเนินการศึกษาผลของสารฆ่าแมลงต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* โดยทำการศึกษาผลของสารฆ่า chlorpyrophos 40% cypermetrin 25% imidaclorprid 10% ผสมสารฆ่าแมลงกับน้ำในอัตราที่แนะนำคือสารฆ่าแมลง chlorpyrophos อัตรา 20 อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร สารฆ่าแมลง cypermetrin อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร สารฆ่าแมลง imidaclorprid อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร ใส่ไส้เดือนฝอยจำนวน 200,000 ตัวลงในสารฆ่าแมลงที่ผสมแล้วปริมาตร 100 มล.ตั้งทิ้งไว้ 24 และ 48 ชั่วโมง ตรวจนับปริมาณการอยู่รอดของไส้เดือนฝอย หลังทำการทดลองผสมไส้เดือนฝอยในสารฆ่าแมลง 24 และ 48 ชั่วโมง ล้างไส้เดือนฝอยให้สะอาดจากสารฆ่าแมลง และนำไปทดสอบประสิทธภาพในการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้ง โดยหยดไส้เดือนฝอยอัตรา 200 ตัว/น้ำ 0.5 มล. ลงบนจานทดลอง ที่รองด้วยกระดาษกรอง ปล่อยหนอนกินรังผึ้ง 10 ตัว/จานทดลอง หลังทำการทดลอง 48 ชั่วโมง บันทึกเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกินรังผึ้ง พบว่า ที่ 24 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยฝอย *Steinernema carpocapsae* สามารถอยู่รอดในสารฆ่าแมลง imidaclorprid ได้ 93.63% ใน chlorpyrophos ได้ 93.75% และ ใน cypermetrin ได้ 52.50 % และอยู่รอดในน้ำได้ 97.50% ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งของไส้เดือนฝอยหลังจากแช่ในสารฆ่าแมลง ไม่แตกต่างกัน โดยมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกินรังผึ้งหลังแช่ในสารฆ่าแมลงchlorpyrophos 78.33% แช่ในสารฆ่าแมลง cypermetrin 75% แช่ในสารฆ่าแมลง imidaclorprid 81.67 % ขณะที่ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำนาน 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกินรังผึ้ง 100 % ส่วนไส้เดือนฝอยที่ผสมในสารฆ่าแมลงนาน 48 ชั่วโมง พบว่า ไส้เดือนฝอยสามารถอยู่รอดใน imidaclorprid chlorpyrophos และ cypermetrin ได้ 81.25 81.25 30.10 และอยู่รอดในน้ำได้ 97.50 % ตามลำดับ แต่ไม่มีประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้เลย ขณะที่ไส้เดือนฝอยที่แช่ในน้ำนาน 48 ชั่วโมงสามารถเข้าทำลายหนอนกินรังผึ้งได้ 90%

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สมสุข พิมลพร นันทะ และ เอนก บุตรรักษ์. 2537. การควบคุมหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* ในดาวเรืองด้วยไส้เดือนฝอย ผลงานแผ่นภาพ ในการประชุมสัมมนาทางวิชาการ แมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 9 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 55-62.

วัชรี สมสุข วินัย รัชตปกรณ์ชัย และพิมลพร นันทะ. 2534ก. การใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ควบคุมด้วงหมัดผักในผักกาดหัว. วารสารกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาเกษตร. 13 : 183 – 188.

วัชรี สมสุข สุธน สุวรรณบุตร และพิมลพร นันทะ. 2534ข. ศึกษาการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* (Weiser) ในการควบคุมด้วงงวงมันเทศในสภาพธรรมชาติ. รายงานผลวิจัยประจำปี 2534 กองกีฏและสัตววิทยา.10 หน้า.

วัชรี สมสุข และ วิไลวรรณ เวชยันต์. 2547. ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง. ใน การประชุมวิชาการประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. 22-25 มิถุนายน 2547 ณ โรงแรมโนโวเทล โคลาเรีย ริมเพ อ.แกลง จ.ระยอง.

Cabanillas, H.E., Poinar, G.O., Raulason, J.R. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida : Steinernematidae) from Texas. Fundam. Appl. Nematol; 17 (2), 123-131.

Dutky, S.R., J.V. Thomson and G.W. Cantwell. 1964. Technique for the propagation of the DD-136 nematode. Journal of Insect Pathology 6 ; 417-422.

Friendman, M.J. 1990. Commercial production and development, pp. 153-173. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Hazir S., S.P. Stock, H. K. Kaya, A.M. Koppenhofer, and N. Keshin. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). Journal of Invertebrate Pathology 77 : 243-250.

Klein, Michael. G., 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pest. , pp. 195-210. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Kung, S.P., R. Gaugler, and H.K. Kaya. 1991. Effect of soil tempeature,moisture and rerative humidity on entomopathogenic nematode persistance. Journal of Invertebrate Pathology 57: 242-249.

Stock, S.P., V. Somsook and A.P. Reed. 1998. *Steinernema siamkayai* n. sp. Rhabditida : Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Thailand. Systematic Parasitology 91 : 105-113.

Grewal. P.S. and Smith C. 1995. Insect-Parasitic Nematodes for Mushroom Pest Control. Mushroom News : April : 15-25.

Grewal. P.S. and P.N. Richardson. 1993. Effect of application rate of *Steinernema feltiae* (Nematoda : Steinernematidae) on control of the mushroom sciarid fly *Lycoriella auripila.* Biocontrol Science and Technology 3:29-40

Grewal. P.S., P.M. Tomalak., C.B.O. Keil and Gaugler. 1993. Evaluation of generally selected strain of *Steinernema feltiae* against the mushroom *Lycoriella auripila.* sciarid. Ann. appl. Biol. 123:695-702

Richardson. P.N. and P.S. Grewal. 1991. Comparative assessment of biological (Nematoda: *Steinernema feltiae*) and chemical methods of control for the mushroom fly *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae). Biocontrol Science and Technology. 1:217-228.

Hatsukade, M. 1994. Control of turf grass insect pests with entomopathogenic nematodes in Japan. In Food&Fertilizer Technology Center. Technical bulletin 139:15-21.

รูปแบบการผลิตขยายไวรัส NPV หนอนกระทู้ผักในระดับอุตสาหกรรม

Commercial Production of Common Cutworm *Spodoptera litura* Nuclear Polyhedrosis Virus

อัจฉรา ตันติโชดก อิศเรส เทียนทัด สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการทดลองเลี้ยงขยายหนอนกระทู้ผัก เพื่อให้ได้ปริมาณมากโดยเลี้ยงเปรียบเทียบกันระหว่างภาชนะเลี้ยงแบบถาดขนาดช่องเลี้ยง 4x4 เซนติเมตร จำนวน 36 ช่อง/ถาด และขนาดช่องเลี้ยง 1.5x3.0 เซนติเมตร จำนวน 98 ช่อง/ถาด โดยใช้หนอนกระทู้ผักวัย 3 วันที่ 1ในการเริ่มทดลองและเลี้ยงหนอนจำนวน 1 ตัวต่อ 1 ช่อง จากผลการทดลองพบว่า ภาชนะเลี้ยงขนาด 36 ช่อง/ถาด หนอนสามารถเจริญเติบโตจนเข้าดักแด้ได้เฉลี่ย 88.8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนภาชนะเลี้ยงขนาด 98 ช่อง/ถาด หนอนสามารถเจริญเติบโตจนเข้าดักแด้ได้เฉลี่ย 90.8 เปอร์เซ็นต์

ได้ทำการทดลองผลิตขยายเชื้อไวรัส SINPV โดยใช้ภาชนะเลี้ยงแบบถาด ขนาดช่องเลี้ยง 1.5x3.0 เซนติเมตร จำนวน 98 ช่อง/ถาด โดยทำการทดลองหาอัตราความเข้มข้นของเชื้อไวรัสอัตราต่างๆกัน จำนวน 3 อัตราความเข้มข้น ที่ $3x10^6$, $6x10^6$, $9x10^6$และ $1.2x10^7$ PIB/ml โดยหยดเชื้อจำนวน 3, 4 และ 5 มล./ถาด ลงบนผิวหน้าของอาหารเทียมแล้วใช้แปรงขนนกปัดให้เชื้อคลุมผิวหน้าอาหารเทียมทั่วทั้งถาดเลี้ยง ก่อนกดช่องเลี้ยงลงบนถาด โดยทดลองกับหนอนกระทู้ผักวัยที่ 4 หลังจากลอกคราบ 1 วัน และ 2 วัน ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า เมื่อหนอนได้รับเชื้อไวรัส NPV จะเริ่มตายในวันที่ 6 ไปจนถึงวันที่ 14 ดังนั้นจึงวางแผนการทดลองตรวจนับผลการตายและตรวจนับปริมาณเชื้อไวรัสจากหนอนที่เป็นโรคตาย โดยใช้ระยะเวลา 10 วัน หลังจากปลูกเชื้อ จากการทดลองใช้หนอนกระทู้ผักวัยที่ 4 อายุ 1 วัน ใช้ inoculum ที่ $3x10^6$, $6x10^6$, $9x10^6$และ $1.2x10^7$ PIB/ml ตรวจนับผลการตายของหนอนที่ทดลองระยะเวลา 10 วัน หลังจากได้รับเชื้อ เมื่อใส่ inoculum 3 มล./ถาด พบหนอนตาย 62.24, 68.36, 82.65 และ 67.34 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ใช้ inoculum 4มล./ถาด พบหนอนตาย 71.42, 78.59, 89.74 และ 85.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใช้ inoculum 5 มล./ถาด พบหนอนตาย 81.63, 83.67, 94.89 และ 85.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าในทุกอัตราความเข้มข้นของไวรัสที่นำมาปลูกเชื้อ การใช้ไวรัส SINPV ที่อัตรา 5 มล./ถาด จะให้เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนสูงกว่าที่อัตรา 3 และ 4 มล./ถาด

รหัสโครงการ 07-01-49-06

การศึกษาปริมาณเชื้อไวรัสที่ผลิตได้จากการเลี้ยงหนอนกระทู้ผักในถาดเลี้ยงขนาด 98 ช่อง/ถาด โดยใช้ inoculum 3 อัตราที่ $3x10^6$, $6x10^6$และ $9x10^6$ PIB/ml ที่อัตรา 4 มล./ถาด พบว่าสามารถผลิตไวรัส SlNPV ได้ $1.99x10^8$, $1.72x10^8$ และ $1.59x10^8$ PIB/ตัว ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าที่อัตรา inoculum ต่ำที่ $3x10^6$ PIB/ml จะมีการตายของหนอนต่ำกว่าที่อัตรา $6x10^9$ และ $9x10^6$ PIB/ml แต่จะได้จำนวนผลึก NPV/หนอน 1 ตัวสูงกว่า

คำนำ

สืบเนื่องจากการก่อตั้งองค์การการค้าโลก (World Trade Organization) ระบบการค้าระหว่างประเทศได้เปลี่ยนแปลงไปในลักษณะระบบการค้าแบบเสรีภายใต้กรอบกติกาของ WTO และได้จัดทำความตกลงว่าด้วย การใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phyto-Sanitary Measures: SPS) ซึ่งหมายความว่าประเทศสมาชิกมีสิทธิที่จะใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชที่จำเป็นเพื่อคุ้มครองชีวิตและสุขภาพมนุษย์ สัตว์ หรือพืชที่ไม่ขัดกับบทบัญญัติทั่วไปของความตกลงและแนวปฏิบัติ ที่พัฒนาขึ้นมาโดยองค์การระหว่างประเทศที่เกี่ยวข้อง ทำให้ระบบการค้าระหว่างประเทศอยู่บนพื้นฐานของการแข่งขันที่เสรีและเป็นธรรมยิ่งขึ้นกว่าเดิม โดยมีการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชในรูปแบบของการกำหนดมาตรฐานคุณภาพสินค้า และกฎระเบียบต่างๆ ในด้านสุขอนามัยในการนำเข้าสินค้า โดยเฉพาะเรื่องสุขอนามัยที่มีผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพและชีวิตของผู้บริโภค มีการกำหนดปริมาณสารพิษตกค้าง สารปนเปื้อน ความสะอาดปลอดเชื้อโรคที่เป็นพิษภัยต่อผู้บริโภค อย่างไรก็ตามในขณะที่ประชาคมโลกกำลังตระหนักถึง อันตรายที่เกิดจากปริมาณสารพิษตกค้างในพืชผักและผลไม้ ตลอดถึงความปลอดภัยของผู้ใช้สารเคมีในการควบคุมศัตรูพืช ประเทศไทยซึ่งนับได้ว่าเป็นประเทศที่ผลิตอาหารเลี้ยงประชากรทั่วโลก มีปริมาณการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตรในระดับสูงขึ้นในแต่ละปี จากตัวเลขการนำเข้าของสารฆ่าแมลง ระยะเวลา 20 ปี พบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้นตลอดมา ปัจจุบันมีปริมาณนำเข้าของสารกำจัดศัตรูพืชเพิ่มขึ้นจากปี 2519 ถึง 5 เท่า ในปี 2541 มีการนำเข้าสารฆ่าแมลงเป็นจำนวน 7,745 ตัน มูลค่า 2,179 ล้านบาท การป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชเป็นส่วนสำคัญส่วนหนึ่งของการผลิตทางการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อการเพิ่มผลผลิตเพื่อใช้บริโภคภายในประเทศและเพื่อส่งออก เกษตรกรได้คุ้นเคยกับการใช้สารเคมีกำจัดแมลงมานานมากกว่า 30 ปี เนื่องจากมีฤทธิ์รุนแรงและควบคุมความเสียหายจากแมลงศัตรูพืชได้รวดเร็วทันต่อเหตุการณ์ โดยไม่คิดถึงปัญหาที่ตามมา ปัจจุบันพบว่าแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจทุกชนิด สามารถสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง เป็นผลทำให้เกษตรกรต้องพ่นสารฆ่าแมลงบ่อยครั้งขึ้น ใช้ชนิดของสารฆ่าแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงมากขึ้นและใช้สารฆ่าแมลงหลายชนิดพ่นพร้อมๆ กันในคราวเดียว เป็นสาเหตุทำให้เกษตรกรผู้ใช้สารฆ่าแมลงได้รับอันตราย เกิดพิษ

ตกค้างของสารฆ่าแมลงบนผลิตผล ตลอดถึงเกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้ใช้และผู้บริโภค และส่งผลกระทบต่อการส่งผลผลิตทางการเกษตรไปจำหน่ายต่างประเทศ ปัจจุบันทุกฝ่ายได้ตระหนักถึงอันตรายจากสารฆ่าแมลงที่มีต่อสุขภาพของประชากร ผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมและผลเสียต่อการส่งออกผลผลิตทางการเกษตรของประเทศ ทั้งนี้งานค้นคว้าวิจัยจุลินทรีย์เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช ได้ค้นคว้าวิจัยเพื่อนำจุลินทรีย์จากธรรมชาติมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อนำไปใช้ลดหรือทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง โดยการค้นคว้าวิจัยเพื่อนำไวรัสชนิด Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV) ที่พบในประเทศไทยมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดแมลงต่อไป จุลินทรีย์ชนิดดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูง มีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมาย จึงปลอดภัยต่อแมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์ มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อมสูง โดยได้ผ่านการทดสอบจาก US Environmental Protection Agency ประเทศสหรัฐอเมริกาแล้ว ได้เป็นที่ยอมรับในประเทศที่พัฒนาแล้วว่าไวรัส NPV เป็นจุลินทรีย์ที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นหลักร่วมกับวิธีการป้องกันกำจัดอื่นๆ ที่เหมาะสมในระบบการจัดการศัตรูพืช (Integrated Pest Management) กรมวิชาการเกษตรได้มีนโยบายที่จะลดความเสี่ยงของประชาชน และลดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยหาสิ่งทดแทนเพื่อลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยที่คุณภาพและผลผลิตไม่ลดลงและต้นทุนการผลิตไม่สูงขึ้น จากการที่ไวรัส SeNPV, HaNPV และ SlNPV สามารถนำไปใช้ทดแทนสารฆ่าแมลงได้ดีในหลายพืช ทำให้ความต้องการใช้เชื้อไวรัส NPV ของหน่วยงานของกรมวิชาการเกษตรและหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องตลอดจนเกษตรกรเพิ่มมากขึ้น ขณะเดียวกันภาคธุรกิจเอกชนก็สนใจที่จะนำเทคโนโลยีดังกล่าวไปผลิตและขยายผลต่อไป

นอกจากนี้โครงการวิจัยเทคโนโลยีการผลิตขยายไวรัส NPV หนอนกระทู้ผักมุ่งวิจัยและพัฒนาประสิทธิภาพของสารชีวินทรีย์ชนิดนี้ให้ได้มาตรฐาน มีคุณภาพและมีระบบการผลิตเชิงอุตสาหกรรมที่สม่ำเสมอ เพื่อแข่งขันกับสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชที่มีจำหน่ายอย่างแพร่หลายในท้องตลาด

วิธีดำเนินการ

ขั้นตอนที่ 1 การทดลองเลี้ยงหนอนกระทู้ผัก โดยการใช้ภาชนะเลี้ยง 4 ขนาด คือ

1. ถ้วยพลาสติกขนาด 2 ออนซ์
2. กล่องพลาสติกขนาด 15x22x4.5 เซนติเมตร
3. กล่องพลาสติกขนาด 19x28x10.5 เซนติเมตร
4. กล่องพลาสติกขนาด 27x26x8 เซนติเมตร

- เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ผัก

- เปรียบเทียบผลผลิตของ%การเข้าดักแด้และดักแด้ที่สมบูรณ์ น้ำหนักดักแด้

ขั้นตอนที่ 2 การทดลองเปรียบเทียบอัตราการเลี้ยงหนอนต่อภาชนะเลี้ยง เพื่อได้ปริมาณหนอนที่เหมาะสมที่ได้ผลผลิตดักแด้ที่สมบูรณ์และมีน้ำหนักดี

- นำผลการทดลองจากขั้นตอนที่ 1 โดยนำภาชนะขนาดที่เหมาะสมมาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ผัก

- เปรียบเทียบปริมาณอาหารเทียมต่อภาชนะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหนอน

- เปรียบเทียบปริมาณหนอนที่เหมาะสมต่อหน่วยพื้นที่ เช่น 1 ตัว/3 ตร.ซม., 1ตัว/6 ตร.ซม. 1ตัว/8 ตร.ซม. และ 1 ตัว/10 ตร.ซม.

ขั้นตอนที่ 3 ปรับสูตรอาหารเทียมเพื่อลดค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงหนอน เพื่อลดต้นทุนการผลิตหนอน

ขั้นตอนที่ 4 เพิ่มขีดความสามารถในการผลิตไวรัส SINPV จากหนอนกระทู้ผัก

- ศึกษาอัตราความเข้มข้นของไวรัส SINPV ให้สามารถทำให้หนอนกระทู้ผักตายในระยะเวลา 12-15 วัน ซึ่งหนอนมีขนาดตัวโตจะให้ผลึกไวรัสได้มาก

- ศึกษาขนาด (อายุ) ของหนอนที่เหมาะสมต่อการให้ผลผลิตไวรัส/ตัวได้สูงสุด โดยการใช้หนอนกระทู้ผักที่อายุ 7, 8, 9 และ 10 วัน มาทำการทดลอง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ขั้นตอนที่1 ทดลองเลี้ยงหนอนกระทู้ผักสูตรมาตรฐาน โดยเปรียบเทียบน้ำหนักหนอนขนาดโตเต็มที่และน้ำหนักดักแด้ที่อายุ 3 วัน

ขั้นตอนที่ 2 เลี้ยงหนอนกระทู้ผักในภาชนะที่คัดเลือกจากขั้นตอนที่ 1 โดยทำการเปรียบเทียบจำนวนหนอนต่อภาชนะเลี้ยงและอัตราการใช้อาหารเทียมต่อภาชนะเลี้ยง เปรียบเทียบขนาดและน้ำหนักของหนอนและดักแด้

ขั้นตอนที่ 3 ปรับสูตรอาหารเทียมโดยเปรียบเทียบกับสูตรมาตรฐาน เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของหนอนโดยดูน้ำหนักของหนอนและน้ำหนักดักแด้และคิดค่าใช้จ่ายของอาหารเทียม

ขั้นตอนที่ 4

1. ทดลองใช้หนอนกระทู้ผักได้รับไวรัส SINPV ที่อัตราต่างๆ โดยใช้หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 อายุ 8 วัน ทดลอง เปรียบเทียบผลการตายของหนอนที่ระยะเวลา 9, 10, 11, 12, 13 และ 14 วัน

2. ทดลองใช้หนอนอายุ 7, 8, 9, 10 วันได้รับเชื้ออัตราที่ได้จากการทดลองในข้อ 1 มาทดลองเปรียบเทียบระยะเวลาที่หนอนตาย เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนและปริมาณผลึกไวรัสที่อยู่ในซากหนอน

การบันทึกข้อมูล

ขั้นตอนที่ 1 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต น้ำหนักหนอนโตเต็มที่ น้ำหนักดักแด้และเปอร์เซ็นต์การเข้าดักแด้

ขั้นตอนที่ 2 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต ขนาดของหนอน น้ำหนักของหนอนโตเต็มที่ น้ำหนักดักแด้และเปอร์เซ็นต์การดักแด้

ขั้นตอนที่ 3 บันทึกการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การเข้าดักแด้ของหนอนที่เลี้ยงบนอาหาร เทียมแต่ละสูตรค่าใช้จ่ายของอาหารเทียมแต่ละสูตร

ขั้นตอนที่ 4 บันทึกระยะเวลาที่หนอนตาย เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนและปริมาณผลึกไวรัสในซากหนอนตาย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทำการทดลองเลี้ยงขยายหนอนกระทู้ผัก เพื่อให้ได้ปริมาณมากโดยเลี้ยงเปรียบเทียบกันระหว่างภาชนะเลี้ยงแบบถาดขนาดช่องเลี้ยง 4x4 เซนติเมตร จำนวน 36 ช่อง/ถาด และขนาดช่องเลี้ยง 1.5x3.0 เซนติเมตร จำนวน 98 ช่อง/ถาด โดยใช้หนอนกระทู้ผักวัย 3 วันที่ 1ในการเริ่มทดลองและเลี้ยงหนอนจำนวน 1 ตัวต่อ 1 ช่อง จากผลการทดลองพบว่า ภาชนะเลี้ยงขนาด 36 ช่อง/ถาด หนอนสามารถเจริญเติบโตจนเข้าดักแด้ได้เฉลี่ย 88.8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนภาชนะเลี้ยงขนาด 98 ช่อง/ถาด หนอนสามารถเจริญเติบโตจนเข้าดักแด้ได้เฉลี่ย 90.8 เปอร์เซ็นต์

ได้ทำการทดลองผลิตขยายเชื้อไวรัส SINPV โดยใช้ภาชนะเลี้ยงแบบถาด ขนาดช่องเลี้ยง 1.5x3.0 เซนติเมตร จำนวน 98 ช่อง/ถาด โดยทำการทดลองหาอัตราความเข้มข้นของเชื้อไวรัสอัตราต่างๆกัน จำนวน 3 อัตราความเข้มข้น ที่ $3x10^6$, $6x10^6$, $9x10^6$และ $1.2x10^7$ PIB/ml โดยหยดเชื้อจำนวน 3, 4 และ 5 มล./ถาด ลงบนผิวหน้าของอาหารเทียมแล้วใช้แปรงขนนกปัดให้เชื้อคลุมผิวหน้าอาหารเทียมทั่วทั้งถาดเลี้ยง ก่อนกดช่องเลี้ยงลงบนถาด โดยทดลองกับหนอนกระทู้ผักวัยที่ 4 หลังจากลอกคราบ 1 วัน และ 2 วัน ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า เมื่อหนอนได้รับเชื้อไวรัส NPV จะเริ่มตายในวันที่ 6 ไปจนถึงวันที่ 14 ดังนั้นจึงวางแผนการทดลองตรวจนับผลการตายและตรวจนับปริมาณเชื้อไวรัสจากหนอนที่เป็นโรคตาย โดยใช้ระยะเวลา 10 วัน หลังจากปลูกเชื้อจากการทดลองใช้หนอนกระทู้ผักวัยที่ 4 อายุ 1 วัน ใช้ inoculum ที่ $3x10^6$, $6x10^6$, $9x10^6$และ $1.2x10^7$ PIB/ml ตรวจนับผลการตายของหนอนที่ทดลองระยะเวลา 10 วัน หลังจากได้รับเชื้อ เมื่อใส่ inoculum 3 มล./ถาด พบหนอนตาย 62.24, 68.36, 82.65 และ 67.34 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ใช้ inoculum 4มล./ถาด พบหนอนตาย 71.42, 78.59, 89.74 และ 85.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ใช้ inoculum 5 มล./ถาด พบหนอนตาย 81.63, 83.67, 94.89 และ 85.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

พบว่าในทุกอัตราความเข้มข้นของไวรัสที่นำมาปลูกเชื้อ การใช้ไวรัส SINPV ที่อัตรา 5 มล./ถาด จะให้เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนสูงกว่าที่อัตรา 3 และ 4 มล./ถาด

การศึกษาปริมาณเชื้อไวรัสที่ผลิตได้จากการเลี้ยงหนอนกระทู้ผักในถาดเลี้ยงขนาด 98 ช่อง/ถาด โดยใช้ inoculum 3 อัตราที่ $3x10^6$, $6x10^6$และ $9x10^6$ PIB/ml ที่อัตรา 4 มล./ถาด พบว่าสามารถผลิตไวรัส SINPV ได้ $1.99x10^8$, $1.72x10^8$ และ $1.59x10^8$ PIB/ตัว ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าที่อัตรา inoculum ต่ำที่ $3x10^6$ PIB/ml จะมีการตายของหนอนต่ำกว่าที่อัตรา $6x10^9$ และ $9x10^6$ PIB/ml แต่จะได้จำนวนผลึก NPV/หนอน 1 ตัวสูงกว่า

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก

Development of *Spodoptera litura* Nuclear Polyhedrosis Virus Fomulation for Controlling Common Cutworm larvae.

อัจฉรา ตันติโชดก อิศเรส เทียนทัด สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการทดลองหาอัตราการผสมของสารช่วยในการแขวนลอย(emulsifier) สารช่วยเปียกใบ (wetter/spreader) และสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์(filler) โดยเลือกใช้สาร Gum xanthan เป็นตัวช่วยให้แขวนลอย ใช้สาร emulsogen เป็นตัวช่วยในการเปียกใบ และใช้สาร glycerine เป็นตัวเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ โดยทำการทดลองผสมสาร Gum xanthan ที่อัตรา 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 กรัม/สารแขวนลอย SlNPV 1 ลิตร ทดลองใช้สาร emulsogen อัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 มล./ สารแขวนลอย SeNPV 1 ลิตร ทดลองใช้ glycerine ที่อัตรา 100, 150, 200 มล./สารแขวนลอย SlNPV 1 ลิตร จากการทดลองพบว่าสาร Gum xanthan จะช่วยให้สารแขวนลอย SlNPV คงตัวอยู่ได้ดีที่ความเข้มข้น 2.0-2.5 กรัม/ลิตร โดยที่อัตรา 3.0 กรัม ทำให้สารแขวนลอยเข้มข้นเกินไปทำให้การรวมตัวกับสารอื่นๆไม่ดี การใช้สารช่วยเปียกใบ emulsogen ทุกอัตราที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 มล./ลิตร ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อนำมาผสมกับสารแขวนลอยไวรัส การใช้ glycerine เป็นสารช่วยเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ พบว่าทุกอัตราที่ 100,150 และ 200 มล./ลิตร สามารถรวมตัวได้ดีกับสารแขวนลอย SlNPV

การทดลองทำสูตรสำเร็จ สูตรแขวนลอยเข้มข้น (Flowable liquid) ของไวรัส *Spodoptera litura* NPV จากผลการทดลองใช้ Gum xanthan ที่อัตรา 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3 กรัม/ไวรัส SlNPV 1 ลิตร ใช้สารช่วยแขวนลอย emulsogen ที่อัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 มล/ไวรัส SlNPV 1 ลิตร และ glycerine อัตรา 100, 150 และ 200 มล/SlNPV 1 ลิตร เมื่อนำมาเข้าเครื่องผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenizer) ที่ 2,000 รอบ/นาที พบว่าการใช้ Gum xanthan ที่อัตรา 2 กรัม จะให้ผลการแขวนลอยเป็นเนื้อเดียวกันดีที่สุด แต่ที่อัตรา 2.5 และ 3.0 กรัม จะทำให้สารแขวนลอยข้นเกินไป การใช้ emulsogen ช่วยแขวนลอย ที่อัตรา 10, 20 และ 30 มล/SlNPV 1 ลิตร ให้ผลการแยกชั้นได้ไม่ต่างกัน ที่อัตรา 40 และ 50 มล. จะแยกชั้นเมื่อเวลาอย่างรวดเร็วที่ 3 วัน การใช้ glycerine ที่อัตรา 100, 150 และ 200 มล/SlNPV 1 ลิตร ไม่เห็นความแตกต่างของแต่ละอัตราต่อการรวมตัวและแขวนลอยในระยะเวลา 1-3 วัน

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV ทั้งสูตรสารแขวนลอยในน้ำและสูตรผงละลายน้ำ เป็นปัจจัยหลักในการพัฒนาคุณภาพเชื้อไวรัสเพื่อการนำไปใช้ ไวรัส NPV ผลิตจากตัวหนอนซึ่งเป็นแมลงอาศัยโดยตรง ประสิทธิภาพของ Bt หรือ NPV จะคงที่อยู่ได้นานเพียงใดอยู่ที่การทำสูตรสำเร็จ (formulation) ซึ่งในหลักการผลิตจุลินทรีย์นั้น จุลินทรีย์ที่ผลิตได้ควรเก็บไว้ได้นานเกินกว่า 18 เดือน ดังนั้นการวิจัยเพื่อการทำสูตรสำเร็จเพื่อให้เก็บรักษาผลิตพันธุ์ไวรัส NPV ในสภาพอากาศร้อนในประเทศไทยจึงมีความสำคัญมากกว่าประเทศที่มีอากาศเย็น เช่น ในยุโรปและอเมริกา รูปแบบการทำสูตรสำเร็จที่เหมาะสมของแต่ละชนิดจุลินทรีย์และสภาพแวดล้อมมีส่วนสำคัญต่อการเก็บรักษาและต่อประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ ที่พัฒนาสูตรสำเร็จสามารถนำไปใช้ได้จริงในแปลงเกษตรกรโดยประสิทธิภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชไม่ลดลง ซึ่งการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในสภาพไร่จริง เพื่อเป็นข้อมูลชี้ให้เห็นว่า การพัฒนาสูตรสำเร็จไวรัส NPV สามารถเพิ่มศักยภาพในการเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชเมื่อเทียบกับสูตรดั่งเดิมที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน

วิธีดำเนินการ

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> การผลิตขยายเชื้อไวรัส เอ็น พี วีหนอนกระทู้ผัก ทำการทดลองโดยใช้ ไวรัสเอ็น พี วี ของหนอนกระทู้ผัก ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง Ultracentrifuge โดยวิธี Sucrose Gradient Centrifugation นำมาปลูกเชื้อบนอาหารเทียม (Surfaced layer) ที่ความเข้มข้น $1x10^{7}$ ผลึกต่อมิลลิลิตร เคลือบผิวหน้าอาหารเทียมถาดละ 3 มิลลิลิตรกดช่องเลี้ยงลงบนถาดใช้หนอนกระทู้ผักวัยที่ 3 ช่องละ 1 ตัวปิดฝาถาด เลี้ยงหนอนไว้ 7 วัน จากนั้นเก็บหนอนตายใส่ flask เก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ –20 $^{\circ}$C รอการทำสูตรสำเร็จต่อไป

<u>ขั้นตอนที่ 2</u> ทดสอบอัตราส่วนของสารเคมีและไวรัส ที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเกิดโรคของหนอนกระทู้ผัก โดยแบ่ง SlNPV, Glycerene, Kaolin, Silica, Kelzan, Emulsogen และน้ำ ออกเป็น 7 วิธีการตามอัตราส่วนและชนิดของสารเคมีที่แตกต่างกัน นำมาทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก ซึ่งได้จากการเก็บมาจากแปลงเกษตรกร และเลี้ยงด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการจนถึงรุ่นที่สอง วัยที่ 3 และ 4 ในแต่ละวัยทดสอบกับสารแขวนลอยไวรัส 6 วิธีการและ 1 วิธีการเปรียบเทียบ ที่ความเข้มข้น $2x10^{7}$ผลึกต่อมิลลิลิตร โดยในแต่ละวัยใช้หนอนกระทู้ผัก 700 ตัว (20 larvae/replication, 5 replication/treatment) หาวิธีการที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเกิดโรคของไวรัส NPV หนอนกระทู้ผัก

การบันทึกข้อมูล

บันทึกผลการทดสอบอัตราส่วนของสารเคมีและไวรัส ที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการเกิดโรคของหนอนกระทู้ผัก ทำการบันทึกผลการตายของหนอนในแต่ละวัยที่วิธีการต่างๆ ตลอดถึงการคำนวณค่าเปอร์เซ็นการตายที่แท้จริง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเพื่อหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพการเกิดโรคดีที่สุด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทำการทดลองหาอัตราการผสมของสารช่วยในการแขวนลอย(emulsifier) สารช่วยเปียกใบ (wetter/spreader) และสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์(filler) โดยเลือกใช้สาร Gum xanthan เป็นตัวช่วยให้แขวนลอย ใช้สาร emulsogen เป็นตัวช่วยในการเปียกใบ และใช้สาร glycerine เป็นตัวเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ โดยทำการทดลองผสมสาร Gum xanthan ที่อัตรา 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 กรัม/สารแขวนลอย SlNPV 1 ลิตร ทดลองใช้สาร emulsogen อัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 มล./ สารแขวนลอย SeNPV 1 ลิตร ทดลองใช้ glycerine ที่อัตรา 100, 150, 200 มล./สารแขวนลอย SlNPV 1 ลิตร จากการทดลองพบว่าสาร Gum xanthan จะช่วยให้สารแขวนลอย SlNPV คงตัวอยู่ได้ดีที่ความเข้มข้น 2.0-2.5 กรัม/ลิตร โดยที่อัตรา 3.0 กรัม ทำให้สารแขวนลอยเข้มข้นเกินไปทำให้การรวมตัวกับสารอื่นๆไม่ดี การใช้สารช่วยเปียกใบ emulsogen ทุกอัตราที่ 10, 20, 30, 40 และ 50 มล./ลิตร ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อนำมาผสมกับสารแขวนลอยไวรัส การใช้ glycerine เป็นสารช่วยเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ พบว่าทุกอัตราที่ 100,150 และ 200 มล./ลิตร สามารถรวมตัวได้ดีกับสารแขวนลอย SlNPV

การทดลองทำสูตรสำเร็จ สูตรแขวนลอยเข้มข้น (Flowable liquid) ของไวรัส *Spodoptera litura* NPV จากผลการทดลองใช้ Gum xanthan ที่อัตรา 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3 กรัม/ไวรัส SlNPV 1 ลิตร ใช้สารช่วยแขวนลอย emulsogen ที่อัตรา 10, 20, 30, 40 และ 50 มล/ไวรัส SlNPV 1 ลิตร และ glycerine อัตรา 100, 150 และ 200 มล/SlNPV 1 ลิตร เมื่อนำมาเข้าเครื่องผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenizer) ที่ 2,000 รอบ/นาที พบว่าการใช้ Gum xanthan ที่อัตรา 2 กรัม จะให้ผลการแขวนลอยเป็นเนื้อเดียวกันดีที่สุด แต่ที่อัตรา 2.5 และ 3.0 กรัม จะทำให้สารแขวนลอยข้นเกินไป การใช้ emulsogen ช่วยแขวนลอย ที่อัตรา 10, 20 และ 30 มล/SlNPV 1 ลิตร ให้ผลการแยกชั้นได้ไม่ต่างกัน ที่อัตรา 40 และ 50 มล. จะแยกชั้นเมื่อเวลาอย่างรวดเร็วที่ 3 วัน การใช้ glycerine ที่อัตรา 100, 150 และ 200 มล/SlNPV 1 ลิตร ไม่เห็นความแตกต่างของแต่ละอัตราต่อการรวมตัวและแขวนลอยในระยะเวลา 1-3 วัน

วิจัยและพัฒนารูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง (*in vitro*)

Research and Development SeMNPV Production from cell culture (*in vitro*)

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต
วัชรี สมสุข สาทิพย์ มาลี เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การวิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV (*Spodoptera exigua* multiple-nucleocapsid Nucleopolyhedrovirus) จากเซลล์เพาะเลี้ยง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ ระหว่าง เดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550 เริ่มจากการเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้หอมสายพันธุ์ไทย แล้วคัดเลือกเซลล์เพาะเลี้ยงที่มีคุณภาพโดยวัดจากค่าร้อยละการเจริญของเซลล์ (cells viability) ในการทดลองครั้งนี้ใช้เซลล์ที่มีค่าเท่ากับ 94.81 % มาใช้ ในการทดลองเพาะเลี้ยงขยายเพิ่มจำนวนด้วยอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ สูตรดัดแปลง (TC 100) อัตราความเข้มข้นเริ่มต้น $2x10^5$ เซลล์/มิลลิลิตร ในภาชนะเลี้ยง T-flask (tissue culture flask) ขนาดจุ 50 มิลลิลิตร และ E-flask (erlenmayer flask) ขนาดจุ 125 มิลลิลิตร เซลล์เจริญเพิ่มขึ้น 5 เท่า ภายใน 4 วัน จากนั้นจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพการสร้างผลึกไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง 2 ชนิดคือ Se-cell line ที่เพาะเลี้ยงและคัดเลือกดังกล่าวข้างต้น และ เปรียบเทียบกับ Sf-cell line (เซลล์ที่ผลิตเป็นการค้าเป็นเซลล์เพาะเลี้ยงหนอน *Spodoptera frugiperda*) โดยใช้อนุภาคไวรัส ปริมาตร 7 ระดับ คือ 0.1, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8, 1 มิลลิลิตรต่อความเข้มข้นของเซลล์ตั้งต้น 5×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร 0.5, 0.6, 0.8, 1 มิลลิลิตร ใน T-flask จำนวน 2 ซ้ำ (2 ขวด/อัตรา) พบว่า อัตรา 0.5, 0.6, 0.8, 1 มิลลิลิตร สร้างผลึกโปรตีนตั้งแต่วันที่ 4 เมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ส่วน Sf-cell line line ไม่มีการสร้างผลึกโปรตีน และ พบว่าที่อัตราทดลอง 0.5 มิลลิลิตรจะได้ผลึกไวรัสเฉลี่ยสูงสุด 1.75×10^6 ผลึก/มิลลิลิตร หลัง infection 7 วัน หลังจากนั้น ทำการทดลองผลิตขยายไวรัสต่อเนื่องกัน 3 รุ่น (passage 1-3) จำนวน 2 ซ้ำ ใช้อัตราความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้น 1×10^6 เซลล์/มิลลิลิตร เก็บผลึกไวรัสหลัง infected 7 วัน ได้ผลึกไวรัสเฉลี่ย 3.12×10^7, 3.84×10^7 และ 4.95×10^7 ผลึก/มิลลิลิตร ตามลำดับ และได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ทั้ง 3 รุ่น และไวรัส SeMNPV (ML)

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ที่เก็บเกี่ยวจากหนอนใกล้ตาย (moribund larvae) กับหนอนกระทู้หอม วัยที่ 3 โดยวิธีการทดลองแบบ surface layer method ใช้ระดับความเข้มข้นผลึกไวรัส เท่ากับ 2 x 10^6 ผลึก/มิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร/ถ้วย วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 4 วิธีการ พบว่า ไวรัส SeMNPV ทั้ง 3 รุ่น และไวรัส SeMNPV (ML) ทำให้หนอนตายได้ดีเช่นกันโดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งงานวิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง โดยใช้ Se cell line สายพันธุ์ไทยที่เพาะเลี้ยงนี้ สามารถใช้ในการผลิตไวรัส SeMNPV ได้ดี โดยมีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนตายได้เร็วกว่า ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากหนอน โดยผลผลิตไวรัสไม่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ชนิดอื่นอีกด้วย ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลในการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเป็นปริมาณมากที่เหมาะสมในเชิงการค้าต่อไป

คำค้น เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง, Insect, cell line, cell culture, Nucleopolyhedrovirus, SeMNPV, *Spodoptera exigua*

คำนำ

การใช้ไวรัสเป็นสารชีวินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิดได้แพร่หลายในหลายประเทศทั่วโลก เช่น สาธารณรัฐสหภาพโซเวียต อินเดีย จีน ญี่ปุ่น แอฟริกา ออสเตรเลีย อเมริกา เป็นต้น ซึ่งบางชนิดได้มีการผลิตเป็นการค้า (Entwistle, 1998) สำหรับในประเทศไทย นับแต่ปี พ.ศ.2510 มีรายงานการศึกษาวิจัยโรคไวรัส NPV สาเหตุโรคของแมลง ในกลุ่ม Nucleopolyhedrovirus หรือชื่อเดิม Nuclear polohedrosis viruses หรือ NPV ได้แก่ ไวรัส NPV สาเหตุโรคของหนอนเจาะสมอฝ้าย ไวรัส NPV สาเหตุโรคของหนอนกระทู้หอม ไวรัส NPV สาเหตุโรคของหนอนกระทู้ผัก และไวรัส NPV สาเหตุโรคของหนอนคืบกะหล่ำ ซึ่งหนอนเหล่านี้เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญมักทำลายผลผลิตของเกษตรกรอยู่เสมอ เนื่องจากประเทศไทยมีพืชอาหารที่สมบูรณ์ตลอดปี (ทิพย์วดีและสุดาวรรณ, 2530; อุทัย, 2544) กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้มีการวิจัยและพัฒนาการผลิตขยายไวรัสสาเหตุโรคของแมลงชนิด *Heliothis armigera* sigle-nucleocapsid Nucleopolyhedrovirus(HaSNPV) *Spodoptera exigua* multiple-nucleocapsid Nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) *S. litura* multiple-nucleocapsid Nucleopolyhedrovirus(SlMNPV) และ *Trichoplusia ni* multiple-nucleocapsid Nucleopolyhedrovirus(TnMNPV) (สุชลวัจน์, 2544; Wongwilikhit and Somsuk, 2006) เป็นปริมาณมากจากตัวแมลง ก็มักประสบปัญหาการผลิตได้ไม่สม่ำเสมอ การปนเปื้อนจุลินทรีย์จากตัวแมลงพาหะที่ใช้ผลิตขยายไวรัส (อุทัยและคณะ, 2537) ทำให้มีข้อจำกัดในกระบวนการผลิตขยายในเชิงการค้า และในการขึ้นทะเบียนสารชีวภัณฑ์

หนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hübner) จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจสามารถพบในพืชผักหลายชนิด เช่น ผักคะน้า ผักตระกูลกะหล่ำ บรอคเคอรี่ หอมแดง ถั่วฝักยาว กระเจี๊ยบเขียว หน่อไม้ฝรั่ง มะเขือเทศ องุ่น ส้มเขียวหวาน สตรอเบอรี่ ดาวเรือง เป็นต้น และเมื่อนำหนอนกระทู้หอมมาเลี้ยงขยายใช้ผลิตไวรัสเป็นปริมาณมาก แบบ *in vivo* จะพบว่าผลิตภัณฑ์ไวรัสมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ชนิดอื่นสูง เช่น แบคทีเรีย โปรโตซัว รา เป็นต้น ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ทำให้ผลิตภัณฑ์ไวรัสมีกลิ่นเหม็น อัตราการผลิตไม่สม่ำเสมอ ประสิทธิภาพไม่แน่นอน และทำให้มีปัญหาในการขึ้นทะเบียนสารชีวินทรีย์ตามมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ

ดังนั้น จึงนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชแบบ *In vitro* จาก United Stated Department of Agriculture (USDA) ประเทศสหรัฐอเมริกา (สุชลวัจน์, 2539; สุชลวัจน์และคณะ, 2543; Lynn and Shapiro, 1998) มาประยุกต์ใช้ทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้หอมสายพันธุ์ไทย (Se cell line : *Spodoptera exigua* cell line) จาก embryonic stem cell เพื่อพัฒนารูปแบบการผลิตไวรัส มาใช้ในการแก้ปัญหาการผลิตไวรัส แบบ *in vivo* ดังกล่าวข้างต้นให้หมดไป เนื่องจาก embryonic stem cell มีคุณสมบัติเป็น stem cell ที่สามารถเพาะเลี้ยงได้อย่างต่อเนื่อง และไวรัสชนิดนี้มีคุณสมบัติความเฉพาะเจาะจงต่อชนิดหนอน ซึ่งจะสามารถพัฒนาวิธีการผลิตขยายไวรัส SeMNPV ให้เป็นรูปแบบการค้าอย่างมีมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ

วัตถุประสงค์

เพื่อวิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV โดยประยุกต์ใช้ประโยชน์จาก เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง(insect cell culture)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช สูตร TC 100 (ภาคผนวก) และสารชนิดอื่นๆที่จำเป็น เช่น ethyl alcohol, เอนไซม์ trypsin, สีย้อม tryphan blue, antibiotic น้ำกลั่น(distilled water) น้ำกรองอิออน(de-ionized water) อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ใช้ทดสอบการปนเปื้อน (contamination) และ สารละลาย bio-degradable cleaning solution เป็นต้น

2. วัสดุสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคแล้ว(steriled) ได้แก่ จานพลาสติกเพาะเลี้ยงเซลล์(petri-dishes) ขวดพลาสติกเพาะเลี้ยงเซลล์ (Carrel flask หรือ T-flask) ขนาดปริมาตร 50 มิลลิลิตร(พื้นที่การเจริญ 25 ตารางเซนติเมตร) ขวดแก้วรูปชมพู่(erlenmayer flask หรือ E-flask) ขนาดปริมาตร 125 มิลลิลิตร เป็นต้น และวัสดุอื่นๆ ได้แก่ กระดาษกรองอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ ขวดแก้วใส่อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาดต่างๆ และกระดาษซับ เป็นต้น

3. เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับใช้ปฏิบัติงานเพาะเลี้ยงเซลล์ เช่น เครื่องวัดค่าออสโมซีส (osmometer) เครื่องปั่นแยกสารรอบต่ำ(centrifuge) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ(incubator) ตู้ปลอดเชื้อ (larminar flow) เครื่องชั่งสาร(balances) เครื่องกวนสารละลาย/ความร้อน(hot plate/stirrer) ชุดกรองสารละลาย(filter) ตู้อบแห้ง(oven) เครื่องอบนึ่งไอน้ำ(autoclave) ชุดดูดสารละลายขนาดต่างๆ หลอดดูดสารละลาย(pipette) ขนาดต่างๆ กระบอกตวง(cylinder) ถ้วยตวง(breaker) ชุดเครื่องมือผ่าตัด ได้แก่ ปากคีบปลายแหลม(finely forcept) และมีดผ่าตัดขนาดเล็ก และ กล้องจุลทรรศน์ ชนิด stereo microscope, inverted microscope และ light compound microscope พร้อมอุปกรณ์การถ่ายภาพ และ สไลด์นับเซลล์ Hemocytometer เป็นต้น

4. วัสดุ-อุปกรณ์ การเตรียมอนุภาคไวรัส เช่น ต้นแบบเชื้อไวรัสหนอนกระทู้หอม วัย 3 กรรไกรผ่าตัด ถุงมือ หลอดปั่นแยกสาร ชุดกรองขนาดเล็ก ขนาดช่องไหลผ่าน 0.22 และ 0.45 ไมครอน ถาดพลาสติกปลอดเชื้อ เป็นต้น

5. วัสดุ-อุปกรณ์ ในการทดสอบประสิทธิภาพการผลิตไวรัส เช่น ขวดเพาะเลี้ยงขนาดต่างๆ

6. วัสดุ-อุปกรณ์ ในการทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงเปรียบเทียบกับไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากหนอน เช่น หนอนกระทู้หอม วัยที่ 3 หลอดดูดสารละลายปริมาณน้อย (micro-pipette) ถ้วยพลาสติกเลี้ยงแมลงขนาด 2 ออนซ์ อาหารเทียมเลี้ยงแมลง เป็นต้น

7. วัสดุ-อุปกรณ์ ในการตรวจสอบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไวรัส เช่น จานแก้ว อาหารเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย เป็นต้น

วิธีการ

การทดลองที่ 1. ทดสอบประสิทธิภาพการเจริญของเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยง

1. วางแผนการทดลอง -

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 เพาะเลี้ยงขยายเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยง จากเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยงต่อเนื่อง (continuous cell line) ที่เริ่มเพาะเลี้ยงจาก embryonic stem cell ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2548 ใช้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงตั้งต้น (starter cells) ในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช สูตรดัดแปลง TC100 (ภาคผนวก) อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์มีค่าออสโมซีส 350 – 360 mOsmols/kg. ค่า pH 6.2- 6.3 ทำการ sub-culture 3-4 วัน/ครั้ง อัตราการ sub-culture 1:5 ในภาชนะ T-flask (tissue culture flask) การ sub-culture คือ การถ่ายเซลล์ลงในอาหารเพาะเลี้ยงและภาชนะใหม่ เซลล์จะมีการเจริญได้อย่างมีสัดส่วน ซึ่งเซลล์หนึ่งๆ สามารถเจริญแบ่งตัวได้หลายครั้งต่อการ sub-culture หนึ่งครั้ง อัตราการเจริญของเซลล์นี้เพิ่มขึ้น 5 เท่า ภายใน 4 วัน

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพการเจริญของเซลล์ และคัดเลือกจาก Se-cell line จำนวน 3 cell line และเปรียบเทียบกับ *Spodoptera frugiperda* cell line (Sf-cell line) เซลล์เพาะเลี้ยงที่มีผลิตเป็นการค้า จำนวน 1 cell line ในภาชนะ แบบ T-flask และ E-flask จำนวน 2 ซ้ำ เพื่อหาอัตราการเจริญของเซลล์ที่เหมาะสมในแต่ละภาชนะ และอัตราการขยายเพิ่มปริมาณ โดยการตรวจนับจำนวนเซลล์ทุกวันต่อเนื่อง ด้วย Hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ light compound microscope จำนวน 4 ซ้ำ เปรียบเทียบอัตราการเจริญของเซลล์ โดยคำนวณจากค่าร้อยละของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability) แยกความแตกต่างระหว่างเซลล์มีชีวิตกับเซลล์ที่ตายได้โดย การใช้สีย้อม trypan blue เซลล์มีชีวิตจะไม่ติดสีน้ำเงิน ส่วนเซลล์ที่ตายติดสีน้ำเงิน เซลล์เพาะเลี้ยงควรมีค่าร้อยละของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ มากกว่า 80%

การทดลองที่ 2. ทดสอบประสิทธิภาพการสร้างผลึกไวรัส SeMNPV ในเซลล์เพาะเลี้ยง

1. วางแผนการทดลอง -

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 นำเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยงที่คัดเลือกข้างต้น มาเลี้ยงขยายในภาชนะแบบ T-flask ใช้เซลล์เริ่มต้น 2 x 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพการสร้างผลึกไวรัสในเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยงเพาะเลี้ยงได้ 4 วัน โดยการเตรียมอนุภาคไวรัสของหนอนกระทู้หอมจากเลือดหนอนกระทู้หอม นำไปเพาะอนุภาคไวรัส (infection) อัตราส่วนที่ต่างๆกัน 7 ระดับ อัตรา 0.1, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8, 1 มิลลิลิตรต่อความเข้มข้นของเซลล์ตั้งต้น 2 x 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร อัตราการ sub-culture 1:10 ทำการทดลอง จำนวน 2 ซ้ำ/อัตราอนุภาคไวรัส

2.3 ตรวจดูการสร้างผลึกโปรตีนไวรัสบริเวณนิวเคลียสของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope เปรียบเทียบกับเซลล์เพาะเลี้ยงปกติ และ Sf-cell line ตรวจนับจำนวนผลึกไวรัสที่ได้ ด้วย Hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ light compound microscope จำนวน 4 ซ้ำ

2.4 คัดเลือกอัตราอนุภาคไวรัสที่ดีที่สุดในการทดลองข้างต้น เพื่อนำไปใช้ผลิตขยายแบบต่อเนื่อง จำนวน 3 รอบการผลิต โดยทำการปั่นแยกอนุภาคไวรัสจากผลผลิตไวรัสจากเซลล์เพาะเลี้ยง ที่ 10,000 กรัม นาน 8 นาที มาใช้เพาะเลี้ยงอนุภาคไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงในรอบการผลิตถัดไป รอบที่ 1 และ 2 เพาะเลี้ยงในภาชนะ แบบ T-flask รอบที่ 3 เพาะเลี้ยงในภาชนะ แบบ E-flask ใช้เซลล์เริ่มต้น 1 x 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร ทั้ง 3 รอบการผลิตต่อเนื่อง ตรวจดูการสร้างผลึกโปรตีนไวรัสบริเวณนิวเคลียสของเซลล์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope ทุกวัน และตรวจนับผลึกไวรัสที่ได้แต่ละรอบการผลิต

ด้วย Hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ light compound microscope จำนวน 4 ซ้ำ ในวันที่ 7 หลังการเพาะอนุภาคไวรัส

การทดลองที่ 3. ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง

1. วางแผนการทดลอง แบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ ใช้หนอนกระทู้หอมวัย 3 (อายุ 7 วัน) 10 ตัว/ซ้ำ จำนวน 5 กรรมวิธี ได้แก่ ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่อง รอบที่ 1-3 ไวรัส SeMNPV ที่เก็บเกี่ยวไวรัสจากหนอนใกล้ตาย (moribund larvae) และใช้น้ำกลั่นเปรียบเทียบ

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่อง โดยทดสอบกับหนอนกระทู้หอม วัยที่ 3 (อายุ 7 วัน) ขนาดน้ำหนักตัวเฉลี่ย 0.0245 กรัม/ตัว ใช้วิธีการ infection แบบ surface layer method ระดับความเข้มข้นเท่ากัน 2 x 10^6 ผลึก/มิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร/ถ้วยอาหารเทียมขนาด 2 ออนซ์/หนอน 1 ตัว ทุกกรรมวิธี

2.2 ตรวจเช็คและบันทึกผลการตายของหนอนทุกวัน แล้วนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 4. ตรวจสอบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง

1. วางแผนการทดลอง -

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 ตรวจสอบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง โดยเปรียบเทียบกับ ผลิตภัณฑ์ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากหนอน และ หนอนปกติ โดยตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope และ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ light compound microscope แล้วจึงใช้วิธีการตรวจสอบจำแนกชนิดจุลินทรีย์แต่ละกลุ่ม (Collins et al., 1989)

2.2 ในการทดลองนี้ กลุ่มแบคทีเรียจำแนกจากความแตกต่างของลักษณะโคโลนีที่เจริญบน Nutrient agar และ Mac Conkey agar และรายงานเป็นจำนวนที่ปนเปื้อนเท่านั้น ส่วนการจำแนกชนิดต้องทำการจำแนกลักษณะคุณสมบัติทางชีวเคมี การนับจำนวนแบคทีเรียปนเปื้อนโดยการเจือจางความเข้มข้น 10^{-1} – 10^{-6} เท่า แล้วเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย ชนิด Nutrient agar และอาหารเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย ชนิด Mac Conkey agar ตรวจนับภายใน 24-48 ชั่วโมง จำนวน 2 ซ้ำ/ความเข้มข้นที่เจือจาง

เวลาและสถานที่ดำเนินการ

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2548 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2551 ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองวิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยง *Spodoptera exigua* cell line (Se-cell line) เพื่อรักษาสายพันธุ์ต้นแบบ และเพื่อในการทดลองวิจัย ได้ผลการทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1. ทดสอบประสิทธิภาพการเจริญของเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยง

จากการเพาะเลี้ยงของเซลล์หนอนกระทู้หอม พบว่า อัตราการ sub-culture ที่ 1 : 5 เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง Se-cell line ชุดที่ 1 มีค่า cells viability = 94.81 % ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น 12.80 เท่า Se-cell line ชุดที่ 2 มีค่า cells viability = 100 % ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น 5.99 เท่า Se-cell line ชุดที่ 3 มีค่า cells viability = 100 % ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น 5.53 เท่า และ Sf-cell line ชุดที่ 1 มีค่า cells viability = 95.12 % ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น 19.5 เท่า ส่วนการเพาะเลี้ยงที่อัตราการ sub-culture ที่ 1 : 10 เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง Se-cell line ชุดที่1 มีค่า cells viability = 100 % ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น 12.00 เท่า Se-cell line ชุดที่ 2 มีค่า cells viability = 90.91 % ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น 5.54 เท่า Se-cell line ชุดที่ 3 มีค่า cells viability = 100 % ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น 6.15 เท่า และ Sf-cell line ชุดที่ 1 มีค่า cells viability = 90.23 % ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น 24.00 เท่า (ตารางที่ 1) จึงคัดเลือก Se-cell line ชุดที่ 1 มีค่า cells viability = 94.81 % และมีปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น 12.80 เท่า สูงกว่าชุดอื่นมาใช้ในการทดลองที่ 2 ต่อไป

การทดลองที่ 2. ทดสอบประสิทธิภาพการสร้างผลึกไวรัส SeMNPV ในเซลล์เพาะเลี้ยง

จากการคัดเลือกเซลล์เพาะเลี้ยง Se-cell line ที่มีค่า cells viability = 94.81 % และมีจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นสูงสุด จากขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพการเจริญของเซลล์ มาใช้ทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพการสร้างผลึกไวรัส SeMNPV ในเซลล์เพาะเลี้ยง และ เซลล์เพาะเลี้ยง Sf-cell line ใน T-flask และ E-flask จำนวน 2 ขวด/อัตรา โดยใช้อนุภาคไวรัสจากเลือดหนอนมา infection อัตรา 0.1, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8, 1 มิลลิลิตรต่อความเข้มข้นของเซลล์ตั้งต้น 2 x 10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ในขวดเซลล์เพาะเลี้ยงแบบ T-flask พบว่า อัตรา 0.5, 0.6, 0.8, 1 มิลลิลิตร จะสร้างผลึกโปรตีน ตั้งแต่วันที่ 4 อัตรา 0.4 มิลลิลิตร จะสร้างผลึกโปรตีนตั้งแต่วันที่ 6 และ อัตรา 0.1 และ 0.3 มิลลิลิตร ไม่มีการสร้างผลึกโปรตีน เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope ส่วน Sf-cell line line ไม่มีการสร้างผลึกโปรตีนเช่นกัน แต่มีลักษณะเซลล์บวม ซึ่งแตกต่างจากเซลล์เพาะเลี้ยงปกติ จึงทำการคัดเลือกอัตราทดลองที่เหมาะสม คือ 0.5 มิลลิลิตรใช้ในการทดลอง

ผลิตไวรัสต่อเนื่อง เนื่องจาก เป็นอัตราใช้อนุภาคไวรัสต่ำสุดที่สามารถสร้างผลึกโปรตีนไวรัสได้เร็วสุด จำนวนผลึกต่อเซลล์มากกว่า 30 ผลึก/นิวเคลียส นับจำนวนผลึกเฉลี่ยได้ 1.75 x 10^6 ผลึก/มิลลิลิตร หลัง infection 7 วัน

จากนั้น ทำการทดลองผลิตไวรัสต่อเนื่อง จำนวน 3 รุ่น โดยใช้อนุภาคไวรัส อัตรา 0.5 มิลลิลิตรต่อความเข้มข้นของเซลล์ตั้งต้น 1 x 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร พบว่า มีการสร้างผลึกโปรตีนตั้งแต่วันที่ 4 หลัง infection จำนวนผลึกต่อเซลล์มากกว่า 30 ผลึก/นิวเคลียส เมื่อนับผลึกไวรัส แต่ละรุ่น เฉลี่ยได้ 3.12 x 10^7 , 3.84 x 10^7 และ 4.95 x 10^7 ผลึก/มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อตรวจนับจำนวนหลัง infection 7 วัน

การทดลองที่ 3. ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง

ทำการทดสอบไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง จำนวน 3 รุ่น กับหนอนกระทู้หอม วัยที่ 3 ขนาดน้ำหนักตัวเฉลี่ย 0.0245 กรัม/ตัว วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ ใช้หนอน 10 ตัว/ซ้ำ อัตราการตายเปรียบเทียบกับไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากหนอนใกล้ตาย (moribund larvae) และหนอนเปรียบเทียบให้กินน้ำกลั่น ใช้วิธีการทดลองแบบ surface layer method ปรับระดับความเข้มข้นไวรัส SeMNPV ทั้ง 3 รุ่น เท่ากับ 2 x 10^6 ผลึก/มิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร/ถ้วย จากผลการทดลอง พบว่า ไวรัส SeMNPV รุ่นที่ 1 -3 มีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนตายได้ดีเช่นเดียวกับไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากหนอนใกล้ตาย และมีแนวโน้มที่จะตายได้เร็วกว่าในช่วง 2-4 วันหลังจากการ infection และเมื่อนำข้อมูลจำนวนหนอนตาย ภายใน 4-6 วัน หลัง infection จากการทดสอบประสิทธิภาพไวรัสไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง ทั้ง 3 รุ่น และ ไวรัส SeMNPV (ML) ที่ผลิตจากหนอนระยะ moribund larvae ทำให้หนอนตายได้ดีเช่นกันโดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2)

การทดลองที่ 4. ตรวจสอบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง

จากการตรวจสอบการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ไวรัส พบว่า ผลิตภัณฑ์ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง ทั้ง 3 รุ่น ไม่พบจุลินทรีย์ชนิดอื่นปนเปื้อน แต่ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากหนอน moribund larvae พบแบคทีเรียปนเปื้อน 1 ชนิด ที่มีโคโลนีลักษณะเดียวกับที่พบในหนอนปกติ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การวิจัยและพัฒนารูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง โดยใช้ Se cell line สายพันธุ์ไทยที่เพาะเลี้ยงนั้น สามารถใช้ในการผลิตไวรัส SeMNPV ได้ดี โดยไวรัส SeMNPV ที่ผลิตได้มีประสิทธิภาพในการทำให้หนอนตายได้เร็วกว่าไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากหนอนใกล้ตาย และไวรัสที่ผลิตได้ไม่มีจุลินทรีย์อื่นปนเปื้อน ซึ่งผลการทดลองนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลในการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเป็นปริมาณมากที่เหมาะสมในเชิงการค้าต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วดี อรรถธรรม และ สุดาวรรณ เชยชมศรี. 2530. เอกสารวิชาการ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต พิมลพร นันทะ และ นางวัชรี สมสุข. 2545. การเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้ผักสายพันธุ์ไทยจาก. หน้า 197-206. *ใน* เอกสารวิชาการประชุมสัมมนาทางวิชาการ “เทคโนโลยีการจัดการแมลงและสัตว์ศัตรูพืชเพื่อเกษตรดีที่เหมาะสม” ครั้งที่ 13 ประจำปี 2545 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต พิมลพร นันทะ. 2544. เชื้อไวรัส เอ็น พี วี ของหนอนคืบกะหล่ำปลี. หน้า 73-78. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 5. 21-23 พฤศจิกายน 2544 โรงแรม เฟลิกซ์ ริเวอร์แคว กาญจนบุรี.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต อุทัย เกตุนุติ และ พิมลพร นันทะ. 2543. การเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้หอมเพื่อการผลิตเชื้อไวรัส NPV. หน้า 447-458. *ใน* เอกสารวิชาการประชุมสัมมนาทางวิชาการ “แมลงและสัตว์ศัตรูพืช” ครั้งที่ 12 ประจำปี 2543 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. ระหว่างวันที่ 28-31 มีนาคม 2543 ณ โรงแรมอมารี ออคิด รีสอร์ท เมืองพัทยา จ.ชลบุรี.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต. 2539. ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงเพื่อการเกษตร. ว.กีฏ. สัตว;.18(4): 250-253.

สุดาวรรณ เชยชมศรี. 2542 เทคโนโลยีการผลิตไวรัสกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์. หน้า 72-82. *ใน* เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการ สารชีวินทรีย์กำจัดศัตรูพืช ในศตวรรษที่ 21 จัดโดย สมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วันที่ 15-16 กรกฎาคม 2542 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ.

อุทัย เกตุนุติ อัจฉรา ตันติโชดก สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และ พิมลพร นันทะ. 2537. ปรับปรุงการผลิตและทำสูตรสำเร็จของไวรัส NPV. หน้า 457-486. *ใน* การประชุมสัมมนาวิชาการ"แมลงและสัตว์ศัตรูพืช" ครั้งที่ 9 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อุทัย เกตุนุติ. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส NPV. หน้า 141-177. *ใน* เอกสารวิชาการการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร พิมพ์ที่ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ

Collins,C.H., Patricia M.Lyne and J.M.Grange. 1989. Collins and Lyne's Microbiological Method. Sixth edition © Butterworth & Co (Publishers) Ltd, 409 p.

Entwisetle, P. F. 1998. A world survey of virus control of insect pests, p.186-201. *In* Insect viruses and pest management. (edits : Frances R. Hunter-Fujita, Philip F. Entewistle, Hugh F. Evans and Norman E. Crook).

Lynn, D.E. and Martin Shapiro, 1998. New cell lines from *Heliothis virescens*: characterization and susceptibility to Baculoviruses. J. Invertebr. Pathol. 72, 276–280.

Wongwilikhit, S. and V. Somsuk. 2006. Micrographics characterization of Noctuids Nucleopolyhedroviruses DOA strains. p. 230. *In* The 18th Annual metting of the Thai Society for Biotechnology. Biotechnology: Benefits and Bioethics. 2-3 November 2006. at The Montien Riverside Hotel. Bangkok.

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพการเจริญของเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยง (Se cell line) ในภาชนะ tissue culture flask ที่ 4 วัน นำมาคัดเลือกใช้ในการผลิตไวรัส SeMNPV

ชนิดเซลล์แมลงเพาะเลี้ยง	**อัตราการ sub-culture**	**ค่า cells viability (%)**	**ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น (เท่า)**
Se-cell line ชุดที่ 1	1 : 5	94.81	12.80
	1 : 10	100	12.00
Se-cell line ชุดที่ 2	1 : 5	100	5.99
	1 : 10	90.91	5.54
Se-cell line ชุดที่ 3	1 : 5	100	5.53
	1 : 10	100	6.15
Sf-cell line ชุดที่ 1	1 : 5	95.12	19.50
	1 : 10	90.23	24.00

- Sf-cell line คือ *Spodoptera frugiperda* cell line (Sf-cell line) เซลล์เพาะเลี้ยงที่มีผลิตเป็นการค้า

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง เปรียบเทียบกับไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากหนอน กับหนอนกระทู้หอม วัยที่ 3 ขนาดน้ำหนักตัวเฉลี่ย 0.0245 กรัม/ตัว ทำให้หนอนตายรวมแต่ละวันหลัง การ infection

Treatments	**จำนวนหนอนกระทู้หอม วัย 3 ตายหลังการ infection ด้วยไวรัส SeMNPV(%)**				
	2 วัน	**3 วัน**	**4 วัน**	**5 วัน**	**6 วัน**
SeMNPV[1]	15.00 ab	45.00 a	57.50 a	80.00 a	85.00 a
SeMNPV[2]	15.00 ab	30.00 ab	55.00 a	70.00 a	80.00 a
SeMNPV[3]	30.00 a	47.50 a	57.50 a	65.00 a	77.50 a
SeMNPV (ML)	5.00 b	15.00 bc	37.50 a	57.50 a	75.00 a
น้ำกลั่น	0.00 b	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 b
cv (%)	76.9	65.6	43.6	37.8	32.2

- ค่าเฉลี่ยร้อยละการตายของหนอนกระทู้หอมในแนวตั้ง(สดมภ์) เดียวกันที่ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์โดยวิธี DMRT
- SeMNPV[1] : ผลิตภัณฑ์ไวรัส SeMNPV ต่อเนื่อง รุ่นที่ 1 ที่ผลิตจาก Se cell culture ในภาชนะ T-flask
- SeMNPV[2] : ผลิตภัณฑ์ไวรัส SeMNPV ต่อเนื่อง รุ่นที่ 2 ที่ผลิตจาก Se cell culture ในภาชนะ T-flask
- SeMNPV[3] : ผลิตภัณฑ์ไวรัส SeMNPV ต่อเนื่อง รุ่นที่ 3 ที่ผลิตจาก Se cell culture ในภาชนะ erlenmayer flask
- SeMNPV (ML) : ผลิตภัณฑ์ไวรัส SeMNPV ที่ได้จากจากหนอนกระทู้หอมระยะใกล้ตาย (moribund larvae)

ภาคผนวก

สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช

ส่วนผสม	กรัม/ลิตร	ส่วนผสม	กรัม/ลิตร
Calcium Chloride (anhydrous)	1.1286	L-Phenylalanine	0.15
Magnesium Chloride (anhydrous)	1.068189	L-Proline	0.35
Magnesium Sulfate (anhydrous)	1.357858	L-Serine	0.55
Potassium Chloride	2.87	L-Threonine	0.175
Sodium Phosphate Monobasic	0.876923	L-Tryptophan	0.1
L-Alanine	0.225	L-Tyrosine 2Na	0.07263
L-Arginine HCl	0.7	L-Valine	0.1
L-Aspartic Acid	0.403	P-Aminobenzoic Acid	0.01902
L-Asparagine	0.35	D-Biotin	0.00951
L-Cystine 2HCl	0.025	Choline Chloride	0.0002
L-Glutamic Acid	0.6	Folic Acid	0.00002
L-Glutamine	0.6	Myo-Inositol	0.00002
Glycine	0.65	Nicotinic Acid	0.00952
L-Histidine	2.5	L-Isoleucine	0.05
D-Pantothenic Acid (hemicalcium)	0.00952	L-Leucine	0.075
L-Lysine HCl	0.625	L-Methionine	0.05
Pyridoxine HCl	0.02802	Riboflavin	0.00952
Thiamine HCl	0.00952	D(+)-Glucose	1.0
Tryptose broth	2.6	Cobalt chloride	0.005
Cupric chloride	0.01967	Manganese chloride	0.002
Molybolic acid	0.005	Zinc chloride	0.004
Ferrous sulfate	0.08233	Sodium chloride 15 %	0.9
Peptone	0.2	Liver power	0.1
Glyceral 50%	1.5625 ml	Sodium bicarbonate	0.35

หมายเหตุ สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชดัดแปลงนี้เป็นองค์ความรู้ของกรมวิชาการเกษตร

การคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม

Strain Selection of *Bacills thuringiensis* for Controlling Cut Worm, *Spodoptera litura* and Beet army worm, *Spodoptera exigua* .

อิศเรส เทียนทัด อัจฉรา ตันติโชดก สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการแยกเชื้อ Bt ออกจากตัวอย่างดิน ที่เก็บรวบรวมได้จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือจากแหล่งที่ไม่มีการเกษตรกรรม จำนวน 189 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate ทั้งหมด 80 isolates นำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผัก พบว่า เชื้อ Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้หอมมีอัตราการตาย ตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 14 isolates, 11-20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 isolates, 21-30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 9 isolates, 31-40 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 isolates, 41-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 9 isolates, 51-60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7 isolates, 61-70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 10 isolates, 71-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 isolates และ 81 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 5 isolates ส่วน เชื้อ Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักมีอัตราการตาย ตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 14 isolates, 11-20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 11 isolates, 21-30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 isolates, 31-40 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7 isolates, 41-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 isolates, 51-60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 4 isolates, 61-70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 isolates, 71-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 isolates และ 81 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 28 isolates

คำนำ

ปัจจุบันทุกฝ่ายได้ตระหนักถึงอันตรายจากสารฆ่าแมลงที่มีต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภค ตลอดจนผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม จากการเข้าเป็นสมาชิกองค์การการค้าโลก ประเทศไทยต้องปฏิบัติตามข้อตกลง ที่ว่าด้วยการใช้มาตราการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phyto-sanitary Measures (SPS) โดยใช้สุขอนามัยผู้บริโภคและปริมาณสารพิษตกค้างของพืชผักและผลไม้เป็นตัวกำหนดคุณภาพของ

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ผลิตภัณฑ์ 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 ทำการ isolate เชื้อ BT ออกจากตัวอย่างดินที่เก็บรวบรวมมาจากแหล่งต่างๆของประเทศ

ขั้นตอนที่ 2 เพิ่มปริมาณของ Bt isolateในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth

ขั้นตอนที่ 3 นำ Bt แต่ละ isolate ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้น (preliminary screening test) กับหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอมโดยวิธีการ diet plug method

ขั้นตอนที่ 4 คัดเลือก Bt isolates ที่ฆ่าหนอนได้เกิน 50 % นำมาศึกษาขนาดและน้ำหนักโมเลกุลของ Crystal protein โดยวิธี SDS-PAGE

ขั้นตอนที่ 5 นำ Bt isolate ที่ผ่านการทดสอบแล้ว มาทำการ bioassay กับหนอนกระทู้ผักและหนอนกระทู้หอม เปรียบเทียบประสิทธิภาพด้วย Bt มาตรฐาน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 5 ซ้ำ ใช้หนอน 20 ตัว/ซ้ำ

ขั้นตอนที่ 6 ทำการสกัด DNA ของ Bt isolate ที่คัดเลือกแล้วนำไปตรวจสอบขนาดโมเลกุลของ DNA ด้วยเทคนิค PCR เพื่อบันทึกเป็นคุณสมบัติประจำ isolate ก่อนเก็บรวบรวมเข้า collection ต่อไป

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ Bt แต่ละ isolate ที่ได้

- บันทึกคุณสมบัติและระดับความรุนแรงของเชื้อของ Bt แต่ละ isolate ที่แยกได้ในการทดสอบประสิทธิภาพการทำลายแมลงกับทดสอบชนิดต่าง ๆ

- บันทึกขนาดและน้ำหนักโมเลกุลของ Crystal protein และ ขนาดของ DNA ของ Bt แต่ละ isolate

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทำการแยกเชื้อ Bt ออกจากตัวอย่างดิน ที่เก็บรวบรวมได้จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือจากแหล่งที่ไม่มีการเกษตรกรรม จำนวน 189 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate ทั้งหมด 80 isolates นำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนกระทู้หอม และหนอนกระทู้ผัก พบว่า เชื้อ Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้หอมมีอัตราการตาย ตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 14 isolates, 11-20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 isolates, 21-30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 9 isolates, 31-40 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 15 isolates, 41-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 9 isolates, 51-60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7 isolates, 61-70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 10 isolates, 71-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 isolates และ 81 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 5 isolates ส่วน เชื้อ Bt isolate ที่ทำให้หนอนกระทู้ผักมีอัตราการตาย ตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 14 isolates, 11-20 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 11 isolates, 21-30 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 isolates, 31-40 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 7 isolates, 41-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 isolates, 51-60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 4 isolates, 61-70 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 isolates, 71-80 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 2 isolates และ 81 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จำนวน 28 isolates

การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในรูปผง

Storage of dust formulation of green muscadine fungus, *Metarhizium anisopliae*

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ วัชรี สมสุข สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในรูปผงเพื่อดูประสิทธิภาพการงอกของเชื้อในช่วงเวลาต่างๆ ทำการวิจัยในช่วงเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2551 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ทำการทดลอง 2 ครั้ง ในครั้งแรกเป็นการทดลองเบื้องต้น วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 3 วิธีการ 6 ซ้ำ เตรียมเชื้อในรูปผงโดยนำเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 50 กรัม/ถุง ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ถ่ายหัวเชื้อราเขียวใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อกระจายทั่วเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 7 วัน ราเขียวจะสร้างโคนิเดียจนเต็มถุงอาหาร จากนั้นล้างโคนิเดียออกโดยนำน้ำที่ผสม tween เทใส่ในอัตรา 100 มล./ถุง เขย่าให้โคนิเดียเชื้อหลุดจากผิวอาหาร ตรวจนับกำลังสปอร์ตั้งต้น นำหัวเชื้อที่ได้มาผสมกับดิน Pumice โดยใช้อัตราส่วนหัวเชื้อต่อดิน เท่ากับ 1: 4 คลุกส่วนผสมให้ทั่ว จากนั้นแบ่งใส่ในถุงเพาะเห็ด ถุงละ 50 กรัม จำนวน 18 ถุง นำไปเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ คือ อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C), ตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C), และห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) โดยแบ่งเก็บที่อุณหภูมิละ 6 ถุง ตรวจสอบการงอกของเชื้อราเขียวทุกสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 1 เดือน ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าผงเชื้อที่เก็บในอุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิตู้เย็น มีการงอกของเชื้อราเขียวสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4 ที่ 129.22 X 10^4 และ 32.95 X 10^4 cfu/กรัม ส่วนผงเชื้อที่เก็บในอุณหภูมิห้องเย็นมีการงอกของเชื้อที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติทั้ง 4 สัปดาห์ การศึกษาในครั้งต่อมาได้เพิ่มระยะเวลาการเก็บเชื้อเป็น 1 ปี เพื่อให้ข้อมูลมีความสมบูรณ์มากขึ้น ในการทดลองครั้งที่ 2 นี้ วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 3 วิธีการ 20 ซ้ำ โดยเตรียมเชื้อราเขียวในรูปผงเหมือนการทดลองครั้งแรก แบ่งใส่ในถุงเพาะเห็ด ถุงละ 300 กรัม จำนวน 60 ถุง นำไปเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ คือ อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C), อุณหภูมิตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C) และอุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) โดยแบ่งเก็บที่อุณหภูมิละ 20 ถุง ตรวจสอบการงอกของเชื้อราเขียวที่เก็บทั้ง 3 อุณหภูมิ เดือนละ 1 ครั้ง ตลอดระยะเวลา 1 ปี จากการ

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ศึกษาเมื่อเดือนพฤษภาคม - ธันวาคม 2550 ที่ผ่านมา รวมระยะเวลา 8 เดือน พบว่าเชื้อราเขียวที่เก็บในอุณหภูมิตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C) และอุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) ยังมีแนวโน้มการงอกของเชื้อที่ดี โดยพบการงอกของเชื้อสูงในเดือนธันวาคม 2550 ที่ 3.14 X 10^4 และ6.19 X 10^4 cfu/กรัม ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อที่เก็บในอุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C) มีแนวโน้มการงอกของเชื้อลดลงในเดือนธันวาคม โดยพบการงอกเพิ่มสูงในเดือนสิงหาคมที่ 2.47 X 10^4 cfu/กรัม จากนั้นมีแนวโน้มลดลงจนถึงเดือนธันวาคม โดยพบการงอกของเชื้อที่1.72 X 10^4 cfu/กรัม อย่างไรก็ดียังต้องมีการตรวจสอบการงอกของเชื้ออย่างต่อเนื่องไปอีก 4 เดือน เพื่อให้ครบระยะเวลา 1 ปีที่กำหนดไว้ ซึ่งจะทำให้ข้อมูลที่ได้มีความชัดเจนยิ่งขึ้น

คำนำ

ปัจจุบันการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับของเกษตรกร รวมทั้งผู้บริโภคมากขึ้นจะสังเกตได้จากผลิตภัณฑ์อาหารปลอดสารพิษที่มีขายเพิ่มขึ้นในท้องตลาด ถึงแม้จะมีราคาสูงกว่าปกติเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดเดียวกัน แต่ยังเป็นที่นิยมและยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นเกษตรกรจึงเริ่มหันมาให้ความสนใจต่อการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีมากขึ้นเพราะนอกจากจะขายผลผลิตได้ราคาดีแล้ว ยังมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้ รวมถึงผู้บริโภคด้วยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกร เชื้อจุลินทรีย์ที่มีการใช้แพร่หลายในปัจจุบันเช่น ไส้เดือนฝอย เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา เป็นต้น

เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* จัดเป็นจุลินทรีย์ประเภทหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมัน เป็นเชื้อราที่พบในดินใช้กำจัดแมลงในกลุ่มหนอนด้วง โดยเฉพาะด้วงแรดมะพร้าว ซึ่งในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมันกันมากในเขตภาคใต้ การกองเศษซากพืช ขุยมะพร้าว หรือกากของปาล์มน้ำมัน ทิ้งไว้เป็นเวลานานๆ จะกลายเป็นแหล่งขยายพันธุ์ของด้วงแรด ซึ่งปัจจุบันเริ่มมีการระบาดของด้วงชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น การป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่สิ้นเปลืองและเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังนั้นการป้องกันกำจัดในปัจจุบันจึงมักใช้วิธีการป้องกันกำจัดแบบผสมผสาน เชื้อราเขียวเป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจผลิตใช้ทางการค้าในหลายประเทศ ได้แก่ แอฟริกาใต้ ภายใต้ชื่อการค้า Green Muscle (Thomas *et al*., 2000) ออสเตรเลียและอเมริกาภายใต้ชื่อการค้า BioGreen และ BioBlast (Milner, 2000) เป็นต้น

จากข้อมูลการศึกษาการเลี้ยงเชื้อราเขียวที่ผ่านมาทำให้ทราบว่าเชื้อราเขียวสามารถเจริญเติบโตได้บนเมล็ดธัญพืชหลายชนิด ได้แก่ ข้าวโพด, ข้าวเปลือก, ข้าวฟ่าง, ถั่วเขียว, ถั่วเหลือง และข้าวสาลี (มลิวัลย์ และสุรพล, 2525; Singh and Rethinam, 2004; Hoogschagen *et al*., 2001) ที่ผ่านมาเชื้อราเขียวส่วนใหญ่จะมีการเลี้ยงและนำไปใช้ในรูปแบบเชื้อสดซึ่งการเลี้ยงวิธีนี้จะเก็บเชื้อได้ไม่นาน เนื่องจากเชื้อราเขียวจะใช้อาหารที่มีอยู่เพื่อการเจริญเติบโต เมื่ออาหารหมดเชื้อจะตายระยะเวลาขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารที่ใส่ไว้เพื่อเลี้ยงราเขียว ดังนั้นบริษัทผู้ผลิตเชื้อจึงต้องหาวิธีเก็บรักษาราเขียวให้อยู่ได้นานๆ

ปัจจุบันส่วนใหญ่จะผลิตในรูปแบบผงแห้ง การผลิตจะเลี้ยงเชื้อในเมล็ดธัญพืช เมื่อเชื้อเจริญดีแล้วจะนำไปอบให้แห้งก่อนจึงบดรวมกับอาหารที่เลี้ยง จากนั้นบรรจุใส่ถุงพลาสติกและเก็บที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 4 °ซ. (Singh and Rethinam, 2004) ซึ่งวิธีการนี้จะช่วยยืดระยะเวลาการเก็บเชื้อให้นานขึ้น จากงานวิจัยของเสาวนิตย์ และคณะ (2550) ที่ได้ศึกษาสารพา (carriers) ที่เหมาะสมในการใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์แป้ง โดยใช้สารพา 5 ชนิด ได้แก่ pumice, smectite, clinoptilolite, ดินลพบุรี และดินลำปาง ผสมร่วมกับแป้งสาลี เพื่อเลี้ยงเชื้อราเขียว ในอัตราส่วน 1: 1 ผลการศึกษาครั้งนั้นพบว่า pumice มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากราเขียวจะสร้างโคนิเดียได้สูงสุด และเชื้อยังมีการงอกเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องถึง 3 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังมีต้นทุนการผลิตที่ไม่มากเมื่อเทียบกับการเลี้ยงโดยใช้สารพาชนิดอื่น ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงใช้ pumice เป็นสารพาในการศึกษาเรื่องการเก็บรักษาเชื้อราเขียว

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการงอกของเชื้อราเขียว เมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ ในระยะเวลา 1 ปี ผลที่ได้จากการศึกษาจะนำมาเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับพัฒนารูปแบบการผลิตต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*
2. ดิน Pumice
3. Potato Dextrose Agar (PDA)
4. Potato Dextrose Broth (PDB)
5. tween 80 (0.5%)
6. ที่นับสปอร์ (Hemacytometer)
7. ที่ดูดสารเคมี (Micropipet)
8. จานเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)
9. ตู้เขี่ยเชื้อ
10. เครื่องเขย่า (shaker)
11. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
12. กล้องจุลทรรศน์
13. เครื่องผสมสาร (vortex)
14. เข็มเขี่ย, แท่งแก้วสำหรับปาดเชื้อ
15. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.
16. น้ำกลั่น

วิธีการ

การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในรูปผง

วิธีเตรียมเชื้อราที่จะเก็บในอุณหภูมิต่างๆ ดังนี้

เตรียมเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 50 กรัม/ถุง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ถ่ายหัวเชื้อราเขียวใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อกระจายทั่วเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 7 วัน ราเขียวจะสร้างโคนิเดียจนเต็มถุงอาหาร จากนั้นล้างโคนิเดียออกโดยนำน้ำที่ผสม tween เทใส่ในอัตรา 100 มล./ถุง เขย่าให้โคนิเดียเชื้อหลุดจากผิวอาหาร ตรวจนับกำลังสปอร์ตั้งต้น นำหัวเชื้อที่ได้มาผสมกับดิน Pumice โดยใช้อัตราส่วนหัวเชื้อต่อดิน เท่ากับ 1: 4 คลุกส่วนผสมให้ทั่ว จากนั้นแบ่งใส่ในถุงเพาะเห็ด ถุงละ 300 กรัม จำนวน 60 ถุง นำไปเก็บที่อุณหภูมิต่างๆ คือ อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C), ตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C), และห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) โดยแบ่งเก็บที่อุณหภูมิละ 20 ถุง (= 20 ซ้ำ)

วิธีการตรวจสอบการงอกของเชื้อ

นำเชื้อราแต่ละถุง (ซ้ำ) มาตักแบ่งเพื่อการทดสอบในอัตราถุงละ 5 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ที่บรรจุน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้วในปริมาตร 95 มล. เขย่าให้เชื้อกระจายทั่วทั้งฟลาสก์ จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารแขวนลอยที่ได้ปริมาตร 1 มล. ถ่ายใส่หลอดที่บรรจุน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 9 มล. ทำการเจือจางในลักษณะเช่นนี้ประมาณ 4 - 5 ครั้ง แล้วนำหลอดที่เจือจางความเข้มข้นสุดท้ายที่ต้องการจะทดสอบมา spread ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในอัตรา 3 plates/ dilution บ่มเชื้อไว้ประมาณ 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตเชื้อที่ขึ้น นับและเก็บข้อมูลจำนวนโคโลนีของเชื้อ

ระยะเวลาที่ทำการตรวจสอบการงอกของเชื้อราเขียว

- ที่อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C) มีการตรวจสอบการงอกของเชื้อราเขียวเดือนละ 1 ครั้ง ตลอดระยะเวลา 1 ปี
- ผงเชื้อที่เก็บในตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C) มีการตรวจสอบการงอกของเชื้อราเขียวเดือนละ 1 ครั้ง ตลอดระยะเวลา 1 ปี
- ผงเชื้อที่เก็บในห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) มีการตรวจสอบการงอกของเชื้อราเขียวเดือนละ 1 ครั้ง ตลอดระยะเวลา 1 ปี

การบันทึกข้อมูล

- ตรวจสอบการงอกของเชื้อ ตามระยะเวลาที่กำหนดบันทึกข้อมูลเพื่อทำการเปรียบเทียบ

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2551

- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในรูปผง

การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในรูปผงได้ทำการทดลอง 2 ครั้ง ครั้งแรกเริ่มต้นเมื่อเดือนตุลาคม 2549 โดยทำการเลี้ยงเชื้อราเขียวแล้วนำสารแขวนลอยโคนิเดียมาผสมกับดิน Pumice จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ 3 อุณหภูมิคือ อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C), อุณหภูมิตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C), และอุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) ตรวจสอบการงอกของราเขียวทุกสัปดาห์ตลอดระยะเวลา 1 เดือน ผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าผงเชื้อที่เก็บในอุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิตู้เย็น มีการงอกของเชื้อราเขียวสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4 ที่ 129.22 X 10^4 และ 32.95 X 10^4 cfu/กรัม ส่วนผงเชื้อที่เก็บในอุณหภูมิห้องเย็นมีการงอกของเชื้อที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติทั้ง 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 1) เนื่องจากในครั้งแรกมีระยะเวลาการเก็บเชื้อน้อยเกินไป เชื้อราเขียวยังมีแนวโน้มการงอกของโคนิเดียเชื้อเพิ่มขึ้น ดังนั้นต่อมาจึงได้ศึกษาการเก็บเชื้อเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความสมบูรณ์มากขึ้น โดยการทดลองครั้งที่ 2 นี้ได้ทำการเตรียมเชื้อราเขียวเหมือนการทดลองครั้งที่ 1 แต่เพิ่มระยะเวลาการตรวจสอบการงอกของเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 1 ปี โดยเริ่มต้นใหม่เมื่อเดือนพฤษภาคม 2550 ที่ผ่านมา และผลการตรวจสอบการงอกของราเขียวจนถึงเดือนธันวาคม 2550 ในระยะเวลา 8 เดือนนี้พบว่าเชื้อราเขียวที่เก็บในความเย็นที่อุณหภูมิตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C) และอุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) ยังมีแนวโน้มการงอกของเชื้อที่ดี โดยพบการงอกของเชื้อสูงในเดือนธันวาคม 2550 ที่ 3.14 X 10^4 และ 6.19 X 10^4 cfu/กรัม ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อที่เก็บในอุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C) มีแนวโน้มการงอกของเชื้อลดลงในเดือนธันวาคม โดยพบการงอกเพิ่มสูงในเดือนสิงหาคมที่ 2.47 X 10^4 cfu/กรัม จากนั้นมีแนวโน้มลดลงจนถึงเดือนธันวาคม โดยพบการงอกของเชื้อที่1.72 X 10^4 cfu/กรัม (ตารางที่ 2)

แสดงว่าในสภาพอุณหภูมิที่เย็นจัด มีส่วนช่วยรักษาและคงสภาพความมีชีวิตของโคนิเดียเชื้อราชนิดนี้ได้ดีโดยสังเกตจากจำนวนโคโลนีเชื้อที่นับได้ อย่างไรก็ดียังต้องมีการตรวจสอบการงอกของเชื้ออย่างต่อเนื่องไปอีก 4 เดือน เพื่อให้ครบระยะเวลา 1 ปีที่กำหนดไว้ซึ่งจะทำให้ข้อมูลที่ได้มีความชัดเจนยิ่งขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *M. anisopliae* ในรูปผงที่เก็บในอุณหภูมิต่างๆ 3 อุณหภูมิคือ อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C), อุณหภูมิตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C), และอุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) ในช่วงเวลา 1 เดือน พบว่าเชื้อราเขียวยังมีแนวโน้มการงอกของโคนิเดียเชื้อเพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาให้นานขึ้น จากการตรวจสอบการงอกของเชื้อในช่วงระยะเวลา 8 เดือน พบว่าเชื้อราเขียวที่เก็บในความเย็นที่อุณหภูมิตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C) และอุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) ยังมีแนวโน้มการงอกของเชื้อที่ดี โดยพบการงอกของเชื้อสูงในเดือนธันวาคม 2550 ที่ 3.14 X 10^4 และ6.19 X 10^4 cfu/กรัม ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อที่เก็บในอุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C) มีแนวโน้มการงอกของเชื้อลดลงในเดือนธันวาคม โดยพบการงอกเพิ่มสูงในเดือนสิงหาคมที่ 2.47 X 10^4 cfu/กรัม จากนั้นมีแนวโน้มลดลงจนถึงเดือนธันวาคม โดยพบการงอกของเชื้อที่1.72 X 10^4 cfu/กรัม อย่างไรก็ดียังต้องมีการตรวจสอบการงอกของเชื้ออย่างต่อเนื่องไปอีก 4 เดือน เพื่อให้ครบระยะเวลา 1 ปีที่กำหนดไว้ ซึ่งจะทำให้ข้อมูลที่ได้มีความชัดเจนยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

มลิวัลย์ ปันยารชุน และสุรพล ตรุยานนท์. 2525. ศึกษาการพัฒนาการผลิตเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* เพื่อใช้ควบคุมด้วงแรดมะพร้าว. หน้า 1 - 6. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2525 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, วัชรี สมสุข, อภิรัชต์ สมฤทธิ์, สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และสาทิพย์ มาลี 2549. พัฒนาการผลิตเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (metsch) Sorokin. ในรูปแบบผงเชื้อ. หน้า 131 - 143. *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 ระหว่างวันที่ 20 – 22 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อ. เมือง จ.พิษณุโลก

Boucias, D.G. and J.C. Pendland. 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers. 537 p.

Hoogschagen, M.,Y. Zhu, H. van As, J. Tramper and A. Rinzema. 2001. Influence of wheat type and pretreatment on fungal growth in solid-state fermentation. Biotechnology Letters. 23: 1183-1187.

Milner, R.J. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. *Biocontrol* News and Information. 21(2): 47N – 50N.

Singh, S.P. and P. Rethinam. 2004. Use of green muscadine fungus in BIPM of Rhinoceros beetle. COCOINFO International. 11(2): 19-24.

Thomas, M.B., J. Klass and S. Blanford. 2000. The year of the locust. Pesticide Outlook. 11:192-195.

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพการงอกของเชื้อราเขียวที่เก็บในอุณหภูมิต่างๆ ภายในระยะเวลา 1 เดือน

สัปดาห์	ประสิทธิภาพการงอกของเชื้อราเขียวที่เก็บในอุณหภูมิต่างๆ (1 X 10^4 cfu/กรัม)		
	อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 ^{O}C)	อุณหภูมิตู้เย็น (12 ± 2 ^{O}C)	อุณหภูมิห้องเย็น (6 ± 1 ^{O}C)
สัปดาห์ที่ 1	18.07 b	13.00 b	48.38
สัปดาห์ที่ 2	33.78 b	16.17 b	10.83
สัปดาห์ที่ 3	76.27 ab	19.27 b	45.38
สัปดาห์ที่ 4	129.22 a	32.95 a	32.77
CV	78.9%	39.8%	84.5%

1/ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทดสอบโดยใช้ DMRT)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพการงอกของเชื้อราเขียวที่เก็บในอุณหภูมิต่างๆ ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม – ธันวาคม 2550

เดือน	ประสิทธิภาพการงอกของเชื้อราเขียวที่เก็บในอุณหภูมิต่างๆ (1 X 10^4 cfu/กรัม)		
	อุณหภูมิห้อง (27 ± 3 ^{O}C)	อุณหภูมิตู้เย็น (12 ± 2 ^{O}C)	อุณหภูมิห้องเย็น (6 ± 1 ^{O}C)
พฤษภาคม	1.37	1.39	2.08
มิถุนายน	1.64	1.69	3.73
กรกฎาคม	2.27	2.25	5.06
สิงหาคม	2.47	1.92	3.89
กันยายน	1.80	2.46	2.59
ตุลาคม	1.60	2.37	3.48
พฤศจิกายน	1.52	2.35	5.20
ธันวาคม	1.72	3.14	6.19

ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตขยายเชื้อโปรโตซัวในงูเหลือมสภาพโรงเรือน

Influence of some biological factors on mass production of protozoan in reticulated python in cages.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ดาราพร รินทะรักษ์ ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

คำนำ

ปรสิตโปรโตซัว,*Sarcocystis singaporensis* ระยะสปอร์โรซีสต์ที่พบในมูลงูเหลือม เป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนู(bio-rodenticide) ที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำให้หนูสกุลท้องขาว และสกุลหนูพุกป่วยและตายทั้งหมด(100%) ในระดับห้องปฏิบัติการ และ 71% - 92% ในระดับแปลงทดลอง เช่นโรงเก็บอาหารในฟาร์มไก่ นาข้าว และสวนปาล์มน้ำมัน และไม่มีผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อสัตว์อื่น ๆ ในสภาพแวดล้อม สำหรับการผลิตสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัวชนิดนี้ให้ได้ปริมาณมาก เพื่อนำใช้เป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนูนั้น จำเป็นต้องเลี้ยงงูเหลือมและหนูเป็นจำนวนมากในสภาพโรงเรือน จากการสังเกตการเลี้ยงงูเหลือมในโรงเรือนเบื้องต้นพบว่า ขนาด อุณหภูมิ ความชื้น และสภาพแวดล้อมอื่นๆ มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของงูเหลือมที่นำมาจากสภาพธรรมชาติและเลี้ยงในกรงเลี้ยง นอกจากนี้งูเหลือมที่เลี้ยงภายในกรงมักป่วยและตายบ่อย ๆ บางครั้งเกิดจากสภาพอากาศที่หนาวเย็นผิดปกติ(ต่ำกว่า 20°C)นานกว่า 3 วันเป็นต้นไป บางครั้งเกิดจากโรคระบาด บางครั้งก็ไม่ทราบสาเหตุ ดังนั้นการศึกษาองค์ความรู้เกี่ยวกับปัจจัยต่างๆที่มีต่องูเหลือมที่เลี้ยงในกรงเลี้ยงภายในโรงเรือนจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้ได้งูเหลือมที่เลี้ยง มีสภาพร่างกายที่สมบูรณ์ และสามารถสร้างเชื้อโปรโตซัวที่แข็งแรงและมีความรุนแรงต่อหนูสูง

รหัสโครงการ 07-01-49-06

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงเลี้ยงงูเหลือม ขนาดกว้าง 1.5 x ยาว 1.5 x สูง 2.0 เมตร จำนวน 6 กรง
2. งูเหลือมขนาดลำตัวยาว 2.5 - 3 เมตร, 2 เมตร และ 1.5 -1.8 เมตร ขนาดละ 2 ตัว
3. ที่วัดอุณหภูมิแบบกระเปียกและกระเปาะแห้ง จำนวน 6 อัน
4. กะละมังขนาดใหญ่ใส่น้ำและที่หลบพักสำหรับงูเหลือมกรงละ 1 ใบ จำนวน 12 ใบ
5. ไม้ไผ่สำหรับวางเป็นที่นอนเล่นของในที่สูงจากพื้น 1 เมตร ขนาด 1.5 เมตร จำนวน 50 อัน
6. อาหารสำหรับงูเหลือม เช่น หนูชนิดต่างๆ ไก่สดแช่แข็ง ฯลฯ
7. ยารักษาโรคติดเชื้ออะบีบา อื่นๆ ต่องูและหนู
8. หลอดไฟสีแดงขนาด 175 watt สำหรับให้ความร้อนแก่งูเหลือมที่เลี้ยงภายในโรงเรือน
9. กล่องพลาสติกมีล้อขนาดใหญ่ สำหรับเป็นที่พักชั่วคราวของงูที่ได้มาจากธรรมชาติ
10. กล้องถ่ายภาพแบบดิจิทัล

วิธีการ

คัดเลือกงูเหลือมที่ได้จากธรรมชาติจำนวน 3 ขนาด และนำมาเลี้ยงในกรงเลี้ยง กรงละ 1 ตัวโดยกรงที่ 1 และ 4 มีงูเหลือมขนาด 2.5-3 เมตร กรงที่ 2 และ 5 มีงูเหลือมขนาด 2 เมตร กรงที่ 3 มีงูเหลือมขนาด 1.5 -1.8 เมตร สำหรับ 3 กรงแรก(1,2,3) ตั้งอยู่ภายนอกอาคาร และ 3 กรงหลัง (4,5,6) อยู่ภายในโรงเรือน ติดตั้งที่วัดอุณหภูมิและความชื้นแบบกระเปียกและแห้ง กรงละ 1 อัน สำหรับการให้อาหารให้สัปดาห์ละ 1 ครั้งๆละ 2 ตัวหรือชิ้น ถ้าเป็นงูเหลือมขนาดใหญ่(2.5-3 เมตร) ให้หนูที่มีน้ำหนักตัวไม่น้อยกว่า 120 กรัม/ตัว หรือไก่กระทงสดแช่แข็ง 2 ตัว สำหรับงูเหลือมขนาด 2 เมตร จะได้หนูขนาด 70-90 กรัม 2 ตัว หรือไก่กระทงสดแช่แข็ง 1 ตัว ส่วนงูเหลือมขนาดเล็ก จะได้หนูขนาด 20-60 กรัม 1 ตัว หรือไก่กระทงสดแช่แข็ง 1/3 ตัว ทำความสะอาดกรงเลี้ยงงูและอุปกรณ์ทุกชนิดภายในกรงเลี้ยงทุกสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และเปลี่ยนน้ำสะอาดในกาละมังทุก ๆ 2 วัน

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกอุณหภูมิทั้งส่วนกระเปาะเปียกและแห้งทุกวัน ๆ ละ 3 เวลา คือ เวลา 8.00-9.00 น. ; 12.00 - 13.00 น. ; 18.00 - 19.00 น. สำหรับกระเปาะเปียกต้องเติมน้ำให้เต็มขวดตลอด และทำความสะอาดขวดน้ำของกระเปียกทุกสัปดาห์ เพื่อไม่ให้เกิดตะไคร่น้ำ
2. บันทึกชนิดของอาหารที่งูแต่ละตัวได้รับในแต่ละครั้งและน้ำหนักงูเหลือมทุกเดือน
3. บันทึกระยะการตั้งท้องของงูเหลือม และปริมาณไข่ที่แม่งูวาง
4. บันทึกปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของงูเหลือมในกรงเลี้ยง เช่น การระบาดของโรคในงู การบาดเจ็บบริเวณปากอันเนื่องจากการชนกระแทกกรงเลี้ยงบ่อย ๆ ฯลฯ และการรักษางู

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ดำเนินการศึกษาตั้งเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 กรงเลี้ยงงูที่ตั้งภายนอกอาคารและโรงเลี้ยงงูที่ตั้งภายในโรงเรือน สำหรับงูเหลือมต้องทำการจับมาแหล่งธรรมชาติ เช่น บริเวณปริมณฑลของกรุงเทพมหานคร เป็นต้น

ผลการทดลอง

ในปี 2549

ในระหว่างการทดลองมีการระบาดของเชื้ออะมีบา *Entaamoeba invadens* ทำให้งูเหลือมทดลองทุกขนาดตายทั้งหมด โดยงูเหลือมขนาดกลางตายเป็นตัวแรก เมื่อวันที่ 19 มกราคม 2549 งูเหลือมตัวสุดท้าย ซึ่งมีขนาดเล็กตายเมื่อ 26 พฤษภาคม 2549 แม้จะได้รับการรักษาด้วยยา metrodinazole ไปแล้ว 1 ครั้ง สำหรับอุณหภูมิและความชื้นที่วัดด้วยเทอร์มิเตอร์แบบกระเปาะเปียกและแห้งตลอด 6 เดือน ในโรงเรือนเลี้ยงงูเหลือมมีอุณหภูมิเฉลี่ย 28 ± 1.97 °C และความ ชื้นเฉลี่ย 79 ± 4.98 °C สำหรับกรงงูเหลือมที่วางกลางแดดโดยตรง งูเหลือมจะหลบอยู่ภายใต้กะละมังตลอดเวลา อุณหภูมิเฉลี่ย 33± 3.18°C ความชื้นเฉลี่ย 87± 7. 59%

ในปี 2550

ได้จัดหางูเหลือมใหม่ทั้ง 3 ขนาดจากแหล่งธรรมชาติ และทำการเลี้ยงไว้ในลังพลาสติกขนาดใหญ่ลังละ 1 ตัว ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2549 เพื่อตรวจสอบการติดโรคและพยาธิ เป็นเวลา 1 เดือน ก่อนนำไปใช้ในการศึกษา และถ้าพบการติดเชื้ออะมีบาทำการรักษาทันที และทำการหาตัวใหม่ที่ไม่ติดเชื้ออะมีบามาทดแทน การทดลองปฏิบัติเช่นเดียวกันกับที่ดำเนินการในปี 2549 แต่ได้ทำการศึกษาการผสมพันธุ์งูเหลือมขนาดใหญ่ และชนิดของอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของงูเหลือม ผลการศึกษา พบว่า ภายหลังการผสมพันธุ์งูเหลือมขนาดใหญ่ประมาณเดือนพฤษภาคมเป็นเวลา 1 เดือน หลังจากนั้น ทำการแยกงูเหลือมเพศเมียออกมาเลี้ยงในกรงเดิม แต่ต่อมางูเพศเมียตายโดยไม่ทราบสาเหตุ เมื่อผ่างู ไม่พบอาการผิดปกติใดๆ ไม่พบการติดเชื้ออะมีบา แต่พบว่างูได้สร้างไข่ที่ยังไม่มีเปลือกหุ้มแล้ว 12 ฟอง ซึ่งสาเหตุการตายอาจเนื่องจากงูได้รับยาฆ่าเชื้ออะมีบา metrodinazole 2.5 กรัม + bifiteral sirub 5 ml. ทางทวาร ในเดือนพฤศจิกายน หลังจากนั้นประมาณสัปดาห์ที่ 2 งูมีอาการสั่นทั้งตัวประมาณ 2-3 ครั้ง ก่อนงูตายในเดือนมกราคม ปีพ.ศ. 2550 ส่วนงูขนาดกลางหมายเลข 5 ตายเมื่อเดือนกุมภาพันธ์ 2550 โดยมีอาการตัวบิดและใช้ปากงับส่วนลำตัว เมื่อผ่าดูไม่พบอาการผิดปกติใดๆ สำหรับอาหารที่งูเหลือมกิน พบว่างูเหลือมขนาดใหญ่และขนาดกลางชอบกินหนูตายใหม่ๆ และไก่สดแช่แข็ง ส่วนงูขนาด

เล็กชอบกินหนูตายใหม่ๆมากกว่าชิ้นไก่สดแช่แข็ง ส่วนน้ำหนักงูเหลือมทั้ง 3 ขนาด สำหรับกรงเลี้ยงภายนอกอาคารเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 80 $\pm$ 2.31กรัม สำหรับกรงเลี้ยงภายในโรงเรือน เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 134 $\pm$ 4.7 กรัม (จากข้อมูล 3 เดือน)

เอกสารอ้างอิง

Marder D.R.,2006. Reptile Medicine and Surgery, 2nd. Saunders Elsevier,Canada,1242p.

ศึกษาสายพันธุ์หนูที่เหมาะสมต่อการผลิตขยายเชื้อโปรโตซัว ในหนูสภาพโรงเรือน

Study on suitable rats - varieties on mass production of protozoan in laboratory

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ดาราพร รินทะรักษ์ ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

คำนำ

หนูเป็นสัตว์อาศัยตัวกลางของโปรโตซัว *S. singaporensis* ที่มีความสำคัญต่อการผลิตสารชีวิน-ทรีย์กำจัดหนู ซึ่งปริมาณซาร์โคซีสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูที่เป็นอาหารของงูเหลือมมีความสัมพันธุ์กับปริมาณสปอร์โรซีสต์ที่เกิดขึ้นในงูเหลือม แต่จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า หนูละชนิดที่ได้ทำการติดเชื้อโปรโตซัวชนิดนี้ ปริมาณของเชื้อโปรโตซัวที่พบในกล้ามเนื้อลำตัวหนูนั้น จะแตกต่างกัน และความแตกต่างนี้พบได้แม้ในหนูชนิดเดียวกัน ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันของหนูต่อเชื้อโปรโตซัวชนิดดังกล่าว อาจมีส่วนทำให้การขยายพันธุ์ของโปรโตซัวในหนูลดระดับความรุนแรงของโปรโตซัวในการทำให้เกิดโรคในหนู และทำให้ปริมาณซีสต์ในระยะสุดท้ายของการเจริญที่พบในกล้ามเนื้อลำตัวลดลงด้วยเช่นกัน ดังนั้นจึงควรศึกษาปริมาณซีสต์ของโปรโตซัว, *S. singaporensis* ในกล้ามเนื้อลำตัวของหนูท้องขาวทั้ง 2 สายพันธุ์ ว่าชนิดใด และหนูท้องขาวรุ่นใด จึงสามารถสร้างซีสต์ในกล้ามเนื้อลำตัวได้มาก

รหัสโครงการ 07-01-49-06

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หนูสกุลท้องท้องขาว กรงเลี้ยงทดลอง อาหาร น้ำ และวิตามิน
2. penicillin, streptomycin, nucleic acid stains, glycerol , ethyl alcohol, methyl alcohol, ether, ferric ammonium sulfate, xylene, etc
3. ขวดปั่นสำหรับการปั่นตกตะกอนโปรโตซัวขนาด 50 มล. ; ขวดพลาสติกขนาด 500 มล.
4. กระดาษทิชชูแบบอเนกประสงค์ เครื่องชั่งน้ำหนัก ถุงมือยางสำหรับแพทย์ ฯลฯ
5. sporocysts of *Sarcocystis singaporensis* จากมูลงูเหลือมหมายเลข 24
6. feeding tube + syring 1 ml. ; micropipette 10-200 µl + tips
7. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยายสูง , slides+coverglass
8. กล้องถ่ายภาพแบบดิจิทัล

วิธีการ

<u>การทดลองปี 2549</u>

ทำการเลี้ยงขยายพันธุ์หนูท้องขาวจำนวน 20 คู่ และหนูนอรเวที่จับมาจากธรรมชาติ จำนวน 2 คู่ ในภายในห้องเลี้ยงหนู จากนั้นนำหนูที่เกิดภายในห้องปฏิบัติการ(F1) จำนวน 30 ตัว มาทดสอบการติดเชื้อปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* เพื่อหาสายพันธุ์หนูที่ปรสิตโปรโตซัวสามารถติดเชื้อและขยายพันธุ์ในหนูได้ดี

<u>การทดลองปี 2550</u>

ทำการเลี้ยงขยายพันธุ์หนูป่ามาเลย์จำนวน 20 คู่ เพื่อให้ได้หนูป่ามาเลย์รุ่น F1 และรุ่น F2 มาศึกษาการติดเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis*

นอกจากนั้น ยังทำการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการสร้างซีสต์ของเชื้อโปรโตซัวในกล้ามเนื้อลำตัวหนู เช่น วิตามินที่จำเป็นหนูควรได้รับ สภาพแวดล้อมของห้องเลี้ยงหนู เป็นต้น รวมทั้งอิทธิพลของระบบภูมิคุ้มกันของหนูต่อเชื้อโปรโตซัว

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกจำนวนลูกหนูต่อครอก และน้ำหนักหนูและอาหารทุกวันเป็นเวลา 70วัน
2. บันทึกปริมาณซาร์โคซีสต์ที่พบในกล้ามเนื้อหนูทดลอง
3. บันทึกความรุนแรงของปรสิตโปรโตซัวระยะสปอร์โรซีสต์ที่ได้จากงูเหลือมที่กินหนูทดลองติดเชื้อ
4. การตายของหนูเนื่องจาการติดเชื้อโปรโตซัว พยาธิ และอื่นๆ

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ดำเนินการศึกษาตั้งเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร และดักจับหนูศัตรูจากแหล่งทำการเกษตร เช่น สวนปาล์มน้ำมัน ฯลฯ และภายในบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และตลาดเทศบาล

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาในปี 2549 พบว่า หนูท้องขาว(*Rattus rattus*) รุ่น F1 จำนวน 30 ตัว เป็นเพศผู้ 20 ตัว เพศเมีย 10 ตัว ที่ได้จากการผสมพันธุ์ในห้องปฏิบัติการหนูท้องขาวที่ดักจับมาธรรมชาติ ภายหลังการให้เชื้อโปรโตซัว แล้ว 2 เดือน ปรากฏว่า ระยะซาร์โคซีสต์ ที่พบในกล้ามเนื้อลำตัวหนูรุ่น F1 เหล่านี้ อยู่ในระดับต่ำ(เฉลี่ย 82%) สำหรับการผสมพันธุ์หนูนอรเวย์ไม่ประสบผลสำเร็จ เพศเมียถูกกัดตายทั้ง 2 ตัว

สำหรับผลการศึกษาในปี 2550 พบว่าหนูป่ามาเลย์*(R. tiomanicus)*รุ่น F1 จำนวน 30 ตัว เป็นเพศผู้ 15 ตัว เพศเมีย 15 ตัว มีการติดเชื้อโปรโตซัวระยะซาร์โคซีสต์ตามกล้ามเนื้อลำตัว ระดับสูง 8.97% ระดับกลาง 34 % และระดับต่ำ 57.03%

เอกสารอ้างอิง

Khoprasert, Y. 1983. Fortpflanzung und Jungendentwicklung Thailandischer Mause der GattungMus (*Mus cervicolor* Hodgson und *Mus caroli* Bonhote). Unveroff. Diplomatbeit,Bonn Univ., 79pp.

Somsook,S. 1982. Fortpflanzung und Jungendentwicklung der Ratten,Rattus exulans(Peal) und Rattus tiomanicus(Miller). Unveroff. Diplomatbeit,Bonn Univ., 102pp.

Myers, P. and D. Armitage. 2004. "Rattus norvegicus" (On-line), Animal Diversity Web. http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus_norvegicus.html

ศึกษาวิธีการควบคุมคุณภาพการผลิตสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัว *S.singaporensis*

Study on quality control for mass production of Sporocysts of *S. singaporensis*.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ดาราพร รินทะรักษ์ ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

คำนำ

สารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของ *S. singaporensis* ที่ได้มาจากกระบวนการผลิตระหว่างหนูติดเชื้อโปรโตซัวและงูเหลือม ในแต่ละ passage หรือในแต่ละล็อต จะผลิตสารชีวินทรีย์กำจัดหนูที่มีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน ดังนั้น จึงควรศึกษาวิธี ที่จะสามารถตรวจสอบคุณภาพของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์ของการผลิตแต่ละล็อต เพื่อให้ได้สารชีวินทรีย์กำจัดหนูมีประสิทธิภาพที่คงที่และสม่ำเสมอ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. sporocysts suspension of *S. singaporensis*
2. microtube 1.5 ml., 15 ml., 50 ml., pipette 5-10 µl. , 20-100 µl., 100-1000 µl. + tips
3. nucleic acid stains(live/dead bacLight Bacterial Viability Kit), slides+coverglass, ethyl alcohol,xylene, ether, etc.
4. feeding tube 2 sets , light microscope +fluorescent light set
5. หนูท้องขาว กรงทดสอบเดี่ยว อาหารและน้ำ
6. กระดาษทิชชูแบบอเนกประสงค์ ถุงมือยางสำหรับแพทย์ ชุดเครื่องมือผ่าตัด

วิธีการ

1. ตรวจสอบการมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ด้วยชุดสีย้อมนิวคลีอิคเอซิค(Dye Test)

ปฏิบัติตามวิธีการของยุวลักษณ์(2543) โดยนำชุดสีย้อมสำเร็จรูป live/dead bacLight Bacterial Viability Kit มาสีย้อม 2 ชนิดมาผสม แล้วแช่แข็งก่อนใช้ จากนั้นเตรียมตัวอย่าง sporocysts suspension ที่อัตรา 150,000 ซีสต์/หลอด จำนวน 2 ตัวอย่างต่อล็อต แล้วทำการย้อมสีผสมที่เตรียมไว้และทำละลายแล้ว หุ้มหลอดตัวอย่างด้วยอลูมิเนียมฟอลย์ แล้วนำอบในตู้อบ

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการย้อมสีแล้วเช่นกัน แต่นำไปแช่น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 3 ชั่วโมงแทน จากนั้นนำไปตรวจนับปริมาณของสปอร์โรซีสต์มีชีวิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงฟลูออเรสเซนต์กำลังขยายสูง(สปอร์โรซีสต์ที่ยังมีชีวิตจะไม่ติดสีย้อม)

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสปอร์โรซีสต์กับหนูท้องขาว(Bioassay Test)

นำสปอร์โรซีสต์ที่อยู่ในน้ำเกลือ PBS 1% หรือน้ำกรอง และผ่านการย้อมสีทดสอบตามข้อ 3.1 มาทดสอบประสิทธิภาพของสารแขวนลอยสปอร์โรซีสต์กับหนูท้อง โดยทำการสลบหนูด้วยอีเทอร์ก่อน จากนั้นใช้ feeding tube ให้เชื้อโดยตรงทางปากในอัตรา 200,000 สปอร์โรซีสต์ต่อหนู 1 ตัว จำนวน 4-6 ตัว ให้อาหารและน้ำตามปกติ และบันทึกอาการป่วยของหนูทุกวัน

3. ทำการเก็บเกี่ยวสปอร์โรซีสต์ในมูลงู โดยวิธี Sugar Floatting

เตรียมสารละลายน้ำตาลตามวิธีของ Stanlay(2003) นำมูลงูเหลือมที่มีสปอร์โรซีสต์ปะปนประมาณ 490 กรัม/สารละลายน้ำตาล 50 มล. จากนั้นทำการปั่นตกตะกอนด้วย centrifuge เพื่อเก็บเกี่ยวสปอร์โรซีสต์ให้ลอยอยู่ในชั้นสารละลายน้ำตาล ปฏิบัติเช่นนี้สามารถเก็บเกี่ยวสปอร์โรซีสต์ที่บริสุทธิ์ได้มาก

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกปริมาณสปอร์โรซีสต์ที่ได้จากงูเหลือมแต่ละตัวและแต่ละครั้งของการให้หนูติดเชื้อ
2. บันทึกการมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ที่ได้จากงูเหลือมแต่ละ passage
2. บันทึกปริมาณสปอร์โรซีสต์ที่ได้จากการเก็บเกี่ยวโดยวิธี Sugar Floattation
3. บันทึกเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ในสารแขวนลอยที่ผลิตได้ในแต่ละ lot
4. บันทึกความรุนแรง/ประสิทธิภาพของโปรโตซัวระยะสปอร์โรซีสต์ต่อหนูทดลอง

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ดำเนินการศึกษาตั้งเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร และดักจับหนูศัตรูจากแหล่งทำการเกษตร เช่น สวนปาล์มน้ำมัน ฯลฯ และภายในบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และตลาดเทศบาล

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาในปี 2549 พบว่า การมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ของเชื้อโปรโตซัวที่ได้มาจากกระบวนการผลิตในงูเหลือมที่ยาว 1.5 ม.ในแต่ละรอบของการให้หนูติดเชื้อ จำนวน 2 ครั้งติดต่อกัน แต่ละครั้งห่างกัน 3 เดือน สามารถตรวจสอบได้โดยวิธีย้อมสี nucleic acid staining dyes และเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของเชื้อเท่ากับ 89.62% และ 89.17 % ตามลำดับ สำหรับการตรวจสอบความรุนแรงของการทำให้เกิดโรคในหนู ใช้วิธีทดสอบกับหนูโดยตรง(bioassay) ในอัตรา

ความเข้มข้น 2 x10^5 สปอร์โรซีสต์ /หนู 1 ตัว จำนวนตัวอย่างละ 6 ตัว พบว่าหนูป่วยและตายทั้งหมด(100%)

ผลการศึกษาในปี 2550 พบว่า สปอร์โรซีสต์ของเชื้อโปรโตซัวที่ได้มาจากกระบวนการผลิตในงูเหลือมที่ยาว 3.0 เมตร ในแต่ละรอบของการให้หนูติดเชื้อ จำนวน 2 ครั้งติดต่อกัน แต่ละครั้งห่างกัน 3 เดือน มีชีวิต 71.2% และ 80.7% ตามลำดับ สำหรับความรุนแรงของการทำให้เกิดโรคในหนู ทำการทดสอบกับหนูท้องขาวโดยตรงในอัตราความเข้มข้น 2 x10^5 สปอร์โรซีสต์ / หนู 1 ตัว จำนวนตัวอย่างละ 6 ตัว พบว่า สปอร์โรซีสต์ในหลอดที่ 1 ทำให้หนูป่วยและตาย 50% ส่วนสปอร์โรซีสต์ในหลอดที่ 2 ทำให้หนูป่วยและตาย 80%

การเก็บเกี่ยวสปอร์โรซีสต์จากหลอดที่ 2 โดยวิธีการตกตะกอนด้วยสารละลายน้ำตาลผสมได้สปอร์โรซีสต์เพียง 67 % การศึกษายังไม่สิ้นสุดและยังดำเนินการต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Belosevic,M.,Guy,R.A.,Taghi-Kilani,R., Neumann,N.F.,Gyuerek,L.L.,Liyanage,L.R.J., Millard,P.J., Finch, G.R., 1997. Nucleic acid stains as indicators of *Cryptosporidium parvam* oocysts viability. Int. J. Parasitol. 27,787-798.

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่ง

Application of Antagonistic Microorganism for Control Fungi caused Stem blight Disease in Asparagus

ทัศนาพร ทัศคร ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล เยาวภา ตันติวานิช บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ในปี 2549 สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากต้นหน่อไม้ฝรั่ง โดยวิธี washing technique ได้ทั้งหมด 30 ไอโซเลท และทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค *Phomopsis asparagi* ในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดี มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูง มี 10 ไอโซเลท ได้แก่ AS5, AS9, AS8, AS2,AS15,AS18,AS21, AS23, AS24 และการทดลองในปี 2550 ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 10 ไอโซเลท ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเกิดโรคบนลำต้นหน่อไม้ฝรั่งในห้องปฏิบัติการ โดยพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ผลการทดลองพบว่า ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดแผลบนลำต้นได้ดีมี 4 ไอโซเลท คือ AS2, AS5, AS8 แล AS9 มีขนาดของแผลเท่ากับ 0.30, 0.22, 0.20 และ 0.13 เซนติเมตร ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว มีขนาดของแผลเท่ากับ 0.78 เซนติเมตร และได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลอง จำนวน 2 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนลำต้นหน่อไม้ฝรั่ง ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค จำนวน 1 ครั้ง หลังการทดลอง 7 วัน พบว่า ไอโซเลท AS2, AS5, AS8 และ AS9 มีขนาดของแผลเท่ากับ 1.06, 1.58, 1.72 และ 1.65 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว ที่ขนาดของแผลเท่ากับ 3.49 เซนติเมตร และในครั้งที่ 2 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนลำต้นหน่อไม้ฝรั่ง ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค จำนวน 1 ครั้ง และพ่นซ้ำทุก 3 วัน จำนวน 2 ครั้ง หลังการทดลอง 10 วัน พบว่า ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งการเกิดแผลบนลำต้นหน่อไม้ฝรั่ง คือ ไอโซเลท AS8 และ AS9 ซึ่งมีขนาดของแผลเท่ากับ 0.93 และ 1.45 เซนติเมตร เปรียบเทียบกับวิธีปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียวที่มีขนาดของแผลเท่ากับ .198 เซนติเมตร

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

หน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* Linn.) เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญในการส่งออกของประเทศไทย ซึ่งมีตลาดส่งออกมากกว่า 20 ประเทศ ตลาดส่งออกที่สำคัญได้แก่ ไต้หวัน ญี่ปุ่น สิงคโปร์ มาเลเซีย สหรัฐอเมริกา และยุโรป เป็นต้น แหล่งปลูกหน่อไม้ฝรั่งอยู่ในภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ เช่น จังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครราชสีมา อุดรธานี ขอนแก่น เป็นต้น (กรมส่งเสริมการเกษตร (2531 ,การผลิตหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออกนั้น เกษตรกรจำเป็นต้องมีการผลิตหน่อไม้ฝรั่งที่มีคุณภาพตามมาตรฐานการเกษตรดีที่เหมาะสม ของกรมวิชาการเกษตร) กรมวิชาการเกษตร (2545,และตามนโยบายการผลิตอาหารเพื่อความปลอดภัย ซึ่งมุ่งเน้นการลดการใช้สารเคมี และไม่มีสารพิษตกค้างในผลผลิต

ปัญหาในการผลิตหน่อไม้ฝรั่งคือ ปัญหาศัตรูพืช ซึ่งปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตและคุณภาพของหน่อลดลงคือ ปัญหาโรคลำต้นไหม้ จากรายงานการศึกษาของ กรรณิการ์ (2533)พบว่า โรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Phomopsis asparagi* เป็นโรคที่พบได้เสมอตามแหล่งปลูก เช่น อ.กำแพงแสน อ.บางเลน จ.นครปฐม ,อ .ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี โดยอาการเริ่มปรากฏกับลำต้นที่อยู่ใกล้ผิวดินก่อน จึงลุกลามสู่ส่วนบนของลำต้น เมื่ออาการรุนแรงต้นจะเหลืองและแห้งตายในที่สุด ในประเทศไต้หวัน Hsu และ Sun (1969) รายงานว่ามีการระบาดของโรคลำต้นไหม้ทุกแหล่งที่มีการปลูก นอกจากนี้ในประเทศจีน อินเดีย อเมริกาและประเทศในทวีปยุโรปก็มีการระบาดของโรคเช่นเดียวกันแต่ไม่รุนแรง (Chupp และ Sherf, 1960) ส่วนที่รัฐควีนสแลนด์ ของประเทศออสเตรเลีย ซึ่งเป็นแหล่งปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่สำคัญก็พบว่ามีโรคลำต้นไหม้ระบาดเป็นครั้งแรกที่เขตวอร์วิก (Planck และ Davis, 2004)

ในการป้องกันกำจัดโรคนั้น เกษตรกรโดยส่วนมากจะใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น คาร์เบนดาซิม แมนโคเซบ หรือคอปเปอร์ ออกซี่คลอไรด์ แต่บางครั้งในการใช้สารเคมีบางครั้งอาจทำให้เชื้อสาเหตุเกิดการความต้านทาน และอาจมีผลกระทบกับสิ่งมีชีวิตหรือเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ได้ และในการส่งออกผลผลิตหน่อไม้ฝรั่งไปยังต่างประเทศ ได้มีการห้ามนำเข้าผลผลิตที่มีสารพิษตกค้างเกินกว่าค่า MRL ดังนั้นการศึกษาการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธีจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ และมุ่งเน้นการส่งเสริมระบบการปลูกพืชแบบเกษตรอินทรีย์ในอนาคต ซึ่งการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่างๆ จะลดบทบาทลง การศึกษาหาทางเลือกใหม่ๆในการป้องกันกำจัดโรคพืชเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นและต้องมีการศึกษา ในปัจจุบันได้มีการศึกษาการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หลายชนิดที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดโณคพืชและประสบความสำเร็จ เช่น เชื้อรา *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp.

Chaetomium sp. และ *Pennicillium* sp. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และกลุ่ม *Pseudomonas* spp. (Papavizas, 1985; จิระเดช และ วรรณวิไล, 2544) ซึ่งเชื้อดังกล่าวสามารถเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคหลายชนิด ได้แก่ *Sclerotium rofsii*, *Rhizoctonia solani, Pythium* spp. และ *Fusarium* spp. เป็นต้น (จิระเดช และ วรรณวิไล, 2546) ดังนั้นการคัดเลือกเพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อ *P. asparagi* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจและต้องมีการศึกษา เพื่อเป็นทางเลือกให้แก่เกษตรกรสามารถนำไปใช้ในการผลิตหน่อไม้ฝรั่งให้ปลอดภัยต่อผู้ผลิต และผู้บริโภค รวมทั้งการมุ่งเน้นสู่ระบบการผลิตหน่อไม้ฝรั่งแบบเกษตรอินทรีย์ต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นหน่อไม้ฝรั่ง
2. อาหารแยกเชื้อ และเลี้ยงเชื้อ PDA, NGA, NGB, PSA, PSB เป็นต้น
3. กล้องจุลทรรศน์
4. เครื่องเขย่า
5. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
6. กระบอกฉีด
7. กระถาง
8. ถุงพลาสติก
9. กล่องพลาสติก

วิธีการ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

1. การแยกเชื้อสาเหตุโรคและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

1.1. เก็บตัวอย่างต้นหน่อไม้ฝรั่งที่แสดงอาการของโรคและต้นที่ปกติ จากแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร จ. ราชบุรี, นครปฐม และ จ.กาญจนบุรี มาแยกหาเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นไหม้ โดยใช้วิธี tissue transplanting technique เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

1.2. แยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยวิธี stem wash technique โดยการนำลำต้นหน่อไม้ฝรั่งมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ชั่งน้ำหนักชิ้นส่วนพืชให้ได้ 10 กรัม และใส่ลงใน flask ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มล. หยด tween 80 1-2 หยด นำไปเขย่านาน 30 นาที จากนั้นจึงนำสารแขวนลอยมาทำให้เจือจางโดยวิธี tenfold serial dilution และดูดสารแขวนลอยที่ความ

เข้มข้น 10^{-3} และ10^{-4} เท่า ปริมาตร 0.1 มล. หยดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ NGA จากนั้นจึงใช้แท่งแก้วงอ เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร โดยทำความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ และนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 - 5 วัน เมื่อมีเชื้อเจริญที่บริเวณผิวหน้าอาหาร ทำการบันทึกลักษณะและเลือกเก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะแตกต่างกันลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม แยกเก็บเชื้อจนบริสุทธิ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. asparagi* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

2.1. นำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จากข้อ 1.2 แต่ละไอโซเลทมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *P. asparagi* บนอาหาร PDA โดยนำชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค อายุ 5 วัน ที่เจาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. วางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นจึงใช้ loop แตะโคโลนีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทที่คัดเลือกได้และลากเป็นเส้นตรงยาวประมาณ 2 ซม. โดยทำทั้ง 4 ด้าน โดยลากให้ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 1 ซม. ทำการทดลองไอโซเลทละ 5 ซ้ำ เปรียบกับวิธีการวางเชื้อสาเหตุโรคตรงกลางเพียงอย่างเดียว ทำการวัดขนาดโคโลนีของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคและบริเวณที่เกิดการยับยั้ง หลังการทดลอง 7 วัน หรือจนกว่าเชื้อสาเหตุโรคในกรรมวิธีเปรียบเทียบเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง โดยคำนวณจากสูตร

$$100 - \frac{[\text{ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อรา } \textit{P.asparagi} \text{ ในกรรมวิธีเชื้อทดสอบ} \times 100]}{\text{ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อรา } \textit{P. asparagi} \text{ในกรรมวิธีเปรียบเทียบ}}$$

2.2. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีและมีค่าเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค ไม่ต่ำกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

3. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเกิดแผลบนลำต้นหน่อไม้ฝรั่งในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Detached Stem Technique

3.1. ตัดส่วนลำต้นหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่มีอาการของโรคเป็นท่อนขนาด 10 เซนติเมตร เช็ดฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวด้วยแอลกอฮอล์ 75% ผึ่งให้แห้ง จากนั้นใช้เข็มปลายแหลมปลอดเชื้อทำแผลที่บริเวณท่อนลำต้น 3 จุดต่อแผล โดยทำ 1 แผลต่อ 1 ท่อน

3.2. นำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.2 มาเลี้ยงขยายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NGB ปริมาตร 250 มล. นำไปเขย่าด้วยความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นให้ได้10^{8} cfu/ml หยด tween 80 จำนวน 1-2 หยด ก่อนนำไปพ่นให้ทั่วบริเวณท่อนลำต้น

หน่อไม้ฝรั่งที่เตรียมไว้ในข้อ 3.1 และในกรรมวิธีเปรียบเทียบใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อพ่นที่บริเวณแผลเช่นเดียวกัน และทิ้งไว้ให้แห้ง

3.3. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคหลังการพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ด้วยการวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *P. asparagi* เจริญ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ม.ม. ลงบนบริเวณแผลบนท่อนหน่อไม้ฝรั่งที่เตรียมไว้ในข้อ 3.2 จำนวน 5 ท่อนต่อซ้ำ ทั้งหมด 4 ซ้ำ นำท่อนหน่อไม้ฝรั่งที่ปลูกเชื้อสาเหตุแล้ว ไปไว้ในกล่องพลาสติกชื้นเพื่อบ่มเชื้อ และเมื่อครบ 24 ชม. นำชิ้นวุ้นที่วางไว้บริเวณแผลออก บ่มเชื้อต่อเป็นเวลา 3 วัน และที่หลังการทดลอง 3 วัน ตรวจเช็คการเกิดโรคและวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนท่อนหน่อไม้ฝรั่ง

3.4 คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดี โดยเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งการเกิดแผลที่เกิดขึ้นได้ดีที่สุด เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลอง

4.1. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลองครั้งที่ 1

4.1.1. เตรียมปลูกหน่อไม้ฝรั่งลงในกระถางให้มีอายุประมาณ 5 – 6 เดือน เพื่อใช้ในการทดสอบ

4.1.2. นำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.4 มาทดสอบโดยเลี้ยงเชื้อขยายแต่ละไอโซเลทในอาหาร NGB ปริมาตร 250 มล. นำไปเขย่าด้วยความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นให้ได้10^8 cfu/ml หยด tween 80 จำนวน 1-2 หยด ก่อนนำไปพ่นให้ทั่วบริเวณลำต้นหน่อไม้ฝรั่งด้วยกระบอกพ่น ทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นปลูกเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี toothpick's technique จำนวน 5 ต้นต่อกระถาง ทั้งหมด 4 กระถาง และนำกระถางที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วใส่ลงในถุงพลาสติกใสเพื่อบ่มเชื้อ เปิดถุงพลาสติกเมื่อครบ 24 ชม. และนำชิ้นวุ้นที่ใช้ในการปลูกเชื้อสาเหตุออกด้วย หลังการทดลอง 3 วัน และ 7 วัน ตรวจเช็คการเกิดโรคและวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนต้นหน่อไม้ฝรั่ง

4.2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลองครั้งที่ 2

4.2.1. ปฏิบัติการต่างๆ เช่นเดียวกับการทดลองในครั้งที่ 1 แต่จะทำการพ่นเชื้อปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทซ้ำทุก 3 วัน จำนวน 2 ครั้ง ตรวจเช็คการเกิดโรคและวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนต้นหน่อไม้ฝรั่ง หลังการทดลอง 3 วัน และ 10 วัน

5. การจำแนกชนิดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เบื้องต้น

ทำการศึกษาลักษณะรูปร่างทางสรีรวิทยาของเชื้อ ทดสอบแกรมโดยใช้ 3% KOH และการสร้างสปอร์ด้วยวิธีการย้อมติดสีของ Malachite green

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2551

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ.

แปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

สำรวจและเก็บตัวอย่างต้นหน่อไม้ฝรั่งที่แสดงอาการโรคลำต้นไหม้และต้นที่ปกติ จากแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกร อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี , อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี และ อ.ด่านมะขามเตี้ย จ.กาญจนบุรี โดยนำตัวอย่างต้นหน่อไม้ฝรั่งที่แสดงอาการโรค มาแยกเชื้อราสาเหตุโรคโดยวิธี tissue transplanting technique สามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรคได้ 3 ไอโซเลท และในการแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดยวิธี stem washing technique พบว่า สามารถแยกได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีลักษณะโคโลนีสีขาวขุ่น ด้าน ขอบหยัก จำนวน 30 ไอโซเลท แยกเลี้ยงเชื้อให้บริสุทธิ์ และเก็บเชื้อแต่ละไอโซเลท ลงใน อาหาร NGA slant agar เพื่อการทดสอบต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ในปี 2549 ได้ทำการทดลองนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้ จำนวน 30 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ซึ่งในการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคนั้น ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไม่ต่ำกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่า มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท AS5, AS9 และ AS8 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 83.66 , 83.00 และ 82.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท AS2,AS15,AS18, AS21, AS23, AS24 และ AS26 โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งตั้งแต่ 75.00 – 79.44 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ในการทดลองนี้เป็นการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพดีทั้ง 10 ไอโซเลท มีปฏิกิริยาในการยับยั้งแบบการสร้างสารปฏิชีวนะ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทจะมีการสร้างบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ได้กว้าง และไปมีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุ ซึ่งทำให้เส้นใยเชื้อรามีการเจริญที่ผิดปกติ และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ซึ่งจากการศึกษาของ ธนวันต์ และ ชวนพิศ (2548) ที่ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากผิวของ สตรอเบอร์รี มะม่วง และส้ม เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colltotrichum* spp. โดยชีววิธี นั้น เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาเลี้ยงร่วมกันกับเชื้อสาเหตุโรค พบว่า เส้นใยเชื้อรามีการเจริญที่ผิดปกติ เส้นใยมีการบวมและขยายใหญ่ขึ้น และมีผนังหนาขึ้น รวมทั้งไม่พบการการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค ซึ่งอาจเป็นได้ว่าเกิดจากสารปฏิชีวนะที่เชื้อแบคทีเรียสร้างขึ้นไปมีผลต่อเชื้อราสาเหตุโรคได้

3. ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเกิดแผลบนลำต้นหน่อไม้ฝรั่งในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Detached Stem Technique

การทดสอบนี้ได้มีการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้ว่ามีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 10 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพการยับบั้งการเกิดแผลบนลำต้นหน่อไม้ฝรั่งในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Detached Stem Technique ซึ่งจากการทดลองพบว่า ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีสามารถยับยั้งการเกิดแผลบนลำต้นได้ดีที่สุดมี 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท AS2, AS5, AS8 และ AS9 มีค่าเฉลี่ยขนาดของแผลเท่ากับ 0.30, 0.22, 0.20 และ 0.13 เซนติเมตร เมื่อเปรียบกับกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว มีค่าเฉลี่ยขนาดของแผลเท่ากับ 0.78 เซนติเมตร (ตารางที่ 2)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลอง

4.1. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลองครั้งที่ 1

การทดสอบนี้ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคจากห้องปฏิบัติการ จำนวน 4 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลำต้นไหม้ในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยมีการพ่นสารแขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทก่อนทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค จากการทดลองพบว่า ขนาดเฉลี่ยของแผลหลังการทดลอง 3 วัน ไอโซเลทที่มีขนาดเฉลี่ยของแผลน้อยที่สุด คือ ไอโซเลท AS8 มีขนาดเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 0.16 เซนติเมตร

รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท AS2, AS9 และ AS5 มีขนาดเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 0.28, 0.28 และ 0.46 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียวที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 0.61 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) และได้ทำการวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นหลังการทดลอง 7 วัน ซึ่งพบว่า ไอโซเลทที่มีขนาดเฉลี่ยของแผลน้อยที่สุด คือ ไอโซเลท AS2 มีขนาดเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 1.06 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท AS5, AS9 และ AS8 มีขนาดเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 1.58, 1.65 และ 1.72 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียวที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 3.49 เซนติเมตร (ตารางที่ 3)

4.2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลองครั้งที่ 2

การทดสอบนี้เป็นการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพมาทดสอบ โดยพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค และทำการพ่นเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทซ้ำทุก 3 วัน จำนวน 2 ครั้ง จากการวัดขนาดของแผลหลังการทดลอง 3 วัน พบว่า ไอโซเลทที่มีขนาดเฉลี่ยของแผลน้อยที่สุด คือ ไอโซเลท AS8 มีขนาดเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 0.41เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท AS9, AS5 และ AS2 มีขนาดเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 0.57, 0.76 และ 0.89 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียวที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 1.10 เซนติเมตร (ตารางที่ 4) และผลการทดลองหลังการทดลอง 10 วัน พบว่า ไอโซเลทที่มีขนาดเฉลี่ยของแผลน้อยที่สุด คือ ไอโซเลท AS8 มีขนาดเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 0.93 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท AS9, AS5 และ AS2 มีขนาดเฉลี่ยของแผลเท่ากับ 1.45, 1.79 และ 2.14 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียวที่มีขนาดของแผลเท่ากับ 1.98 เซนติเมตร (ตารางที่ 4)

5. การจำแนกชนิดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เบื้องต้น

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นและการทดสอบแกรมของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท AS8 และ AS9 นั้น พบว่า เชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท มีลักษณะเซลล์เป็นท่อนตรง มีการสร้าง endospore ที่บริเวณกลางและท้ายเซลล์ และเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งจากลักษณะดังกล่าวแสดงว่า เชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท มีลักษณะเบื้องต้นอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรีย Bacillus จากการสร้าง endospore และเป็นแกรมบวก แต่ขณะนี้ยังไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็น species ใด ซึ่งต้องมีการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีเพิ่มเติมเพื่อจำแนก species ของเชื้อต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ในปี 2549 สามารถแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากต้นหน่อไม้ฝรั่งที่แสดงอาการโรคและไม่แสดงอาการโรคในพื้นที่ จ. นครปฐม , ราชบรี และ กาญจนบุรี ได้ทั้งหมด 30 ไอโซเลท ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูง ได้แก่ AS5, AS9 และ AS8 โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 83.66 , 83.00 และ 82.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท AS2,AS15,AS18, AS21, AS23, AS24 และ AS26 โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งตั้งแต่ 75.00 – 79.44 เปอร์เซ็นต์ และได้มีการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 10 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเกิดแผลบนต้นหน่อไม้ฝรั่ง พบว่า ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีมี 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท AS2, AS5, AS8 และ AS9 มีค่าเฉลี่ยขนาดของแผลเท่ากับ 0.30, 0.22, 0.20 และ 0.13 เซนติเมตร

ในปี 2550 ได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลท ทดสอบประสิทธิภาพของในการควบคุมโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลอง จำนวน 2 ครั้ง และผลการทดลองหลังการทดลอง 3 และ 10 วัน พบว่า ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคทั้ง 2 ครั้ง คือ ไอโซเลท AS8 รองลงมาคือ ไอโซเลท AS9 ซึ่งขนาดของแผลที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กกว่ากรรมวิธีที่ปลูกเชื้อเพียงเดียว

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร .2545 .เกษตรดี ที่เหมาะสม ในการผลิตหน่อไม้ฝรั่ง .กรมวิชาการเกษตร , กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ .กรุงเทพฯ 22 .น.

กรมส่งเสริมการเกษตร .2531.ศัตรูแอสพารากัส .กรมส่งเสริมการเกษตร .กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ .กรุงเทพฯ 23 .น.

กรรณิการ์ ชมภูแก้ว .2533.โรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง ; สาเหตุโรค ,การเข้า ทำลายและการป้องกันกำจัดโดยการใช้สารเคมี .วิทยนิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ 68 .น.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู254 .4 .การผลิตและวิธีใช้ไตรโคแดอร์มาชนิดสดควบคุมโรคพืช .เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 68 .น.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู254 .6 .การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคแดอร์มา, น.12-53 *ใน* การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ธนวันต์ กันทา และ ชวนพิศ บุญชิตสิริกุล. 2548. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากผิว สตรอเบอร์รี มะม่วง และส้ม เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* spp. โดยชีววิธี. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7, โรงแรมโลตัส ปางสวนแก้ว จ. เชียงใหม่. หน้า 1039-1049.

Chupp, C. and A.E. Sherf. 1960. Vegetable Disease and Their Control. Ronald Press, New York. 693 p.

Hsu, Chung-Msiung and Shou-Kung Sun. 1969. Stem Blight of asparagus in Taiwan. Plant Protection Bull. 11: 47-60.

Papavizas, GC. 1985. Trichoderma and Gliocladium ; Biology, Ecology, and potential for Biocontrol. Ann. Rev. Phytopathol. 23: 23-54.

Planck, J. and B. Davis. 2004. http://www.dpi.qld.gov.au/heaith/5626.html

ตารางที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phomopsis asparagi* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อราสาเหตุโรค[1/]	ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[2/]
AS1	2.29	74.55
AS2	2.07	77.00*
AS3	2.56	71.55
AS4	2.63	70.77
AS5	1.47	83.66*
AS6	2.49	72.33
AS7	7.88	12.44
AS8	1.55	82.77*
AS9	1.53	83.00*
AS10	2.53	71.88
AS11	2.33	74.11
AS12	2.47	72.55
AS13	2.34	74.00
AS14	3.73	58.55
AS15	1.86	79.33*
AS16	2.50	72.22
AS17	2.53	71.88
AS18	2.07	77.00*
AS19	2.66	70.44
AS20	9.0	-
AS21	2.25	75.00*
AS22	2.42	73.11
AS23	2.19	75.66*
AS24	1.85	79.44*
AS25	2.38	73.55
AS26	1.70	75.88*
AS27	3.73	58.55
AS28	2.50	72.22
AS29	2.53	71.88
AS30	2.49	72.33
Control	9.0	-

หมายเหตุ /1 = ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางทั้งหมด 5 ซ้ำ

/2 = 100 – [ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อรา *P.asparagi* ในกรรมวิธีเชื้อทดสอบ x 100]

ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเชื้อรา *P. asparagi* ในกรรมวิธีเปรียบเทียบ

ตารางที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการยับยั้งการเกิดแผลบนต้นหน่อไม้ฝรั่งในห้องปฏิบัติการโดยวิธี detached stem technique

ไอโซเลท	**ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลหลังการทดลอง 3 วัน (ซ.ม)**[/1]
AS2	0.30
AS5	0.22
AS8	0.20
AS9	0.13
AS15	0.65
AS18	0.85
AS21	0.57
AS23	0.73
AS24	0.45
AS26	0.79
Control inoc.	0.78
Control uninoc.	0

หมายเหตุ : 1/ = ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลที่วัดได้หลังการทดลอง 3 วัน จากทั้งหมด 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ท่อน

ตารางที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเกิดแผลบนต้นหน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลอง ครั้งที่ 1

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยขนาดของแผล (ซ.ม.)/1	
	หลังการทดลอง 3 วัน	หลังการทดลอง 7 วัน
AS 2	0.28	1.06
AS 5	0.46	1.58
AS 8	0.16	1.72
AS 9	0.28	1.65
Control	0.61	3.49

หมายเหตุ : 1/ = ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลที่วัดได้หลังการทดลอง 3 วัน และ 7 วัน จากทั้งหมด 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น

ตารางที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเกิดแผลบนต้นหน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนทดลอง ครั้งที่ 2

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยขนาดของแผล (ซ.ม.)/1	
	หลังการทดลอง 3 วัน	หลังการทดลอง 10 วัน
AS 2	0.89	2.14
AS 5	0.76	1.79
AS 8	0.41	0.93
AS 9	0.57	1.45
Control	1.10	1.98

หมายเหตุ : 1/ = ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลที่วัดได้หลังการทดลอง 3 วัน และ 10 วัน จากทั้งหมด 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น

พัฒนาสูตรสำเร็จของเชื้อ *Bacillus subtilis* เพื่อใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง

Development of Formulations of *Bacillus subtilis* for Controlling Bacterial Wilt of Ginger

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์[1/] บุษราคัม อุดมศักดิ์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* โดยเพิ่มปริมาณ *B. subtilis* บนอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar และ บนอาหารเหลว Tryptic Soy Broth และปรับปริมาณเชื้อให้ได้ 10^9 cfu/กรัม ผสม magnesium sulfate ความเข้มข้น 0.1 M, methylcellulose ความเข้มข้น 2.5 % และผง talcum 1:4 (V:W) ผึ่งให้แห้งสนิทในตู้ปลอดเชื้อ นำผงเชื้อที่ได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C นำมาตรวจสอบการมีชีวิตของเชื้อ *Bacillus subtilis* ทุกเดือน พบว่า การเก็บผงเชื้อที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C เป็นเวลา 10 เดือน ผงเชื้อยังคงมีชีวิตอยู่และมีความเข้มข้นเท่าเดิมที่ 10^9 cfu/กรัม นำผงเชื้อไปใช้ทดสอบประสิทธิภาพในแปลงปลูกขิงที่ศูนย์บริการวิชาการและปัจจัยการผลิตห้างฉัตร จังหวัดลำปาง โดยวางแผนการทดลอง RCB 7 กรรมวิธี 4 :ซ้ำ อยู่ในระหว่างการเก็บข้อมูลโดยการตรวจนับจำนวนต้นที่เป็นโรคทุกเดือน

รหัสโครงการ 07-01-49-06

1/ กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาข้าว

คำนำ

โรคเหี่ยวของขิงเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* Syn. *(Pseudomonas solanacearum)* เป็นโรคที่ทำความเสียหายอย่างสูงต่อการผลิตและการส่งออกขิง การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยากเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถมีชีวิตอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวกับพืชเศรษฐกิจอื่น ๆ เช่น ปทุมมา มันฝรั่ง ไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรค มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรม และการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรค ซึ่งพบว่าการใช้ชีววิธีควบคุมโรคเหี่ยวมีความเป็นไปได้สูง

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ถูกต้องเหมาะสม และเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นantagonist ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย จนกระทั่งแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ และจำหน่ายเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลาย เช่น เชื้อรา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

ณัฏฐิมาและคณะ (2547) จึงได้ทำการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ และพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงถึง 60% การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการทดลองนี้เตรียมในรูปเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียแล้วนำไปจุ่มหัวพันธุ์ และ/หรือราดลงบนดินซึ่งเป็นการไม่สะดวกต่อเกษตรกรที่จะนำไปใช้ในสภาพแปลง และวิธีการปฏิบัติเช่นนี้ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มักไม่คงที่ เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม ซึ่งส่วนใหญ่ประสิทธิภาพมักจะลดลงอันเนื่องมาจากเซลแบคทีเรียตายลง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความ

ดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)

3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย หัวพันธุ์ขิง
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

1. การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*

การเพิ่มปริมาณ *B.subtilis* บนอาหารแข็ง

เลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* บนอาหาร nutrient agar (NA) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง เติมสารละลาย magnesium sulfate (0.1 M) 10 มล.ต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียบนผิวอาหารให้ผสมในสารละลายจากนั้นนำไปผสมกับ methylcellulose 2.5% ในน้ำ ในปริมาตรที่เท่ากัน พักไว้ 20 นาที จึงผสมกับสารพาผง talc ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันดีก่อนนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดให้เป็นผงละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh เก็บไว้ถุงพลาสติกก่อนนำไปศึกษาต่อไป (Xu and Gross, 1986)

การเพิ่มปริมาณ *B.subtilis* บนอาหารเหลว

เลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* ในอาหารเหลว nutrient broth (NB) นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ 150 rpm. นาน 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ผสม carboxymethylcellulose 10 กรัมกับผง talc 1 กิโลกรัม นำส่วนผสมไปนึ่งฆ่าเชื้อนาน 30 นาที 2 วัน ติดต่อกันวันละครั้ง จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปริมาณ 400 มล. เทลงในส่วนผสมของผง talc และ carboxymethylcellulose 1 กิโลกรัม ผสมให้เข้ากันดีในสภาพปลอดเชื้อ บรรจุในถุงพลาสติก (Vidhyasekaran and Muthamilan, 1995)

การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่ผลิตได้

นำส่วนผสมผงเชื้อ 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณเชื้อ *B.subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับเชื้อ *B.subtilis* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร

2. การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

หลังจากตรวจนับปริมาณเชื้อ *B.subtilis* ในผงเชื้อที่ผลิตได้แล้ว นำผงเชื้อแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) อีกส่วนหนึ่งเก็บรักษาในตู้เย็น (4-6 องศาเซลเซียส) และทำการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในผงเชื้อสูตรต่าง ๆ ที่แบ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิและในตู้เย็นทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา 6-12 เดือน

3. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในเรือนทดลอง

การเตรียมดินผสมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

เลี้ยงเชื้อ *R.solanacearum* บนอาหารแข็ง Wakimoto's semisynthetic potato medium (PSA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมน้ำนึ่ง 10 มล.ต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียผสมในน้ำเพื่อเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ปรับให้มีความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml. นำไปผสมคลุกเคล้ากับดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วที่อัตรา 1:10 (ปริมาตร:น้ำหนัก) นำดินที่ผสมเชื้อสาเหตุโรคไปตรวจหาปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* โดยวิธี soil dilution plates ก่อนนำดินไปบรรจุในกระถางเพื่อเตรียมไว้ปลูกพืชทดสอบต่อไป

การคลุกหัวพันธุ์ขิงด้วยผงเชื้อ *B.subtilis*

นำหัวพันธุ์ขิง พันธุ์ขิงหยวกล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้งมาคลุกด้วยผงเชื้อ *B.subtilis* ที่อัตรา 1% โดยน้ำหนัก นำไปปลูกในดินที่เตรียมไว้ในข้อ 4.1 จากนั้นนำผงเชื้อ *B.subtilis* ผสมน้ำนึ่งเพื่อเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ที่มีความเข้มข้น $1x10^9$ cfu/ml. นำไปรดพืชทดสอบที่ปลูกไว้ในกระถางทุก 1 สัปดาห์ สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกด้วยหัวพันธุ์ขิงที่ไม่ได้คลุกด้วยผงเชื้อ *B.subtilis* และใช้น้ำนึ่งรดพืชทดสอบแทนการใช้เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย

การบันทึกข้อมูล

บันทึกปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* ในดินที่เตรียมไว้ก่อนนำไปใช้ปลูกพืชทดสอบ บันทึกปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* และ *B.subtilis* ในดินที่ใช้ปลูกพืชทดสอบแล้วทุกสัปดาห์บันทึกจำนวนต้นพืชที่เป็นโรคเหี่ยวทุกสัปดาห์

4. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ B.subtilis ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพไร่

การเตรียมดินผสมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

เตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียสาเหตุโรค *R.solanacearum* ปลูกเชื้อกับต้นกล้ามะเขือเทศเพื่อให้เป็นโรคเหี่ยว แล้วนำต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคสับให้ละเอียดผสมคลุกเคล้ากับดินในแปลงทดสอบที่มีการควบคุมอย่างดี สุ่มตัวอย่างดินไปตรวจนับปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* ด้วยวิธี soil dilution plates

การคลุกหัวพันธุ์ขิงด้วยผงเชื้อ *B.subtilis*

นำหัวพันธุ์ขิงล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง คลุกด้วยผงเชื้อ *B.subtilis* ที่อัตรา 1% โดยน้ำหนัก นำมาปลูกในแปลงทดลองที่เตรียมไว้ในข้อ 1 จากนั้นนำผงเชื้อ *B.subtilis* ผสมน้ำนึ่งเพื่อเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียนำไปรดพืชทดสอบที่ปลูกไว้ในแปลงทุกสัปดาห์ สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกด้วยหัวพันธุ์ขิงที่ไม่ได้คลุกด้วยผงเชื้อ *B.subtilis* และใช้น้ำนึ่งรดพืชทดสอบแทนการใช้เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย

การบันทึกข้อมูล

บันทึกปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงทดสอบก่อนนำพืชไปปลูก บันทึกปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* และ *B.subtilis* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงทดสอบที่ใช้ปลูกพืชทดสอบทุกสัปดาห์ บันทึกจำนวนต้นพืชที่เป็นโรคเหี่ยวทุกสัปดาห์ บันทึกน้ำหนักของผลผลิต

เวลาและสถานที่

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

ผลการทดลอง

1. การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*

การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* โดยเพิ่มปริมาณ *B. subtilis* บนอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar และ บนอาหารเหลว Tryptic Soy Broth และปรับปริมาณเชื้อให้ได้ 10^9 CFU/กรัม ผสม magnesium sulfate ความเข้มข้น 0.1 M, methylcellulose ความเข้มข้น 2.5 % และผง talcum 1:4 (V:W) ผึ่งให้แห้งสนิทในตู้ปลอดเชื้อ นำไปตรวจนับปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่ผลิตโดย นำส่วนผสมผงเชื้อ 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณเชื้อ *B.subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับเชื้อ *B.subtilis* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหารได้ 10^{10} CFU/กรัม

2. การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

นำผงเชื้อแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) อีกส่วนหนึ่งเก็บรักษาในตู้เย็น (4-6 องศาเซลเซียส) ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในผงเชื้อสูตรต่าง ๆ ที่แบ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิและในตู้เย็นทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา 12

เดือน ผลการทดลอง ผงเชื้อที่ได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C ยังคงมีชีวิตอยู่และมีความเข้มข้นเท่าเดิมที่ 10^{10} cfu/กรัม

3. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในเรือนทดลอง

นำผงเชื้อไปใช้ทดสอบประสิทธิภาพในแปลงปลูกขิงที่ ศูนย์บริการวิชาการและปัจจัยการผลิตห้างฉัตร จังหวัดลำปาง โดยวางแผนการทดลอง RCB 7 กรรมวิธี 4 :ซ้ำ อยู่ในระหว่างการเก็บข้อมูลโดยการตรวจนับจำนวนต้นที่เป็นโรคทุกเดือน

4. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพไร่

การเตรียมดินผสมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

ดำเนินการในปี 2550

เอกสารอ้างอิง

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2534. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการหลักสูตร การควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี.หน้า 1-13. ระหว่างวันที่13-17 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.

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.

การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวของขิง

Formulation of *Bacillus subtilis* Endospore for Controlling Ginger Wilt

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวของขิง เริ่มจากการทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างเอ็นโดสปอร์ของ *B.subtilis* จำนวน 21 สูตร ทดสอบปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเอ็นโดสปอร์ ได้แก่ ทดสอบความเร็วรอบในการเขย่าเพื่อการบ่มเชื้อ อุณหภูมิ และแสงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อเพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ ทดสอบความทนทานของ *B.subtilis* ที่อยู่ในระยะเอ็นโดสปอร์ในสภาพอุณหภูมิต่างๆ และศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์ *B.subtilis* ในรูปเอ็นโดสปอร์ ผลการทดลองพบว่า อาหารสูตร N1 B N2 N5 N4 N3 และ FFS1 สามารถกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ได้สูงถึง10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยสูตร N3 สามารถกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ได้สูงสุดถึง 3.10 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 480 ชั่วโมง (20 วัน) และสูตร FFS1 สามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ได้ 2.1 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (5 วัน) การเลี้ยงแบคทีเรียในสภาพเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 และ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิปกติ (26 องศาเซลเซียส) ภายใต้แสงธรรมดา เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย *B.subtilis* ในการกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ และพบว่า แบคทีเรีย *B.subtilis* สามารถทนอุณหภูมิได้ต่ำถึง 8 องศาเซลเซียสและสูงถึง 100 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับสภาพแปลงปลูกปริมาณเอ็นโดสปอร์ไม่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ที่อุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส) ในการทดสอบการแปรรูปผลิตภัณฑ์ในรูปของเหลว ผลการทดลอง พบว่า หลังการทดสอบ 3 เดือน ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์ที่ใส่สารนำพา (หางนม) ลดลงเพียงเล็กน้อย คือจาก 1.1 x 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร เป็น 0.2x 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร แต่หลังเก็บผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 5 เดือน ปริมาณเซลแบคทีเรียที่มีชีวิตเริ่มลดลงอย่างรวดเร็ว จาก 10^7 เป็น 10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร การทดสอบการแปรรูปผลิตภัณฑ์ในรูปผง พบว่า หลังการแปรรูปปริมาณแบคทีเรียเริ่มต้นมีปริมาณเท่ากันคือ10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร แต่การใช้แป้งข้าวโพดเป็นสาร

รหัสโครงการ 07-01-49-06

นำพามีข้อเสียคือ การเกาะติดค่อนข้างยากเนื่องจากแป้งข้าวโพดมีลักษณะมันลื่น ต้องใช้เวลานานในการคลุกเคล้า ข้อดีคือ ผลิตภัณฑ์ละลายน้ำได้ดี ในขณะที่การใช้สารทัลคัม การละลายน้ำจะมีตะกอนตกค้าง หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือนพบว่า ปริมาณเอ็นโดสปอร์ยังไม่แตกต่างกันและยังไม่ลดลง หลังการเก็บรักษา 7 เดือน พบว่า ปริมาณแบคทีเรียจากทั้งสองผลิตภัณฑ์มีปริมาณเท่ากันแต่ลดลงเหลือ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรียจากผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากการเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหาร PSA ซึ่งไม่มีการกระตุ้นให้สร้างเอ็นโดสปอร์ ไม่มีแบคทีเรีย *B.subtilis* ที่มีชีวิตรอด เมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตพบว่า ราคาของสารนำพาทั้งสองชนิดที่นำมาใช้แปรรูปไม่แตกต่างกัน

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมาก ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา การควบคุมโรคด้วยสารเคมีค่อนข้างยาก และมักก่อให้เกิดผลกระทบต่อผู้บริโภคและสภาพแวดล้อมตามมา จึงได้มีการศึกษาเพื่อหาวิธีควบคุมโรคเหี่ยวที่มีความปลอดภัยหลายวิธี เช่น การเขตกรรม การปรับปรุงพันธุ์ และการควบคุมโรคโดยชีววิธีโดยการนำเชื้อจุลินทรีย์ ที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ถูกต้องเหมาะสม และเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นantagonist ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย จนกระทั่งแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ และจำหน่ายเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลาย เช่น เชื้อรา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ณัฏฐิมาและคณะ (2548) จึงได้ทำการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ และพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงถึง 60% แต่จากงานวิจัยที่ผ่านมาการนำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ทำโดยใช้สารละลายเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลวแล้วนำไปจุ่มหัวพันธุ์ และ/หรือราดลงบนดิน ซึ่งวิธีการปฏิบัติเช่นนี้ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มักไม่คงที่ เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม ซึ่งส่วนใหญ่ประสิทธิภาพมักจะลดลงอันเนื่องมาจากเซลแบคทีเรียตายลง

เนื่องด้วยแบคทีเรียในสกุล*Bacillus* มีคุณสมบัติในการสร้างสปอร์ที่เรียกว่าเอ็นโดสปอร์ (endospore) ซึ่งเป็นอวัยวะที่อยู่ในเซลแบคทีเรีย (vegetative cell) โดยเอ็นโดสปอร์จะมีผนังหนาคงทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น รังสี แรงกระแทก ร้อนจัดหรือเย็นจัดหรือสภาพขาดแคลนอาหาร และเอ็นโดสปอร์จะสามารถงอกกลับมาเป็น vegetative cell ได้ใหม่เมื่อใส่ลงไปในดินและสภาพแวดล้อมเหมาะสมและมีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อโรคได้ทันที (http://www.splammo. net/bact102/102/bacillus.html) โดยมหาวิทยาลัยน้อททิ่งแฮม (University of Nottingham) ของประเทศอังกฤษได้ทำการศึกษาและคัดเลือกแบคทีเรีย *B. subtilis* และรูปแบบผลิตภัณฑ์ในรูปของเอ็นโดสปอร์และได้รับการจดทะเบียนจาก EPA แล้วในชื่อ MBI 600 โดย มีคุณสมบัติทนทานต่อสภาพแวดล้อม สามารถเก็บในสภาพแห้งได้ไม่ต่ำกว่า 2 ปี สามารถใช้ร่วมกับสารเคมีชนิดอื่นได้อย่างกว้างขวางและสปอร์สามารถงอกกลับมาเป็น vegetative cell และเข้าครอบคลุม (colonise) รากพืชได้ทันที เมื่อใส่ลงไปในดิน (http://www.microbiogroup.com/BS1.htm)

วาสนา และคณะ, 2547 ได้ศึกษาการยืดอายุผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* TISTR 001 เพื่อใช้ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ พบว่า ถ้าเติมสารตัวพา (carrier) ได้แก่ zeolite, talcum, และ calcium carbonate ลงไปในการรูปแบบผลิตภัณฑ์ชนิดผง แม้เพิ่มอุณหภูมิถึง 150 องศาเซลเซียสในระหว่างกระบวนการผลิตก็ตาม สปอร์ของแบคทีเรียก็สามารถทนอยู่ได้และจำนวนของเอ็นโดสปอร์ก็ไม่ลดลง และพบว่าความเข้มข้นของเอ็นโดสปอร์จะคงที่กว่าผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของเหลว (http://www.nowledge.biotec.or.th/doc_upload /200411495822 .doc)

เพ็ญจันทร์,2546 ได้ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อขบวนการหมักสปอร์ของ *B.subtilis* TISTR 001 เพื่อเป็นโพรไบโอติก พบว่า การใช้โมลาสและกากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารที่ใช้หมัก จะสามารถกระตุ้นการสร้างสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* TISTR 001 ได้ถึง 10^9 สปอร์/มิลลิลิตร

งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อพัฒนาสูตรสำเร็จของแบคทีเรีย *B. subtilis* ให้อยู่ในรูปของเอ็นโดสปอร์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ ให้มีความคงทน เนื่องการมีชีวิตรอดในรูปสปอร์ของเชื้อ และสามารถนำไปใช้ได้ทุกสภาพแม้กระทั่งในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง โดยอาศัยคุณสมบัติความทนทานของเอ็นโดสปอร์และการงอกกลับมาเป็นเซลใหม่ได้โดยง่ายของเอ็นโดสปอร์ดังกล่าว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แบคทีเรีย *B.subtilis* 1 ไอโซเลท (ไอโซเลทที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* (ณัฏฐิมาและคณะ, 2547)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย PSA (Potato sucrose agar)
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ เครื่องเขย่า (incubator shaker) ฯลฯ
4. สารเคมีในห้องปฏิบัติการ
5. สารที่ได้จากของเหลือภาคเกษตร เช่น หางนม กากน้ำตาล กากถั่วเหลือง โปรตีนปลา (เศษปลาหมัก) ฯลฯ

วิธีการ

1. การทดสอบสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* เพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์

สูตรอาหารทดสอบ (ภาคผนวก) ได้แก่

- **ชุดที่ 1** สูตรอาหารทั่วไป 15 สูตร ได้แก่ : CA MY NGA PSB (Wakimoto'broth) CPG YP NA NTG GMP B N1 N2 N3 N4 และ N5

- **ชุดที่ 2** สูตรอาหารที่มีส่วนผสมของส่วนเหลือจากภาคเกษตร ได้แก่ : SM1 SM2 FM1 FM2 FFS1 และ FFS2

ปฏิบัติดังนี้

1.1 การเตรียมหัวเชื้อ : เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *B.subtilis* บนอาหารแข็ง PSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อแบคทีเรียจำนวน 1 ลูป (loop) มาตรฐานลงในอาหารเหลว PSB ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุในฟาสก์ขนาด 25 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงในสภาพเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.2 การทดสอบในสูตรอาหารต่างๆ : ถ่ายหัวเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลวที่ใช้ทดสอบซึ่งบรรจุอยู่ในฟาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 99 มิลลิลิตร นำไปบ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

1.3 การบันทึกผล : ตรวจผลโดยนับจำนวนเอ็นโดสปอร์โดยการย้อมสีและนับด้วย counting chamber ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทุก 24 ชั่วโมง

2. การทดสอบความเร็วรอบที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* เพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์

ปฏิบัติดังนี้

2.1 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B.subtilis* ในอาหารสูตร N3 (Parry,J.M. และคณะ,1988) โดยปฏิบัติการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2 นำไปบ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบต่างๆ ได้แก่ 50 100 150 และ 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 360 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (26 องศาเซลเซียส)

2.3 ตรวจผลโดยนับจำนวนเอ็นโดสปอร์โดยการย้อมสีและนับด้วย counting chamber ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การทดสอบความทนทานของเอ็นโดสปอร์ที่แบคทีเรีย *B.subtilis* สร้างขึ้น ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ปฏิบัติดังนี้

3.1 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B.subtilis* ในอาหารเหลว N1 N2 N3 N4 และ N5 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 240 ชั่วโมง

3.2 นำไปแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 8 40 60 80 และ100 องศาเซลเซียสเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิปกติ (26 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที

3.3 นำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง PSA เพื่อนับจำนวนเซลที่มีชีวิตรอด โดยวิธี serial dilution plate method

4. ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis*

4.1 <u>ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* ในรูปของเหลว</u>

1. เลี้ยงแบคทีเรีย *B.subtilis*ในอาหารเหลว FFS1 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

2. เติมสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$ 0.1 M 10 มิลลิลิตร ลงไปในอาหารเหลว (ข้อ1) อัตรา 10 % ของปริมาตร

3. เติม Methyl cellulose 2.5 % อัตรา 1:1 ลงในสารละลาย (ข้อ2)

4. เติมหางนมลงไป 4 เท่า เขย่าให้เข้ากัน

5. บรรจุขวดแก้ว ปิดฝา วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

6. ตรวจนับเซลแบคทีเรียเริ่มต้นและทุก ๆ 1 เดือน เพื่อนับเซลที่มีชีวิต โดยวิธี serial dilution plate technique เปรียบเทียบกับ การเลี้ยงบนอาหารเหลวที่ไม่มีการแปรรูป

4.2 <u>ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* ในรูปผง</u>

1. ปฏิบัติการทดลองเช่นเดียวกับ การทดลอง 4.1 (ข้อ1-3)

2. เติมผงทัลคัม (Talcum) ลงไป 4 เท่า คนให้เข้ากัน

3. นำไปผึ่งในที่ร่ม จนกระทั่งผงแป้งแห้งสนิท (ประมาณ 2 สัปดาห์) เก็บในถุงพลาสติกใส ปิดปาก วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

4. ตรวจนับเซลแบคทีเรียเริ่มต้นและทุก ๆ 1 เดือน เพื่อนับเซลที่มีชีวิต โดยวิธี serial dilution plate technique เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์แปรรูปแบคทีเรีย *B.subtilis* ที่เลี้ยงบนอาหาร PSA ซึ่งปฏิบัติดังนี้

- เลี้ยงแบคทีเรีย *B.subtilis* บนอาหารแข็ง PSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- เติมสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$ 0.1 M 10 มิลลิลิตร ขูดเซลแบคทีเรีย

- นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

- รินเอาส่วนใสมาผสมกับ Methyl cellulose 2.5 % อัตรา 1:1

- เติมผงทัลคัม (Talcum) ลงไป 4 เท่า คนให้เข้ากัน

- นำไปผึ่งในที่ร่ม จนกระทั่งผงแป้งแห้งสนิท เก็บในถุงพลาสติกใส ปิดปาก วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

เวลาและสถานที่ **เริ่มต้น** ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2550
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดสอบสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* เพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์

ผลการทดลองพบว่า หลังการเลี้ยงเชื้อ 240 วัน มีอาหาร 8 สูตรได้แก่ YP NB NTG GMP N1 B N2 และ N5 ที่แบคทีเรีย *B.subtilis* สามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ประมาณ 10^2สปอร์ต่อมิลลิลิตร หลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 360 ชั่วโมง พบว่า *B.subtilis* สามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ในอาหารทั้ง 15สูตร โดยที่ในสูตร N3 และ N4 แบคทีเรียสร้างเอ็นโดสปอร์ได้สูงสุด เท่ากับ 2.13×10^6 และ2.34×10^6สปอร์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงเชื้อจนครบ 480 ชั่วโมง พบว่า แบคทีเรียสามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ได้สูงสุดถึง10^8ในอาหาร 6 สูตร ได้แก่ N1 B N2 N5 N4 และ N3 โดยมีปริมาณเอ็นโดสปอร์เท่ากับ 1.10×10^8 1.38×10^8 1.40×10^8 1.43×10^8 2.48×10^8 และ 3.10×10^8สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

การทดสอบสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของส่วนเหลือจากภาคเกษตร 6 สูตร พบว่า เมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *B.subtilis* ในอาหารที่มีส่วนผสมของเศษปลาหมักผสมกับกากถั่วเหลืองอัตรา 1:1 (FFS) แบคทีเรียสามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ได้ปริมาณสูงภายใน 5 วัน คือสร้างเอ็นโดสปอร์ได้ถึง 2.1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2)

ดังนั้นสูตรอาหารทีเหมาะสมในการนำไปแปรรูปคือ สูตร FFS1 ซึ่งมีส่วนผสมที่ราคาถูก หาง่าย และใช้เวลาในการเลี้ยงแบคทีเรียไม่นานมาก

2. การทดสอบความเร็วรอบที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* เพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์

ผลการทดลอง พบว่า หลังการเลี้ยงเชื้อในอาหาร N3 เป็นเวลา 360 วัน การเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 และ 200 รอบต่อมิลลิลิตร แบคทีเรียสร้างเอ็นโดสปอร์ได้สูงสุด โดยมีปริมาณเท่ากับ 7.1×10^8 และ 9.7×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ทั้งนี้โดยพบว่า การเพิ่มความเร็วรอบของการเขย่ามากขึ้นซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็จะทำให้ปริมาณการสร้างเอ็นโดสปอร์เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ (ตารางที่ 3)

3. การทดสอบความทนทานของเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ที่อุณหภูมิต่างๆ

ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียทดสอบสามารถทนทานทั้งในสภาพอุณหภูมิต่ำ 8 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงถึง 100 องศาเซลเซียส เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหาร 5 สูตร โดยพบว่า เมื่อแช่ในน้ำเย็นอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส แบคทีเรียยังคงมีชีวิตรอดถึงประมาณ 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ลดปริมาณลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (อุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส) ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และจากการทดสอบการทนทานในสภาพอุณหภูมิสูง พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิซึ่งใกล้เคียงกับสภาพแปลงปลูก แบคทีเรียสามารถมีชีวิตรอดประมาณ 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยที่ปริมาณไม่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

อุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียประมาณ 10^7โคโลนีต่อมิลลิลิตร และในสภาพอุณหภูมิสูงถึง 100 องศาเซลเซียส แบคทีเรียก็ยังคงมีชีวิตรอดถึง 10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4)

จากการทดลองนี้ การตรวจผลจำเป็นต้องใช้วิธีการนับโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวิธี serial dilution plate method เพื่อตรวจสอบเซลที่มีชีวิตรอดเท่านั้น และจากลักษณะคุณสมบัติของแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ถ้าแบคทีเรียอยู่ในสภาพเป็นเซลและยังไม่สร้างเอ็นโดสปอร์ แบคทีเรียสามารถเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส (http://yalor.yru.ac.th/~dolah/notes/4034605-2-48/MM_404652038_12.doc) และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเซลแบคทีเรียจะตายลงจนไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ โดยเฉพาะถ้าอุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นการที่โคโลนีแบคทีเรียยังสามารถเจริญอยู่ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งที่แช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 40-100 องศาเซลเซียส แสดงว่า เอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* เท่านั้นที่ยังทนต่อความร้อนและเจริญกลับมาเป็นเซลปกติได้ตามเดิม

4. ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis*

4.1 <u>ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* ในรูปของเหลว</u>

การทดลองแปรรูปผลิตภัณฑ์โดยใช้หางนมเป็นสารพาหะ เป็นวิธีการที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก หลังจากเก็บผลิตภัณฑ์ไว้เป็นเวลา 2-3 เดือน ในสภาพอุณหภูมิห้อง พบว่า ปริมาณเซลมีชีวิตของ *B.subtilis* ลดลงไม่มากนัก แต่หลังจาก 3 เดือน ปริมาณเซลแบคทีเรียที่มีชีวิตเริ่มลดลงอย่างรวดเร็ว และเมื่อหลังการเก็บผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 5 เดือน ปริมาณเซลแบคทีเรียลดลงจาก 10^7 เป็น 10^6 cfu/ml. เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเซลแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร FFS1 ซึ่งไม่มีการแปรรูป พบว่า ปริมาณเซลแบคทีเรียยังมีปริมาณถึง 10^7 cfu/ml. (ตารางที่ 5)

การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เหลว จะต้องมีการปรับปรุงกรรมวิธีต่อไป เพื่อให้ปริมาณเซลแบคทีเรียที่ยังมีชีวิตรอดให้ได้ไม่ต่ำกว่า 10^8 cfu/ml. โดยอาจจะมีการปรับเปลี่ยนอัตราของหางนมที่ใช้ และ/หรือเปลี่ยนชนิดสารพาหะเพื่อให้เหมาะสมต่อการดำรงอยู่ของเซลแบคทีเรีย ต่อไป

4.2 <u>ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* ในรูปผง</u>

จากการทดลอง พบว่า การแปรรูปผลิตภัณฑ์โดยใช้ ทัลคัมและแป้งข้าวโพดเป็นสารพาหะเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมคือผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากแบคทีเรียที่ล้างบนอาหาร PSA โดยไม่มีการกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ พบว่า ปริมาณเซลแบคทีเรียเริ่มต้นไม่แตกต่างกัน คือเท่ากับ 10^8 cfu/ml. แต่เมื่อเก็บไว้ 5 เดือน พบว่า ไม่พบปริมาณเซลแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในกรรมวิธีควบคุม ในขณะที่กรรมวิธีที่แปรรูปจากการกระตุ้นเอ็นโดสปอร์ในอาหาร FFS1 ที่ใช้ทัลคัมและแป้งข้าวโพดลดลงเหลือ 10^7 cfu/ml. (ตารางที่ 6)

เมื่อเปรียบเทียบขั้นตอนการผลิต พบว่า การใช้แป้งข้าวโพดจะค่อนข้างยุ่งยาก เนื่องจากแป้งข้าวโพดมีความมันลื่น การเกาะติดในขั้นตอนการผสมเชื้อค่อนข้างยาก ใช้เวลานาน แต่ข้อดีคือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ละลายน้ำได้ดีกว่าการใช้สารทัลคัม ไม่เหลือตะกอน และราคาไม่ต่างกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า มีอาหารที่ช่วยกระตุ้นการการสร้างเอ็นโดสปอร์ของ *B.subtilis* สูงสุด ได้แก่ N1 B N2 N5 N4 N3 และ FFS1 สามารถกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ได้สูงถึง10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยสูตร N3 สามารถกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ได้สูงสุดถึง 3.10×10^8 แต่สูตรที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในขบวนการแปรรูปคือสูตร FFS1 เนื่องจากส่วนผสมมีราคาถูก หาซื้อง่าย และใช้เวลาการเลี้ยงในระยะสั้นที่สุด การเลี้ยงแบคทีเรียในสภาพเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 และ 200 รอบต่อนาที เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรียทดสอบ และพบว่า แบคทีเรีย *B.subtilis* สามารถทนอุณหภูมิได้ต่ำถึง 8 องศาเซลเซียสและสูงถึง 100 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับสภาพแปลงปลูกปริมาณเอ็นโดสปอร์ไม่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือที่อุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส

การใช้หางนมในอัตราดังกล่าวเป็นสารนำพาในขบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดเหลวยังไม่เหมาะสม เนื่องจากปริมาณเซลแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดลดลงรวดเร็วภายใน 5 เดือน การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ผงโดยใช้สารทัลคัมและแป้งข้าวโพดเป็นสารนำพาปริมาณเซลแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดหลังการเก็บ 7 เดือนไม่มีความแตกต่างกัน แต่ปริมาณลดลงประมาณ 10 ล้านเซล ในขณะที่การแปรรูปจากแบคทีเรียที่เลี้ยงบนอาหาร PSA โดยไม่มีการกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ ไม่พบการรอดของเซลแบคทีเรีย *B.subtilis* หลังการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ 5 เดือน

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์ , อรพรรณ วิเศษสังข์ และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2548. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 90-105. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

Parry, J.M., P.C.B. Turnbull, and J.R. Gibson .1988. A Colot Atlas on Bacillus species. Wolfe Medical Publication Ltd. (http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_3_002c.asp?info_id=237)

Norris J.R., R.C.W. Berkeley, N.A. Logan, and A.G. O'Donnell. 1981. The genera *Bacillus* ana *Sporolactobacillus,* p. 1711-1742. In M.P. Starr, H. Stolp, H.G. Truper, A. Balows, and H.G. Schlegel (ed.), The prokaryotes. A handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria, vol. 2. Springer-Verlag, New York

Retrieve by http://www.splammo. net/bact102/102/bacillus.html

Retrieve by http://www. microbiogroup.com/BS1.htm

Retrieve by วาสนา กิตติกนกรัตน์, ไวรุจ เดชมหิธกุล และเพ็ญจันทร์ เมฆวิจิตรแสง, 2547, "*Study of Formulation and Shelf-life of Bacillus subtilis TISTR 001 Product*", The 15th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology, "Sustainable Development of SMEs Through Biotechnology http://www.nowledge.biotec.or.th/doc_upload /200411495822 .doc

Retrieve by http://yalor.yru.ac.th/~dolah/notes/4034605-2-48/MM_404652038_12.doc

Retrieve by เพ็ญจันทร์ เมฆวิจิตรแสง,2546 การปรับปรุงผลผลิตของกระบวนการหมักสปอร์ของ *Bacillus subtilis* TISTR 001 เพื่อเป็นโพรไบโอติก http://dcms.thailis.or.th/dcms/basic.php?institute_code=54&option=show&bib=193&query=Bacteria%20&doc_type=0

ตารางที่ 1 ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สร้างขึ้นในอาหาร 15 สูตร หลังการเลี้ยงเชื้อ 240 360 และ 480 ชั่วโมง ตามลำดับ

สูตรอาหาร	ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่เวลาต่างๆ (สปอร์/มิลลิลิตร)		
	240 ชั่วโมง (10 วัน)	**360 ชั่วโมง (15 วัน)**	480 ชั่วโมง (20 วัน)
CA	0	1.02×10^{2}	**1.42×10^{2}**
MY	0	3.36×10^{2}	**5.70×10^{3}**
NGA	0	7.28×10^{3}	**2.60×10^{5}**
PSB	0	8.48×10^{3}	**3.00×10^{5}**
CPG	0	8.97×10^{3}	**7.00×10^{5}**
YP	0	1.36×10^{4}	**1.04×10^{6}**
NB	1.3×10^{2}	6.45×10^{4}	**1.46×10^{6}**
NTG	1.27×10^{2}	8.38×10^{4}	**2.00×10^{6}**
GMP	1.63×10^{2}	3.94×10^{5}	**1.04×10^{7}**
N1	2.23×10^{2}	7.33×10^{5}	**1.10×10^{8}**
B	2.46×10^{2}	8.26×10^{5}	**1.38×10^{8}**
N2	3.34×10^{2}	8.28×10^{5}	**1.40×10^{8}**
N5	3.36×10^{2}	8.63×10^{5}	**1.43×10^{8}**
N4	0	2.13×10^{6}	**2.48×10^{8}**
N3	**0**	**2.34×10^{6}**	**3.10×10^{8}**

ตารางที่ 2 ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สร้างขึ้นในอาหารที่มีส่วนผสมของส่วนเหลือจากภาคเกษตร 6 สูตร หลังการเลี้ยงเชื้อ 72 และ120 ชั่วโมง ตามลำดับ

สูตรอาหาร	ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่เวลาต่างๆ (สปอร์/มิลลิลิตร)	
	72 ชั่วโมง (3 วัน)	120 ชั่วโมง (5 วัน)
FFS1	1.9×10^{6}	**2.1×10^{8}**
FFS2	1.1×10^{6}	**9.6×10^{7}**
FM1	1.2×10^{6}	**7.3×10^{7}**
FM2	8.5×10^{5}	**8.2×10^{6}**
SM1	8.1×10^{5}	**2.0×10^{6}**
SM2	**2.8×10^{5}**	**1.9×10^{6}**

ตารางที่ 3 ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สร้างขึ้นในอาหาร N3 (Parry,J.M. และคณะ,1988) ในสภาพเขย่าที่ความเร็วรอบต่างๆ เป็นเวลา 360 วัน ณ อุณหภูมิห้อง (26 องศาเซลเซียส)

ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที)	**ปริมาณเอ็นโดสปอร์ (สปอร์/มิลลิลิตร)**
50	4.10×10^{6}
100	5.60×10^{6}
150	7.10×10^{8}
200	9.70×10^{8}

ตารางที่ 4 ปริมาณเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่มีชีวิตรอด ในอาหาร N3 (Parry,J.M.และคณะ,1988) ที่แช่ในน้ำอุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

อุณหภูมิ (^{0}C)	**ปริมาณเอ็นโดสปอร์ (สปอร์/มิลลิลิตร)**
8	9.20×10^{6}
26	1.60×10^{7}
40	1.90×10^{7}
60	1.38×10^{6}
80	1.43×10^{4}
100	1.38×10^{4}

ตารางที่ 5 ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์แปรรูปชนิดเหลวที่ใช้หางนมเป็นสารนำพา เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่เลี้ยงในอาหารเศษปลาหมักผสมกากถั่วเหลือง (FFS1) ที่ไม่มีการแปรรูป เก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 เดือน

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย (โคโลนี/มิลลิลิตร)**	
	ในผลิตภัณฑ์แปรรูป	**ในอาหารFFS1**
0 [1/]	1.1×10^{8}	1.0×10^{8}
1	0.7×10^{8}	5.3×10^{8}
2	0.2×10^{8}	5.9×10^{7}
3	5.3×10^{6}	8.0×10^{7}
4	2.8×10^{6}	8.6×10^{7}
5	3.3×10^{5}	8.3×10^{7}

[1/] ปริมาณเซลแบคทีเรียเริ่มต้นหลังการแปรรูป

ตารางที่ 6 ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารทัลคัม และแป้งข้าวโพดเป็นสารนำพาเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่เลี้ยงบนอาหาร PSA ก่อนแปรรูป เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 เดือน

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย (โคโลนี/มิลลิลิตร)**		
	ทัลคัม (อาหาร FFS1)[2/]	**แป้งข้าวโพด (อาหาร FFS1)**[2/]	**ทัลคัม (อาหาร PSA)**[3/]
0 [1/]	1.2×10^8	1.5×10^8	2.1×10^8
1	0.9×10^8	0.6×10^8	1.5×10^8
2	1.7×10^7	1.5×10^7	2.0×10^8
3	2.2×10^7	1.7×10^7	1.5×10^7
4	1.3×10^7	1.5×10^7	4.3×10^7
5	3.2×10^7	3.0×10^7	0
6	1.0×10^7	9.0×10^7	0
7	1.5×10^7	2.5×10^7	0

[1/] ปริมาณเซลแบคทีเรียเริ่มต้นหลังการแปรรูป

[2/] ผลิตภัณฑ์แปรรูปที่เลี้ยงบนอาหาร FFS1 ก่อนแปรรูป

[3/] ผลิตภัณฑ์แปรรูปที่เลี้ยงบนอาหาร PSA ก่อนแปรรูป

ภาคผนวก

สูตรอาหารทดสอบ 15 สูตร

Malt-yeast extract (MY)

Malt extract	3	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Glucose	10.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Peptone-calcium carbonate

Peptone	5	กรัม
$CaCO_3$	3	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

CPG

Casamino acid	1	กรัม
Peptone	10	กรัม
Glucose	10	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

NGA

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

PSB (wakimoto'broth)

Potato	300	กรัม
Sucrose	20	กรัม
$Ca(Na_3)_24H_2O$	0.5	กรัม
$NaHPO_4$. $12H_2O$	2	กรัม
Peptone	5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

B

Yeast extract	1	กรัม
Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
$MnSO_4 . H_2O$	50	มิลลิกรัม
$CaCl_2 . 2H_2O$	100	มิลลิกรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	500	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

GMP

Glucose	15	กรัม
Peptone	6	กรัม
Meat extract	3	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
NaCl	5	กรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	0.25	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

YP

Yeast extract	5	กรัม
Peptone	10	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

NB

Peptone	5	กรัม
Beef extract	3	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

NTG

Glucose	20	กรัม
KH_2PO_4	0.4	กรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	0.2	กรัม
NaCl	1	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N1 :Norris J.R และคณะ (1981)

	Peptone	5	กรัม
	Meat extract	3	กรัม
	$Mn_2SO_4 . H_2O$	0.005	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N2 : Parry J.M และคณะ (1988)

	$Mn_2SO_4 . H_2O$	0.03	กรัม
	KH_2PO_4	0.25	กรัม
	Beef extract	3	กรัม
	Peptone	5	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N3 : Parry J.M และคณะ (1988)

	Peptone	15	กรัม
	Yeast extract	3	กรัม
	NaCl	6	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N4

	$Ca(Na_3)_24H_2O$	0.5	กรัม
	$NaHPO_4 . 12H_2O$	2	กรัม
	Peptone	15	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N5

	$Ca(Na_3)_24H_2O$	0.5	กรัม
	$NaHPO_4 . 12H_2O$	0.5	กรัม
	Peptone	5	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

SM1	กากถั่วเหลือง	10	กรัม
	กากน้ำตาล (โมลาสส์;cane molass)	10	มิลลิลิตร
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

SM2

	กากถั่วเหลือง	10	กรัม
	กากน้ำตาล (โมลาสส์;cane molass)	5.0	มิลลิลิตร

	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
FM1			
	ปลาป่น	10	กรัม
	กากน้ำตาล (โมลาสส์;cane molass)	10	มิลลิลิตร
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
FM2			
	ปลาป่น	10	กรัม
	โมลาสส์ (cane molass)	5.0	มิลลิลิตร
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
FFS1			
	โปรตีนปลา (เศษปลาหมัก)	10	มิลลิลิตร
	กากถั่วเหลือง	10	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
FFS2			
	โปรตีนปลา (เศษปลาหมัก)	10	มิลลิลิตร
	กากถั่วเหลือง	5	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

.....

เทคนิคการขยายจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (*Paecilomyces lilacinus*) ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปม

Mass Production Technique of Antagonistic Microorganism (*Paecilomyces lilacinus*) to Control Root-knot Nematode

ธารทิพย ภาสบุตร นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการทดลองเพาะเลี้ยงรา *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson ในวัสดุชนิดต่างๆ ได้แก่ เมล็ดข้าวโพดบดหยาบ ข้าวเปลือก ข้าวฟ่าง ผงถ่าน และปุ๋ยคอก ในระดับห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่า รา *P. lilacinus* สามารถสร้างโคนิเดียได้สูงสุดบนข้าวฟ่าง โดยให้โคนิเดียประมาณ 7.96×10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับในทุกกรรมวิธี รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงบนข้าวโพดบดหยาบ และข้าวเปลือก รา สามารถสร้างโคนิเดียได้ 6.92×10^5 และ 6.8×10^5 ตามลำดับ ส่วนการเลี้ยงรา *P. lilacinus* บนผงถ่านและปุ๋ยคอกพบว่าราสามารถเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียบนปุ๋ยคอกได้มากกว่าบนผงถ่าน โดยให้โคนิเดียประมาณ 5.9×10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ส่วนราที่เลี้ยงบนผงถ่านสามารถสร้างโคนิเดียได้ 4.92×10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

โรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. พบทำความเสียหายในพืชผัก-ผลไม้ โดยเฉพาะพืชส่งออก ได้แก่ พริก กระเจี๊ยบเขียว และฝรั่ง รวมถึงโรครากปมในขิง และมันฝรั่ง เป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้ผลผลิตและคุณภาพของผลิตผลเกษตรลดลง และวิธีการควบคุมประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงปลูกยังไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ซึ่งเป็นผลมาจากการจัดการโรคที่ยังมีปัญหาและอุปสรรคหลายประการ เช่น สารเคมีในกลุ่ม Nematicide กำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยตรง มีราคาแพง และไม่มีจำหน่ายในประเทศไทยหรือหาซื้อยาก การป้องกันกำจัดหรือลดประชากรไส้เดือนฝอยในแปลงปลูกจะต้องมีการจัดการก่อนการปลูกพืช เช่น การใช้แง่งพันธุ์ขิงหรือหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ปลอดไส้เดือนฝอย ตลอดจนดินปลูกต้องไม่มีการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยในพื้นที่เพาะปลูก นอกจากนั้นการใช้สารเคมีฉีดพ่นกำจัดโรคในขณะพืชเจริญเติบโตแล้ว จะมีผลในเรื่องของสารตกค้างในผลผลิตอีกด้วย ดังนั้น การพยายามจัดการศัตรูพืชจึงต้องหาแนวทางป้องกันกำจัดอื่นๆ มาผสมผสานร่วมกันอย่างเหมาะสม โดยงานวิจัยด้านการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ประสบผลสำเร็จและได้รับการยอมรับ เป็นไปตามทฤษฎีสมดุลทางธรรมชาติคือ “สิ่งมีชีวิตทุกชนิดบนโลกมีศัตรูธรรมชาติเพื่อควบคุมให้เกิดความสมดุลทางธรรมชาติ” การนำสารชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดไส้เดือนฝอย จึงเป็นแนวคิดของการวิจัยและพัฒนาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือศัตรูธรรมชาติมาใช้ควบคุมและกำจัดไส้เดือนฝอยสาเหตุของโรครากปม เพื่อแก้ปัญหาการระบาดของโรครากปมในพืชที่สำคัญ โดยตั้งสมมติฐานของงานวิจัยคือ การใช้สารชีวภัณฑ์กำจัดไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปมช่วยลด หรือทดแทนสารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยอย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

การศึกษาการใช้จุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมีมากกว่า 500 เรื่อง (Kerry, 1987) เป็นเรื่องเชื้อราใช้กับดักหรือห่วงดัก 57 % เชื้อราที่เป็น endoparasite 19 % แบคทีเรีย 5 % โปรโตซัว 3 % rickettsia 2 % tardigrade <1 % virus <1 % ไส้เดือนฝอย 7 % ไรต่างๆ 2 % collemmbola 1 % enchytrid < 1 % turbellarian < 1 % แมลงชนิดอื่นๆ < 1 % จะเห็นได้ว่าเชื้อราได้มีการศึกษากันมากที่สุดรวม 76% เชื้อราที่มีการศึกษากันมากได้แก่ เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus, P. nostocoides และ Acremonium* spp. เป็นต้น โดย Jatala (1985; 1986) เป็นบุคคลแรกที่พบว่ารา *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson สามารถใช้ป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne spp.* ได้ดี ซึ่งพบว่าราชนิดนี้สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชได้หลายชนิดรวมทั้งไส้เดือนฝอยรากปมและ cyst nematodes

Dunn (1983) สามารถแยกได้เชื้อรา *P. nostocoides* จาก cyst ของไส้เดือนฝอย *Heterodera zeae* แต่เนื่องจากมีรูปร่างลักษณะทางสัณฐานและโครงสร้างใกล้เคียงกับเชื้อรา *P. lilacinus* มาก และพิจารณาเห็นว่าเป็นสายพันธุ์ที่กลายพันธุ์มาจากเชื้อรา *P. lilacinus*

จากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า *P. lilacinus* ที่แยกได้จาก isolate ต่างๆ มีความแตกต่างกันในความสามารถเข้าทำลายไส้เดือนฝอย บาง isolate ไม่สามารถเข้าทำลายไส้เดือนฝอยได้ (Dunn *et al.,* 1982) ส่วนการใช้เชื้อราชนิดนี้ในสภาพไร่นั้นบางครั้งก็ไม่สามารถควบคุมไส้เดือนฝอยได้ ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณเชื้อราอยู่เป็นจำนวนมาก (Hewett *et al*., 1988) จึงเห็นได้ชัดว่าจำเป็นจะต้องมีการศึกษาข้อมูลเกี่ยวเชื้อราอีกมาก รวมทั้งปฏิกิริยาระหว่างเชื้อรากับไส้เดือนฝอย การอยู่รอดของเชื้อราอาจอยู่ในรูปของการใช้อินทรียวัตถุที่มีอยู่ในดินหรือในรูปของการเป็นพาราสิตกับไส้เดือนฝอย ปริมาณและคุณภาพของอินทรียวัตถุที่มีอยู่ในดิน การแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นๆ สิ่งเหล่านี้อาจมีอิทธิพลต่อการเป็นพาราสิตต่อไส้เดือนฝอย (Stering, 1991)

ในปัจจุบันมีการศึกษาเชื้อราที่แยกได้จากดินหลายชนิด มาใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากไส้เดือนฝอย ได้แก่ รา *Paecilomyces lilacinus* เข้าทำลายไข่ของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* และ *M. hapla* ในมะเขือเทศ และยังเพิ่มผลผลิตของมะเขือเทศอีกด้วย รา *Arthrobotrys dactyloides* และ *A. brochopaga* สร้าง ring traps รัดรอบๆ ลำตัวของไส้เดือนฝอย *A. oligospora* สร้างตาข่ายเหนียว (sticky nets) รา *Dactylaria haptotyla* และ *Nematoctonus* spp. สร้าง sticky knobs รา *Drechmeria coniospora* และ *Hirsutella rhossiliensis* สร้างสปอร์เหนียว ซึ่งราแต่ละชนิดจะสร้างกับดักและสร้างเส้นใยเข้าไปเจริญในตัวไส้เดือนฝอยและไส้เดือนฝอยจะตายในที่สุด นอกจากนั้นยังมีราไมคอร์ไรซา ได้แก่ เวสิคูลาร์ อาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา (วี-เอ ไมคอร์ไรซา) ซึ่งเป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืช โดยมีความสัมพันธ์แบบอำนวยประโยชน์ซึ่งกันและกัน สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตให้แก่พืช โดยช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและลดการใช้ปุ๋ย ช่วยเพิ่มปริมาณการดูดธาตุฟอสฟอรัส ไนโตรเจน และจุลธาตุอาหารให้มากขึ้น(Bagyaraj, 1992; Jackson *et al*., 2002; Nikitas *et al*., 2002;) และยังช่วยให้พืชมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยในดินที่มีฟอสฟอรัสน้อย (มลชัย, 2541) เชื้อราวี-เอ ไมคอร์ไรซา สามารถลดปริมาณความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยรากปมในมะเขือเทศอย่างมีนัยสำคัญ และยังมีรายงานการลดความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยกับผักชนิดอื่นๆ ด้วย (Sikora and Schonbeck, 1995; Sikora, 1992)

จากรายงานผลการทดลองต่าง ๆ พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างไส้เดือนฝอยรากปมและเชื้อรา วี-เอ ไมคอร์ไรซา พบทั้งลักษณะที่ช่วยส่งเสริมและเป็นปฏิปักษ์ (antagonist) โดย Sundararababu and Sankaranarayanan (1995) รายงานว่าการปลูก เชื้อรา วี-เอไมคอร์ไรซา *Glomus fasciculatum* เพื่อให้เข้าอยู่อาศัยในรากของต้นมะเขือเทศในระหว่างเพาะกล้าในเรือน

เพาะชำก่อนการย้ายไปปลูกลงในไร่ ช่วยป้องกันการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม และช่วยเพิ่มผลผลิตมะเขือเทศได้ถึง 93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใส่ วี-เอไมคอร์ไรซา (Control)

Al-Raddad (1995) ศึกษาเกี่ยวกับการใช้เชื้อรา วี-เอไมคอร์ไรซา *Glomus mosseae* รา *Paecilomyces lilacinus* และมูลไก่ ซึ่งเป็นอาหารสำหรับรา *Paecilomyces lilacinus* พบว่าการปลูก วี-เอไมคอร์ไรซา *Glomus mosseae* และ *Paecilomyces lilacinus* ในต้นมะเขือเทศร่วมกันหรือแยกจากกัน ไม่มีผลทำให้ความสูงและน้ำหนักสดของต้นมะเขือเทศเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบว่าการพัฒนาของรากสูงสุดเมื่อปลูกเชื้อราทั้งสองร่วมกัน การปลูกเชื้อรา วี-เอไมคอร์ไรซา *Glomus mosseae* เพียงอย่างเดียว สามารถลดการเกิดปมและจำนวนปมในระบบรากได้ถึง 62 และ 66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) การปลูกเชื้อรา *Glomus mosseae* และ *Paecilomyces lilacinus* ร่วมกันหรือแยกกันในสภาพที่ใส่มูลไก่ร่วมด้วย พบว่ายับยั้งการเข้าสู่รากของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ได้อย่างสมบูรณ์ โดยมูลไก่ไม่มีผลต่อการเข้าอยู่อาศัยของรา วี-เอไมคอร์ไรซา นอกจากนั้นยังทำให้ผลผลิตของมะเขือเทศเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย

Zaki *et al*, (1998) ทำการศึกษาโดยใช้เชื้อรา วี-เอไมคอร์ไรซา *Glomus mosseae* รา *Paecilomyces lilacinus* และแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* ควบคุมโรคที่เกิดจากรา *Fusarium udum* และไส้เดือนฝอย *Heterodera cajani* ในต้นถั่ว (*Cajanus cajan)* ซึ่งเป็นพืชที่สำคัญในอินเดีย พบว่าถ้ามีการใช้จุลินทรีย์แต่ละชนิดหรือมีการรวมกันของจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด จะช่วยส่งเสริมการเจริญของต้น การสร้างปมรากถั่ว และเพิ่มปริมาณธาตุฟอสฟอรัสอย่างมีนัยสำคัญ ช่วยจำนวนไส้เดือนฝอย *Heterodera cajani* และลดการเกิดโรคจากเชื้อรา *Fusarium udum* อีกด้วย

จากการสืบค้นข้อมูลจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์กับไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในประเทศไทย มีรายงานผลงานวิจัยโดย สืบศักดิ์ (2533) รายงานว่ามีเชื้อรามากกว่า 400 ชนิดใน 15 สกุล ที่สามารถเข้าทำลายไส้เดือนฝอยได้

ศรศิลป์ (2536) ได้รวบรวมรายงานเกี่ยวกับเชื้อราที่สามารถใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยได้มีจำนวน 33 สกุลด้วยกัน ในจำนวนนี้มีเชื้อราสกุล *Paecilomyces* รวมอยู่ด้วย

มนตรี (2538) ได้ศึกษาการใช้เชื้อราร่วมกับแง่งขิงที่มีไส้เดือนฝอยรากปม โดยใช้เชื้อรารองก้นหลุมก่อนปลูกแง่งขิงที่มีไส้เดือนฝอยรากปมสามารถลดปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมลงและให้ผลผลิตใกล้เคียงกับวิธีการใช้สารเคมี oxamyl จุ่มขิงก่อนปลูก

ในด้านการแยกและเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Paecilomyces* ได้มีการศึกษา การแยกเชื้อราจากดินที่นิยมใช้คือวิธี dilution plate (เลขา, 2533; จิรเดช, 2536) สำหรับการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณเชื้อรามีการใช้วัสดุหลายชนิดโดยมากจะใช้เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวบาเลย์ ข้าวโพด

ข้าวเจ้าและข้าวฟ่าง ในประเทศไทย สุภกิจ (2532) และศรศิลป์ (2536) ใช้เมล็ดข้าวฟ่างเป็นวัสดุในการเพิ่มปริมาณเชื้อราและได้ผลดี

ธารทิพย และ นุชนารถ (2549) ได้สำรวจเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากพืชเป็นโรครากปมในพื้นที่ จ.อุบลราชธานี และนครพนม รวม 20 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ สามารถแยกได้รา 10 ไอโซเลท จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเป็นเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *A. niger, Rhizopus* sp., *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp., *Penicillum* sp. และ *Paecilomyces lilacinus* ทำการเก็บรักษารา *P. lilacinus* ให้คงความมีชีวิตโดยเลี้ยงบนอาหารวุ้นเอียง PDA และนำมาเพิ่มปริมาณโดยการเลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อ ให้ได้ปริมาณเพียงพอต่อการทดสอบความสามารถในการเข้าทำลายไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมในระดับห้องปฏิบัติการ จากการทดสอบพบว่า เชื้อรามีประสิทธิภาพในการทำลายไข่ของไส้เดือนฝอย ในอัตราเส้นใยที่เจริญบนเมล็ดข้าวฟ่าง 5 และ 10 กรัม/ต้น เกิดปม 15.20 และ 10.20 ปม/ต้น ตามลำดับ เปรียบเทียบกับไม่ใส่เชื้อรา *P. lilacinus* มีจำนวนปม 27.40 ปม/ต้น หรือมีจำนวนปมสูงกว่า 12.20 และ 17.20 ปม/ต้น ของอัตราการใช้เชื้อรา 5 และ 10 กรัม ตามลำดับ จากผลงานวิจัยดังกล่าวจึงควรพัฒนาการขยายปริมาณรา *P. lilacinus* เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ในสภาพไร่นา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคนิคการเพิ่มปริมาณเชื้อราในสารพาหะชนิดต่างๆ ที่เตรียมได้ง่าย และราคาถูก สำหรับการนำไปใช้ในแปลงเกาตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* แยกได้จาก จ.อุบลราชธานี
2. อุปกรณ์แยกเชื้อรา
3. อาหารเลี้ยงและสารเคมีใช้แยกเชื้อรา
4. ตัวอย่างดินจากพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี และนครพนม
5. สารพาหะชนิดต่างๆ สำหรับงานทดลอง ได้แก่ เมล็ดข้าวโพดบดหยาบ ข้าวเปลือก ข้าวฟ่าง ผงถ่าน และปุ๋ยคอก
6. เครื่องแก้ว กล้องจุลทรรศน์ เครื่องเขย่า หม้อนึ่งแรงดัน และอุปกรณ์อื่นๆ สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการราวิทยา

วิธีการ

วางแผนการทดลอง แบบ CRD 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในเมล็ดข้าวโพด

กรรมวิธีที่ 2 เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในเมล็ดข้าวเปลือก

กรรมวิธีที่ 3 เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในเมล็ดข้าวฟ่าง

กรรมวิธีที่ 4 เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในผงถ่าน

กรรมวิธีที่ 5 เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในปุ๋ยคอก

<u>วิธีปฏิบัติงาน</u>

1. <u>การเตรียมหัวเชื้อ</u> นำรา *P. lilacinus* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ขูดเส้นใยและโคนิเดียทั้งหมดใส่ลงในอาหารเหลว PDB ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ต่อ Flask (ขนาด 500 มิลลิลิตร) โดยใส่ในอัตรา 1 จานเลี้ยงเชื้อต่อ 1 Flask นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า (Rotary shaker) ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน เมื่อครบกำหนด นำเชื้อที่ได้ถ่ายลงในขวดอาหาร PDB ใหม่ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ต่อ Flask แล้วนำไปเลี้ยงซ้ำบนเครื่องเขย่าต่ออีก 4 วัน วิธีนี้จะได้หัวเชื้อที่มีปริมาณตั้งต้นใกล้เคียงกันในแต่ละ Flask

2. <u>การเตรียมสารพาหะเพาะเลี้ยง</u>

1. การเตรียมเมล็ดธัญพืช 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวโพดที่บดหยาบ ข้าวเปลือกที่ผ่านแช่น้ำไว้ 1 คืนและข้าวฟ่างที่ล้างน้ำให้สะอาดและผ่านการต้มแล้ว ผึ่งให้แห้งพอหมาด น้ำหนัก 50 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนความร้อน (4 ถุงต่อเมล็ดธัญพืชแต่ละชนิด) ปิดถุงด้วยคอขวดและสำลี หุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาที่อุณหภูมิ ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 35-40 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

2. การเตรียมผงถ่านและปุ๋ยคอก น้ำหนัก 50 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนความร้อน ปิดถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3. <u>การใส่หัวเชื้อ</u> นำหัวเชื้อที่เตรียมไว้มาใส่ในอัตรา 1 มิลลิลิตรต่อถุง คลุกให้เชื้อกระจายทั่วทั้งถุง นำไปวางบนชั้นที่เตรียมไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 10 วัน ตรวจผลการทดลอง

4. <u>การตรวจนับโคโลนี</u> เตรียมน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำน้ำมาเทใส่ถุงเลี้ยงเชื้อที่จะทำการตรวจสอบในอัตรา เชื้อรา 1 ถุงต่อน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร เขย่า 1-2 นาทีเพื่อให้โคนิเดียหลุดออกจากเส้นใย แล้วเทสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้ใส่ฟลาสก์ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อเก็บเป็นสารแขวนลอยตั้งต้นสำหรับการตรวจสอบขั้นต่อไป

เตรียมน้ำใส่หลอดทดลองปริมาตร 9 มิลลิลิตร ต่อ หลอด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเขย่าฟลาสก์สารแขวนลอยตั้งต้น เพื่อให้โคนิเดียกระจายทั่วทั้งฟลาสก์ แล้วจึงดูดสารแขวนลอยดังกล่าวปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ เขย่าหลอดทดลองโดยใช้เครื่อง vortex วิธีนี้เป็นการทำให้โคนิเดียเจือจางลง (dilution) โดยถือว่าค่าการเจือจางเท่ากับ 10^{-1} ทำการเจือจางในลักษณะนี้จนถึงค่าการเจือจาง 10^{-7}

ใช้ ไปเปต ดูดสารแขวนลอยโคนิเดียที่ค่าการเจือจาง 10^{-7} ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร PDA ใช้แท่งแก้วเกลี่ยให้สารแขวนลอยโคนิเดียกระจายทั่วทั้งจานเลี้ยงเชื้อ ปิดฝาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 3 วัน รา *P. lilacinus* จะเจริญเป็นเส้นใย นำไปตรวจนับโคโลนี

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2550

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเลี้ยงรา *P. lilacinus* บนเมล็ดธัญพืชพบว่า ราสามารถเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียได้ในเมล็ดธัญพืชทุกชนิดที่ทำการทดสอบ ในการทดลองครั้งนี้มีความยุ่งยากในการบดเมล็ดข้าวโพด เพราะข้าวโพดเป็นชนิดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ซึ่งแข็งและบดยาก

จากผลการนับจำนวนโคนิเดีย พบว่า รา *P. lilacinus* ที่เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสสามารถเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียได้มาก โดยราสามารถสร้างโคนิเดียได้สูงสุดบนข้าวฟ่าง โดยให้โคนิเดียประมาณ 7.96×10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติกับในทุกกรรมวิธี โดยข้าวโพดบดหยาบ และข้าวเปลือกราสามารถสร้างโคนิเดียได้ 6.92×10^5 และ 6.8×10^5 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์การงอกของราพบว่า ราชนิดนี้มีเปอร์เซ็นต์การงอกจากการเลี้ยงบนข้าวฟ่าง ข้าวโพดบดหยาบ และข้าวเปลือกไม่แตกต่างกันทำให้เกิดการงอกสูงสุด โคโลนีที่เกิดขึ้นมีความหนาแน่นมากจนไม่สามารถนับจำนวนโคโลนีได้ (ตารางที่ 1)

ส่วนการเลี้ยงรา *P. lilacinus* บนผงถ่านและปุ๋ยคอกพบว่าราสามารถเจริญเติบโตและสร้าง โคนิเดียได้ จากผลการนับจำนวนโคนิเดีย พบว่า รา *P. lilacinus* ที่เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสสามารถเจริญเติบโตและสร้างโคนิเดียได้ โดยราสามารถสร้างโคนิเดียบนปุ๋ยคอกได้มากกว่าบนผงถ่านโดยให้โคนิเดียประมาณ 5.9×10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร ส่วนราที่เลี้ยงบนผงถ่านสามารถสร้างโคนิเดียได้ 4.92×10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 1)

เมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์การงอกของราพบว่า ราชนิดนี้มีเปอร์เซ็นต์การงอกจากการเลี้ยงบนปุ๋ยคอกมากกว่าบนผงถ่าน กล่าวคือเมื่อเลี้ยงราบนผงถ่านทำให้เกิดการงอก 3.86 x 10^3 CFU / ml ส่วนราที่เลี้ยงบนปุ๋ยคอกโคโลนีที่เกิดขึ้นจากการงอกมีความหนาแน่นมากจนไม่สามารถนับจำนวนโคโลนีได้

การทดลองครั้งนี้ได้ทำการนึ่งฆ่าเชื้อปุ๋ยคอกและผงถ่านก่อนนำมาเลี้ยงเชื้อ ทำให้การเจริญของราบนปุ๋ยคอกและผงถ่านคลาดเคลื่อนจากสภาพความเป็นจริงของการใช้ประโยชน์จากปุ๋ยคอกและผงถ่านที่ไม่มีการนึ่งฆ่าเชื้อก่อนใช้ ดังนั้นอาจต้องมีการพิสูจน์การเลี้ยงรา *P. lilacinus* บนผงถ่านและปุ๋ยคอกตามสภาพความเป็นจริงของการใช้ประโยชน์กันต่อไปในอนาคต

ตารางที่ 1 จำนวนโคนีเดียต่อมิลลิลิตรของเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ที่เพาะขยายในสารพาหะชนิดต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

กรรมวิธี	จำนวนโคนีเดีย/มล.(x10^5) ต่อ นน. สารพาหะ 50 กรัม[1/]
1. เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในเมล็ดข้าวโพด	6.92 b[2/]
2. เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในเมล็ดข้าวเปลือก	6.80 b
3. เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในเมล็ดข้าวฟ่าง	7.96 a
4. เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในผงถ่าน	4.92 d
5. เลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus* ในปุ๋ยคอก	5.90 c

CV. = 5.21 %

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละกรรมวิธีในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยการใช้วิธี DMRT

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การขยายเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ให้ได้ปริมาณมาก เพื่อนำไปใช้กำจัดไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมในแปลงเกษตร สามารถเพาะเลี้ยงได้ดีที่สุดในเมล็ดข้าวฟ่างนึ่ง พบว่าเชื้อราเจริญได้ดี ได้จำนวนโคนีเดีย/มิลลิลิตรสูงที่สุด 7.96 x 105 โคนีเดียต่อน้ำหนักข้าวฟ่าง 50 กรัม โดย ข้าวฟ่างหาซื้อได้ง่าย มีราคาถูก และการเตรียมไม่ยุ่งยาก จึงเหมาะที่จะนำไปพัฒนาวิธีการให้เป็นเทคโนโลยีระดับเกษตรกรสามารถนำไปทำใช้เองได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จิรเดช แจ่มสว่าง. 2536. บทปฏิบัติการวิชานิเวศน์วิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 77 น.

เลขา มาโนช. 2533. บทปฏิบัติการราในน้ำและในดิน. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 140 น.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา. 2538. ผลของสารเคมีและเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในแง่งพันธ์ขิง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มลชัย กิตติศักดิ์มนตรี. 2541. ผลของเชื้อราเวสิคูลาร์ อาร์บัสคูลาร์ ไมคอร์ไรซา ต่อการเจริญของปอแก้ว (*Hibiscus sabdariffa* var. *altissima*) และการเข้าทำลายปอแก้วของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพ ฯ.

ศรศิลป์ บุญบันดาล. 2536. การแพร่กระจายและการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชบางชนิดในพื้นที่สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ

สุภกิจ สุขใจมิตร. 2532. อิทธิพลของ antagonist plants และเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne spp.* วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2533. หลักการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยชีววิธี. วารสารโรคพืช 10(3-4) : 47.

Al-Raddad, A.M. 1995. Interactiuon of *Glomus mosseae* and *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne javanica* of tomato. Mycorrhiza 5(3) : 233-236.

Bagyaraj, D.J. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhiza. Application in Agriculture. Methods Microbiol. 24 : 360-373.

Dunn, M. T. 1983. *Paecilomyces nostocoides,* a new hypomycete isolated from cysts of *Heterodera zeae.* Mycologia 75 : 179-182.

Dunn, M.T., Sayre, R.M., Carell, A. & Wergin, W.P. 1982. Colonization of Nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* (Thom)Samson as observed with scanning electron microscope. Scanning Electron Microscopy 3 : 1351-1357.

Hewett, T.E., D.W. Dickson, D.J. Mitchell and M.E. Kannwischer-Mitchell. 1988. Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tobacco. Journal of Nematology 20 : 578-584.

Jackson, L.E., D. Miller and S.E. Smith. 2002. Arbuscular mycorrhizal colonization and growth of wild and cultivated lettuce in response to nitrogen and phosphorus. Scientia Horticulturae 94 : 205-218.

Kerry, B.R. 1987. Biological Control. pp. 233-263. *In* R.H. Brown and B.R. Kerry. (eds.). Principle and Practice of Nematode Control in Crop. Academic Press, Sydney.

Nikitas, K., B. Fotios and S. Nikolaos. 2002. Effect of *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) and mycorrhiza (*Glomus mosseae*) on root colonization, growth and nutrient uptake in tomato and eggplant seedlings. Scientia Horticulturae 94 : 145-156.

Sikora, R.A. 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystemes for the control of plant parasitric nematodes. Annual Review of Phytopathology 12 : 245-270.

Sikora, R.A. and F. Schonbeck. 1995. Effect of vesicular-mycorrhizae, *Endogone mosseae* on the population dynamics of the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla,* pp. 158-166. *In* proceedings VIII International Congress Plant Protection, Moscow.

Sterring, G.R. 1991. Biological control of Plant Parasitic Nematode: Progress, Problem and Prospect. C.A.B. International, UK. 282 p.

Sundarababu, R. and C. Sankaranarayanan. 1995. Effect of nursery treated VAM on the nematode interaction in tomato. International Journal of Tropical Plant Diseases 13 (1) : 107-111.

Zaki, A.S., I. Mahmood and S. Hayat. 1998. Biocontrol of *Heterodera cajani* and *Fusarium udum* on Pigeon pea using *Glomus mosseae*, *Paecilomyces lilacinus* and *Psedumonas fluorescens*. Thai J. Agri. Sci. 31 (3) : 310-312.

เทคนิคการขยายปริมาณศัตรูธรรมชาติเพื่อใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปม

Mass Production Technique of Natural Enemies to Control Root-knot Nematode

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการทดลองเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Mononchus* ในวัสดุชนิดต่างๆ ได้แก่ ปุ๋ยขี้ไก่ ปุ๋ยคอก วุ้นผง 2% และดินอบนึ่ง ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ไส้เดือนฝอย Rhabditida (*Steinernema*) เป็นอาหาร พบว่าไส้เดือนฝอย *Mononchus* สามารถขยายพันธุ์ได้บนวุ้น 2% ที่มีไส้เดือนฝอย *Steinernema* จำนวนสูงที่สุดเฉลี่ย 100 ตัว/จานเพาะเลี้ยง (*Mononchus* เริ่มต้น 40 ตัวต่อจาน) หรือมีจำนวนเพิ่มขึ้นเท่ากับ 2.5 เท่า และการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema* ในอาหารสูตรไข่ไก่+น้ำมันหมู+น้ำกลั่นสภาพการเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture ให้ผลผลิต 15.6 ล้านตัวต่ออาหารน้ำหนัก 20 กรัม รองลงมาคือ สูตรไข่ไก่+น้ำมันหมู+น้ำมะพร้าว สูตรหนอนนกปั่น+น้ำมันหมู+น้ำมะพร้าว และสูตรหนอนนกปั่น+น้ำมันหมู+น้ำกลั่น ผลิตได้ 13.9 7.2 และ 5.3 ล้านตัวต่ออาหาร 20 กรัม ตามลำดับ

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

ไส้เดือนฝอยใน Order Rhabditida จัดเป็นศัตรูธรรมชาติของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. สาเหตุของโรครากปมในพืชผักและไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิด งานวิจัยด้านการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณ ไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* ในอาหารเทียม ได้เริ่มศึกษาและพัฒนาตั้งแต่ปี 1931 โดย Glaser เพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *S. glaseri* และ *S. carpocapsae* เป็นผลสำเร็จในอาหารชนิดวุ้นที่ประกอบด้วย 1% ไตกระต่าย และ 1% วุ้น ในสภาพ axenic culture ต่อมาในปี 1953 Stoll พัฒนาการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีน้ำมันตับปลาเป็นองค์ประกอบ โดยเลี้ยงในหลอดทดสอบที่มีการเขย่า 100 ครั้งต่อนาที สามารถเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยในอาหารเหลว แต่อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงยังเป็นงานวิจัยในห้องทดลอง ผลผลิตที่ได้ต่ำ ต้นทุนสูง จึงได้มีการค้นคว้าและการพัฒนาการเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง ทั้งในด้านเทคนิคและสูตรอาหารเพื่อให้ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยสูงที่สุดและต้นทุนการผลิตต่ำ

ในปี 1964 Dutky *et al.* พบว่าสภาพการเลี้ยงแบบ monoxenic culture ที่มี symbiotic bacteria ร่วมด้วย ทำให้ผลผลิตไส้เดือนฝอยสูงขึ้น โดยพบว่าเซลล์ของแบคทีเรียมีผลต่อกระบวนการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม

ในปี 1981 Bedding ได้พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารชนิดแข็งกึ่งเหลว (semi-solid media) ในสภาพ monoxenic culture ที่มีองค์ประกอบของไตหมูผสมไขมันและน้ำ เท่ากับ 70 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ของการเลี้ยง *Steinernema* sp. และ 60 20 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ของการเลี้ยง *Heterorhabditis* sp. ให้ผลผลิตไส้เดือนฝอยสูงเฉลี่ย 40 ล้านตัวต่อ flask ขนาด 500 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 70 กรัม ต้นทุนการผลิตเท่ากับ $ 0.50 ต่อ flask (ประมาณ 20 บาท) เทคนิคการผลิตนี้ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง ต่อมา Bedding (1984) ได้ศึกษาเทคนิคการผลิตเพื่อขยายปริมาณในระดับการค้า โดยเพาะเลี้ยงในถุง polypropylene ขนาด 1.0x0.5 เมตร ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยสูงถึง 2,000 ล้านตัวต่อถุง

มีการศึกษาวิจัยองค์ประกอบของอาหารที่จำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยใน 2 สกุล ในสภาพการเลี้ยงแบบ monoxenic culture ซึ่งมีความแตกต่างกันของสารอาหารที่ไส้เดือนฝอยต้องการ จากรายงานของ Dunphy and Webster (1989) ได้ศึกษาแหล่งอาหารต่างๆ เพื่อการขยายปริมาณ *S. carpocapsae* DD 136 strain และ *H. heliothidis* พบว่าสารอาหารชนิดต่างๆ มีผลต่อผลผลิตไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดแตกต่างกัน โดย culture ที่มี stearic acid จากน้ำมันดอกทานตะวัน (0.1เปอร์เซ็นต์ Vต่อV) เพิ่มผลผลิต *S. carpocapsae* และน้ำมันตับปลา (0.5เปอร์เซ็นต์ Vต่อV) เพิ่มผลผลิต *H. heliothidis*

ในปัจจุบันการผลิตไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้ สามารถผลิตในอาหารเหลวได้สูงถึง 190,000 ตัวต่อมิลลิลิตร ในระดับ shake flask และ 90,000 ตัวต่อมิลลิลิตร ในถังหมัก (fermenter) (Friedman, 1990) มีผลิตภัณฑ์จำหน่ายทั้งในทวีปยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย และประเทศญี่ปุ่น โดยวิธีการผลิตมุ่งเน้นเทคโนโลยีขั้นสูงระดับถังหมักขนาดใหญ่ เช่น บริษัท Biosys ในสหรัฐอเมริกา ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ในถังหมักขนาด 15,000-60,000 ลิตร ผลิตได้ในปริมาณสูงถึง 10,000 ล้านล้านตัว (Georgis, 1992) แต่อย่างไรก็ตาม เทคโนโลยีขั้นสูงนี้ต้องใช้เงินลงทุนสูงมาก เหมาะสำหรับประเทศที่มีค่าแรงงานสูง ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้มีราคาสูงตามไปด้วย เช่น บริษัท Mellinger's ในสหรัฐอเมริกา จำหน่ายไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ในชื่อผลิตภัณฑ์ Scanmark ในราคา US$ 13.95 บรรจุไส้เดือนฝอย 7 ล้านตัว สามารถสั่งซื้อผ่านระบบเครือข่ายสารสนเทศ (IT) และชำระเงินผ่านบัตรเครดิต รูปแบบผลิตภัณฑ์ (formulation) มีหลายรูปแบบ ได้แก่ การผสมไส้เดือนฝอยในดินเหนียว ฟองน้ำ เวอร์มิคูไลท์ บรรจุเป็นแคปซูลในสารเอลจิเนท (alginate capsule) และในรูปเจลโพลีอะคลีลาไมด์ (gel-forming polyacrylamides) เป็นต้น

ดังนั้น การนำไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูธรรมชาติเหล่านี้มาใช้ควบคุมและลดความเสียหายของโรครากปม มีความจำเป็นต้องพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงขยายในอาหารเทียม เพื่อให้ได้ปริมาณเพียงพอในการนำไปใช้เป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืช โดยกระบวนการผลิตต้องคำนึงถึงต้นทุนและความคุ้มค่ากับการนำศัตรูธรรมชาติไปใช้ประโยชน์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิคการเพิ่มขยายปริมาณศัตรูธรรมชาติ (ไส้เดือนฝอยใน Order Rhabditida) สำหรับการนำไปใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคพืชในสภาพไร่-นาอย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไส้เดือนฝอย *Steinernema* และ *Mononchus* แยกได้จากดินในประเทศไทย
2. หนอนนกที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ
3. อาหารเพาะเลี้ยงและวัสดุอื่นๆ ได้แก่ ปุ๋ยขี้ไก่ ปุ๋ยคอก วุ้นผง ไข่ไก่ น้ำมันหมู น้ำมะพร้าว
4. วัสดุ-อุปกรณ์สำหรับห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ เครื่องวัด pH เครื่องแก้ว ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน เครื่องเขย่า ฯลฯ

วิธีการ

การทดลองที่ 1 การขยายปริมาณไส้เดือนฝอย *Mononchus* sp.

1. แผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ขยายปริมาณในปุ๋ยขี้ไก่+ไส้เดือนฝอย *Steinernema*

กรรมวิธีที่ 2 ขยายปริมาณในปุ๋ยคอก+ไส้เดือนฝอย *Steinernema*

กรรมวิธีที่ 3 ขยายปริมาณบนวุ้น 2% ที่มีไส้เดือนฝอย *Steinernema*

กรรมวิธีที่ 4 ขยายปริมาณบนดินอบนึ่งที่มีไส้เดือนฝอย *Steinernema*

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง 1) เตรียมปุ๋ยขี้ไก่และปุ๋ยคอก ชนิดละ 200 กรัม ใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 5x7x3 นิ้ว นำไส้เดือนฝอย *Steinernema* ใส่ลงไปจำนวน $5x10^6$ ตัว คลุกเคล้ากับปุ๋ยชนิดต่างๆ จากนั้นใส่ไส้เดือนฝอย *Mononchus* 40 ตัว/กล่อง ตั้งวางที่อุณหภูมิห้อง 2) เตรียมวุ้น 2% ใส่จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. ใส่ไส้เดือนฝอย *Steinernema* จำนวน 10^6 ตัว/จานเลี้ยง จากนั้นใส่ไส้เดือนฝอย *Mononchus* 40 ตัว/จาน ตั้งวางที่อุณหภูมิห้อง 3) เตรียมดินอบนึ่งใส่จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. ปล่อยให้เย็น ใส่ไส้เดือนฝอย *Steinernema* จำนวน 10^6 ตัว/จานเลี้ยง จากนั้นใส่ไส้เดือนฝอย *Mononchus* 40 ตัว/จาน ตั้งวางที่อุณหภูมิห้อง

3. บันทึกผล ตรวจนับจำนวนไส้เดือนฝอย *Mononchus* ที่เวลา 1 2 และ 3 เดือน ในแต่ละกรรมวิธี คำนวณค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 2 การขยายปริมาณไส้เดือนฝอย *Steinernemas* sp.

1. แผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี 10 ซ้ำ กรรมวิธีเพาะเลี้ยงในอาหารชนิดแข็งกึ่งเหลว ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 สูตรไข่ไก่+น้ำมันหมู+น้ำกลั่น (อัตราส่วน 5:2:3)

กรรมวิธีที่ 2 สูตรไข่ไก่+น้ำมันหมู+น้ำมะพร้าว (อัตราส่วน 5:2:3)

กรรมวิธีที่ 3 สูตรหนอนนกปั่น+น้ำมันหมู+น้ำกลั่น (อัตราส่วน 5:2:3)

กรรมวิธีที่ 4 สูตรหนอนนกปั่น+น้ำมันหมู+น้ำมะพร้าว (อัตราส่วน 5:2:3)

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง เตรียมอาหารสูตรต่างๆ ตามกรรมวิธีกำหนด คลุกกับฟองน้ำตัดขนาด 1x1 ซม.^{3} จากนั้นนำไปอบนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่ออาหารเย็นทำการใส่หัวเชื้อไส้เดือนฝอย (จากกรมวิชาการเกษตร) อัตรา 20,000 ตัว/อาหารสูตรต่างๆ น้ำหนัก 20 กรัม ที่บรรจุใน Flask ขนาด 250 ซีซี ตั้งวางเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็น เวลา 7 วัน ตามวิธีของนุชนารถ (2546)

3. บันทึกผล ตรวจนับจำนวนผลผลิตไส้เดือนฝอยที่ได้ในแต่ละกรรมวิธี คำนวณค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2550

สถานที่ กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Mononchus* ซึ่งจัดเป็นไส้เดือนฝอยในกลุ่ม predator ในวัสดุชนิดต่างๆ ได้แก่ ปุ๋ยขี้ไก่ ปุ๋ยคอก วุ้นผง 2% และดินอบนึ่ง ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ไส้เดือนฝอย Rhabditida (*Steinernema*) เป็นอาหาร พบว่าไส้เดือนฝอย *Mononchus* สามารถขยายพันธุ์ได้บนวุ้น 2% ที่มีไส้เดือนฝอย *Steinernema* จำนวนสูงที่สุดเฉลี่ย 100 ตัว/จานเพาะเลี้ยง (*Mononchus* เริ่มต้น 40 ตัวต่อจาน) หรือมีจำนวนเพิ่มขึ้นเท่ากับ 2.5 เท่า สำหรับในวัสดุปุ๋ยขี้ไก่ ปุ๋ยคอก และดินอบนึ่ง ที่มีไส้เดือนฝอย *Steinernema* เป็นอาหาร พบว่า ไม่พบการเพิ่มจำนวนของไส้เดือนฝอย *Mononchus* ในวัสดุเหล่านี้ อย่างไรก็ตาม ไส้เดือนฝอย *Mononchus* สามารถใช้ *Steinernema* เป็นอาหารและขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนได้ ซึ่งในอนาคตสามารถปรับปรุงวิธีการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยชนิดนี้ไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป

สำหรับไส้เดือนฝอย *Steinernema* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรไข่ไก่+น้ำมันหมู+น้ำกลั่น สภาพการเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture ให้ผลผลิตเท่ากับ 15.6 ล้านตัวต่ออาหารน้ำหนัก 20 กรัม รองลงมาคือ สูตรไข่ไก่+น้ำมันหมู+น้ำมะพร้าว สูตรหนอนนกปั่น+น้ำมันหมู+น้ำมะพร้าว และสูตรหนอนนกปั่น+น้ำมันหมู+น้ำกลั่น ผลิตได้ 13.9 7.2 และ 5.3 ล้านตัวต่ออาหาร 20 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลผลิตไส้เดือนฝอย *Steinernema* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารชนิดแข็งกึ่งเหลวสูตรต่างๆ สภาพการเลี้ยงแบบ axenic culture

กรรมวิธี (สูตรอาหารชนิดต่างๆ)	ผลผลิตไส้เดือนฝอย/อาหาร 20 กรัม (ล้านตัว)
1. สูตรไข่ไก่+น้ำมันหมู+น้ำกลั่น (อัตราส่วน 5:2:3)	15.6 a[1/]
2. สูตรไข่ไก่+น้ำมันหมู+น้ำมะพร้าว (อัตราส่วน 5:2:3)	13.9 b
3. สูตรหนอนนกปั่น+น้ำมันหมู+น้ำกลั่น (อัตราส่วน 5:2:3)	5.3 d
4. สูตรหนอนนกปั่น+น้ำมันหมู+น้ำมะพร้าว (อัตราส่วน 5:2:3)	7.2 c
CV. (%)	7.20

[1/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละกรรมวิธีในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยการใช้วิธี DMRT

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไส้เดือนฝอยกลุ่มที่จัดเป็นศัตรูธรรมชาติ สามารถเพาะเลี้ยงขยายปริมาณได้ในห้องปฏิบัติการ โดย *Mononchus* เพาะเลี้ยงบนวุ้น 2% ที่มีไส้เดือนฝอย *Steinernema* เป็นอาหาร สามารถขยายจำนวนในจานเพาะเลี้ยงเพิ่มเป็น 2.5 เท่า เมื่อใส่ *Mononchus* เริ่มต้น 40 ตัว ขยายเพิ่มจำนวนเฉลี่ย 100 ตัวต่อจานเพาะ และไส้เดือนฝอย *Steinernema* สามารถเพาะเลี้ยงได้ดีในอาหารสูตรไข่ไก่+น้ำมันหมู+น้ำกลั่น (อัตราส่วน 5:2:3) เพิ่มเฉลี่ยสูงถึง 780 เท่า เมื่อใส่ *Steinernema* เริ่มต้น 20,000 ตัวต่ออาหาร 20 กรัม เพิ่มเป็น 15.6 ล้านตัว

จากผลงานวิจัยที่ได้ สามารถนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยกลุ่มที่มีประโยชน์และ/หรือเป็นศัตรูธรรมชาติ ไปพัฒนาขยายผลได้ในเชิงพาณิชย์ เพื่อนำไปใช้ควบคุมศัตรูพืชและเพิ่มทางเลือกให้เกษตรกรในการเลือกใช้สารชีวินทรีย์กำจัดศัตรูพืช ลดหรือทดแทนสารป้องกันกำจัดที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2546. ผลงานวิจัยไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ไทยสู่การพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์ ทางการเกษตร. วารสาร LAB. TODAY 2(10) : 58-63.

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. 1984. Large scale production, storage and transport of the insect-parasitic nematodes *Neoaplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp. Ann. Appl. Biol. 104 : 117-120.

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.

Dutky, S.R., J.V. Thompson, G.E. Cantwell. 1964. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. J. Insect Pathol. 6 : 417-422.

Friedman, M.J. 1990. Commercial production and development, pp. 153-172. *In* R. Gaugler and H.K. Kaya (eds.). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc. Florida.

Glaser, R.W. 1931. The cultivation of a nematode parasite of an insect. Science 614.

Stoll, N. 1953. Axenic cultivation of the parasitic nematode, *Neoaplectana glaseri*, in a fluid medium containing raw liver extract. J. Parasitol. 39 : 422.

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และศัตรูธรรมชาติในการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมในพริกในสภาพไร่

Efficacy of Antagonistic and Natural Enemies for Controlling Root-knot Nematode on Chilli under Field Condition

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (รา *Paecilomyces lilacinus*) และศัตรูธรรมชาติใน Order rhabditida (*Steinernema siamkayai* และ *Mononchus* sp.) ควบคุมไส้เดือนฝอย*Meloidogyne* spp. สาเหตุของโรครากปมในพริก ทำการทดสอบในสภาพไร่ที่ปลูกในบล็อกวงซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. ในสภาพดินปลูกเป็น infested soil ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง จ.ลำปาง โดยนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และศัตรูธรรมชาติ รองก้นหลุมก่อนปลูกกล้าพริกอายุ 1 เดือน และใส่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์และศัตรูธรรมชาติอีก 2 ครั้ง เมื่อพริกอายุ 45 และ 60 วัน ทำการวัดดัชนีการเกิดปมที่ระบบราก ผลการทดสอบพบว่า การใช้รา *P. lilacinus* ที่อัตรา 50 กรัมต่อต้น มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. สามารถลดการเกิดปมได้ 50-75 % ของระบบราก และการใช้ *S. siamkayai* ที่อัตรา 5 ล้านตัวต่อต้น ลดการเกิดปมได้ 25-50 % ของระบบราก ส่วนไส้เดือนฝอย *Mononchus* sp. ในอัตรา 500 ตัวต่อต้น ไม่สามารถลดการเกิดปมได้เมื่อเปรียบเทียบกับ inoculated control

---

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืช ยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญในภาคการเกษตร ทำความเสียหายต่อพืชผลของเกษตรกรอย่างต่อเนื่อง นอกจากก่อให้เกิดความสูญเสียของผลผลิตแล้ว ยังทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพต่ำ โดยการจัดการศัตรูพืชนั้น เกษตรกรมักเลือกวิธีใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชและมีการใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม สูงเกินค่าที่กำหนด ปริมาณการใช้มากขึ้นเรื่อยๆ จนเกิดปัญหาการดื้อยาของศัตรูพืช มีผลกระทบต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และการตกค้างของสารเคมีในผลิตผลตามมา ส่งผลถึงการส่งออกพืชผลเกษตร ก่อให้เกิดปัญหาการกีดกันทางการค้าภายใต้กรอบทางการค้าขององค์การการค้าโลกว่าด้วยเรื่องสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช ในปัจจุบันเกษตรกรและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชนได้ตระหนักถึงพิษภัยดังกล่าว ทุกฝ่ายจึงหันมาให้ความสนใจการใช้สารชีวภาพและสารชีวินทรีย์ในการควบคุมศัตรูพืชเพื่อลดการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชลงในระดับที่ปลอดภัย ซึ่งได้มีการศึกษาวิจัยและพัฒนาจนได้เป็นสารชีวินทรีย์หลายชนิดที่ใช้ในการควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ เทียบได้กับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยมีชีวินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตเป็นการค้าแล้ว เช่น แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ใช้ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งในข้าวหรือโรคที่เกิดจากเชื้อราในดินของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด (พากเพียร และคณะ, 2543) แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ใช้ในการกำจัดหนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม (อัจฉรา, 2544) ไวรัสเอ็นพีวีกำจัดหนอนกระทู้หอม (อุทัย, 2544) ไส้เดือนฝอยกำจัดหนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง (วัชรี และพิมลพร, 2540) และโปรโตซัวกำจัดหนู (ยุวลักษณ์, 2549) เป็นต้น นอกจากนี้น้ำหมักชีวภาพหรือที่เรียกกันว่าปุ๋ยอินทรีย์น้ำหรือน้ำสกัดชีวภาพ (Bio-extract) ซึ่งได้จากวัสดุเหลือทิ้งจากภาคการเกษตรและอุตสาหกรรม มูลสัตว์ วัชพืชน้ำ เศษผักผลไม้ที่ไม่ได้มาตรฐาน เป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งซึ่งเกษตรกรสามารถนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชหรือทดแทนสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้

แต่อย่างไรก็ตาม ศัตรูพืชอื่นๆ ที่ยังคงเป็นปัญหาและทำความเสียหายต่อพืชผลเกษตรทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นคือ โรครากปม มีสาเหตุจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการปลูกพืชผักและไม้ผลที่สำคัญได้แก่ ขิง พริก กระเจี๊ยบเขียว มันฝรั่ง และฝรั่ง พบแพร่ระบาดทั่วทุกภาคของประเทศ โดยความรุนแรงของโครากปมมีผลให้ต้นพืชเกิดอาการเหี่ยวเฉา แคระแกร็น และผลผลิตลงลด รวมถึงคุณภาพของผลผลิตที่ไม่ได้มาตรฐานตามความต้องการ ความสูญเสียนี้เป็นผลมาจากระบบรากถูกทำลายอย่างรุนแรงเกิดเป็นปุ่มปม ทำให้พืชไม่สามารถดูดน้ำและแร่ธาตุอาหารไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ได้ (นุชนารถ และคณะ, 2540) รวมถึงส่วนของหัวมันฝรั่งและแง่งขิงเสียรูปทรง (มนตรี, 2538) นอกจากนั้นไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปมมีพืชอาศัยกว้าง สามารถทำความเสียให้กับพืชอื่นๆ ได้

หลายชนิดอีกด้วย โดยเฉพาะในพืชผัก-พืชหัว และไม้ดอก ได้แก่ แครอท มะเขือเทศ ผักชีฝรั่ง เยอบีร่า และปทุมมา เป็นต้น (Netscher and Sikora, 1990)

การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยสามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่เกษตรกรปฏิบัติคือการใช้สารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยโดยใช้รองก้นหลุมหรือใช้สารอบดินก่อนปลูกพืช ซึ่งสารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยเหล่านี้มีความเป็นพิษสูง คงประสิทธิภาพนานและสะสมอยู่ในดินและน้ำใต้ดิน เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ สิ่งมีชีวิต และสภาพแวดล้อมต่างๆ นอกจากการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมแล้ว การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น รา แบคทีเรีย และไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูธรรมชาติ พบว่ามีผลในการควบคุมโรครากปมในพืชต่างๆ เช่นกัน โดยมีรายงานการนำมาใช้ป้องกันกำจัดโรครากปม ได้แก่ การใช้รา *Paecilomyces lilacinus* ควบคุมไส้เดือนฝอย *M. incognita* ในแง่งพันธุ์ขิง (มนตรี, 2538) การใช้รา *P. lilacinus* ควบคุมโรครากปมในผักกาดหอมช่วยลดการเกิดปมที่ระบบรากได้ (สุภกิจ, 2532) และการใช้ราวี-เอ ไมคอร์ไรซาสามารถลดปริมาณความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยรากปมในมะเขือเทศและยังลดความหนาแน่นของไส้เดือนฝอยกับผักชนิดอื่นๆ ด้วย (Sikora and Schonbeck, 1995; Sikora, 1992) รวมถึงแบคทีเรีย *Rhizobium* sp. มีอิทธิพลต่อการเกิดปมของไส้เดือนฝอยลดลง (เพิ่มศักดิ์, 2534)

นอกจากนั้นมีรายงานการทดสอบใช้ไส้เดือนฝอยในกลุ่ม Rhaditita ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติของไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืช ได้แก่ ไส้เดือนฝอย *Mononchus* และไส้เดือนฝอยในกลุ่มกำจัดแมลง (entomopathogenic nematode) พบว่าช่วยลดปริมาณไส้เดือนฝอยศัตรูพืชได้ โดยไส้เดือนฝอย *Mononchus* ลดปริมาณไส้เดือนฝอย *Heterodera schachtii* (Chupp and Sherf, 1960) และไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง (*Steinernema siamkayai*) ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในมะเขือเทศ (Sasnarukkit *et al.,* 2002)

ปี 2549 นุชนารถ และธารทิพย ได้ทดลองผลิตขยายรา *P. lilacinus* ไส้เดือนฝอย *Steinernema* และ *Mononchus* มาใช้ควบคุมโรครากปมในระดับโรงเรือนพบว่า สามารถควบคุมโรครากปมได้ 43-50 % ดังนั้น ความเป็นไปได้ของการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และศัตรูธรรมชาติชนิดต่างๆ ที่แยกได้ในประเทศไทยมาใช้ควบคุมโรครากปมในพริก จึงควรทำการศึกษาอัตราของจุลินทรีย์หรือศัตรูธรรมชาติและคัดเลือกเชื้อมาใช้ประโยชน์ ซึ่งจะเป็นวิธีการป้องกันกำจัดโดยชีววิธีที่ปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อม ตลอดจนเพิ่มทางเลือกในการควบคุมโรครากปม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (รา *P. lilacinus*) และศัตรูธรรมชาติ (ไส้เดือนฝอย *Steinernema* และ *Mononchus*) ที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมในการควบคุมโรครากปมของพริกในสภาพไร่ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อจุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติชนิดต่างๆ ได้แก่ รา *Paecilomyces lilacinus* และ Nematode ใน Order rhabditida

2.ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.)

3. บล็อกซีเมนต์+ดินปลูกพืชทดลองและเมล็ดพันธุ์พริก

4. สารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และเครื่องแก้วสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1. วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ใส่รา *P. lilacinus* อัตรา 10 กรัมต่อต้น

กรรมวิธีที่ 2 ใส่รา *P. lilacinus* อัตรา 50 กรัมต่อต้น

กรรมวิธีที่ 3 ใส่ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* อัตรา 1 ล้านตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* อัตรา 5 ล้านตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 5 ใส่ไส้เดือนฝอย *Mononchus* อัตรา 100 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 6 ใส่ไส้เดือนฝอย *Mononchus* อัตรา 500 ตัวต่อต้น

กรรมวิธีที่ 7 ไม่ใส่เชื้อใดๆ และใส่ไส้เดือนฝอย (inoculated control)

กรรมวิธีที่ 8 ไม่ใส่เชื้อใดๆ และไม่ใส่ไส้เดือนฝอย (non-inoculated control)

(กรรมวิธีที่ 1-6 รองก้นหลุมพร้อมปลูกกล้าอายุ 1 เดือน และใส่ที่พืชอายุ 45 และ 60วัน)

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง 1) เตรียมบล็อกวงซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. จำนวน 40 วง บรรจุดินและปลูกพืชอาศัย (กล้ามะเขือเทศ) 5 ต้น/วง ทำการใส่กลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 5 กลุ่ม/ต้น รวม 35 วงซีเมนต์ เพื่อแพร่พันธุ์และเพิ่มปริมาณประชากรของไส้เดือนฝอย ในวงซีเมนต์ เป็นเวลา 3 เดือน ตัดต้นพืชอาศัยทิ้งเหลือส่วนรากที่มีปุ่มปมไว้ในวง 2) เตรียมกล้าพริกพืชทดลอง 3) ใส่เชื้อชนิดต่างๆ ตามกรรมวิธีกำหนด 4) ดูแลพืชปลูกตามวิธีการปลูกพืชจนถึงเก็บเกี่ยว

3. การบันทึกข้อมูล วัดดัชนีการเกิดปมที่รากตามวิธีของ Kinloch (1990) แบ่งเป็น 5 ระดับ ดังนี้ :- 0 = ไม่มีปม; 1 = มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย; 2 = เกิดปมน้อยกว่า 25%; 3 = เกิดปม 25-50%; 4 = เกิดปม 50-75%; และ 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก

เวลาและสถานที่

<u>ระยะเวลา</u> เริ่มเดือนตุลาคม 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2550

<u>สถานที่</u> ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง กรมวิชาการเกษตร จ.ลำปาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (รา *Paecilomyces lilacinus*) และศัตรูธรรมชาติใน Order rhabditida 2 สกุล คือ *Steinernema siamkayai* และ *Mononchus* sp. ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. สาเหตุของโรครากปมในพริก ทำการทดสอบในสภาพไร่ที่ปลูกในบล็อกวงซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. สภาพดินปลูกเป็น infested soil ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง จ.ลำปาง โดยนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และศัตรูธรรมชาติรวม 3 ชนิด รองก้นหลุมก่อนปลูกกล้าพริกอายุ 1 เดือน และใส่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์และศัตรูธรรมชาติอีก 2 ครั้ง เมื่อพริกอายุ 45 และ 60 วัน โดยในกรรมวิธีที่ใช้รา *P. lilacinus* ซึ่งมีศักยภาพในการเข้าทำลายไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม ที่อัตรา 10 และ 50 กรัมต่อต้น พบว่า ระบบรากพริกที่อายุเก็บเกี่ยว มีดัชนีการเกิดปมที่รากระดับ 2.6 (3 = เกิดปมน้อยกว่า 25-50 %) และ 2.2 (2 = เกิดปม 25%) เมื่อมีการใส่ที่อัตรา 10 และ 50 กรัมต่อต้น ตามลำดับ สามารถลดการเกิดปมได้ในช่วงระหว่าง 50-75 % ของระบบราก เมื่อเปรียบเทียบกับพริกที่ปลูกในดินที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมแต่ไม่มีการใส่เชื้อปฏิปักษ์หรือศัตรูธรรมชาติ (inoculated control) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) จากผลการทดลองพบว่าการใช้รา *P. lilacinus* ในอัตราที่สูงขึ้นมีผลทำให้ลดประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในดินลง เนื่องจากเชื้อราเข้าทำลายไข่ของไส้เดือนฝอยทำให้ไข่ถูกทำลายไม่สามารถฟักเป็นตัวอ่อนเข้าทำลายรากพืชได้

สำหรับการใช้ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติของแมลง นำมาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ในสภาพของการรบกวนบริเวณรากพืชไม่ให้ไส้เดือนฝอยรากปมเข้าทำลายรากพริก โดยที่ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ไม่มีผลกระทบต่อรากพืช จากผลการใช้ *S. siamkayai* ในอัตรา 1 และ 5 ล้านตัวต่อต้น พบว่ามีดัชนีการเกิดปมที่ระดับ 3.6 (4= เกิดปม 50-75%) และ 2.6 (3 = เกิดปม 25-50%) ตามลำดับ ช่วยลดการเกิดปมได้ 25-50 % ของระบบราก อย่างไรก็ตาม การนำไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* มาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม ในสภาพของการรบกวนหรือปิดบังรากพืชทำให้ไส้เดือนฝอยรากปมเข้าไม่ถึงรากพืช มีความเป็นไปได้ของการนำไส้เดือนฝอยกลุ่มนี้มาใช้ประโยชน์ แต่ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลกระทบทำให้ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ไม่อยู่ใกล้บริเวณรากพืช เช่น การรดน้ำชุ่มเกินไปมีผลให้ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ไหลไปกับน้ำได้ และการเจริญเติบโตของรากพืชแผ่ขยายไปในดิน ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ไม่สามารถเคลื่อนที่ตามรากพืชได้ ดังนั้น ความพยายามนำไส้เดือนฝอยกลุ่ม *Steinernema* spp. มาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมให้ประสบผลสำเร็จ จึงควรคำนึงถึงปัจจัยที่มีผลกระทบต่างๆ และปรับรูปแบบการใช้ให้เหมาะสม เช่น อัตราการใช้เพิ่มขึ้นครอบคลุมพื้นที่การเจริญของระบบรากพืช

ในดิน หรือการใช้ขี้เลื่อยเป็นวัสดุให้ไส้เดือนฝอยยึดเกาะไม่ให้ไหลไปกับน้ำหรือวัสดุอื่นๆ ซึ่งจะได้ทำการทดสอบต่อไป

ตารางที่ 1 ดัชนีการเกิดปมที่ระบบรากเมื่อมีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (รา *Paecilomyces lilacinus*) และศัตรูธรรมชาติ (*Steinernema siamkayai* และ *Mononchus* sp.) อัตราต่างๆ ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. สาเหตุของโรครากปมพริกในสภาพไร่

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดปมที่ราก[1/]
1. ใส่รา *P. lilacinus* อัตรา 10 กรัม/ต้น	2.6 c[2/]
2. ใส่รา *P. lilacinus* อัตรา 50 กรัม/ต้น	2.2 c
3. ใส่ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* อัตรา 1 ล้านตัวต่อต้น	3.6 b
4. ใส่ไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* อัตรา 5 ล้านตัวต่อต้น	2.6 c
5. ใส่ไส้เดือนฝอย *Mononchus* อัตรา 100 ตัวต่อต้น	4.2 ab
6. ใส่ไส้เดือนฝอย *Mononchus* อัตรา 500 ตัวต่อต้น	3.6 b
7. ไม่ใส่เชื้อใดๆ และใส่ไส้เดือนฝอย (inoculated control)	4.6 a
8. ไม่ใส่เชื้อใดๆ และไม่ใส่ไส้เดือนฝอย (non-inoculated control)	0 d
CV. (%)	18.50

[1/]0 = ไม่มีปม; 1 = มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย; 2 = เกิดปมน้อยกว่า 25%; 3 = เกิดปม 25-50%; 4 = เกิดปม 50-75%; และ 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก

[2/]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละกรรมวิธีในแนวตั้ง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยการใช้วิธี DMRT

การนำไส้เดือนฝอย *Mononchus* sp. ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติของไส้เดือนฝอยด้วยกันเอง โดยไส้เดือนฝอย *Mononchus* sp. จัดเป็นนักล่า (predator) สามารถกินไส้เดือนฝอยรากปมได้มาใช้ควบคุมปริมาณประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในดินปลูก ซึ่งจากการทดสอบที่อัตราการใช้ *Mononchus* sp. ที่ 100 และ 500 ตัวต่อต้น พบว่า มีดัชนีการเกิดปมที่ระดับ 4.2 และ 3.6 (4 = เกิดปม 50-75%) ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับ inoculated control

อย่างไรก็ตาม การนำศัตรูธรรมชาติมาใช้ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุของโรครากปม ต้องคำนึงถึงอัตราการใช้และรูปแบบของการใช้ รวมถึงต้นทุนการผลิตของศัตรูธรรมชาติเหล่านั้นคุ้มค่ากับการนำมาใช้ประโยชน์หรือไม่ ตลอดจนการยอมรับของเกษตรกรเป็นสำคัญ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้รา *P. lilacinus* ที่อัตรา 50 กรัมต่อต้น รองก้นหลุมก่อนย้ายกล้าปลูกและใส่อีก 2 ครั้ง เมื่อพืชอายุ 45 และ 60 วัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. สาเหตุของโรครากปมในพริก สามารถลดการเกิดปมได้ 50-75 % ของระบบราก และการใช้ *S. siamkayai* ที่อัตรา 5 ตัวต่อต้น ลดการเกิดปมได้ 25-50 % ของระบบราก ส่วนไส้เดือนฝอย *Mononchus* sp. ในอัตรา 500 ตัวต่อต้น ไม่สามารถลดการเกิดปมได้เมื่อเปรียบเทียบกับ inoculated control

จากผลการวิจัยสามารถแนะนำเกษตรกรใช้รา *P. lilacinus* และ *S. siamkayai* ควบคุมโรครากปมในแปลงปลูกพริก และพัฒนากระบวนการผลิตขยายเชื้อเหล่านี้ ให้เป็นวิธีง่ายๆ เกษตรกรสามารถเรียนรู้และเพาะเลี้ยงใช้เองได้ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนการผลิตและปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ ธารทิพย ภาสบุตร. 2549. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และศัตรูธรรมชาติในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมสภาพโรงเรือน. หน้า 142. ใน : รายงานวิผลงานวิจัย บทคัดย่อ/รายงานความก้าวหน้า ปี 2549. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด บัญชา ชิณศรี อนันต์ สุนทรเกษมสุข และบัณฑิต จันทร์งาม. 2540. ผลของเมล็ดสะเดาบดอัตราต่างๆ ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ของมะเขือเทศในสภาพไร่. ผลงานวิจัยกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 13 หน้า.

พากเพียร อรัญนารถ นงรัตน์ นิลพานิชย์ วิชิต ศิริสันธนะ และ สมคิด ดิสถาพร. 2543. ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus subtilis* ในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. *ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา* 10 (2) : 2-8.

เพิ่มศักดิ์ สุภาพรเหมินทร์. 2534. อิทธิพลของไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ต่อผลผลิตและการเกิดปมของถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา. 2538. ผลของสารเคมีและเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในแง่งพันธ์ขิง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วัชรี สมสุข และ พิมลพร นันทะ. 2540. โครงการนำร่องการผลิตไส้เดือนฝอย *Steinernema* (*Neoaplectana*) *carpocapsae*. หน้า 331-336. ใน : เอกสารวิชาการ การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

สุภกิจ สุขใจมิตร. 2532. อิทธิพลของ antagonist plants และเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อุทัย เกตุนุติ. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส เอ็น พี วี, หน้า 140-145. ใน : หลักและวิธีการผลิตผักอนามัย. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ

อัจฉรา ตันติโชดก. 2544. บีที สารชีวินทรีย์กำจัดแมลงศัตรูพืช. หน้า 146-148. ใน : หลักและวิธีการผลิตผักอนามัย. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ

Chupp, C. and A.E. Sherf. 1960. Vegetable Disease and Their Control. Ronald Press, New York. 693 p.

Netscher, C. and R.A. Sikora. 1990. Nematode parasites of vegetables, pp. 237-283. *In* M. Luc, R.A. Sikora and J. Bridge (eds.). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International.

Sasnarukkit, A., R. Gaugler and S. Sontirat. 2002. Effects of the entomopathogenic nematode, *Steinernema siamkayai* and its bacterial symbiont's metabolites on root knot nematode, *Meloidogyne incognita.* The First International Conference on Tropical and Subtropical Plant Diseases, November 5-8, 2002. The Imperial Mae Ping Hotel, Chiang Mai, Thailand.

Sikora, R.A. 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystemes for the control of plant parasitric nematodes. Annual Review of Phytopathology 12 : 245-270.

Sikora, R.A. and F. Schonbeck. 1995. Effect of vesicular-mycorrhizae, *Endogone mosseae* on the population dynamics of the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla,* pp. 158-166. *In* proceedings VIII International Congress Plant Protection, Moscow.

ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุมหนอนแมลงวันศัตรูในเห็ด

Efficacy of Entomopatogenic Nematode on Dipterous Insect Pest in Mushroom

วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี วัชรี สมสุข
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

เก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดภูฏานที่มีแมลงวันเห็ดลงทำลาย จากโรงเพาะเห็ดของเกษตรกรใน อ. โพธาราม จ. ราชบุรี นำมาตรวจนับจำนวนหนอนและ ดักแด้ ของหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดที่พบในก้อนเชื้อเห็ด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จำนวนหนอนแมลงวันที่พบในก้อนเชื้อเห็ดมี 3 ลักษณะ (ไม่สามารถจำแนกชนิดของหนอนได้) โดยหนอนจะหลบซ่อนอยู่ในขี้เลื่อย หนอนมีขนาดเล็ก สีขาวครีมและสีส้ม มีลักษณะ สีสันใกล้เคียงกับขี้เลื่อยซึ่งเป็นวัสดุที่ให้เพาะเห็ด และ จำนวนดักแด้ที่พบมีตั้งแต่ 10-50 ดักแด้/ก้อน ลักษณะของดักแด้จะอยู่บริเวณหน้าก้อนเชื้อเห็ดใกล้กับปากถุง ดักแด้จะอยู่รวมกันเป็นกระจุก เมื่อนำดักแด้ที่พบมาแยกไว้ในขวดแก้วขนาด 10 มล พบว่า ดักแด้ใช้เวลาประมาณ 5-7 วัน จึงฟักเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งอยู่ระหว่างการตรวจสอบชนิด และได้ทำการทดลองเลี้ยงขยายหนอนแมลงวันในห้องปฏิบัติการเพื่อเพิ่มปริมาณ สำหรับการทดลอง ไม่สามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนแมลงวันให้มีปริมาณมากได้ เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น ความชื้นภายในก้อนเชื้อ ฯลฯ ซึ่งต้องทำการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติม ร่วมทั้งต้องศึกษาการเพิ่มประชากรของหนอนแมลงวันในก้อนเชื้อเห็ด ความสัมพันธ์ระหว่างตัวเต็มวัยและดักแด้ที่สำรวจพบต่อผลผลิตเห็ด ข้อมูลที่ได้ เพื่อเป็นพื้นฐานในการป้องกันกำจัดต่อไป

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

ปัญหาการระบาดของแมลงวันศัตรูเห็ด ลงทำลายเห็ดในตระกูลนางฟ้า-นางรมหรือเห็ดเพาะในถุง เกิดความเสียหายของผลผลิต 20-80% การลงทำลายของหนอนแมลงวันคือ การเจริญของเส้นใยผิดปกติ หรือส่วนของดอกเน่า หรือเป็นสีน้ำตาลหรือดำ จากรายงานของ กอบเกียรติ์และคณะ (2544) พบว่า หนอนแมลงวันที่เข้าทำลายเห็ดมี 4 ชนิด โดยพบว่ามากกว่า 80 % เป็นหนอนแมลงหวี่ปีกดำ Sciarid (Lycoriedae: *Lycoriella* sp.) ส่วนหนอนแมลงวันอื่นพบรองลงมาหนอนแมลงวันหลังโกง Phorid (Phoridae: *Megasellia* sp.) หนอนยุงเห็ด cecid fly (Cecidomyiidae: *Mycophilla* sp. และ *Heteropeza* sp.) และหนอนแมลงหวี่ดำ (Scatopsidae: *Scatopse* sp.) การป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันทำได้ค่อนข้างลำบาก เพราะไม่สามารถใช้สารเคมีเช่นเดียวกับพืชอื่นๆ ได้ เนื่องจากเห็ดเป็นพืชบริโภคสด หรือสุกๆ ดิบๆ และการใช้สารเคมีโดยขาดความรอบครอบมักจะทำให้ดอกหรือเส้นใยเห็ดเป็นพิษ แสดงอาการบิดเบี้ยวผิดปกติ (phytotoxic) ทำให้คุณภาพและราคาลดลง และผู้บริโภคต้องเสี่ยงกับสารเคมีตกค้างในดอก การควบคุมหนอนแมลงวันศัตรูในเห็ดจึงจำเป็นต้องอาศัยการบริหารจัดการที่มีการประสานวิธีการควบคุมหลายรูปแบบอย่างเหมาะสม เช่นการนำสิ่งมีชีวิตหรือจุลินทรีย์ เช่นไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในกลุ่ม Steinernema และ Heterorhabditis เป็นหนึ่งในวิธีการที่ควรนำมาใช้ควบคุมแมลงวันเห็ด เนื่องจากข้อดีคือสามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูได้หลายชนิดทั้งหนอนด้วง หนอนผีเสื้อ และหนอนแมลงวัน เป็นต้น อีกทั้งไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพื่อให้การนำไส้เดือนฝอยไปใช้ควบคุมหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด จึงต้องเริ่มจากการศึกษาจำนวนชนิดและปริมาณของหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด เนื่องจากแมลงวันเห็ดมีหลายชนิด และทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดต่างๆ ในการเข้าทำลายหนอนแมลงวันศัตรูในโรงเห็ด รวมถึงคัดเลือกสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพสูงนำไปใช้ควบคุมแมลงวันศัตรูเห็ด

วัตถุประสงค์

ชนิด ปริมาณของหนอนแมลงวันศัตรูเห็ด และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดของไส้เดือนฝอยสกุล Steinernema และ Heterorhabditis

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. *Heterorhabditis* sp.

2 หนอนแมลงวันศัตรูในเห็ด และหนอนกินรังผึ้ง

3 อาหารเทียมเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง

4. ก้อนเชื้อเห็ด

5 กล่องพลาสติก

6. หลอดทดลอง

7. หลอดแก้วขนาด 10 มล.

8. ผ้าขามบาง

9 ถุงพลาสติกใส

10. พู่กัน

11. จานพลาสติกพร้อมฝาปิด ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม.

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ศึกษาชนิดและประชากรของหนอนแมลงวันศัตรูในเห็ด

สำรวจ และเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดจากโรงเพาะเห็ดของเกษตรกร เพื่อตรวจนับชนิดและปริมาณหนอนแมลงวันศัตรูในเห็ดในห้องปฏิบัติการ นำข้อมูล ชนิด และจำนวนหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดไปเขียนกราฟ

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2549 – เดือนกันยายน 2550

สถานที่: ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดภูฏานที่มีแมลงวันเห็ดลงทำลาย จากโรงเพาะเห็ดของเกษตรกรใน อ. โพธาราม จ. ราชบุรี นำมาตรวจนับจำนวนหนอนและ ดักแด้ ของหนอนแมลงวันศัตรูเห็ดที่พบในก้อนเชื้อเห็ด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จำนวนหนอนแมลงวันที่พบในก้อนเชื้อเห็ดมี 3 ลักษณะ (ไม่สามารถจำแนกชนิดของหนอนได้) โดยหนอนจะหลบซ่อนอยู่ในขี้เลื่อย หนอนมีขนาดเล็ก สีขาวครีมและสีส้ม มีลักษณะ สีสันใกล้เคียงกับขี้เลื่อยซึ่งเป็นวัสดุที่ให้เพาะเห็ด และ จำนวนดักแด้ที่พบมีตั้งแต่ 10-50 ดักแด้/ก้อน ลักษณะของดักแด้จะอยู่บริเวณหน้าก้อนเชื้อเห็ดใกล้กับปากถุง ดักแด้จะอยู่รวมกันเป็นกระจุก เมื่อนำดักแด้ที่พบมาแยกไว้ในขวดแก้วขนาด 10 มล พบว่า ดักแด้ใช้เวลาประมาณ 5-7 วัน จึงฟักเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งอยู่ระหว่างการตรวจสอบชนิด และได้ทำการทดลองเลี้ยงขยายหนอนแมลงวันในห้องปฏิบัติการเพื่อเพิ่มปริมาณ สำหรับการทดลอง ไม่สามารถเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนแมลงวันให้มีปริมาณมากได้ เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม เช่น ความชื้น

ภายในก้อนเชื้อ ฯลฯ ซึ่งต้องทำการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติม ร่วมทั้งต้องศึกษาการเพิ่มประชากรของหนอนแมลงวันในก้อนเชื้อเห็ด ความสัมพันธ์ระหว่างตัวเต็มวัยและดักแด้ที่สำรวจพบต่อผลผลิตเห็ด ข้อมูลที่ได้ เพื่อเป็นพื้นฐานในการป้องกันกำจัดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ พรทิพย์ วิสารทานนท ฉัตรไชย ศฤงฆไพบูรณ์ และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2544. แมลง-ไรศัตรูเห็ดในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา กรม**วิชาการเกษตร กรุงเทพฯ หน้า**

การศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง ในการควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก

Study on Efficacy of Entomopathogenic Nematode for Control Lepidopterous Larvae Pests on Export Asparagus

สาทิพย์ มาลี
วัชรี สมสุข วิไลวรรณ เวชยันต์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ดำเนินการสำรวจการระบาดของหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง ในจังหวัดนครปฐม และกาญจนบุรี พบว่ามีหนอนผีเสื้อที่เข้าทำลายหน่อไม้ฝรั่งที่สำคัญ 3 ชนิด ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก และหนอนเจาะสมอฝ้าย จึงทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนทั้ง 3 ชนิด ในห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อใช้ในการทดลองหาค่า LC_{50} ของไส้เดือนฝอยต่อหนอนทั้ง 3 ชนิด จากการทดลองพบว่า ค่า LC_{50} ของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ต่อหนอนกระทู้ผัก เท่ากับ 4.13 ตัวต่อหนอน 1 ตัว และLC_{50} ของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย เท่ากับ 5.28 ต่อหนอน 1 ตัว และ LC_{50} ของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ต่อหนอนกระทูหอม เท่ากับ 5.8 ต่อหนอน 1 ตัว และจะได้นำผลการทดลองดังกล่าวเป็นข้อมูลในการศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดต่างๆในการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนต่อไป

ทำการประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือน โดยพ่นไส้เดือนฝอยเข้มข้น 1,000 2,000 และ 4,000 ตัว/มล. ปริมาณ 5 มล. บริเวณโคนต้นหน่อไม้ฝรั่ง พื้นที่ประมาณ 500 ตารางเซนติเมตร ทำการตรวจนับหนอนที่ตายเนื่องจากไส้เดือนฝอยหลังทำการทดลอง 2 วัน พบว่า หนอนตาย 20.75 75.25 และ 80.50 %

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ศึกษาระยะเวลาการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยในดินที่ปลูกหน่อไม้ฝรั่งในโรงเรือน โดยพ่นไส้เดือนฝอยลงในดิน อัตรา 2000 ตัว/มล. พื้นที่ประมาณ 500 ตารางเซนติเมตร หลังจากพ่น 6 12 24 48 ชั่วโมง 1 และ 2 สัปดาห์ เก็บดินไปทำการตรวจหาไส้เดือนฝอย โดยใช้หนอนกินรังผึ้ง พบว่า หลังทำการพ่นไส้เดือนฝอย 6 - 48 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกินรังผึ้งระหว่าง 70 - 100 % ส่วนหลังพ่นไส้เดือนฝอย 1 และ 2 สัปดาห์ ไส้เดือนฝอยมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกินรังผึ้ง 48 และ 20% ตามลำดับ

คำนำ

หน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชส่งออกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ปัญหาการระบาดของแมลงศัตรูพืชทำลายหลายชนิด โดยเฉพาะหนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยไฟ การใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดทำให้เกิดปัญหาแมลงศัตรูพืชหลายชนิดสร้างความต้านทาน การปนเปื้อนของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมและเกิดพิษตกค้างบนผลิตผล ซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการส่งออก จึงต้องหาแนวทางในการแก้ไข เพื่อให้สอดคล้องกับนโยบาย GAP ของกรมวิชาการเกษตร โดยทำการเกษตรแบบถูกสุขลักษณะ หลีกเลี่ยงการทำลายสิ่งแวดล้อม และลดการใช้สารเคมีซึ่งอาจมีพิษตกค้างในผลิตผลทางการเกษตร ส่งผลกระทบต่อการส่งออกสินค้าเกษตร การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูเป็นทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้เพื่อลดการใช้สารเคมี โดยเฉพาะไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง *Steinernema carpocapsae* สามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูได้หลายชนิด เช่นหนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง(*Cossus* sp.) ตัวอ่อนด้วงหมัดผักในผักกาดหัว(*Phyllotretra sinuata*) (วัชรี, 2534) ด้วงงวงมันเทศ(*Cylas formicarius*) หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง(*Spodoptera exigua*) เป็นต้น (วัชรี, 2537) หนอนกระทู้ผัก*(S. litura*) (วัชรี และวิไลวรรณ,2547) หนอน Sciarid ในโรงเห็ด(Grewal and Smith; 1995) หนอนหญ้าสนาม (Gerogis and Gaugler, 1991; Hatsukade , 1994) โดยเข้าทำลายทั้งระยะตัวอ่อน ระยะก่อนเข้าดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยที่เพิ่งฟัก (Kaya and Arnold, 1981; Kaya and Grieve, 1982; Lindegren and Patrick,1986 ; Lindegren et *al.,* 1990) อีกทั้งไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ดังนั้นการนำไส้เดือนฝอยมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืช จึงเป็นวิธีการที่ต้องมีการศึกษาและพัฒนา หรือประยุกต์ใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ ในการจัดการแมลงศัตรูพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae*
2. หนอนกินรังผึ้ง *Galleria mellonella* วัย 4-5
3. หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย
4. ต้นหน่อไม้ฝรั่ง
5. เครื่องพ่นสาร

วิธีการ

การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดต่างๆในการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง

-จัดสิ่งทดลองแบบ Factorial (2x3)+1 จำนวน 4 ซ้ำ

- ปัจจัย A คือ ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด
  - *Steinernema carpocapsae*
  - *S. riobrave*
- ปัจจัย B อัตราการใช้ไส้เดือนฝอย 3 ระดับ คือ 4 8 12 ตัวต่อหนอน 1 ตัว

ทำการทดลองในหนอนกระทู้ผัก เตรียมไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดในอัตราความหนาแน่นตามกรรมวิธี/น้ำ 30 ไมโครลิตร หยอดลงบนอาหารเทียมที่ใช้เลี้ยงหนอนในถาด multiwell plate ขนาด 24 หลุม ปล่อยหนอนกระทู้ผักวัย 3 หลุมละ 1 ตัว ทำการทดลองโดยใช้ไส้เดือนฝอยชนิดละ 2 ถาดต่อซ้ำ จำนวน 20 ซ้ำ

บันทึกผลการทดลอง

- นับจำนวนหนอนที่ตายเนื่องจากไส้เดือนฝอยหลังทำการทดลอง 6 12 24 และ 48 ชั่วโมง

-นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบทางสถิติต่อไป เพื่อหาค่า LC_{50} ต่อไป

การทดลองย่อยที่ 2. ศึกษาอัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งในเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1	ใช้ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 1000 ตัวต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 2	ใช้ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 2000 ตัวต่อน้ำ 1มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 3	ใช้ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 4000 ตัวต่อน้ำ 1มิลลิลิตร
กรรมวิธีที่ 4	พ่นน้ำเปล่า

ปลูกหน่อไม้ฝรั่งในกระถางนำไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพจากการทดลองที่ 1 ไปพ่นในกระถางปลูกหน่อไม้ฝรั่ง อัตรา 1,000 2,000 และ 4,000 ตัว/มล. ปริมาณ 5 มล.ปล่อยหนอนกระทู้ผักกระถางละ 10 ตัว-เก็บดินไปทำการตรวจหาไส้เดือนฝอย หลังทำการพ่นไส้เดือนฝอย 6 - 48 ชั่วโมง โดยใช้หนอนกินรังผึ้ง

บันทึกผลการทดลอง

- จำนวนหนอนตายหลังทำการทดลอง 48 ชั่วโมง
- ประสิทธิภาพในการทำลายของไส้เดือนฝอยที่ตกค้างในดินหลังทำการทดลอง 1 และ2 วัน

ผลการทดลอง

การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดต่างๆในการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง

ดำเนินการสำรวจการระบาดของหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง ในจังหวัดนครปฐม และกาญจนบุรี พบว่ามีหนอนผีเสื้อที่เข้าทำลายหน่อไม้ฝรั่งที่สำคัญ 3 ชนิด ได้แก่ หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก และหนอนเจาะสมอฝ้าย จึงทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนทั้ง 3 ชนิด ในห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อใช้ในการทดลองหาค่า LC_{50} ของไส้เดือนฝอยต่อหนอนทั้ง 3 ชนิด จากการทดลองพบว่า ค่า LC_{50} ของไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ต่อหนอนกระทู้ผัก เท่ากับ 4.13 ตัวต่อหนอน 1 ตัว และLC_{50} ของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ต่อหนอนเจาะสมอฝ้าย เท่ากับ 5.28 ต่อหนอน 1 ตัว และ LC_{50} ของไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ต่อหนอนกระทูหอม เท่ากับ 5.8 ต่อหนอน 1 ตัว และจะได้นำผลการทดลองดังกล่าวเป็นข้อมูลในการศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงชนิดต่างๆในการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งในสภาพโรงเรือนในการทดลองย่อยที่ 2 ต่อไป

การทดลองย่อยที่ 2. ศึกษาอัตราความเข้มข้นของไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพในการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งในเรือนทดลอง

ทำการศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพจากการทดลองย่อยที่ 1 คือ ไส้เดือนฝอย *steinernema carpocapsae* ทำการทดลองในสภาพโรงเรือน โดยพ่นไส้เดือนฝอยเข้มข้น 1,000 2,000 และ 4,000 ตัว/มล. ปริมาณ 5 มล. บริเวณโคนต้นหน่อไม้ฝรั่ง พื้นที่ประมาณ 500 ตารางเซนติเมตร ทำการตรวจนับหนอนที่ตายเนื่องจากไส้เดือนฝอย หลังทำการทดลอง 2 วัน พบว่า หนอนตาย 20.75 75.25 และ 80.50 %

ศึกษาระยะเวลาการอยู่รอดของไส้เดือนฝอยในดินที่ปลูกหน่อไม้ฝรั่งในโรงเรือน โดยพ่นไส้เดือนฝอยลงในดิน อัตรา 2000 ตัว/มล. พื้นที่ประมาณ 500 ตารางเซนติเมตร หลังจากพ่น 6 12 24 48 ชั่วโมง 1 และ 2 สัปดาห์ เก็บดินไปทำการตรวจหาไส้เดือนฝอย โดยใช้หนอนกินรังผึ้ง พบว่า หลังทำการพ่นไส้เดือนฝอย 6 - 48 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกินรังผึ้งระหว่าง 70 - 100 % ส่วนหลังพ่นไส้เดือนฝอย 1 และ 2 สัปดาห์ ไส้เดือนฝอยมีประสิทธิภาพในการทำลายหนอนกินรังผึ้ง 48 และ 20% ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

วัชรี สมสุข พิมลพร นันทะ และ เอนก บุตรรักษ์. 2537. การควบคุมหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* ในดาวเรืองด้วยไส้เดือนฝอย ผลงานแผ่นภาพ ในการประชุมสัมมนาทางวิชาการ แมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 9 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 55-62.

วัชรี สมสุข วินัย รัชตปกรณ์ชัย และพิมลพร นันทะ. 2534ก. การใช้ไส้เดือนฝอย *Steinnernema carpocapsae* (Weiser) ควบคุมด้วงหมัดผักในผักกาดหัว. วารสารกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาเกษตร. 13 : 183 – 188.

วัชรี สมสุข สุธน สุวรรณบุตร และพิมลพร นันทะ. 2534ข. ศึกษาการใช้ไส้เดือนฝอย *Steinnernema carpocapsae* (Weiser) ในการควบคุมด้วงงวงมันเทศในสภาพธรรมชาติ. รายงานผลวิจัยประจำปี 2534 กองกีฏและสัตววิทยา.10 หน้า.

วัชรี สมสุข และ วิไลวรรณ เวชยันต์. 2547. ประสิทธิภาพการเข้าทำลายหนอนผีเสื้อของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง. ใน การประชุมวิชาการประจำปี 2547 ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ. 22-25 มิถุนายน 2547 ณ โรงแรมโนโวเทล โคลาเรีย ริมเพ อ.แกลง จ.ระยอง.

Cabanillas, H.E., Poinar, G.O., Raulason, J.R. 1994. *Steinernema riobravis* n. sp. (Rhabditida : Steinernematidae) from Texas. Fundam. Appl. Nematol; 17 (2), 123-131.

Dutky, S.R., J.V. Thomson and G.W. Cantwell. 1964. Technique for the propagation of the DD-136 nematode. Journal of Insect Pathology 6 ; 417-422.

Friendman, M.J. 1990. Commercial production and development, pp. 153-173. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Hazir S., S.P. Stock, H. K. Kaya, A.M. Koppenhofer, and N. Keshin. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). Journal of Invertebrate Pathology 77 : 243-250.

Klein, Michael. G., 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pest. , pp. 195-210. *In*: Gaugler, R.A., and Kaya, H.K. (eds.) Entomopathogenic Nematodes in Biological control. Boca Raton, Florida CRC Press

Kung, S.P., R. Gaugler, and H.K. Kaya. 1991. Effect of soil tempeature,moisture and rerative humidity on entomopathogenic nematode persistance. Journal of Invertebrate Pathology 57: 242-249.

Stock, S.P., V. Somsook and A.P. Reed. 1998. *Steinernema siamkayai* n. sp. Rhabditida : Steinernematidae), an entomopathogenic nematode from Thailand. Systematic Parasitology 91 : 105-113.

Grewal. P.S. and Smith C. 1995. Insect-Parasitic Nematodes for Mushroom Pest Control. Mushroom News : April : 15-25.

Grewal. P.S. and P.N. Richardson. 1993. Effect of application rate of *Steinernema feltiae* (Nematoda : Steinernematidae) on control of the mushroom sciarid fly *Lycoriella auripila.* Biocontrol Science and Technology 3:29-40

Grewal. P.S., P.M. Tomalak., C.B.O. Keil and Gaugler. 1993. Evaluation of generally selected strain of *Steinernema feltiae* against the mushroom *Lycoriella auripila.* sciarid. Ann. appl. Biol. 123:695-702

Richardson. P.N. and P.S. Grewal. 1991. Comparative assessment of biological (Nematoda: *Steinernema feltiae*) and chemical methods of control for the mushroom fly *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae). Biocontrol Science and Technology. 1:217-228.

Hatsukade, M. 1994. Control of turf grass insect pests with entomopathogenic nematodes in Japan. In Food&Fertilizer Technology Center. Technical bulletin 139:15-21.

ทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยควบคุมหอยทากซัคซิเนีย (*Succinea chrysis*)

Efficacy Test of Entomopathogenic Nematodes for Controlling *Succinea chrysis*

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ
วัชรี สมสุข วิไลวรรณ เวชยันต์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยกับหอยทากซัคซิเนียได้ทดสอบทั้งให้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยาและในแปลงสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรีตั้งแต่ปี 2549-2550

ในห้องปฏิบัติการ ทำการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย 5 ชนิด คือ *Steinernema carpocapsae,S.siamkayai,S.riobrave,S.glaseri* และ *Heterorhabditis bacteriophora* โดยใช้อัตราความเข้มข้น 20,000 ตัวต่อพื้นที่กล่อง75ตารางเซนติเมตรต่อหอย 5 ตัว ตามแผนการทดลอง CRD 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำคือไส้เดือนฝอย 5 ชนิดดังกล่าวและกรรมวิธีควบคุมที่พ่นน้ำ หลังจากทดสอบ 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมห้อง (30±2°C) ตรวจเปอร์เซ็นต์การตายในแต่ละวิธีการ พบว่า ไส้เดือน *S.carpocapsae* , *S.siamkayai, S.riobrave, S.glaseri* และ*H.bacteriophora* มีประสิทธิภาพที่ทำให้หอยตาย 55.0 ±19.14 ,55.0± 30.0 ,90.0± 11.54 ,90.0 ± 20.0 และ 60.0± 28.88% ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม 5.0± 10.0% ที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95% และได้นำหอยที่ทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยมาศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาโดยการสุ่มเก็บหอยหลังทดสอบที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มาตัดเนื้อเยื่อเพื่อทำสไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินแล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ หลังทดสอบ 24 ชั่วโมงกลุ่มหอยที่ทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยทั้ง 5 ชนิดพบไส้เดือนฝอยอยู่ในอวัยวะปอดทางเดินอาหาร (กระเพาะอาหาร ลำไส้) และกลุ่มที่ทดสอบ *S.glaseri* ยังพบไส้เดือนฝอยในอวัยวะสืบพันธุ์ (ท่อผลิตอสุจิและท่อนำไข่) ส่วนกลุ่มควบคุมไม่พบไส้เดือนฝอยในทุกๆอวัยวะของหอย ที่ 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าเซลล์และเนื้อเยื่อหอยของอวัยวะปอด ทางเดินอาหาร สืบพันธุ์และไตที่ทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยถูกทำลายส่งผลให้หอยตาย

ทดสอบประสิทธิภาพในการพ่นไส้เดือนฝอย ควบคุมหอยซัคซิเนียในสวนกล้วยไม้เกษตรกร ที่ จ. กาญจนบุรี โดยคัดเลือกไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ 3 ชนิด คือ *S.glaseri* และ *S.riobrave* และนำ *S.carpocapsae* วางแผนการทดลอง RCB 7 วิธีการ 4 ซ้ำ คือ ไส้เดือนฝอย 3 ชนิดดังกล่าว แต่ละชนิดใช้อัตราเข้มข้น 2 ระดับ คือ *S.riobrave* และ *S.carpocapsae* ใช้อัตราเข้มข้น 0.5 และ 1.0 ล้านตัวต่อตารางเมตร ส่วน *S.glaseri* ใช้อัตราเข้มข้น 0.25 และ 0.5

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ล้านตัวต่อตารางเมตร เปรียบเทียบกับวิธีการพ่นน้ำ ก่อนทำการทดลองพ่นไส้เดือนฝอยลงพื้นดินในแปลงปลูกกล้วยไม้ ได้ทำการคัดเลือกพื้นที่ โดยสุ่มนับประชากรหอยในพื้นที่ 0.5 ตารางเมตร มีปริมาณหอยไม่ต่ำกว่า 5 ตัวต่อ 0.5 ตารางเมตร หลังการพ่นทดลองทุกวิธีการเป็นเวลา 72 ชั่วโมง สุ่มนับจำนวนหอยตายด้วยตารางสุ่มขนาด 0.5 ตารางเมตร พบว่าอัตราการตายของหอยที่ 72 ชั่วโมงคือ 23.07± 4.83, 40.38± 11.54, 46.15± 8.87, 51.92 ± 7.36 19.23±14.72 และ 26.92± 8.52 % ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุมคือ 1.92 ±3.84 % (ที่ $P \geq 95$ %)

คำนำ

หอยซัคซิเนีย เป็นศัตรูสำคัญในสวนกล้วยไม้โดยจะกัดกินรากอ่อน หน่ออ่อน ดอกกล้วยไม้ ใบ ทำให้ชะงักการเจริญเติบโตและดอกกล้วยไม้เสียหาย ขายไม่ได้ราคาบางครั้งหอยจะติดไปกับดอก ไม้ที่ส่งออกไปขายต่างประเทศ เมื่อด่านกักกันพืชของประเทศปลายทาง เช่น ญี่ปุ่น อเมริกา กลุ่มสหภาพยุโรปตรวจพบหอยติดไปกับดอกกล้วยไม้ที่ส่งออกจะเผาดอกไม้เหล่านั้นทันที (กีฏและสัตววิทยา 2543) ทำให้เสียทั้งเงินและดอกกล้วยไม้และยังเสียชื่อเสียงประเทศอีกด้วย ส่งผลให้สินค้าที่เป็นผลิตผลทางการเกษตรอื่นๆที่ส่งมาจากประเทศไทยถูกตรวจอย่างเข้มงวด และมีมาตรการกีดกันทางการค้าที่เข้มงวดขึ้นจึงเป็นปัญหาอุปสรรคต่อการส่งออกสู่ประเทศเหล่านั้น

หอยซัคซิเนีย เป็นหอยฝาเดียวที่อาศัยอยู่บนบกจัดอยู่ในวงศ์ Succineidae ลำดับ Stylommatophora หอยทากชนิดนี้เป็นหอยขนาดเล็กมีเปลือกเรียบบางใสสีน้ำตาลอ่อน สำหรับป้องกันตัวและความชื้นภายในลำตัว มีฝาปิดและผลิตเมือกเรียกว่า Epiphragm มาปิดปากเปลือกเมื่ออยู่ในสภาวะแห้งแล้ง หอยโตเต็มวัยมีความกว้าง 5-6 มม. ความสูง 8-9 มม.โดยด้านปากเปิดของเปลือกกว้างและลดขนาดลงไปตามความสูงพร้อม ทั้งบิดเวียนไปทางขวา ส่วนหัวและเท้ายื่นออกจากเปลือกเมื่อเวลาเคลื่อนที่และออกหากิน โดยปากอยู่ปลายสุดเยื้องลงมาด้าน ล่างของส่วนหัวมีหนวด 1 คู่ข้างปากสำหรับรับรู้การกินอาหาร มีตา 1 คู่อยู่บนก้านตาที่ยืดยาวกว่าคู่แรก ซึ่งหดเข้าผิวหนังได้ มีหน้าที่รับรู้แสง แผ่นเท้าใหญ่อ่อนนุ่มเคลื่อนที่ช้า (ชมพูนุท 2546) หอยซัคซิเนียพบทั่วไปในแปลงปลูกกล้วยไม้ภาคกลาง เนื่องจากในแปลงสวนกล้วยไม้จะมีความ ชื้นสูงจึงเหมาะต่อการอาศัยเติบโตเพิ่มประชากรตลอดเวลา โดยเฉพาะช่วงฤดูฝนจะระบาดมากเกษตรกรต้องทำการป้องกันกำจัดทุกฤดูปลูกจะต้องดูแลตรวจแปลงอย่างเคร่งครัด ถ้ามีหอยมากกว่า 10 ตัว ต่อตารางเมตร จะต้องทำการป้องกันกำจัด เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมีซึ่งกรมวิชาการเกษตรจะแนะนำให้ใช้สารฆ่าเฉพาะหอย ไม่ส่งเสริมให้ใช้สารฆ่าแมลงมากำจัดหอย เพราะไม่ทำให้หอยตายแล้วยังเป็นการสิ้นเปลืองเงินและเวลาอีกด้วย ชมพูนุท(2542) ได้ทดสอบและแนะนำ เมทัลดีไฮด์ 80% ชนิดผงอัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และนิโคลซาไมด์ 70% ชนิดผงอัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20ลิตร พ่นบนดินให้ถูกตัวหอย การใช้เหยื่อ เมทัลดีไฮด์ 4% วางเป็นจุดๆ บนกาบมะพร้าว วัสดุปลูกหรือบนพื้นดิน เป็นจุดๆ ห่างกัน 1-2 เมตร สามารถ

กำจัดหอยได้ดี (Watson, 1985) สารสกัดจากพืชถูกนำมาทดสอบเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะมาทดแทนสารเคมีและหาได้ง่ายในท้องถิ่น ได้แก่ สะเดา มะคำดีควาย หางไหล เป็นต้น ปราสาททอง (2545) ได้ทดสอบใช้สารสกัดมะคำดีควาย ฆ่าหอยเชอรี่และศึกษาผลกระทบกับเซลล์และเนื้อเยื่อหอย เป็นต้น เมื่อมีการรณรงค์ลดการใช้สารเคมีเพื่อนำไปสู่เกษตรธรรมชาติที่ยั่งยืน จึงมีการหาวิธีป้องกันกำจัดโดยชีววิธี คือ ตัวเบียน ตัวห้ำ และปรสิต ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา โปรโตซัว สัตว์ผู้ล่าควบคุมหอย (Rueda.1989) ไส้เดือนฝอยได้ถูกนำมาศึกษาและได้ใช้ป้องกันกำจัดหอยทากในต่างประเทศ ได้แก่ *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Shneider) นำมากำจัดหอยทากในแปลงปลูกพืชเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี (Glen et al,1996) และ วัชรี(2544) รายงายว่า Stinernema และ Heterorhabditis สามารถฆ่าแมลงได้ภายใน 48 ชั่วโมง โดยไส้เดือนฝอยทั้งสองวงค์มีแบคทีเรียอาศัยรวมอยู่โดย Steinernema มีแบคทีเรียสกุล Xenerhadtis อยู่โดยไส้เดือนฝอยจะเข้าภายในลำตัวของแมลงทางปาก ท่อหายใจ หรือไชผ่านผนังลำตัวของแมลงโดยตรง จะผ่านเข้าสู่ลำไส้เข้าช่องว่างภายในลำตัวแล้วปล่อยแบคทีเรียออกมาแล้วแบ่งเซลล์เพิ่มปริมาณในเลือดของแมลงอย่างรวดเร็วเป็นสาเหตุให้แมลงตายภายใน 24-72 ชั่วโมงและไส้เดือนฝอยยังสามารถผลิตสารพิษขึ้นมาทำให้แมลงตายได้ (Burman,1982)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

   - ไส้เดือนฝอย 5 ชนิด ได้แก่ *Steinernema carpocapsae* , *S.siamkayai* ,*S.riobrave* *S.glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora* และหอยซัคซิเนีย

2. เครื่องมือ

   - กล่องพลาสติกขนาด 75 และ 300 ตารางเซนติเมตร เครื่องตัดเนื้อเยื่อ กล้องจุลทรรศน์ กล้องสเตอริโอ เครื่องพ่นสารแบบสูบชัก แปลงสวนกล้วยไม้พื้นที่ 0.5 ไร่

3. สารเคมี :สีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน แอลกอฮอลล์ 70%,95% และ100% ฟอร์มาลีน10%

วิธีการ การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยกับหอยทากซัคซิเนียได้ทำการศึกษาดังนี้

1.การทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ

2.การศึกษาเนื้อเยื่อหอยทากซัคซิเนีย

3.การทดสอบประสิทธิภาพในแปลงสวนกล้วยไม้

1. การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยกับหอยทากซัคซิเนียในห้องปฏิบัติการ

   1.1 แผนการทดลอง CRD 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ได้แก่

   S. carpocapsae , *S.siamkayai* , *S.riobrave*, *S.glaseri* , *H. bacteriophora* อัตรา 20,000 ตัวต่อกล่อง และกรรมวิธีควบคุมที่พ่นน้ำ

1.02 เตรียมสัตว์ทดลอง

1.2.1 หอยซัคซีเนียเก็บรวบรวมหอยซัคซิเนียจากแปลงสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร จ. กาญจนบุรี จ.สมุทรสาคร มาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรโดยเลี้ยงในกล่อง พลาสติกขนาด 300 ตารางเซนติเมตร ให้อาหารเลี้ยงหอยและตรวจดูความชื้นทุกวัน

1.2.2 ไส้เดือนฝอย 5 ชนิดได้มาจากกลุ่มงานวิจัยปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยาที่เตรียมอยู่ในรูปความเข้มข้นในน้ำที่นับจำนวนไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.3 วิธีการทดลอง

คัดเลือกหอยซัคซิเนียที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 75 ตารางเซนติเมตร จำนวน 5 ตัวต่อกล่องโดยที่พื้นกล่องแต่ละกล่องบุด้วยกระดาษทิชชูที่พ่นน้ำพอชื้นเมื่อหอยคลานดีแล้วใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดจำนวน 20,000 ตัว ต่อกล่องตามแผนการทดลอง CRD 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กลุ่มควบคุม จะพ่นน้ำพอชื้น หลังทดสอบ 24,48 และ 72 ชั่วโมงตรวจดูการตายของหอยภายใต้กล้องสเตอริโอ

1.4 บันทึกข้อมูล อัตราการตายของหอยที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

2. การศึกษาเนื้อเยื่อหอยทากซัคซิเนีย

2.1 แผนการทดลอง CRD 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ได้แก่

S. carpocapsae , *S.siamkayai* , *S.riobrave*, *S.glaseri* , *H. bacteriophora* อัตรา 20,000 ตัวต่อกล่อง และกรรมวิธีควบคุมที่พ่นน้ำ

2.2 เตรียมสัตว์ทดลอง

2.2.1 หอยซัคซีเนีย เก็บรวบรวมหอยซัคซิเนียจากแปลงสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร จ.กาญจนบุรี จ.สมุทรสาคร มาเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรโดยเลี้ยงในกล่อง พลาส ติกขนาด 300 ตารางเซนติเมตรให้อาหารเลี้ยงหอยและตรวจดูความชื้นทุกวัน

2.2.2 ไส้เดือนฝอย 5 ชนิดได้มาจากกลุ่มงานวิจัยปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยาที่เตรียมอยู่ในรูปความเข้มข้นในน้ำที่นับจำนวนไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2.3 วิธีการทดลอง

คัดเลือกหอยซัคซิเนียที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 75 ตารางเซนติเมตรจำนวน 5 ตัวต่อกล่องโดยที่พื้นกล่องแต่ละกล่องบุด้วยกระดาษทิชชูที่ฉีดน้ำพอชุ่มชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดจำนวน 20,000 ตัว ต่อกล่องตามแผนการทดลอง CRD 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กลุ่มควบคุมจะพ่นน้ำพอชื้นหลังทดสอบ 24,48 และ72 ชั่วโมงสุ่มเก็บหอยที่มีชีวิตอยู่ซ้ำละ 1 ตัวมาทำให้คงสภาพด้วยฟอร์มาลีน 10% แล้วนำมาตัดเป็นแผ่นเนื้อเยื่อเพื่อทำสไลด์ถาวรตามวิธีการไมโครเทคนิคที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน ตรวจดูเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยในแปลงสวนกล้วยไม้

คัดเลือกไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพสูงจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการคือ *S.glaseri* และ *S.riobrave* และนำ *S.carpocapsae* ซึ่งมีประสิทธิภาพปานกลางแต่มีการผลิตเป็นการค้าแล้วมาทดสอบในสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี

3.1 แผนการทดลอง RCB 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำคือ *S.riobrave* และ *S.carpocapsae* แต่ละชนิดใช้อัตรา 0.5 และ1.0 ล้านตัวต่อตารางเมตร *S.glaseri* อัตรา 0.25และ 0.5 ล้านตัวต่อตารางเมตรและกรรมวิธีควบคุมพ่นน้ำเปล่า

3.2 วิธีการทดลอง คัดเลือกแปลงทดลองด้วยการสุ่มนับประชากรหอยซัคซิเนียที่พื้นดินด้วยตารางสุ่มขนาด 0.5 ตารางเมตร ถ้าพบมีหอยมากกว่า 5 ตัวต่อ 0.5 ตารางเมตร จะกำหนดเป็นแปลงทดลองด้วยการกำหนดแปลงย่อยๆ ละ 10 ตารางเมตร ตามแผนการทดลอง RCB 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำคือ *S.riobrave* และ *S.carpocapsae* อัตรา 0.5 และ 1.0 ล้านตัวต่อตารางเมตร *S.glaseri* อัตรา 0.25 และ 0.5 ล้านตัวต่อตารางเมตร พ่นบนพื้นดินเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่พ่นน้ำหลังทดสอบ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงสุ่มนับจำนวนหอยตายด้วยตารางสุ่มขนาด 0.5 ตารางเมตร

3.3 บันทึกข้อมูล อัตราการตายของหอยที่ 24,48 และ 72 ชั่วโมง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มตุลาคม 2548 - กันยายน 2550

สถานที่ดำเนินการ

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร
- ในแปลงสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. จากการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย 5 ขนิดกับหอยทากซัคซิเนียเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ พ่นด้วยน้ำ พบว่า

ที่ 24 ชั่วโมงอัตราการตายของหอยซัคซิเนียที่พ่นด้วยไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae, S. siamkayai , S.riobrave, S.glaserii* และ *H.bacteriophora* เป็น 20.0±16.32, 0±0,.10.0±20.0, 5.0±5.0 และ 5.0±5.0% ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม 0%.

ที่ 48 ชั่วโมงอัตราการตายของหอยซัคซิเนียที่พ่นด้วยไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae, S.siamkayai , S.riobrave, S.glaseri iและ H.bacteriophora* เป็น 35.0±19.14, 35.0±34.64, 70.0±34.64, 65.0±30.0 และ 40.0±16.32% ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม 5.0± 10.0%.

ที่ 72 ชั่วโมงอัตราการตายของหอยซัคซิเนีย ที่ฉีดด้วยไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae, S.siamkayai, S.riobrave, S.glaseri* และ *H.bacteriophora* เช่น 5.0±19.14,55.0±30.0, 90.0±14.54, 90.0±20.0 และ 60.0±28.28 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 5.0 ±10.0% และพบว่ากลุ่มที่พ่นไส้เดือนฝอย *S.riobravia* และ *S.glasseri* หอยตาย 4.5 และ 4.5 ตัวตามลำดับ แตกต่างทางสถิติ

กับกลุ่ม *S.carpocapsae* และ*S.siomkayai* (2.75 และ 2.75 ตัวตามลำดับ) และทุกกลุ่มที่ฉีดไส้เดือนฝอยแตกต่างจากกลุ่มควบคุม คือ 2.75, 2.75, 4.5, 4.5, 3.0 และ 1.0 ตัว ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

2. จากการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหอยที่ทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยทั้ง 5 ชนิดเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่า

ที่ 24 ชั่วโมงกลุ่มหอยที่ทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยทั้ง 5 ชนิดพบไส้เดือนฝอยอยู่ใน ปอด ทางเดินอาหาร (กระเพาะ อาหาร ลำไส้) และกลุ่มที่ทดสอบ *S.glaseri* ยังพบไส้เดือนฝอยในอวัยวะสืบพันธุ์ (ท่อผลิตอสุจิและท่อนำไข่) ส่วนกลุ่มควบคุมไม่พบไส้เดือนฝอยในทุกๆ อวัยวะของหอย ที่ 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าเซลล์และเนื้อเยื่อหอยของอวัยวะปอด ทางเดินอาหาร สืบพันธุ์และไต ที่ทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยถูกทำลาย ส่งผลให้หอยตายในที่สุด ส่วนกลุ่มควบคุมเซลล์และเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ เป็นปกติ

3. ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยกับหอยซัคซิเนียในสวนกล้วยไม้พบว่าที่ 24 ชั่วโมงอัตราการตายของหอยซัคซิเนียที่พ่นด้วยไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae,* และ *S.riobrave* แต่ละชนิดใช้อัตรา 0.5 และ 1.0 ล้านตัว *S.glaseri* อัตรา 0.25 และ 0.5 ล้านตัว เป็น 9.16±3.84, 3.84±4.43, 3.84 ±4.43, 3.97±4.24, 3.84±7.69 และ 7.69±10.87% ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม 0%.

ที่ 48 ชั่วโมงอัตราการตายของหอยซัคซิเนียที่พ่นด้วยไส้เดือนฝอย, *S.carpocapsae* และ *S.riobrave* แต่ละชนิดใช้อัตรา 0.5 และ 1.0 ล้านตัว *S.glaseri* อัตรา 0.25 และ 0.5 ล้านตัว เป็น 32.30±11.54,38.46±6.28,.15.38±6.27,21.15±9.67,7.69±10.87 และ15.38±10.87% ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม 1.92± 3.84%

ที่ 72 ชั่วโมง อัตราการตายของหอยซัคซิเนียที่พ่นด้วยไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae* และ *S.riobrave* แต่ละชนิดใช้อัตรา 0.5 และ 1.0 ล้านตัว *S.glaseri* อัตรา 0.25 และ 0.5 ล้านตัว เป็น 46.15±8.87, 51.92±7.36,.23.07±4.83, 40.38±11.54, 19.23±14.72 และ 26.92±8.52% ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม 1.92± 3.84 % โดย *S.carpocapsae* และ *S.riobrave* ที่อัตรา 1 ล้านตัว ฆ่าหอยได้สูงแตกต่างทางสถิติกับวิธีการอื่นๆ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (ตารางที่ 2)

จากผลการทดลองพบไส้เดือนฝอยทั้ง 5 ชนิดมีประสิทธิภาพฆ่าหอยซัคซิเนียได้โดย พบว่า *S.riobravia* และ *S.glasseri* สามารถฆ่าหอยได้สูงกว่าไส้เดือนฝอยชนิดอื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ดังตารางที่1 ส่วนประสิทธิภาพในแปลงทดลองสวนกล้วยไม้นั้น ทั้ง *S.carpocapsae, S.riobrave และ S.glaseri* มีแนวโน้มที่จะใช้ควบคุมหอยทากซัคซิเนียได้ (ตารางที่ 2) โดยไส้เดือนฝอยสามารถเข้าไปในลำตัวหอยทางช่องเปิดได้แก่ท่อหายใจ ท่อสืบพันธุ์และอาจถูกหอยกินเข้าไปตามทางเดินอาหาร ซึ่งสนับสนุนด้วยการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของหอยที่พบไส้เดือนฝอยภาย ในท่อหายใจ ในเนื้อเยื่ออวัยวะปอด ท่อผลิตอสุจิและท่อนำไข่ของอวัยวะสืบพันธุ์และยังพบในท่อทางเดินอาหาร ได้แก่ กระเพาะ อาหาร ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่หลังจากหอยถูกทดสอบที่ 24 ชั่วโมงและเมื่อทดสอบที่ 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าเซลล์และเนื้อเยื่อของอวัยวะปอด ทางเดินอาหาร อวัยวะสืบพันธุ์และไตถูกทำลายส่งผลให้หอย

ตายในที่สุด ซึ่ง สอดคล้องกับ Glen *et al*. (1986) ที่รายงานว่าไส้เดือนฝอยอาจจะเข้าสู่ลำตัวหอยทางปากท่อลมหายใจ หรือไชผ่านผนังลำตัวบริเวณ แมนเทิล หรือแผ่นเท้าของหอยโดยตรง ส่วนไส้เดือนฝอยที่เข้าทางปากและท่อหายใจจะชอนไชทะลุผ่านผนังลำไส้ของหอยเข้าสู่ช่องว่างภายในลำตัว เมื่ออยู่ในช่องว่างลำตัว จะปล่อยแบคทีเรียออกมา แล้วแบ่งเซลล์เพิ่มปริมาณในเลือดของหอยอย่างรวดเร็วและเป็นสาเหตุทำให้หอยตาย สอดคล้องกับ วัชรี (2544) ที่พบในแมลงหรืออาจเป็นเพราะไส้เดือนฝอยเมื่อเข้าไปภายในลำตัวแมลงแล้วผลิตสารพิษขึ้นมาส่งผลให้แมลงตาย และ Burman (1982) ที่พบว่าไส้เดือนฝอยสามารถสร้างสารพิษฆ่าแมลงให้ตายได้

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าไส้เดือนฝอยทั้ง 5 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพฆ่าหอยซัคซิเนียได้ โดยพบว่า *S.riobravia, S.glasseri* มีประสิทธิภาพสามารถฆ่าหอยได้สูงถึง 90 % ในห้องปฏิบัติการ ส่วนในแปลงสวนกล้วยไม้พบว่าไส้เดือนฝอย ทั้ง 3 ชนิดคือ *S.carpocapsae, S.riobrave* และ *S.glaseri* มีแนวโน้มที่จะใช้ควบคุมหอยทากซัคซิเนียได้ โดยไส้เดือนฝอยเหล่านี้อาจเข้าไปเจริญพัฒนาอยู่ภายในอวัยวะปอด ทางเดินอาหารและอวัยวะสืบพันธุ์ แล้วทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อของอวัยวะนั้นๆ ส่งผลให้หอยตายในที่สุด ซึ่งจะต้องพัฒนาประยุกต์ใช้ต่อไป ถึงชนิดและอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อการแนะนำในการควบคุมหอยทากได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ได้อัตราความเข้มข้นและวิธีการใช้ไส้เดือนฝอยกำจัดหอยทากซัคซิเนียในสวนกล้วยไม้ ซึ่งจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกรและมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม
2. ภายในสวนกล้วยไม้จะมีความชื้นตลอดเวลาและมีร่มเงาของตาข่ายที่มุมหลังคาเป็นสภาพที่ไส้เดือนฝอยสามารถอาศัยอยู่ได้ เมื่อใช้ไส้เดือนฝอยกำจัดหอยในสวนกล้วย ไม้จึงเป็นการควบคุมที่ยั่งยืน เนื่องจากไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ไม้ภาย ในสวนกล้วยไม้ ดังนั้นต้องทำการศึกษาทดลองเพิ่มเติมหรือทำแปลงสาธิตในรอบ1ปีว่าไส้เดือนฝอยสามารถควบคุมหอยได้หรือไม่จะต้องพ่นไส้เดือนฝอยเพิ่มเติมอีกเมื่อไรจึงจะเป็นการควบคุมที่ยั่งยืน

คำขอบคุณ

คุณสมพงษ์ ทวีสุข เจ้าของแปลงสวนกล้วยไม้ จังหวัดกาญจนบุรีที่เอื้อเฟื้อแปลงทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2543.แมลง-สัตว์ศัตรูกล้วยไม้.กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์,กรุงเทพมหานคร.33 หน้า.

ชมพูนุท จรรยาเพศ.2542.หอยทากศัตรูกล้วยไม้.เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ จ.ราชบุรี สำนักงานเกษตร จ. ราชบุรี 5 หน้า.

ชมพูนุท จรรยาเพศ.2546.หอยทากศัตรูกล้วยไม้.หน้า 51-66 ในเสริมศักดิ์หงส์นาค ชมพูนุท จรรยาเพศ.เอกสารประกอบการฝึกอบรมแมลง-สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัดครั้งที่ 12 เรื่อง สัตว์ศัตรูพืขและการป้องกันกำจัด กลุ่มกีฏและสัตววิทยากรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ปราสาททอง พรหมเกิด,ชมพูนุท จรรยาเพศ,ปิยาณี หนูกาฬ และ ธีระเดช เจริญรักษ์. 2545. ผลของสารสกัดมะคำดีควายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อหอยเชอรี่. การประชุมสัมมนาวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืชครั้งที่ 13 โรงแรมโกลเด้นแซนด์ อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี 185-199.

วัชรี สมสุข. 2544. ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน. รายงานผลการดำเนินงานการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน ครั้งที่ 4 โรงแรม รีเจนท์ชะอำ ชะอำ จ. เพชรบุรี 185-199.

Burman,M.1982 *Neoaplectana carpacapsae* toxin production by axenic insect Parasitic nematodes.J.Ne matol. 28:62-70.

Glen,D.M.,M.J.Wilson,L.Hughes,P.cargeey and A.Hajijar.1996.Exploring and exploiting the potential of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphradita* as a biocontrol snail Pests in Agriculture. Monograph No.66, British crop. Protection council,Farnham.

Rueda,A.1989 a.Biology nutritional ecology and natural enemies of the slug *Sarasinula plebeia* (Fischer,1986). MSC Thesis,University of Florida Gainesville Florida.

Wilson,B.J.1985. The giant African snail in Australia pest or nuisance. Queensland Agricultural journal

ตารางที่ 1 อัตราการตายของหอยซัคซิเนียที่ 72 ชม. หลังทดสอบไส้เดือนฝอย 5 ชนิด คือ *S.carpocapsae, S.siamkayai, S.riobrave, S.glaseri* และ *H.bacteriophora* ที่ความเข้มข้น 20,000 ต่อพื้นที่กล่อง 75 ตารางเซนติเมตร และกลุ่มควบคุมที่พ่นน้ำ

อัตราการตาย		
กรรมวิธี	เฉลี่ย	%
S.carpocapsae	2.75 ±0.95 cb	55 ±19.14
S.siamkayai,	2.75 ±1.50 cb	55 ± 30
S.riobrave	4.50 ± 0.57 a	90 ±11.54
S.glaseri	4.50 ± 1.0 a	90 ± 20
H.bacteriophora	3.0 ±1.41 ab	60 ± 28.88
ควบคุม	0.25 ± 0.5 d	5 ±10

หมายเหตุ ตัวอักษรตามหลังตัวเลขที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติตามวิธี DMRTที่ 95%

ตารางที่ 2 อัตราการตายของหอยซัคซิเนีย ที่ 72 ชั่วโมงหลังทดสอบไส้เดือนฝอย, *S.carpocapsae* และ *S.riobrave* แต่ละชนิดใช้อัตรา 0.5 และ 1.0 ล้านตัวต่อตารางเมตร *S.glaseri* อัตรา 0.25 และ 0.5 ล้านตัวต่อตารางเมตร ในแปลงสวนกล้วยไม้

อัตราการตาย		
กรรมวิธี(ล้านตัว)	เฉลี่ย	%
S.carpocapsae 0.5	6.00±1.15 a	46.15±8.87
S.carpocapsae 1.0	6.75±0.95 a	51.92±7.36
S.riobrave 0.5	3.00±.0.81 b	23.07±4.83
S.riobrave 1.0	5.25±1.50 a	40.38±11.54
S.glaseri 0.25	2.50±1.91 b	19.23±14.72
S.glaseri 0.50	3.50±1.29 b	26.92±8.52
ควบคุม	0.25±0.50 c	1.92±3.84

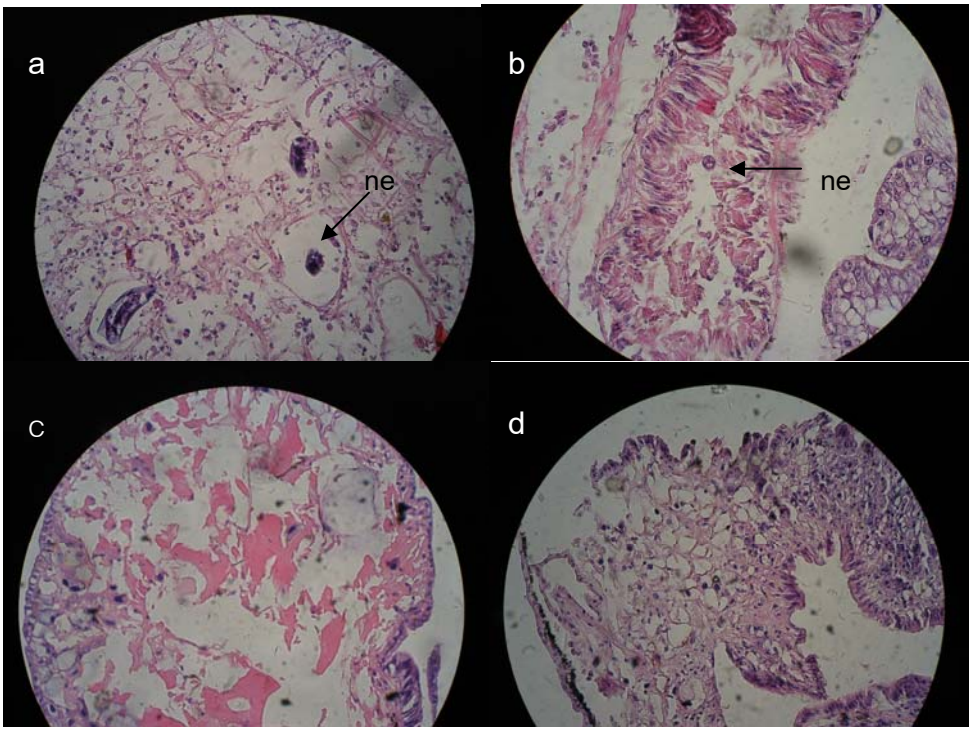
หมายเหตุ ตัวอักษรตามหลังตัวเลขที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติตามวิธี DMRTที่ 95%

ภาพที่1 หอยซัคซิเนียทำลายดอกกล้วยไม้

ภาพที่ 2 เนื้อเยื่อหอยที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน (40x)

a,ไส้เดือนฝอยในเนื้อเยื่อปอด b, ไส้เดือนฝอยในเนื้อเยื่อลำไส้เล็ก

c, เนื้อเยื่อปอดถูกทำลาย d, เนื้อเยื่อปอดปกติ ne. ไส้เดือนฝอย



คัดเลือกสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยและทดสอบประสิทธิภาพควบคุมหอยทากบกและหอยเชอรี่ในห้องปฏิบัติการ

Efficacy Test and Nematodes Selection for the Controlling Land Snail and Golden Apple Snail :In Laboratory

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย 5 สายพันธุ์ คือ*Steinernema capocapsae, S. siamkoyai , S. riobave, S.glaseri* และ *Heterorhabditis bacteriophora* กับหอยเชอรี่และหอยทากบก 5 ชนิด ในห้องปฏิบัติการตามแผนการทดลอง 4 ซ้ำ หลังทดสอบ 72 ชั่วโมง พบว่าหอยเชอรี่ที่ความเข้มข้น 100,000 ตัวต่อบิคเกอร์ หอยตาย 75.0 ± 0.95, 75.0 ± 0.5, 66.0 ± 0.8 , 91.0 ± 0.5 และ 8.33 ± 0.5 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % หอยเลข 1 ที่ความเข้มข้น 20,000 ตัว หอยตาย 45.0 ± 1.89, 15.0 ± 0.95, 95.0 ± 0.5ล 85.0 ± 0.95 และ 5.0 ± 0.5 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % หอยเจดีย์ที่ความเข้มข้น 20,000 ตัว หอยตาย 0 % ทุกกลุ่มหอย หอยดักดานใช้ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง หอยตาย 50.0 ± 0.7, 50.0 ± 0.7 , 100 , 100 และ 0 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % หอยสาริกาและหอยทากยักษ์ใช้ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง หอยสาลิกาตาย 16.7 ± 0.5 , 0,0,83.33 ± 0.7 และ 0% ตามลำดับ หอยทากยักษ์ตาย 0, 50.0 ±2.12, 33.33 ±1.41,83.33 ± 0.7 และ 0 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 %และได้ทำการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหอยแต่ละชนิดหลังทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยโดยทำสไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินซึ่งอยู่ระหว่างตรวจเนื้อเยื่อ

คำนำ

หอยฝาเดียว (gastropods) มีแหล่งที่อยู่อาศัยได้ทั้งในน้ำและบนบกบางชนิดสามารถอาศัยได้บนต้นไม้ตลอดชีวิตของมัน จึงกินอาหารได้หลากหลายทั้งพืชน้ำ พืชผัก ผลไม้ บางชนิดเป็นผู้ล่าสัตว์อื่นเป็น อาหาร บางชนิดกินซากพืชซากสัตว์ บางชนิดเป็นพาหะนำโรคและมีหอยหลายชนิดที่กินพืชอาหารของมนุษย์จึงกลายเป็นศัตรูของมนุษย์ และหอยมีการเคลื่อนที่ได้ไกลจึงทำความเสียหายให้กับ

รหัสโครงการ 07-01-49-06

พืชอาหารอย่างมาก เช่น หอยเชอรี่เป็นหอยน้ำจืดกินพืชผักเศรษฐกิจที่อยู่ในน้ำหลายชนิด เช่น ผักบุ้ง ผักกระเฉด บัว กระจับเป็นต้นโดยเฉพาะข้าวจะกัดกินในระยะกล้าอายุ 10 – 30 วัน(ชมพูนุทและคณะ 2532) เกษตรกร มีวิธีการต่างๆ ป้องกันกำจัดหอยเชอรี่ เช่น วิธีเขตกรรมด้วยการใช้ตาข่ายขวางทางน้ำเข้าออก ใช้ชีววิธีด้วยการปล่อยเป็ดลงไปกินลูกหอย วิธีกลด้วยการเก็บทั้งตัวและไข่หอยออกมาทุบทำลายหรือนำไปเป็นอาหารสัตว์ นำไปทำปุ๋ยหมัก แต่หอยก็ยังระบาดทำลายอยู่ เนื่องจากหอยเชอรี่สามารถเพิ่มประชากรได้อย่างรวดเร็ว สามารถวางไข่มากถึง 3,000 ฟองต่อกลุ่ม และฟักเป็นลูกหอยได้มาก 90 % (ชมพูนุทและคณะ 2534) นอกจากนี้ยังมีหอยทากบกหลายชนิดเป็นศัตรูพืชทั้งพืชผัก ผลไม้ และไม้ดอก ได้แก่ หอยสาริกา หอยดักดาน หอยทากยักษ์ หอยเจดีย์ เป็นต้น โดยจะกัดกินทั้ง ราก ลำต้น ใบ ดอก และผลของพืช โดยเฉพาะต้นกล้าพืชเกือบทุกชนิดจะถูกกัดกินได้รับความเสียหายอย่างมาก (Jahan and Raut , 1994) และยังกัดกินส่วนต่างๆของพืชทำให้เกิดความเสียหายจนชะงักการเจริญเติบโต (Srivastava ,1992) แม้ กระทั่งส่วนลำต้น รากที่เก็บสะสมอาหารอยู่ใต้ดินยังถูกกัดกิน (Barker and Addison ,1992) นอกจากนี้หอยทากบกจะมีเมือกจำนวนมาก เมื่อกัดกินพืชและคลานไปบนส่วนต่างๆ ของพืชจะเป็นพาหะนำโรคพืชระบาดได้ (Watson et. al. ,1989) และอาจนำโรคมาสู่มนุษย์หรือสัตว์อื่นๆ ตลอดจนทำให้เกิดความสกปรกหรือก่อความรำคาญได้ จึงมีการป้องกันกำจัดหอยเหล่านี้หลากหลายวิธีตามความเหมาะสมของหอยแต่ละชนิด แต่ที่นิยมนำมาใช้คือการใช้สารเคมีกำจัด เช่น ใช้เมทัลดีไฮด์ที่มีทั้งชนิดผงและเหยื่อพิษ กำจัด(Port and Port ,1986) การทำความสะอาดแปลงปลูกด้วยการกำจัดวัชพืชที่ขึ้นปกคลุมทำให้แหล่ง อาศัยหมดไปเป็นการช่วยลดประชากรได้ (Stringer et. al. 1974) การเก็บทั้งตัวและไข่หอยออกไปทำลาย จะทำให้ปริมาณหอยลดลง การใช้ชีววิธีก็เป็นวิธีการหนึ่งที่นำมาใช้ควบคุมประชากรหอย เช่น ปล่อยเป็ด ไก่ กินหอยบริเวณบ้านที่อยู่อาศัยหรือโรงเรือนปลูกพืช การใช้ไส้เดือนฝอย *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Schneider) มากำจัดหอยในแปลงปลูกพืชในช่วงเวลาที่เหมาะสม สามารถทดแทนการใช้สารเคมีได้ (Glen et. al.1998) ซึ่งการใช้ชีววิธีมาป้องกันกำจัดเป็นวิธีการที่ค่อยข้างปลอดภัยต่อผู้ใช้และสภาพแวดล้อม เพราะมีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อเหยื่อ ดังนั้นจึงมีการศึกษาคัดเลือกสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพฆ่าหอยเชอรี่และหอยทากบกที่เป็นศัตรูพืชเศรษฐกิจชนิดต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ในสภาพไร่ของเกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง
   - ไส้เดือนฝอย 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Steinernema capocapsae, S. siamkoyai , S. riobave*, *S. glaseri* และ *Heterorhabditis bacteriophora*

- หอยเชอรี่ หอยทากบก 5 ชนิด ได้แก่ หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ หอยทากยักษ์ หอยสาริกา และ

หอยดักดาน

2. เครื่องมือ

- กล่องพลาสติกขนาด 75และ 300 ตารางเซนติเมตร
- บีคเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- กระดาษทิชชู
- กล้องจุลทรรศน์และกล้องสเตอริโอ
- อาหารเลี้ยงหอย
- เครื่องมือทางเนื้อเยื่อวิทยา
- สีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน

วิธีการ

1. สัตว์ทดลอง

1.1 ไส้เดือนฝอยทั้ง 5 สายพันธุ์ได้มาจากกลุ่มงานชีววิธี กลุ่มกีฏและสัตววิทยาที่เตรียมอยู่ในรูปของความเข้มข้นที่นับจำนวนประชากรที่เป็นฝอยแล้ว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.2 หอยชนิดต่างๆ

- หอยเชอรี่เก็บจากแปลงนาเกษตรกรจังหวัดสุพรรณบุรีมาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ในโรงเรือนของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ให้อาหารปลาชนิดเม็ดและพืชน้ำ เช่น จอก แหน สาหร่าย เป็นต้น
- หอยทากบกได้แก่ หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ เก็บรวบรวมจากแปลงสวนกล้วยไม้จังหวัดกาญจนบุรีจังหวัดสมุทรสาครมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด300ตารางเซนติเมตรเพื่อเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

-หอยทากยักษ์ หอยสาริกา หอยดักดาน เก็บรวบรวมจากสวนผลไม้ของเกษตรกรจังหวัดจันทบุรีจังหวัดลพบุรีมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด300ตารางเซนติเมตรเพื่อเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

2. การทดลอง

2.1 หอยเชอรี่คัดเลือกหอยที่โตเต็มวัยและสมบูรณ์มาใส่บีคเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตรที่บรรจุน้ำไว้แล้ว 300 มิลลิลิตร บีคเกอร์และ 3 ตัว เมื่อหอยเปิดฝาเคลื่อนที่ดีแล้วจึงใส่ไส้เดือนฝอยจำนวน 100,000 ตัวต่อบีคเกอร์ตามแผนการทดลอง 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หลังทดสอบ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตรวจดูการตายของหอยแต่ละกรรมวิธี

2.2 หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์คัดเลือกหอยที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 75 ตารางเซนติเมตร จำนวนชนิดละ 5 ตัวต่อกล่อง แต่ละกล่องโดยที่พื้นกล่องบุด้วยกระดาษทิชชูที่ฉีดน้ำพอชุ่ม

ชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดจำนวน 20,000 ตัวต่อกล่อง ตามแผนการทดลอง 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หลังทดสอบ 24 , 48 และ 72 ชั่วโมง ตรวจดูการตายของหอยภายใต้กล้องสเตอริโอ

2.3 หอยทากยักษ์คัดเลือกหอยที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 300 ตารางเซนติเมตร จำนวน 3 ตัวต่อกล่อง โดยพื้นกล่องจะบุด้วยกระดาษทิชชูฉีดน้ำพอชุ่มชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดจำนวน 50,000 ตัวต่อกล่องตามแผนการทดลอง 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หลังทดสอบ 24 , 48 และ 72 ชั่วโมง ตรวจดูการตายของหอยภายใต้กล้อง สเตอริโอ

2.4หอยดักดานและหอยสาริกาปฏิบัติการทดลองเหมือนกับหอยทากยักษ์

3. ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาด้วยการเก็บหอยแต่ละชนิดที่มีชีวิตมาคงสภาพด้วยฟอร์มาลีน 10 %แล้วผ่านขบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยาได้สไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินตรวจดูด้วยกล้องจุทรรศน์

4. บันทึกข้อมูล

- อัตราการตายของหอยแต่ละชนิดที่ 24 , 48 และ72 ชั่วโมง
- การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหอยชนิดต่างๆ

เวลาและสถานที่ ระยะเวลาเริ่มตุลาคม 2548 สิ้นสุดกันยายน 2550

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย 5 สายพันธุ์กับหอยเชอรี่และหอยทากบก 5 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำพบว่า

1.หอยเชอรี่ ที่72ชั่วโมง หลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น100,000 ตัวต่อบีคเกอร์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 75.0 ± 0.95 , 75.0 ± 0.5 , 66.0 ± 0.8 , 91.0 ± 0.5 , 8.33 ± 0.5 และ 0 % ตามลำดับ

2.หอยเลขหนึ่ง ที่72ชั่วโมงหลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 20,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 45.0 ± 1.89 , 15.0 ± 0.95 , 95.0 ± 0.5 , 85.0 ± 0.95 , 5.0 ± 0.5 และ 0% ตามลำดับ

3.หอยเจดีย์ที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 20,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 0 % ทุกกรรมวิธีเท่ากับกลุ่มควบคุม

4.หอยดักดานที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 50.0 ± 0.7 , 50.0 ± 0.7 , 100 , 100 , 0 และ0 % ตามลำดับ

5.หอยสาลิกา ที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 16.7 ± 0.5 , 0 , 0 , 83.33 ± 0.7 , 0 และ0 % ตามลำดับ

6.หอยทากยักษ์ ที่72ชั่วโมงหลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 0 ,50.0 ±2.12 , 33.33 ±1.41 , 83.33 ± 0.7 , 0 และ0 % ตามลำดับ

7. ผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของหอยแต่ละชนิดอยู่ระหว่างการตรวจเนื้อเยื่อซึ่งจะรายงานต่อไป

จากผลการทดลองไส้เดือนฝอยทุกสายพันธุ์สามารถฆ่าหอยเชอรี่ได้ โดยเฉพาะฆ่าหอยได้มากถึง 91% ส่วน ไม่สามารถฆ่าหอยเชอรี่ได้และเมื่อนำมาทดสอบกับหอยทากบกคือ หอยเลขหนึ่ง พบว่ามีประสิทธิภาพฆ่าหอยได้ดี สำหรับหอยเจดีย์นั้นไส้เดือนฝอยไม่สามารถฆ่าได้ หากเป็นเพราะ แบคทีเรียไม่เฉพาะเจาะจงกับหอยเจดีย์ ส่วนหอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์ จะมีประสิทธิภาพ ฆ่าหอยได้ แสดงว่าไส้เดือนฝอยทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถเข้าไปในลำตัวหอยแล้วปล่อยแบคทีเรียเข้าไปในช่องว่างลำตัวหอยได้สอดคล้องกับรายงานของวัชรี(2546) ที่เป็นกลไกการทำลายของแมลงหรืออาจจะเป็นเพราะไส้เดือนฝอยสร้างสารพิษทำให้หอยตายได้ดังรายงานของที่เกิดกับแมลง

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าไส้เดือนฝอยทุกสายพันธุ์สามารถฆ่าหอยเชอรี่ได้ดี โดยเฉพาะ *S .glaseri* ฆ่าหอยได้ถึง 91 % ส่วน *H. bacteriophora* ไม่สามารถฆ่าหอยได้ และไม่มีไส้เดือนฝอยชนิดใดฆ่าหอยเจดีย์ได้ ส่วนหอยเลขหนึ่ง หอยสาริกา หอยดักดานและหอยทากยักษ์ *S. riobave* และ *S. glaseri* สามารถฆ่าหอยได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่นๆ ยังจะพบได้ว่า , *S. riobave* และ *S .glaseri* น่าจะมีแนวโน้มในการนำไปประยุกต์ใช้กำจัดหอยทากบกได้ซึ่งจะต้องศึกษาทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคมและทรงทัพ แก้วตา. 2532. ทดสอบอัตราการกินต้นข้าวของหอยเชอรี่.รายงานผลการด้านค้นคว้าและวิจัยกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพ ฯ หน้า 115 – 125.2534.

ชีววิทยาชองหอยเชอรี่.รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพ ฯ หน้า 94 – 102.

Barker, G.M. and P.J.Addison.1992.Pest status of slug in two Newzealand Pastures. Crop Protection11:439 – 442.

Glen,O.M.,M.J.Wilson,L.Hughes,P.Cargeeg and A.Hajijar.1996.Exploring and exploiting the potential of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphradita* as a biocontrol agent for sluge. PP.271 – 280. In LF. Hendensom (ed.) Slug and Snail Pests in Agriculture.Monograph No.66,British crop Protection Council, Farsham.

Jahan,M.S. and S.K. Raut. 1994.Distribution and food preference of the giant African land snail,*Achatina fulica* Bowdich in Bangladesh. *J*. Asia Soci . Banglad. Sci .20:111 – 115.

Port, G.R.,J.M. Hogan and C.M. Port.1992.Factors affecting the time of slug control in winter wheat. PP.257 –261.In.Proceeding of the ninth International Malacological Congress,1986.Unitas Malacologica, the Netherlands,

Srivastava,P.P. 1992. Problem of land Snail Pests in Agriculture a study of the Giant African Snail Concept Publishing of Company, New Delhi. 234 P.

Stringer,A.,C.H.Lyons and N.C.Morgan. 1974. Report of Long Ashton Research station for 1973,Long Ashton Research Station, Bristol. P.122 – 123.

Watson,R.N.,R.A. Skipp and B.I.P. Barratt. 1989. Initatives in Pest and disease control in New Zealand towards in proving legume production and persistenu. PP.441 – 464. In. G.C.Marten, A.Q.Matches,R.F.Barnes, R.W. Brongham, R.J.Clemeats and G.W. Sheathc (ed.),Persistence of Forage Legumes. American society of Agronomy crop Science Society of America / Soil Science Society of America, Madison Wisconsin.

คัดเลือกสายพันธุ์บาซิลลัสและทดสอบประสิทธิภาพควบคุมหอยเชอรี่และหอยทากบกในห้องปฏิบัติการ

Efficacy Test and Bacillus Selection for Controlling Land Snail and Golden Apple Snail..In Laboratory

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ อัจฉรา ตันติโชดก ดาราพร รินทะรักษ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพของ *Bacillus thuringiensis* 11 สายพันธุ์กับหอยเชอรี่และหอยทากบก 6 สายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการตามแผนการทดลอง CRD 3 ซ้ำ หลังทดสอบ 72 ชั่วโมง พบว่าหอยเชอรี่ที่ทดสอบด้วย Bt No 1-6 เข้มข้น 10^7cell/ บีกเกอร์ หอยทุกกลุ่มตาย 0 % No 7-9 ที่เข้มข้น 1 กรัม/ บีกเกอร์ หอยตาย 16.66 ± 1.41 100 ± 0 และ 100 ± 0 % ตามลำดับ No 10-11 ที่เข้มข้น 1 ml/ บีกเกอร์ หอยตาย 0 และ100 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0% หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ที่ทดสอบด้วย Bt No 1-6 เข้มข้น 0.1 ml/ กล่อง No 7-9 เข้มข้น 0.4 กรัม/ กล่อง No 10-11 เข้มข้น 0.1 ml./กล่อง พบว่าหอยซัคซิเนียตาย 100 % ทุกกลุ่มทดลอง หอยเลขหนึ่งและหอยเจดีย์ที่ทดลอง Bt No 1-6 หอยทั้งสองชนิดไม่ตาย No 7-9 ตาย 100, 100, 100 และ 86.33 ± 1.15 , 100, 86.33 ± 1.15 % ตามลำดับ ที่ทดสอบด้วย Bt No 10-11 ตาย 5 ± 0.5 , 25 ± 1.89 และ0 , 0 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % ส่วนหอยดักดาน สาริกา และหอยทากยักษ์ที่ทดสอบด้วย Bt No1-6 ที่ความเข้มข้น 4 / กล่อง No 7-9 ที่เข้มข้น 0.8 กรัม/ กล่อง No 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 ml./ กล่อง พบว่า No 1-6 หอยทั้ง 3 ชนิด ตาย 0 % No 7-9 หอยดักดานตาย 66.67 ± 0.7 , 100 และ 0 % ตามลำดับ หอยสาริกาตาย 100, 100 และ 11.0 ± 1.41 % ตามลำดับ หอยทากยักษ์ตาย 50 ± 2.12 , 100 และ 22.33 ± 0.7 % ตามลำดับ No 10 -11 หอยทั้ง 3 ชนิด ตายเท่ากัน 100 และ 0 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % และได้ทำการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหอยแต่ละชนิดหลังทดสอบด้วยBt.โดยทำสไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินซึ่งอยู่ระหว่างตรวจเนื้อเยื่อ

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

หอยฝาเดียวมีแหล่งอาศัยได้ทั้งในน้ำและบนบกและบางชนิดอาศัยอยู่บนต้นไม้ หอยที่กินพืชน้ำพืชผัก ผลไม้ ซากพืช ซากสัตว์ เป็นอาหารจึงมีหลายชนิดที่เป็นศัตรูพืชเศรษฐกิจ ทั้งพืชน้ำ ได้แก่ หอยเชอรี่กัดกินข้าว บัว ผักบุ้ง ผักกระเฉดกระจับเป็นต้น โดยเฉพาะข้าว หอยกัดกินข้าวในระยะกล้า อายุ 10-20 วัน (ชมพูนุทและคณะ 2532) กินเก่งสามารถกินได้ถึง 50% ของน้ำหนักตัว (Gurrero, 1989) สามารถเพิ่มประชากรได้รวดเร็ว เนื่องจากเจริญเติบโตวางไข่ครั้งละจำนวนมากอาจมากถึง 3,000 ฟองต่อกลุ่มไข่และฟักเป็นลูกหอยได้มากกว่า 90 % (ชมพูนุทและคณะ 2534) จึงมีการแพร่ระบาดและทำความเสียหายอย่างมากเกษตรกรจึงทำการป้องกันกำจัดด้วยสารเคมี ชมพูนุทและคณะ (2542) ได้ทดสอบและแนะนำสารเคมีกำจัดหอยคือ นิโคลซาไมด์และเมทัลดีไฮด์ สามารถนำมาฆ่าหอยได้ดี นอกจากนี้ยังมีการทดลองใช้สารสกัดจากพืชหลายชนิดมากำจัดหอย เช่น สะเดา หางไหล มะคำดีควาย มะไฟนกคุ่ม เทียนหยด รำโพงเป็นต้น ปราสาททองและคณะ (2545) ได้พบว่าสารสกัดมะคำดีควายสามารถนำมากำจัดหอยเชอรี่และหอยทากบกได้โดยสารซาโปนินในสารสกัดมะคำดีควายมีผลทำให้เซลล์ในอวัยวะต่างๆ ของหอยถูกทำลาย ส่งผลให้หอยเหล่านั้นตายในที่สุด นอกจากนี้ยังมีหอยทากบกหลายชนิดที่เป็นศัตรูพืชทั้งพืชผักไม้ผลและไม้ดอกได้แก่หอยอำพัน หอยเลข หนึ่ง หอยเจดีย์ หอยทากยักษ์เป็นต้นจะกัดกินทั้งรากลำต้นใบ ดอกและผลของพืช โดยเฉพาะต้นกล้าพืชเกือบทุกชนิดจะถูกกัดกินได้รับความเสียหาย อาจต้องทำการปลูกใหม่หลังจากทำการกำจัดหอยแล้ว (Jahan and Raut, 1994) ส่วนไม้ผลจะกัดกินส่วนต่าง ๆของพืช (Srivastave , 1992) เช่น กล้วย จะกัดกินตั้งแต่ระยะผลอ่อนทำให้เกิดแผลและมีผิวสีน้ำตาลบางครั้งอาจเน่าเสียและถูกแบคทีเรียเข้าทำลาย (Dawkins et.al. 1985) เนื่องจากหอยทากบกหากินในเวลากลางคืนหรือหลังฝนตกใหม่ๆ จึงยากที่จะทำการฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดหอย จึงนิยมใช้เหยื่อพิษ ได้แก่ เมทัลดีไฮด์ วางเป็นจุด ๆห่างกัน 2 เมตรตามแหล่งที่หอยอาศัยอยู่ (Davidson et.al.,1993) การทำความสะอาดแปลงด้วยการกำจัดวัชพืชจะทำให้ประชากรหอยลดลงได้ การป้องกันกำจัดด้วยชีววิธี เป็นอีกทางเลือกหนึ่งได้แก่การใช้เป็ด ไก่ กินหอยตามพื้นดินในโรงเรือนปลูกพืช การใช้ใส้เดือนฝอย *Phasmarhabditis hermaphrodita*กำจัดหอยทดแทนสารเคมีได้ (Ester and Geleen, 1996) และยังมีการศึกษาใช้แบคทีเรีย เชื้อรา โปรโตซัว มาควบคุมประชากรหอย (Rueda,1989a) แบคทีเรียที่ใช้ได้แก่ *Aeromonas hydrophilia* กำจัดหอยทากยักษ์(Mead, 1979a) เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้ชอบอยู่ในที่ชื้นซึ่งเป็นบริเวณเดียว กับหอยอาศัยอยู่ และเมื่อฉีดพ่นลงดินหรือตามแหล่งอาศัยของหอยก็จะยังคงอาศัยอยู่บริเวณนั้น เมื่อหอยเดินมากินหรือสัมผัสจุลินทรีย์ก็จะติดโรคและตายในที่สุดจึงเป็นการควบคุมโดยสภาพธรรมชาติและยั่งยืน ดังนั้นจึงทำการศึกษาคัดเลือกแบคทีเรียโดยเฉพาะ Bt. มาควบคุมหอยทากบก ซึ่ง Bt. เหล่านี้จะเฉพาะเจาะจงกับหอยและไม่เป็นอันตรายกับสัตว์อื่น

และ Bt.หลายสายพันธุ์ได้นำมาใช้กำจัดแมลงได้ผลดีจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะคัดเลือกสายพันธุ์ Bt. มาทดสอบประสิทธิภาพหอยเชอรี่กับหอยทากบก ในห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.สัตว์ทดลอง

- Bt. (*Bacillus thuringiensis*) 11สายพันธุ์ ได้แก่ No 1-6 ในรูปความเข้มข้น No 7-9 เป็นผง No 10-11 เป็นของเหลวข้น

-หอยเชอรี่หอยทากบก 6 ชนิด ได้แก่ หอยซัคซิเนียหอยเลขหนึ่ง หอยทากยักษ์ หอยดักดาน หอยสาริกา หอยเจดีย์

2.เครื่องมือ

-กล่องพลาสติกขนาด 75 และ 300 ตารางเซนติเมตร

-กระดาษทีชชู

-กล้องจุลทรรศน์และกล้องสเตอริโอ

- อาหารเลี้ยงหอย

- -เครื่องมือทางเนื้อเยื่อวิทยา

- สีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน

วิธีการ

1.เตรียมจุลินทรีย์

- Bt. ทั้ง 11 สายพันธุ์ได้จากกลุ่มงานวิจัยปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เตรียมอยู่ในรูปความเข้มข้น 1-6,10-11ส่วน 7-9 เป็นรูปผง

2. เตรียมสัตว์ทดลอง

2.1 หอยเชอรี่ เก็บรวบรวมจากแปลงนาของเกษตรกร จ. สุพรรณบุรี มาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ในโรงเรือนของกลุ่มงานสัตว์วิทยาการเกษตรให้อาหารปลาชนิดเม็ดและพืชน้ำ เช่น สาหร่าย จอกแหนเป็นต้น

2.2 หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ เก็บรวบรวมจากแปลงสวนกล้วยไม้ จ. กาญจนบุรี จ. สมุทรสาคร มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 75 ตารางเซนติเมตรเพื่อเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

2.3 หอยทากยักษ์ หอยดักดาน หอยสาลิกา เก็บรวบรวมจากแปลงสวนผลไม้ จ. จันทรบุรี จ. ลพบุรี มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 300 ตารางเซนติเมตร เพื่อเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

3. การทดลอง

3.1 หอยเชอรี่ คัดเลือกหอยที่ตัวเต็มวัยและสมบูรณ์มาใส่บิคเกอร์ขนาด 1,000มล. ที่บรรจุน้ำไว้ 300 มล. บิคเกอร์ละ 3 ตัว เมื่อหอยเปิดฝาคลานดีแล้วใส่ Bt. จำนวน 100,000 เซลล์ต่อบิคเกอร์ตามแผนการทดลอง 6 กรรมวิธี 4ซ้ำ หลังทดสอบ 24,48,และ 72 ชม.ตรวจดูการตายของหอย

3.2หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ คัดเลือกหอยที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 75 ตารางเซนติเมตรจำนวน 5 ตัวต่อกล่องที่พื้นกล่องแต่ละกล่องบุด้วยกระดาษทีชชูที่ฉีดน้ำพอชุ่มชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่ Bt. แต่ละชนิดตามอัตราที่กำหนดตามแผนการทดลอง 11 กรรมวิธี 3 ซ้ำ หลังทดสอบ 24, 48 และ 72 ชม. ตรวจนับการตายของหอย

3.3. หอยทากยักษ์ หอยดักดาน หอยสาริกาคัดเลือกหอยที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 75 ตารางเซนติเมตร จำนวน 3 ตัวต่อกล่อง ที่พื้นกล่องแต่ละกล่องบุด้วยกระดาษทีชชูที่ฉีดน้ำพอชุ่มชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่ Bt. แต่ละชนิดตามอัตราที่กำหนด ตามแผนการทดลอง 11 กรรมวิธี 3 ซ้ำ หลังทดสอบ 24, 48 และ 72 ชม. ตรวจนับการตายของหอย

4. ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาด้วยการเก็บหอยแต่ละชนิดที่มีชีวิตมาคงสภาพด้วยฟอร์มาลีน 10 % แล้วผ่านขบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยาได้สไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินตรวจดูด้วยกล้องจุทรรศน์

5. บันทึกข้อมูล

3.1 อัตราการตายของหอยแต่ละชนิดที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

3.2 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหอยชนิดต่างๆ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่ม ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพ Bt.11 สายพันธุ์กับหอยเชอรี่และหอยทากบก 6 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำพบว่า

หอยเชอรี่ ที่ 72 ชม. หลังทดสอบ Bt. สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^{7} เซลล์ต่อบิคเกอร์ หอยทุกกลุ่มตาย 0 % สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อบิคเกอร์หอยตาย 66.66 ± 1.41,

100และ 100%ตามลำดับ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 1.0 มล. ต่อบิคเกอร์หอยตาย 0 และ100 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยซัคซิเนียที่ 72 ชม. หลังทดสอบ Bt. สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 0.1 มล.ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่อง. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย100 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยเลขหนึ่งที่ 72 ชม. หลังทดสอบ Bt. สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 0.1 มล.ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่องหอยตาย 100,100และ100% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยตาย 5 ± 0.5และ 25 ± 1.89 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยเจดีย์ที่ 72 ชม. หลังทดสอบ Bt. สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 0.1 มล.ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่องหอยตาย 86.33± 1.15, 100และ 86.33 ±1.15% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยตาย0และ 0 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยดักดานที่ 4 วัน หลังทดสอบ Bt. สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 4 มล.ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่องหอยตาย 66.67 ± 1.15, 100และ0% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยตาย100และ 0 %ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยสาริกาที่ 4 วัน หลังทดสอบ Bt. สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 4 มล.ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่องหอยตาย 100, 100และ11.0 ± 1.41% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยตาย100และ 0 %ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยทากยักษ์ที่ 4 วัน หลังทดสอบ Bt. สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 4 มล.ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่องหอยตาย 50± 2.12,100 และ 22.33± 0.7% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยตาย100และ 0 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

ผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาอยู่ระหว่างการตรวจดูเนื้อเยื่อหอยจะรายงานต่อไป

การที่หอยเชอรี่หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ หอยดักดาน หอยสาริกาและหอยทากยักษ์หลังทดสอบด้วย Bt. 11 สายพันธุ์ตามความเข้มข้นที่กำหนดตามแผนการทดลองพบว่า Bt. ทั้ง 11 สายพันธุ์ฆ่าหอยซัคซิเนียได้ 100% อาจเป็นเพราะหอยซัคซิเนียเคลื่อนที่ช้าลำตัวอ่อนนุ่มและไม่มีฝาปิด จึงเข้าไปในลำตัวหอยและเพิ่มปริมาณสร้างสารพิษฆ่าหอยได้สอดคล้องกับรายงาน

ของชมพูนุทและคณะ 2542 และ Bt. สายพันธุ์ 7-9 มีประสิทธิภาพฆ่าหอยได้เกือบทุกชนิด จึงสามารถนำไปศึกษาประยุกต์ใช้ต่อไปได้

สรุปผลการทดลองและเสนอแนะ

จากผลการทดลองพบว่า Bt. สายพันธุ์ 7-9 สามารถฆ่าหอยทั้งหมดที่นำมาทดสอบอย่างมีประสิทธิภาพซึ่งจะต้องศึกษาต่อไปเพื่อนำไปประยุกต์ใช้

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคมและทรงทัพ แก้วตา.2532. ทดสอบอัตราการกินต้นข้าวของหอยเชอรี่. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยากรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 115-125.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคมและทรงทัพ แก้วตา.2534. ชีววิทยาของหอยเชอรี่. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตรจตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 94-102

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคมและทรงทัพ แก้วตา. 2542. หอยเชอรี่. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนา หอยเชอรี่ โรงแรมโซฟิเทลราชาออคิดขอนแก่น 15 หน้า.

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ เรวดี พรหมเกิด.2546. ประสิทธิภาพของสารสกัดปะคำดีควายต่อเซลล์และอัตราการตายของหอยเชอรี่. การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 41 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 393-401.

Dawkins,G.,G.Sislop,m.Luxton and C. Bishop. 1985. Transmission of Liquorice rot of carrotsby slugs. J.mollusc. stu. 51, 1985.

Davidson, R.,G.Sondrson and M.Schache.1993. snail control studies in vines. Australian Dried Fruits news 20(3.12-14.)

Ester, A. and P.M. t. M.Geleen. 1996. Integrated control of slugs in sugar beet growing in a rye cover crop, pp. 445-450. In R.F. Henderson (ed.) slug and snail pests in agriculture. Monograph no. 66.british crop protection council, farnham.

Guerrero, L. 1989. The Biology of golden snail in relation to Philippines. Condition (EN.)Workshop on environment impact of the Golden snail on rice Farming system in the Philippines, Munoz, nuevr Ecij Philippines. 5 p.

Jahan, M. S. and S.K. Raut. 1994. distribution and Food preference of the giant

African land snail, *Achatina fulica* Bowdich in Bangladesh J. Asia. Soci. Banglad. Sci. 20, 111-115.

Mead, A.R. 1979a. Economic malacology with Particular, reference to *Achatina fulica* pp. 150. In V. Fretter and J.Peake. (ed.) Pulmonattes. Vol. 2b. Academic Press, London.

Rueda, A. 1989 a. Biology nutritional ecologyn and natural enemies of the slug *Sarasinula plebeia* Msc. Thesis ,University of florida Gainesville Florida.

Srivastava, P.D. 1992. Problem of Land Snial Pests in Agriculture a Study of the Giant African Snail Concept Publishing Company, New Delhi 234 p.

การใช้ไรตัวห้ำควบคุมเพลี้ยไฟและไรศัตรูพืช

Utilization of Predatory Mites for Controlling Thrips and Mite Pests

มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

การทดลองย่อยที่ 2

ชีวประวัติ เขตการแพร่กระจาย การเพาะเลี้ยง และประสิทธิภาพของ ไรตัวห้ำ, *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando

Life History, Geographic Distribution, Mass Rearing and Effectiveness of Predatory Mite, *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando

ABSTRACT

The life history and capacity for prey consumption of predatory mite, *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando were studied under laboratory conditions of 28±2°C and 80±10%RH using broad mites as prey. The total developmental time of female from egg to adult was 4.58 days. During the 30-day oviposition period, females laid a total of 39.5 eggs on the average. The female progeny in the eggs was 65%. The intrinsic rate of natural increase (r_m) was 0.25 individuals per day. A gravid female consumed *P. latus* up to 37 nymphs per day, when it was supplied with 40 prey nymphs. *A. cinctus* was distributed over the entire areas of Thailand throughout the year. It was found on 34 plant species ranging from perennial plants to weeds. *A. cinctus* was plentifully and frequently found on the lower surface of the leaves infested with broad mites, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). The favorite prey for mass rearing of *A. cinctus* was *P. latus*, while the important alternate food for maintaining its population was pollen of narrow leaf cattail, *Typha angustifolia* L. In addition, the study on its effectiveness for controlling *P. latus* on chili in greenhouse revealed that releasing of 5 – 20 adult female *A. cinctus* per plant could suppress *P. latus* outbreaks successfully.

Keywords: predatory mite, *Amblyseius cinctus*, geographic distribution, mass rearing of predatory mite, biological control

---

รหัสโครงการ 07-01-49-06

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาชีวประวัติและความสามารถในการกินเหยื่อของไรตัวห้ำ *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando โดยใช้ไรขาวพริกเป็นอาหารในห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิ 28±2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 80±10%RH พบว่าไรตัวห้ำเพศเมียเจริญจากไข่เป็นตัวเต็มวัยใช้เวลานานเฉลี่ย 4.58 วัน มีระยะการวางไข่นานประมาณ 30 วัน วางไข่ได้เฉลี่ย 39.5 ฟอง ฟักเป็นลูกเพศเมีย 65 % ของจำนวนไข่ทั้งหมด มีอัตราการขยายพันธุ์สูงสุด (r_m) เท่ากับ 0.25 ตัวต่อวัน ตัวเต็มวัยเพศเมียในระยะวางไข่สามารถกินตัวอ่อนไรขาวพริกได้เฉลี่ย 37 ตัวต่อวัน (เมื่อให้เหยื่อ 40 ตัว) ไรตัวห้ำ *A. cinctus* แพร่กระจายอยู่ทั่วประเทศไทยได้ตลอดทั้งปี พบบนพืช 34 ชนิด ตั้งแต่พืชยืนต้นจนถึงวัชพืช มักพบไรตัวห้ำชนิดนี้ด้านใต้ใบพืชที่ถูกทำลายโดยไรขาวพริก, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) จากการเลี้ยงขยายพบว่าเหยื่อที่ดีที่สุดของไรตัวห้ำ *A. cinctus* คือ ไรขาวพริก แต่สำหรับอาหารที่ทำให้การเลี้ยงขยายทำได้อย่างต่อเนื่อง พบว่าเกสรฐูปฤาษี, *Typha angustifolia* L.เป็นอาหารที่เหมาะสมที่สุด นอกจากนั้นการทดสอบประสิทธิภาพของไรตัวห้ำ *A. cinctus* ในการปล่อยให้ควบคุมประชากรไรขาวพริกบนต้นพริกในเรือนทดลอง พบว่าไรตัวห้ำสามารถควบคุมการระบาดของไรขาวพริกได้ในอัตราการปล่อยตัวเต็มวัยเพศเมีย 5 – 20 ตัวต่อต้น

คำหลัก: ไรตัวห้ำ, *Amblyseius cinctus*, เขตแพร่กระจาย, การเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ, การควบคุมโดยชีววิธี

คำนำ

Amblyseius cinctus Corpuz and Rimando เป็นไรตัวห้ำในวงศ์ Phytoseiidae พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1966 บนหญ้า *Panicum pilipes* Nees ในประเทศฟิลิปปินส์ เขตแพร่กระจายมีเฉพาะในทวีปเอเชีย ได้แก่ ไทย จีน เกาะไหหลำ มาเลเซีย อินโดนีเซีย สิงคโปร์ และฟิลิปปินส์ (Ehara, 2002; Affandi *et al*., 2005) แต่มีรายงานด้านชีววิทยาของไรตัวห้ำชนิดนี้ในเอกสารทั้งในและต่างประเทศน้อยมาก ในประเทศไทยพบไรตัวห้ำชนิดนี้ครั้งแรกเมื่อ พ.ศ. 2520 (Ehara and Bhandhufalck, 1977) โดยพบปะปนอยู่ในกลุ่มไรศัตรูพืชชนิดต่าง ๆ บนพืชอาศัยหลากหลายชนิด (วัฒนาและคณะ, 2544) จากการนำไรตัวห้ำ *A. cinctus* มาทดลองเลี้ยงโดยใช้ไรชนิดต่าง ๆ เป็นอาหาร พบว่าไรตัวห้ำชนิดนี้ชอบกินไรขาวพริก, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) มากกว่าไรชนิดอื่น ๆ ซึ่งพัชรี (http://www.ipst.ac.th/dpst/meeting49s/abstract/O_BIO.) ได้กล่าวไว้ว่ามีความเป็นไปได้ที่จะใช้ไรตัวห้ำ *A. cinctus* ควบคุมไรขาวพริกเช่นกัน

การควบคุมไรศัตรูพืชโดยใช้ไรตัวห้ำได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายจนถึงขั้นพัฒนาผลิตขายเป็นการค้า แต่ส่วนใหญ่เป็นการนำไปใช้ควบคุมไรแมงมุม หรือไรแดง (Leigh *et al*., 1995;

Waite, 2001) เนื่องจากในประเทศไทยมีไรขาวพริกเป็นศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น พริก ถั่วเขียว ฝ้าย ส้มโอ (วัฒนาและคณะ, 2001) โดยเฉพาะในพริกมีการใช้สารฆ่าไรเพื่อป้องกันและกำจัดไรขาวพริก ตั้งแต่เริ่มปลูกไปจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ทำให้มีปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิตมาก การควบคุมไรขาวพริกโดยการใช้ศัตรูธรรมชาติจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะทำให้มีการลดการใช้สาร ฯ ลงได้ แต่เนื่องจากไม่มีข้อมูลพื้นฐานใด ๆ เกี่ยวกับนิเวศวิทยา ชีวประวัติและศักยภาพของไรตัวห้ำ *A. cinctus* ในการควบคุมไรขาวพริกมาก่อน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเขตแพร่กระจายและพืชอาศัย (habitat) ของไรตัวห้ำ *A. cinctus* ในประเทศไทย และลักษณะที่บ่งบอกถึงศักยภาพของไรตัวห้ำชนิดนี้ เช่น ชีวประวัติ อัตราการขยายพันธุ์ ประสิทธิภาพการกิน รวมทั้งการทดสอบปล่อยไรตัวห้ำให้การควบคุมไรขาวพริกในเรือนทดลอง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนานำไรตัวห้ำ *A. cinctus* ไปใช้ในการควบคุมไรขาวพริกในสภาพไร่ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ชีวประวัติและประสิทธิภาพการกินเหยื่อของไรตัวห้ำ *A. cinctus*

1.1 ชีวประวัติไรตัวห้ำ *A. cinctus*

เก็บตัวอย่างไรตัวห้ำ *A. cinctus* บนพริก ที่ อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม นำมาเลี้ยงด้วยไรขาวพริกในห้องปฏิบัติการ (28±2°C; 80±10%RH; 14 D:10L) ใช้พู่กันเบอร์ศูนย์เขี่ยไรตัวห้ำ *A. cinctus* ลงบนใบหม่อนที่มีไรขาวพริกดูดกินอยู่แล้วให้ไรตัวห้ำกินไรขาวพริกเป็นอาหาร วางใบหม่อนบนแผ่นสำลีชุ่มน้ำในถาดพลาสติกขนาด 27x45x3 เซนติเมตร สำรวจทุกวันถ้าไรอาหารหมดให้ใส่เพิ่ม เมื่อไรตัวห้ำมีปริมาณมากเต็มใบจึงขยายพันธุ์ต่อไป โดยตัดใบหม่อนนั้น ๆ ออกเป็น 4-5 ชิ้น นำไปวางทาบลงบนใบหม่อนใบใหม่ที่มีไรขาวพริกอาศัยอยู่อย่างหนาแน่นแล้วใบละ 1-2 ชิ้น วิธีการนี้จะทำให้ได้ไรตัวห้ำขยายจำนวนเป็นปริมาณมากไว้ใช้ตลอดการทดลอง

การศึกษาชีวประวัติ เริ่มดำเนินการทดลองโดยเขี่ยไรตัวห้ำตัวเมียที่อยู่ในระยะวางไข่ 40-50 ตัวลงบนใบหม่อน ทิ้งไว้ให้วางไข่ 3-4 ชั่วโมง นำไข่ที่ได้มาแยกเลี้ยงเดี่ยว ๆ บนใบหม่อนที่ตัดเป็นแผ่นวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร วางบนแผ่นสำลีชุ่มน้ำในกล่องพลาสติกขนาด 10x24x2 เซนติเมตร ที่แบ่งเป็นช่องย่อย 14 ช่อง (กล่องใส่พระเครื่อง) ช่องละ 1 ฟอง (Fig. 1.) จากนั้นเมื่อไข่ฟักจึงให้ไรขาวพริกเป็นอาหาร บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตทุก ๆ 6 ชั่วโมง จากระยะไข่ ตัวอ่อนวัยต่าง ๆ จนเป็นตัวเต็มวัย เขี่ยไรตัวห้ำตัวผู้ที่เลี้ยงไว้ใส่ลงไปบนใบให้ผสมพันธุ์กับไรที่เป็นตัวเต็มวัยตัวเมียทันที บันทึกจำนวนไข่และการตายของตัวเมียที่เกิดขึ้นทุก ๆ 24 ชั่งโมง จนกระทั่งตัวเมียตาย เขี่ยไข่ที่ตัวเมียแต่ละตัวผลิตได้ทั้งหมดแยกออกรวมไว้ บันทึกจำนวนลูกที่ฟัก

ออกเป็นเพศเมีย คำนวณอัตราส่วนทางเพศ (sex ratio) อัตราการขยายพันธุ์สูงสุด (Intrinsic rate of increase, r_m) อัตราการขยายพันธุ์สุทธิในชั่วอายุขัย (Net reproductive rate, R_o) ตามวิธีการของ Kerbs (1972)

Fig. 1 Rearing cells of *Amblyseius cinctus* in a 10x24x2 cm plastic box

1.2 ประสิทธิภาพการกินเหยื่อของไรตัวห้ำ *A. cinctus*

ทดสอบประสิทธิภาพการกินของตัวเต็มวัยเพศเมียไรตัวห้ำ *A. cinctus* โดยให้กินไรขาวพริกระยะตัวอ่อน และตัวเต็มวัย ให้เหยื่อแต่ละระยะใน 2 อัตรา คือ 20 และ 40 ตัวต่อใบ ทำการทดลองโดยเขี่ยไรตัวห้ำตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 3-4 วัน ลงบนใบหม่อนที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตรใบละตัว วางในกล่องเหมือนการทดลองหาชีวประวัติในข้อ 2.1 เขี่ยไรขาวพริกแต่ละระยะให้เป็นอาหารตามจำนวนที่ทดลอง บันทึกจำนวนเหยื่อที่ถูกกินภายใน 24 ชั่วโมง ทำการทดลองครั้งละ 20 ตัวในแต่ละการทดลอง

2. เขตแพร่กระจายและพืชอาศัยของไรตัวห้ำ *A. cinctus*

เก็บตัวอย่างไรตัวห้ำ *A. cinctus* บนพืชชนิดต่าง ๆ ทั้ง 5 ภาคของประเทศไทย ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันตก ภาคกลาง และภาคใต้ ตัดส่วนของพืชที่พบไรหรือที่มีร่องรอยอาการถูกทำลายของไรศัตรูพืชใส่ถุงกระดาษ แล้วใส่ลงในถุงพลาสติกมัดให้แน่น จากนั้นใส่ในถังเก็บความเย็นนำไปทำเป็นสไลด์ให้เร็วที่สุด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรตัวห้ำที่พบบนพืชแต่ละตัววางลงบนแผ่นสไลด์ เมาส์ด้วยน้ำยา Hoyer's ตามวิธีของวัฒนาและคณะ (2544) ส่วนไรตัวห้ำที่ไม่สามารถทำเป็นสไลด์ได้ทันที ให้เขี่ยดองในขวดด้วย ethyl alcohol 70 % นำไปทำเป็นสไลด์ภายหลัง เมื่อสไลด์แห้งดีแล้ว จึงทำการวินิจฉัยชนิดไรตัวห้ำที่เก็บได้ใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกสถานที่และชนิดของพืชอาศัยที่พบ *A. cinctus* รวมทั้งชนิดไรศัตรูพืชที่พบบนพืชอาศัยนั้น ๆ ด้วย

นอกจากนั้นทำการบันทึกเขตแพร่กระจายและชนิดของพืชอาศัยจากตัวอย่างสไลด์ไรตัวห้ำ

A. cinctus ที่มีอยู่ในพิพิธภัณฑ์ไร กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม แต่เนื่องจากไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่าไรศัตรูพืชที่พบบนพืชอาศัยนั้น ๆ ชนิดใดเป็นอาหารของไรตัวห้ำ *A. cinctus* ดังนั้นในรายงานนี้จึงบันทึกชนิดของไรศัตรูพืชที่เป็นศัตรูของพืชอาศัยไว้ทั้งหมด รวมทั้งความรุนแรงของการทำลาย

3. การเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ *A. cinctus*

ทำการเปรียบเทียบอาหารที่เมื่อใช้เพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ *A. cinctus* แล้วสามารถเพิ่มประชากรได้มากและสะดวกที่สุด โดยทดลองเลี้ยงด้วยอาหาร 3 ชนิด ได้แก่ ไรขาวพริก เกสรฐูปฤาษี และเกสรตีนตุ๊กแก เริ่มต้นจากการใส่ไรเพศเมียที่มีอายุเท่ากัน 10 ตัว บนแผ่นพลาสติกฟิวเจอร์บอร์ดขนาด 12x15 ซม ใส่ในถาดหล่อน้ำป้องกันไรตัวห้ำหนีออกจากทีภาชนะเลี้ยง ให้อาหารแต่ละชนิดอย่างท่วมท้นทุกวัน ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ จึงนำมานับจำนวนไรตัวห้ำทั้งหมดใต้กล้องจุลทรรศน์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เมื่อได้ชนิดอาหารที่เหมาะสมแล้วทดสอบการเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องจากไรเพศเมีย 10 ตัว นาน 3 สัปดาห์ ทำการนับจำนวนไรตัวห้ำที่เพิ่มขึ้นหลังเริ่มเพาะเลี้ยงนาน 1, 2 และ 3 สัปดาห์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4. การใช้ไรตัวห้ำ *A. cinctus* ควบคุมประชากรไรขาวพริกบนต้นพริกในเรือนทดลอง

ย้ายกล้าพริกพันธุ์เขียวหนุ่มลงในถุงเพาะชำขนาด 12x20 เซนติเมตร จำนวน 60 ต้นในเรือนทดลองหลังคาพลาสติกด้านข้างเป็นตาข่ายตาถี่ ปล่อยไรขาวพริกลงบนต้นพริกเมื่อพริกอายุประมาณ 8-10 สัปดาห์ โดยนำไรขาวพริกที่เพาะเลี้ยงไว้บนใบหม่อนในห้องปฏิบัติการวางทาบลงบนยอดพริก ทิ้งให้ไรขาวพริกแพร่ขยายพันธุ์ประมาณ 1-2 สัปดาห์ จนยอดอ่อนพริกแสดงอาการถูกทำลาย จึงปล่อยไรตัวห้ำ *A. cinctus* ลงบนต้นพริก จำนวน 5 อัตรา คือ 0, 2, 5, 10 และ 20 ตัวต่อต้น อัตราละ 12 ต้น ปล่อยซ้ำอีกครั้งห่างกัน 1 สัปดาห์ บันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนประชากรไรขาวพริกใต้กล้องจุลทรรศน์ ก่อนปล่อยและหลังปล่อยไรตัวห้ำ 1 และ 2 สัปดาห์จากใบอ่อนพริก 2-3 ใบต่อต้น ทำการปล่อยไรตัวห้ำควบคุมประชากรไรขาวพริก 4 การทดลอง ตามความรุนแรงของการระบาดไรขาวพริก 4 ระดับ คือ น้อย (5-10 ตัวต่อใบ) ปานกลาง (20-50 ตัวต่อใบ) รุนแรง (50-100 ตัวต่อใบ) และรุนแรงมาก (> 100 ตัวต่อใบ)

ระยะเวลา ตุลาคม 2548 – กรกฎาคม 2550

สถานที่ดำเนินการ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. จังหวัด ในภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ตะวันตก ภาคกลาง และใต้

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ชีวประวัติและประสิทธิภาพการกินเหยื่อของไรตัวห้ำ *A. cinctus*

1.1 ชีวประวัติไรตัวห้ำ *A. cinctus*

ตัวเต็มวัยไรตัวห้ำ *A. cinctus* เพศเมียมีขนาดลำตัวยาวเฉลี่ย 0.53 มม. สีขาวนวล เหลือง หรือแดงขึ้นอยู่กับอาหารที่ไรตัวห้ำกิน (Fig. 2) ไข่มีรูปร่างยาวรีสีขาวใส และเปลี่ยนเป็นสีขาวนวลเมื่อใกล้ฟัก มีระยะการเจริญเติบโต 5 ระยะเหมือนไรตัวห้ำในวงศ์ Phytoseiidae อื่น ๆ คือ ระยะไข่ ตัวอ่อนวัย 1 (larva) ตัวอ่อนวัย 2 (protonymph) ตัวอ่อนวัย 3 (deutonymph) และตัวเต็มวัย ไรตัวห้ำเพศเมียใช้เวลาในการเจริญเติบโตจากไข่จนเป็นตัวเต็มวัยเฉลี่ยนาน 4.58 วัน ใกล้เคียงกับไรตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพอื่น ๆ เช่น *A. longispinosus* (Thongtub et al., 2001; Ho et al., 1995) *N. womersleyi* (Kishimoto and Takafuji, 1997) ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุยืนยาวเฉลี่ย 30.08 วัน การเจริญเติบโตในระยะต่าง ๆ แสดงไว้ใน Table 1

Fig. 2 Adult female of *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando

Table 1 Developmental time of the immature stages and longevity (in days) of adult females of *Amblyseius cinctus* feeding on broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* under laboratory condition of 28±2°C, 80±10% RH and 14 D:10L

Stage	$\bar{x}$ ± S.D.
	Female[a]
Egg	1.51 ± 0.58
Larva	1.03 ± 0.03
Protonymph	1.08 ± 0.40
Deutonymph	0.98 ± 0.40
Total (egg ⟶ adult)	4.58 ± 0.53
Adult longevity	30.08 ± 6.50

[a] Average of 30 replicates.

ตัวเต็มวัยเพศเมียมีระยะก่อนวางไข่ ระยะวางไข่ และหลังวางไข่เฉลี่ยนาน 2.08, 28.08 และ 0.85 วัน ตามลำดับ วางไข่ได้ทั้งหมดประมาณ 39 ฟอง เฉลี่ยวันละ 1.3 ฟอง (Table 2) อัตราการวางไข่เกิดขึ้นสูงสุดหลังจากเป็นตัวเต็มวัย 8 วัน (2.8 ฟอง/วัน) จากนั้นลดลงและเพิ่มขึ้นสลับไปมา จนสิ้นสุดการวางไข่เมื่อมีอายุ 42 วัน การตายของเพศเมียเริ่มพบเมื่อมีอายุ 20 วัน จากนั้นค่อย ๆ ตายเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และตายมากขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่ออายุ 32 วัน (Fig. 3) ไข่ที่วางได้ทั้งหมดในตัวเมียแต่ละตัวมีสัดส่วนของลูกที่ฟักเป็นเพศเมียเท่ากับ 0.65 (Table 2) หรือเท่ากับ 65% ของลูกทั้งหมด เมื่อคำนวณตามวิธีการของ Kerbs (1972) พบว่าไรตัวห้ำ *A. cinctus* มีอัตราการขยายพันธุ์สูงสุด (r_m) เท่ากับ 0.25 มีอัตราการขยายพันธุ์สุทธิในชั่วอายุขัย (R_o) ได้ 36.25 ตัว หรือผลิตลูกได้สุทธิ (λ) 1.29 ตัวต่อวัน (Table 3) ซึ่ง ค่า r_mของไรตัวห้ำ *A. cinctus* มีค่าใกล้เคียงกับไรตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพชนิดอื่น ๆ เช่น *A. ovalis*; 0.25 (Shih et al., 1993) *N. californicus*; 0.27 (Gotoh et al., 2004) แต่ต่ำกว่า *A. longispinosus*; 0.4 (Ibrahim and Palacio, 1994)

Table 2 The duration of various adult female stages (in days), oviposition rate and proportion of female progeny in *Amblyseius cinctus* under laboratory condition of 28±2°C and 80±10% RH

Period	$\bar{x}$ ± S.D. [a]
Pre-oviposition	2.08 ± 0.92
Oviposition	28.08 ± 6.54
Post-oviposition	0.85 ± 0.77
Total number of eggs laid/female (oviposition	39.54 ± 10.80
Average number of eggs laid/female/day during period of oviposition	1.30 ± 0.17
Proportion of females (♀ / ♀+♂)	0.65 ± 0.03

[a] Average of 30 replicates

Table 3 Demographic parameters of female *Amblyseius cinctus* at 28±2°C and 80±10%

Parameter	Value
Intrinsic rate of increase, r_m per day	0.25
Net reproductive rate, R_o per generation	36.25
Finite rate of increase, λ per day	1.29
Generation time, *G* (days)	19.89

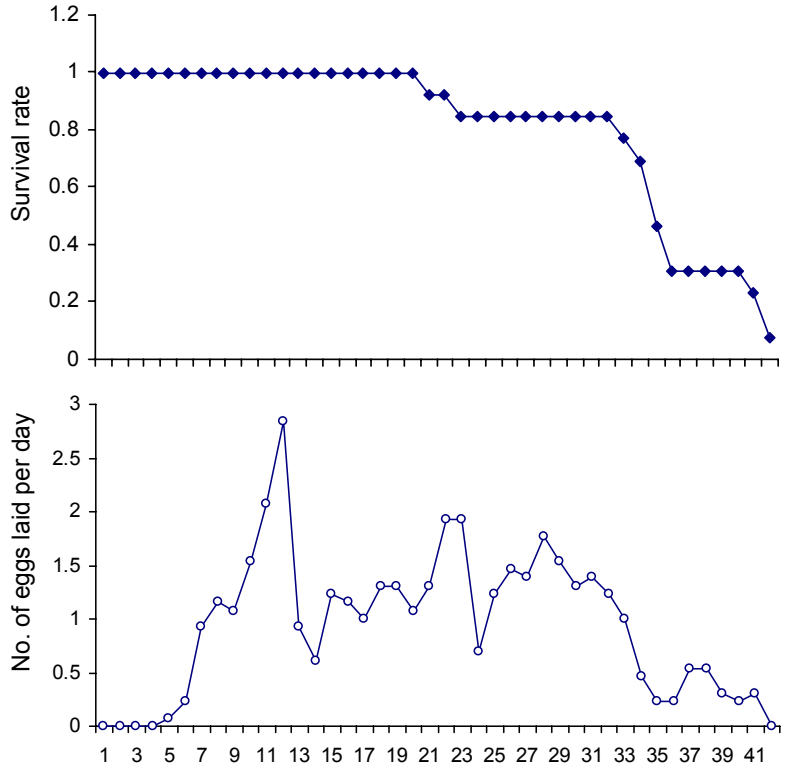


Fig. 3 Age-specific survival and oviposition rate of *Amblyseius cinctus* under laboratory condition of 28±2°C and 80±10% RH. Survival rate (upper graph) indicates the ratio of individuals which were surviving at each age. Oviposition rate (lower graph) indicates the mean number of eggs laid per surviving female

1.2 ประสิทธิภาพการกินเหยื่อของไรตัวห้ำ *A. cinctus*

เมื่อให้อาหาร 20 ตัวต่อใบกิน พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมียของไรตัวห้ำ *A. cinctus* สามารถกินไรขาวพริกระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยได้ 19.6±0.7 และ 19.4±0.8 ตัวต่อวัน ตามลำดับ แต่เมื่อให้อาหารมากเพิ่มเป็น 2 เท่า พบว่ากินไรขาวพริกได้มากเพิ่มขึ้นเกือบ 2 เท่าเช่นกัน คือ 37.2±1.3 และ 30.8±2.8 ตัวต่อวัน ตามลำดับ (Fig. 4) ซึ่งนับว่าไรตัวห้ำ *A. cinctus* สามารถกินเหยื่อได้มากเมื่อเปรียบเทียบไรตัวห้ำชนิดอื่น เช่น *A. longispinosus* ที่สามารถกินตัวอ่อนไรสองจุดได้สูงสุดวันละ 12-13 ตัว (มานิตาและวัฒนา, 2544)

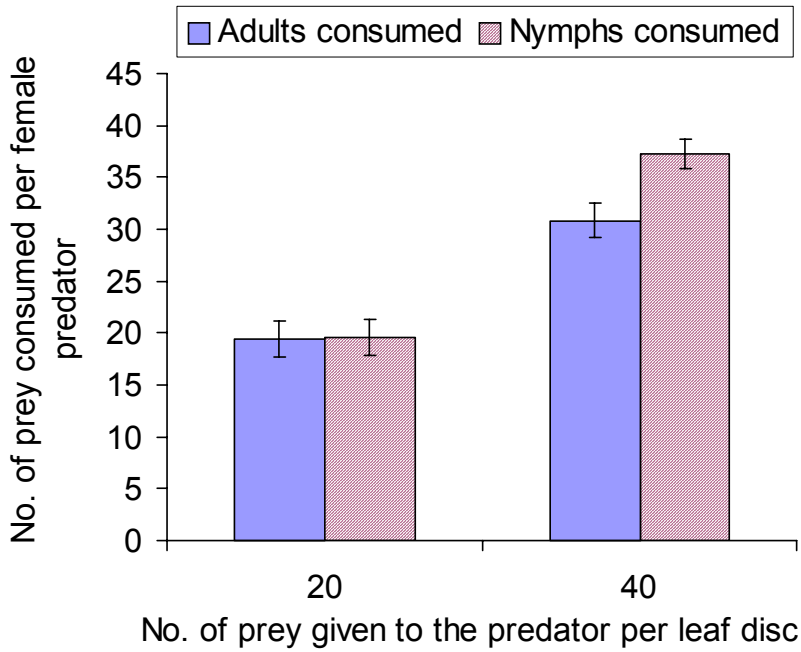


Fig. 4 Prey consumption capacity of an adult female of predatory mite, *Amblyseius cincus* feeding on adults and nymphs of broad mite, *Polyphygotarsonemus latus*. Twenty and 40 individuals of each stage of prey were provided to the predator on 1.7 cm

2. เขตแพร่กระจายและพืชอาศัยของไรตัวห้ำ *A. cinctus*

2.1 เขตแพร่กระจาย

ไรตัวห้ำ *A. cinctus* มีเขตแพร่กระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย (Fig. 5) ตั้งแต่จังหวัด เชียงราย ถึง จังหวัดสงขลา ค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศของประเทศไทยตลอดปีมีประมาณ 23-29° C และ 64-82 %R.H. ซึ่งไม่แตกต่างกันมากนักในแต่ละฤดูกาลของภาคต่าง ๆ แต่ปริมาณน้ำฝนค่อนข้างแตกต่างกันมากในฤดูแล้งและฤดูฝน คือมีค่าเฉลี่ยตลอดปีประมาณ 71-1300 mm. (กรมอุตุนิยมวิทยา, http://WWW.tmd.go.th/index.php) อย่างไรก็ตามจากการสำรวจพบไรตัวห้ำ *A. cinctus* ในทุกฤดูกาลตั้งแต่เดือนมกราคมถึงธันวาคม (Table 4) จึงแสดงให้เห็นว่าไรตัวห้ำ *A. cinctus* มีศักยภาพที่สามารถปรับตัวให้อยู่รอดในทุก ๆ สภาวะภูมิอากาศของประเทศไทยได้ทุกภาคตลอดทั้งปี

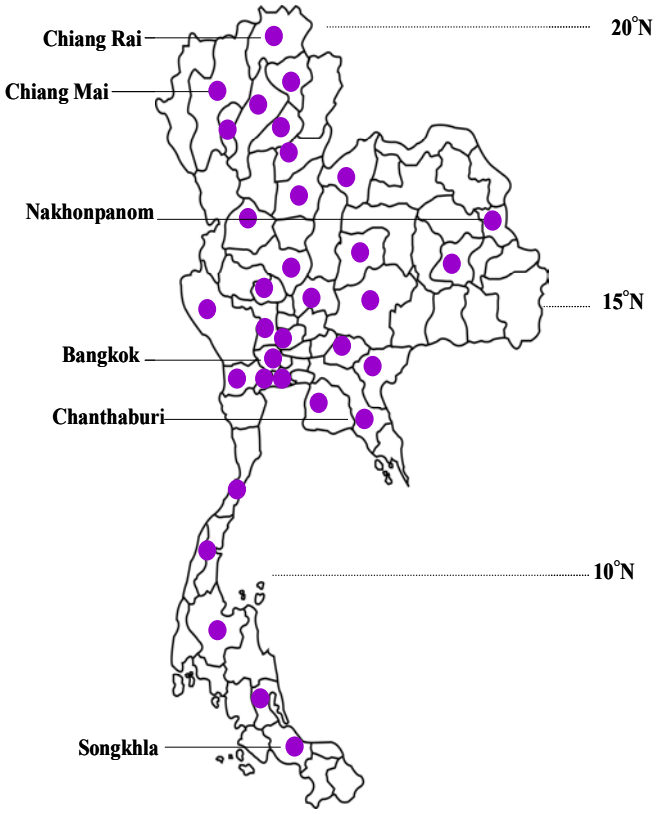


Fig. 5 Distribution of *Amblyseius cinctus* in Thailand (collection records based on the survey from 1987-2007)

Table 4 Distribution of *Amblyseius cinctus*, listing the host plants where the predator was found,

Host plants	Place collected	Time collected	Mite species found on
Fruit crops and trees			
Apple (*Malus domestica)*	Chiang Rai	Feb.	*Tetranychus kanzawai**
Cherry (*Prunus lauro*)	Chiang Mai	Feb.	*T. kanzawai**
Durian (*Durio zibethinus*)	Chanthaburi Chumphon Nakhon Sri Prachinburi Rayong	Jan. - Dec.	*Eutetranychus*
Longan (*Dimocarpus longan*)	Lumpoon Suphanburi Nan	Jan., Nov.	*Aceria longana****
Mango (*Mangifera indica*)	Kanchanaburi Sakhon Nakhon	Sept., Oct.	*Oligonychus* *Polyphagotarsonymus* *O. biharensis**
Mangosteen (*Garcinia mangostana)*	Chanthaburi	Feb.	*P. latus***
Passion fruit (*Passiflora edulis*)	Petchaboon	Jan., Apr., Nov.	*T. fijiensis****

	Chumphon		*Brevipalpus phoenicis****
	Nan		*E. africanus**
	Sa Kaeo		
Pummelo (*Citrus maxima*)	Chainat	Jan. - Dec.	*E. africanus****
	Chaiyaphum		*Eotetranychus*
	Chumphon		*P. latus****
	Loei		*Phyllocoptruta oleivora****
	Nakhon Pathom		*T. fijiensis**
	Nakhon Sri		*T. taiwanicus**
	Patthalung		
	Pichit		
	Prachinburi		
	Prae		
	Rayong		
	Surat Thani		
Tangerine (*Citrus reticulata*)	Chanthaburi	Jan., Apr., Jul.,	*E. africanus****
	Kanchanaburi	Sept., Oct., Nov.	*Eo. cendanai****
	Nakhonpanom		*P. oleivora****
	Nan		*T. taiwanicus**
	Pathumthani		*B. phoenicis**
	Prae		*P. latus**
Field crops			
Cassava (*Manihot esculenta*)	Bangkok	Oct.	*T. truncatus****
			*E. africanus**
Cotton (*Gossypium* spp.)	Sa Kaeo	Aug., Sept., Oct.,	*T. kanzawai****
	Lopburi	Nov., Dec.	*P. latus***
	Sukhothai		*E. africanus**
	Nakhon Sawan		
Mulberry (*Morus alba*)	Khonkaen	Sept., Dec.	*T. truncatus****
	Bangkok		*P. latus****
			*Eo. Thailandicus***
			*Eo. celtis**
			*O. biharensis**
Vegetables and herbs			
Cha-om (*Acacia pennata*)	Chanthaburi	Sept., Dec.	*Abacarus pennatus***
Chili (*Capsicum* sp.)	Nakhon	Apr., Aug., Dec.	*P. latus****
	Nakhon Pathom		
	Kanchanaburi		
Long pepper (*Piper retrofractum*)	Bangkok	Dec.	*P. latus****
			Tetranychus sp.*
Long bean (*Vigna sesquipedalis*)	Surat Thani	Apr.	*T. macfarlanei***
	Songkhla		
Tree Basil (*Oceimum gratissimum*)	Sa Kaeo	Mar.	*P. latus****
Okra (*Abelmoschus esculentus*)	Kanchanaburi	Sept.	*T. macfarlanei***
			*T. truncatus**
Phak chee farang (*Eryngium foetidum*)	Nakhon Pathom	Aug.	*T. tumidellus***
Para cress (*Spilanthes panniculata*)	Chanthaburi	Jul	*O. biharensis**
			*T. kanzawai**
Phak wan ban (*Sauropus abicans*)	Chanthaburi	Apr.	*Eo. celtis**

			*B. californicus**
			Eriophyidae*
Wax gourd (*Benincasa hispida*)	Kanchanaburi	Nov., Dec.	*T. truncatus**
	Bangkok		*T. macfarlanei**
<u>Flower and ornamental plants</u>			
Bamboo (*Bambusa* spp.)	Prachinburi	Aug., Nov., Dec.	*Aponychus corpuzae****
	Kanchanaburi		*T. bambusae***
	Chiang Mai		
	Lumpang		
Gerbera (*Gerbera jamesonii*)	Kanchanaburi	Sept.	*P. latus***
Orchid (*Cattleya dowiana*)	Samut Sakhon	Jun.	*Tenuipalpus californicus***
Rose (*Rosa* spp.)	Kanchanaburi	Sept.	*T. urticae****
	Nakhon Pathom		*T. kanzawai****
			*O. mangiferus***
<u>Weeds</u>			
Broadleaf buttonweed (*Borreria latifolia*)	Rayong	Jul., Aug.	*T. kanzawai**
Crowfoot grass (*Dactyloctenium aegyptium*)	Rayong	Sept., Nov.	_
Finger grass (*Digitaria ciliaris*)	Rayong	Sept.	_
Garden spurge (*Euphobia hirta*)	Rayong	Jun., Oct	_
Goats weed (*Ageratum conyzoides*)	Chanthaburi	Aug., Oct., Nov.,	*O. biharensis**
	Rayong	Dec.	laelapidae
Wide globe everlasting weed (*Gomphrena*	Rayong	Sept.	_
Kha yoom teen ma (*Ipomoea pes-tigridis*)	Rayong	Mar., Jul., Oct. ,	_
Early watergrass (*Echinochloa colona)*	Rayong	Jun	_

*** Widespread pest species causing serious damage every year

** Less widespread spicies but causing serious damage

* Important only locally

2.2 พืชอาศัย

พบไรตัวห้ำ *A. cinctus* บนพืช 34 ชนิด ได้แก่ ไม้ผล 9 ชนิด พืชไร่ 3 ชนิด พืชผักและสมุนไพร 10 ชนิด ไม้ดอกไม้ประดับ 4 ชนิด และวัชพืช 8 ชนิด (Table 4) ไรตัวห้ำชนิดนี้สามารถอาศัยได้บนพืชยืนต้นสูงใหญ่ เช่น ทุเรียน ลำไย ส้มโอ หรือพืชที่มีขนาดพุ่มเล็ก เช่น ฝ้าย พริก ตลอดจนวัชพืชตระกูลหญ้า และวัชพืชคลุมดิน และที่น่าสังเกตคือ บนวัชพืชนั้น ๆ ไม่มีไรศัตรูพืชอาศัยอยู่ ในต่างประเทศพบไรตัวห้ำ *A. cinctus* บนวัชพืชเช่นกันในสวนส้มเขียวหวานบนเกาะสุมาตรา ประเทศอินโดนีเซีย (Affandi *et al*., 2005) ซึ่งแตกต่างจากไรตัวห้ำชนิดอื่น เช่น *Neoseiulus* (=*Amblyseius*) *longispinosus* ที่ไม่เคยพบบนวัชพืช (Konchuensin, *et al*., 2005) วัชพืชที่พบไรตัวห้ำ *A. cinctus* บ่อยครั้ง โดยที่ไม่เคยพบไรศัตรูพืชบนวัชพืชนั้น ๆ ได้แก่ ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pes-tigridis*) ซึ่งเป็นวัชพืชขึ้นคลุมดินในสวนทุเรียน ไรตัวห้ำมักอาศัยอยู่เป็นกลุ่มใต้ใบในซอกขน แสดงให้เห็นว่าไรตัวห้ำ *A. cinctus* เป็นไรตัวห้ำที่ไม่เจาะจงไรอาหาร (generalists) อาจกินอาหารอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ไรศัตรูพืชได้ เช่น ไรที่กินซากพืชและสัตว์ที่อาศัยอยู่ในดิน (detritivorous mites) หรือ เกสรพืช โดยใช้เป็นอาหารสลับ จึงทำให้สามารถอาศัยอยู่อย่างถาวร

(establish) บนวัชพืชได้ และเป็นไปได้ว่าไรตัวห้ำใช้ขนของใบเป็นที่หลบซ่อนตัวและไข่ด้วย วัชพืชอื่น ๆ ที่เป็นพืชอาศัย ส่วนใหญ่ใบมักมีขน เช่น บานไม่รู้โรยป่า(*Gomphrena celosioides*) สาบแร้งสาบกา *(Ageratum conyzoides*) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium*) (Table 4)

เมื่อพิจารณาถึงไรศัตรูพืชที่เป็นเหยื่อของไรตัวห้ำ *A. cinctus* พบว่าไรตัวห้ำชอบอาศัยอยู่ใต้ใบของพืชอาศัยที่มีกลุ่ม (colony) ของไรศัตรูพืชที่มีขนาดเล็กมาก ๆ เช่น ไรในวงศ์ Eriophyidae และ Tarsonemidae โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของไรขาวพริก และเมื่อนำมาทดสอบเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ พบว่าไรตัวห้ำนี้ชอบกินไรขาวพริกเป็นอาหาร อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าไรตัวห้ำนี้จะพบมากบนใบทุเรียนที่มีกลุ่มของไรแดงแอฟริกัน, *Eutetranychus africanus* (Tucker) อาศัยอยู่ แต่เมื่อนำมาทดสอบให้กินเป็นอาหาร พบว่าไรตัวห้ำ *A. cinctus* ไม่ชอบกินไรแดงแอฟริกัน

3. การเพาะเลี้ยงไรตัวห้ำ *A. cinctus*

เนื่องจากไรตัวห้ำ *A. cinctus* เป็นไรที่กินเกสรดอกไม้ จากการทดลองพบว่า การเลี้ยงไรตัวห้ำเพศเมีย 10 ตัว ด้วยไรขาวพริก เกสรฐูปฤาษี และเกสรตีนตุ๊กแก สามารถเพิ่มปริมาณประชากรได้เป็นจำนวน 67.6 ± 24.8, 43.6 ± 6.46 และ 44.0 ± 7.07 ตัว ใน 1 สัปดาห์ ตามลำดับ ดังนั้นไรขาวพริกจึงเป็นเหยื่อที่ไรตัวห้ำเพิ่มประชากรได้มากที่สุด นอกจากนี้ยังชี้ให้เห็นว่าไรตัวห้ำกินเกสรของวัชพืชทั้ง 2 ชนิดได้เช่นกัน เนื่องจากการเลี้ยงไรขาวพริกให้ได้ปริมาณมากนั้นเป็นไปได้ยากมาก ดังนั้นเกสรฐูปฤาษี (Narrow leaf cattail), *Typha angustifolia* L. ซึ่งเป็นวัชพืชที่หาง่ายและมีเกสรเป็นจำนวนมาก จึงเป็นอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยงขยายไรตัวห้ำชนิดนี้อย่างต่อเนื่อง จากการเลี้ยงไรตัวห้ำเพศเมีย 10 ตัว เมื่อกินเกสรฐูปฤาษีสามารถเพิ่มจำนวนได้ 43.6 ± 6.46, 102.0 ± 9.0 และ 164.4 ± 8.68 ตัว ในเวลา 1, 2 และ 3 สัปดาห์ ตามลำดับ วิธีการเลี้ยงและภาชนะที่เหมาะสม คือ เลี้ยงไรตัวห้ำบนแผ่นพลาสติกฟิวเจอร์บอร์ดขนาด 12X15 ซม. โรยเกสรฐูปฤาษีเป็นอาหาร ใช้แผ่นพลาสติกใสปิดทับด้านบนเพื่อใช้เป็นที่หลบวางไข่ วางแผ่นพลาสติกลงบนสำลีซึ่งวางในถาดหล่อน้ำให้ท่วมสำลีอยู่เสมอเพื่อกันไรหนีออกจากภาชนะ เติมเกสรสดให้เป็นอาหารเมื่อเกสรเก่าเริ่มแห้ง (Fig.6)

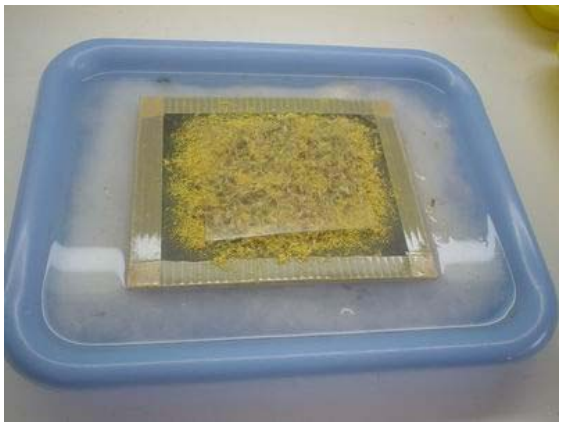


Fig. 6 Mass rearing tray of predatory mite, *A. cinctus*

4. การใช้ไรตัวห้ำ *A. cinctus* ควบคุมประชากรไรขาวพริกบนต้นพริกในเรือนทดลอง

ผลการทดลองปล่อยไรตัวห้ำ *A. cinctus* จำนวน 2, 5, 10 และ 20 ตัวต่อต้น ให้ควบคุมประชากรไรขาวพริกบนต้นพริกใน 4 ระดับความรุนแรงของการระบาดแสดงไว้ใน Fig. 7 พบว่าไรตัวห้ำสามารถควบคุมไรขาวพริกให้ลดลงได้ในทันทีหลังปล่อย 1 สัปดาห์ และควบคุมจนไม่พบไรขาวพริกบนใบได้ใน 2 สัปดาห์

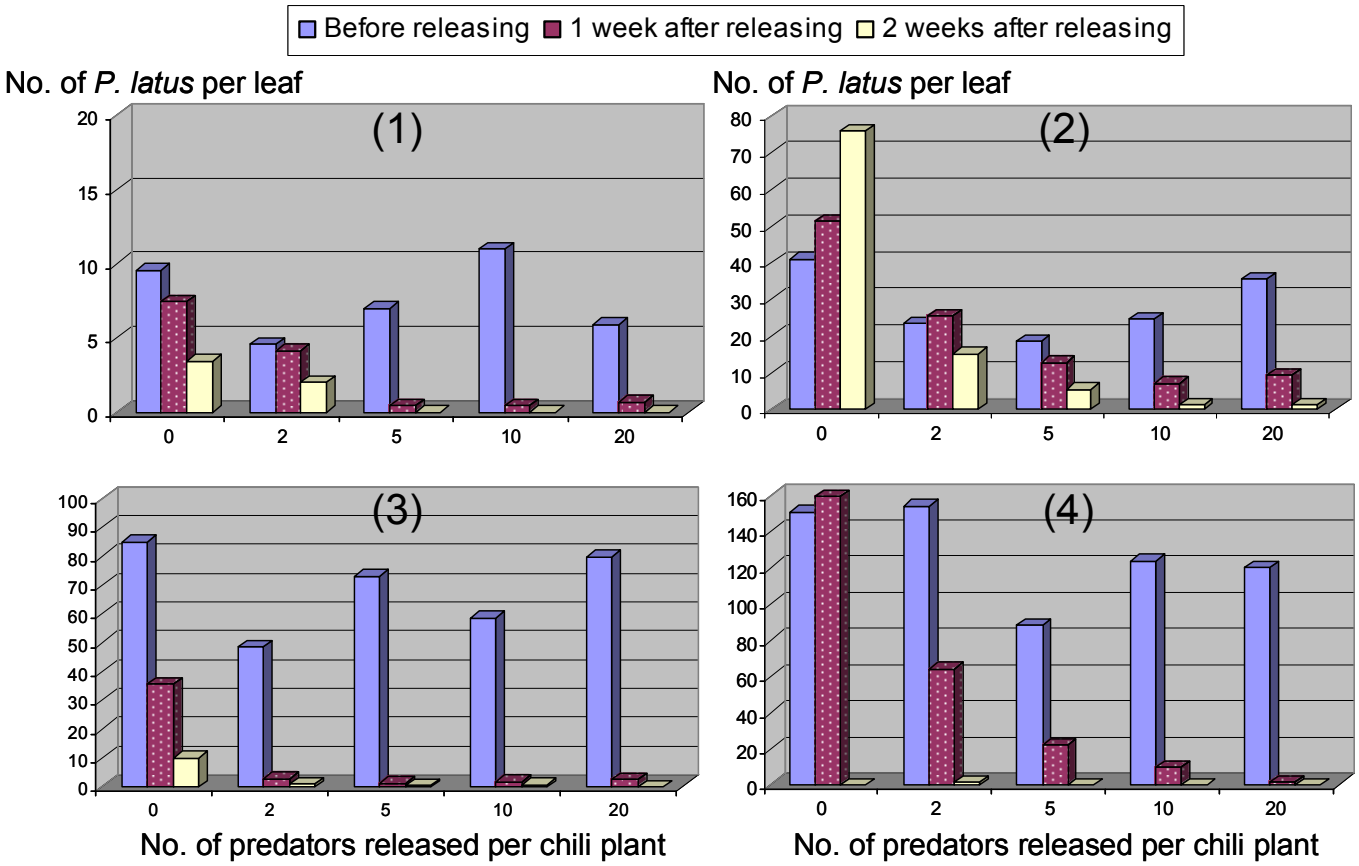


Fig. 7 Number of broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* per leaf, before and after releasing 0, 2, 5, 10 and 20 predatory mite per plant, on chili plants which were slightly (1), moderately (2) seriously (3), and very seriously infested by broad mites

การทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าไรตัวห้ำ *A. cinctus* สามารถควบคุมไรขาวพริกได้ในอัตราการปล่อยตั้งแต่ 5 ตัวต่อต้น เป็นต้นไป ซึ่งในการทดลองที่ใกล้เคียงกันพบว่าการปล่อยไรตัวห้ำ *A. barkeri* Hughes ควบคุมไรขาวพริกบนต้นพริกหวานที่ปลูกในโรงเรือนในรัฐ Florida ในอัตรา 5 ตัว

ต่อต้น ติดต่อกัน 3 ครั้งทุกสัปดาห์ ให้ผลดีในการควบคุมไรขาวพริกได้นาน 7 สัปดาห์ (Fan and Petitt, 1994)

ในต้นพริกระดับการทำลายปานกลาง (Graph 2; Fig. 7) หลังจากปล่อยไรตัวห้ำไปแล้ว 1 และ 2 สัปดาห์ พบว่ามีไรตัวห้ำทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยใต้ใบพริกในต้นที่ปล่อย 10 และ 20 ตัวต่อต้นมากที่สุด เฉลี่ย 2-3 ตัวต่อใบ (Fig. 8) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไรตัวห้ำสามารถตั้งกลุ่มประชากรเองได้บนต้นพริก สำหรับต้นที่ปล่อย 2 และ 5 ตัวต่อต้น อาจต้องการเวลานานกว่า 2 สัปดาห์จึงจะตั้งกลุ่มประชากรได้

หลังการทดลอง 2 สัปดาห์ ในระดับการระบาดรุนแรงและรุนแรงมาก (Graph 3 และ 4; Fig.7) พบว่าจำนวนไรขาวพริกลดลงอย่างรวดเร็วในต้นพริกที่ไม่ปล่อยไรตัวห้ำ เนื่องจากใบพริกถูกทำลายจนมีอาการหงิกงอ แข็งกระด้าง และไม่แตกยอดใหม่ ดังนั้นไรขาวพริกจึงไม่มีใบอ่อนเป็นแหล่งอาหารใหม่ ต้องย้ายออกจากต้นพริกเพราะไม่สามารถดูดกินบนใบแก่ได้ ขณะเดียวกันต้นพริกที่ปล่อยไรตัวห้ำ 20 ตัวต่อต้น ใบที่ถูกทำลายแสดงอาการไม่หงิกงอมาก และสามารถแตกยอดอ่อนใหม่ที่มีใบเป็นปกติได้ (Fig. 9)

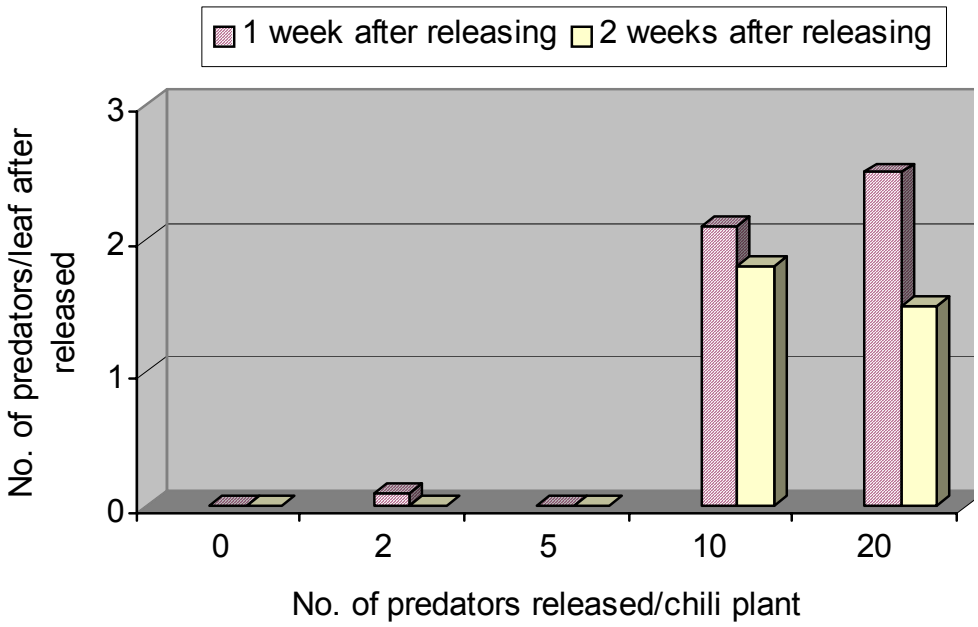


Fig. 8 Number of predatory mites found on chili leaves after releasing 1 and 2 weeks in chili plants with moderately infestation by broad mite

(1) **ปล่อยไรตัวห้ำ 20 ตัว/**

(2) **ไม่ปล่อยไรตัวห้ำ**

Fig. 9 Chili plants 2 weeks after treatment: Releasing predatory mites 20 individuals per chili plant (1), and Non-released predatory mites chili plants (2)

สรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองพบว่าไรตัวห้ำ *A. cinctus* มีวงจรชีวิตสั้นใกล้เคียงกับไรตัวห้ำที่มีประสิทธิภาพอื่น ๆ จากไข่เป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 4.58 วัน มีระยะการวางไข่นาน 30 วัน วางไข่ได้เฉลี่ย 39.5 ฟอง มีอัตราการขยายพันธุ์สูงสุด เท่ากับ 0.25 ตัวต่อวัน อัตราการขยายพันธุ์สุทธิในชั่วอายุขัยได้ 36.25 ตัว หรือผลิตลูกได้สุทธิ 1.29 ตัวต่อวัน เป็นไรพันธุ์พื้นเมืองที่อาศัยอยู่ได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย พบได้ตลอดทุกฤดูกาล มีพืชอาศัย 34 ชนิด ตั้งแต่พืชยืนต้นจนถึงพืชล้มลุกและวัชพืช มักพบไรตัวห้ำชนิดนี้ด้านใต้ใบพืชที่ถูกทำลายโดยไรขาวพริก หรือไรศัตรูที่มีขนาดเล็ก ไรตัวห้ำ *A. cinctus* มีพืชอาศัยเป็นวัชพืชหลายชนิดที่ไม่มีไรศัตรูพืชอาศัยอยู่ เป็นไปได้ว่าไรตัวห้ำชนิดนี้อาจกินอาหารได้หลายชนิด ความสามารถในการกินเหยื่อของ *A. cinctus* พบว่าตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถกินตัวอ่อนและตัวเต็มวัยไรขาวพริกได้เฉลี่ย 37 และ 30.8 ตัวต่อวัน ตามลำดับ จากการทดสอบปล่อยไรตัวห้ำ *A. cinctus* ให้ควบคุมประชากรไรขาวพริกบนต้นพริกตามความรุนแรงของการระบาด 4 ระดับ คือ น้อย ปานกลาง รุนแรง และรุนแรงมาก พบว่าการปล่อยไรตัวห้ำตัวเต็มวัยเพศเมียอัตรา 5 – 20 ตัวต่อต้น สามารถควบคุมไรขาวพริกให้ลดลงได้ในทุกระดับของการระบาด

สรุปได้ว่า ไรตัวห้ำ *A. cinctus* มีคุณลักษณะเป็นศัตรูธรรมชาติที่มีศักยภาพดี สามารถนำมาเลี้ยงแล้วปล่อยให้ควบคุมไรขาวพริกบนต้นพริกได้ ควรที่จะทำการวิจัยต่อไปในขั้นการเพาะเลี้ยงเป็นปริมาณมาก (mass rearing) เพื่อพัฒนาการนำไรตัวห้ำชนิดนี้ไปใช้ควบคุมไรขาวพริกในสภาพไร่ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้ช่วยนักวิจัย คุณจินดา เกิดผล คุณฐิศานาศ ทิมทอง คุณจันทร์พิศ เดชหามาตย์ คุณเจริญ เหลือทรัพย์ และคุณสำลี เหลือทรัพย์ กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ช่วยทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงเป็นไปตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

กรมอุตุนิยมวิทยา. http://WWW.tmd.go.th/index.php. ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน ตลอดปีในแต่ละภาคในประเทศไทย.

วัฒนา จารณศรี มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2544. ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด. เอกสารวิชาการ กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพ ฯ. 192 หน้า.

พัชรี วิชิตพันธุ์. http://www.ipst.ac.th/dpst/meeting49s/abstract/O_BIO.pdf .ไรตัวห้ำ *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando และความเป็นไปได้ในการควบคุมไรขาวพริก *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) ในพริก. (บทคัดย่อ).

มานิตา คงชื่นสิน และวัฒนา จารณศรี. 2543. ชีววิทยาและประสิทธิภาพของไรตัวห้ำพันธุ์ต่างประเทศ และไรตัวห้ำพันธุ์พื้นเมือง. ว. กีฏ. สัตว. 22 (3) : 206 – 216.

Affandi, L. A. Corpuz-Raros and S. G. Reyes. 2005. Diversity and abundance of mites in a mandarin citrus orchard in west Sumatra. Indonesian Journal of Agricultural Science. 6(2): 52-58.

Ehara, S. and A. Bhandhufalck. 1977. Phytoseiid mites of Thailand (Acarina: Mesostigmata). Journal of the Faculty of Education, Tottori University, (Natural Science). 27: 43-82.

Ehara, S. 2002. Some phytoseiid mites (Arachnida: Acari: Phytoseiidae) from West Malaysia. Species Diversity. 7 (1): 29-46.

Fan, Y., and F. L. Petitt. 1994. Biological control of broad mite, Polyphagotarsonemus latus (Banks), by Neoseiulus barkeri Hughes on peper. Biological Control. 4: 390-395.

Gotoh, T., K. Yamaguchi and K. Mori. 2004. Effect of temperature on life history of the predatory mite *Amblyseius* (*Neoseiulus*) *californicus* (Acari: Phytoseiidae). Experimental and Applied Acarology. 32 (1): 15-30.

Ho, C. C., K. C. Lo and W. H. Chen. 1995. Comparative biology, reproductive compatibility, and geographical distribution of *Amblyseius longispinosus* and *A. womersleyi* (Acari: Phytoseiidae). Environmental Entomology. 24 (3): 601-607.

Ibrahim, Y. B. and V. B. Palacio. 1994. Life history and demography of the predatory mite, *Amblyseius longipinosus* Evans. Experimental and Applied Acarology. 18 (6): 361-369.

Kishimoto, H. and A. Takafuji. 1997. Variations in the life-history parameters among populations of *Amblyseius womersleyi* Schicha with different diapause characteristics (Acari: Phytoseiidae). Applied Entomology and Zoology. 32 (2): 395-401.

Kongchuensin, M., V. Charanasri and A. Takafuji. 2005. Geographic distribution of *Neoseiulus longispinosus* (Evans) and its habitat plants in Thailand. Journal of the Acarological Society of Japan. 14 (1): 1-11.

Krebs, C. J. 1972. Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance. Harper and Row Publishers Inc. New York. 694 p.

Leigh, T. F., L. T. Wilson, D. L. Flaherty and D. Gonzalez. 1995. Arthropod case history : Spider mite on cotton and grapes. In: Biological Control in the Western United States. (eds., Nechols, J. R., L.A. Andres, J. W. Beardsley, R.D. Golden and C. G. Jackson). pp. 71-72. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Publication No. 3361.

Thongtub, T., A. Chandrapatya and G. T. Baker. 2001. Biology and efficacy of the predatory mite, *Amblyseius longispinosus* (Evans) (Acari, Phytoseiidae) as a biological control agent of *Eotetranychus cendanai* Rimando (Acari, Tetranychidae). Journal of Applied Entomology. 125 (9-10): 543-549.

Shih, C. I. T., H. Y. Chang, P. H. Hsu and Y. F. Hwang. 1993. Response of *Amblyseius ovalis* (Evans) (Acarina: Phytoseiidae) to nature food resources and two artificial diets. Experimental and Applied Acarology. 17 (7): 503-519.

Waite, G. K. 2001. Managing spider mites in field-grown strawberries using *Phytoseiulus persimilis* and the pest-in-first technique, In: Acarology: Proceedings of the 10th International Congress. (eds., Halliday, R.B., D.E. Walter, H.C. Proctor, R.A. Norton and M.J. Colloff). pp. 381-386. CSIRO Publishing, Melbourne.

การใช้สูตรผสมของ *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับไวรัส SeNPVและ HaNPV ในรูปสารแขวนลอยเข้มข้น (Flowable liquid) เพื่อควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง

Application of Suspension Concentration of the Mixture of *Bacillus thuringiensis* and NPV to Control Lepidopterous Pests on Asparagus.

อิศเรส เทียนทัด อัจฉรา ตันติโชดก สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การใช้เชื้อ Bt ผสม ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งพบว่า การใช้ Bt+SeNPV+SlNPV อัตราส่วน 4:2:1 ในอัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแนวโน้มในการควบคุมหนอนได้ดีที่สุด เมื่อพบหนอนเกิน 2 ตัวต่อกอ ถ้าระดับหนอนเฉลี่ยต่ำกว่า 2 ตัวต่อกอ จะสามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ใกล้เคียงกับการใช้ Bt อย่างเดียว อย่างไรก็ตาม การนำ Bt ไปผสมกับ SeNPV และ SlNPV จะช่วยเพิ่มความมั่นใจให้แก่เกษตรกรผู้ใช้ โดย Bt จะให้ผลทำลายหนอนขนาดเล็กให้ตายในระยะ 2-3 วัน หลังจากนั้น SeNPV และ SlNPV จะทำลายหนอนในระยะตัวโตตายในระยะเวลา 5 – 8 วัน ถ้าเกษตรนำไปใช้ในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งในรูปแบบของการป้องกันมากกว่าการกำจัด โดยทำการพ่น Bt + NPV ทุก 7 วัน สามารถให้ผลควบคุมความเสียหายของหน่อไม้ฝรั่งจากหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักได้ การทดลองพ่นสาร Bt+SeNPV+SlNPV ควรต้องทดลองซ้ำอีก เพื่อยืนยันผล และควรต้องทดลองในระยะที่มีการระบาดของหนอนกระทู้ผักในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง เพื่อดูว่าการพ่น Bt+SlNPV จะให้ผลควบคุมหนอนกระทู้ผัก ได้แตกต่างจากการใช้ Bt อย่างเดียวหรือไม่

คำนำ

จากนโยบายผลิตอาหารปลอดภัยของรัฐบาล การนำสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์สามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชเพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ จึงมีความสำคัญยิ่งในระบบการผลิตพืชโดยวิธีการผลิต GAP โดยต้นทุนการผลิตไม่เพิ่มขึ้น จากระบบการผลิตเดิมที่ใช้สารเคมี ขณะเดียวกันจะช่วยลดต้นทุนการผลิตในด้านการป้องกันกำจัดศัตรูพืชให้ต่ำลง ได้ผลผลิตที่ปลอดภัยจากสารพิษตกค้าง และมีคุณภาพตามที่ตลาดต้องการ นอกจากจะส่งผลดีต่อผู้บริโภค

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ภายในประเทศแล้ว ยังสามารถแข่งขันกับตลาดโลกได้ จากเอกสารคำแนะนำการใช้เชื้อ *Bacillus thuringiensis* (Bt) ของกรมวิชาการเกษตรที่ได้แนะนำการใช้เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ต่อเนื่องมาเกือบ 30 ปี พบว่า เกษตรกรยังไม่นิยมใช้เชื้อ Bt ทั้งนี้สาเหตุเนื่องจากการทำลายแมลงศัตรูพืชได้เป็นบางชนิดและใช้ระยะเวลา 2-3 วัน จึงจะทำให้หนอนผีเสื้อศัตรูพืชตาย จึงไม่ทันใจเหมือนสารเคมีสังเคราะห์ ขณะเดียวกันเชื้อไวรัส Nuclear Polyhedrosis Virus ที่เพิ่งพัฒนาการผลิตเพื่อนำไปใช้ในแปลงขนาดใหญ่ได้ ในระยะ 7 ปีที่ผ่านมา เกษตรกรยังยอมรับไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชบนพืชบางชนิดเท่านั้น เช่น หอมแดง หอมหัวใหญ่ องุ่น พืชตระกูลกะหล่ำ กระเจี๊ยบเขียว และหน่อไม้ฝรั่ง ยังไม่เป็นที่นิยมใช้กว้างขวาง สาเหตุเนื่องจาก มีความเฉพาะเจาะจงต่อแมลงศัตรูพืชสูงมาก คือ ไวรัส SeNPV จะทำลายเฉพาะหนอนกระทู้หอม ไวรัส SlNPV จะทำลายเฉพาะหนอนกระทู้ผัก และไวรัส HaNPV จะทำลายเฉพาะหนอนเจาะสมอฝ้ายเท่านั้น การส่งเสริมให้เกษตรกรนำเชื้อ Bt และเชื้อไวรัส NPV ไปใช้ทดแทนสารเคมีสังเคราะห์จำเป็นต้องทำการผลิต Bt และไวรัส NPV นำมาผสมกันเพื่อให้สามารถควบคุมแมลงศัตรูพืชได้มากชนิดยิ่งขึ้น เช่น สามารถใช้ Bt ผสม SeNPV และ SlNPV พ่นควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูพืชในตระกูลกะหล่ำได้ทุกชนิด หนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง และกระเจี๊ยบเขียวได้ทุกชนิด การนำ Bt มาผสมกับ NPV ในรูปแบบของสูตรสำเร็จในขวดเดียวกัน นอกจากจะเพิ่มขีดความสามารถในการควบคุมชนิดของแมลงศัตรูพืชได้มากขึ้น ลดแรงงานในการพ่นสารและสามารถลดอัตราการใช้ Bt และ NPV แต่ละชนิดลงได้ในอัตราต่ำกว่าอัตราที่ทางกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำเอาไว้ 30-40 เปอร์เซ็นต์

วิธีดำเนินการ

การทดลองในห้องปฏิบัติการ ใช้แผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ซ้ำ 5 กรรมวิธี

วิธีการทดลองในห้องปฏิบัติการ

(1) ทำการหาอัตราส่วนของ Bt และ NPV ที่เหมาะสมที่จะนำมาผสมรวมกัน

(2) ศึกษาชนิดและอัตราการผสมสาร binder, emulsifier, sticker, spreader และ carrier ที่เหมาะสม

(3) ศึกษาระยะเวลาการคงสภาพในรูปของสารแขวนลอยเข้มข้นของแต่ละสูตรของส่วนผสม ระยะเวลา 1, 2, 3, 4 สัปดาห์, 2, 4, 6, 8 และ 10 เดือน

(4) ศึกษาประสิทธิภาพของสารผสม Bt และ NPV ที่เก็บไว้ในระยะเวลา 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 เดือนกับหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD

การทดลองในสภาพไร่ใช้แผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี

วิธีการทดลองในสภาพไร่

1. Bt+SeNPV+SlNPV อัตราส่วน 4:1:2	อัตรา	60	มิลลิลิตรต่อน้ำ	20	ลิตร
2. Bt+SeNPV+SlNPV อัตราส่วน 4:2:1	อัตรา	60	มิลลิลิตรต่อน้ำ	20	ลิตร
3. Bt+SeNPV+SlNPV อัตราส่วน 3:3:1	อัตรา	60	มิลลิลิตรต่อน้ำ	20	ลิตร
4. Bactospeine	อัตรา	80	มิลลิลิตรต่อน้ำ	20	ลิตร

5. วิธีการไม่พ่นสารฆ่าแมลง

โดยปลูกหน่อไม้ฝรั่งระยะปลูก 4.80x0.50 เมตร ขนาดของแปลงย่อย 5.00x7.00 เมตร ทำการทดลองในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ในระยะอายุ 30 วัน หลังจากพักต้น 25 วัน ทำการตรวจนับแมลงจาก 3 แถวกลางจากจำนวน 5 แถว ในแต่ละแปลงปลูกย่อย โดยสุ่มนับหน่อไม้ฝรั่งจำนวน 20 กอต่อแปลงย่อย ทำการตรวจนับแมลงสัปดาห์ละ 1 ครั้ง และทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตหน่อไม้ฝรั่งทุกวันเก็บผลผลิตหน่อไม้ฝรั่งทุกกอในแต่ละแปลงย่อย จากหน่อไม้ฝรั่งจำนวน 5 ร่อง ในพื้นที่ 5x7 เมตร จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักรวม นำมาคัดเลือกเพื่อให้ได้หน่อไม้ที่มีคุณภาพนำไปจำหน่ายได้ นำมาชั่งนำหนักผลผลิตอีกครั้ง ดำเนินการทดลองระยะเวลา 48 วัน การพ่นสารใช้เครื่องพ่นสารชนิดแรงดันน้ำสูงแบบสะพายหลัง อัตราการไหลของหัวฉีด 100 ลิตรต่อไร่ ทำการพ่นตอนบ่าย 4 โมงเย็น การตรวจนับแมลงจะดำเนินการในตอนเช้า 7.00 น.-9.00 น.

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้เชื้อ Bt ผสม ไวรัส NPV ในการควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งพบว่า การใช้ Bt+SeNPV+SlNPV อัตราส่วน 4:2:1 ในอัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีแนวโน้มในการควบคุมหนอนได้ดีที่สุด เมื่อพบหนอนเกิน 2 ตัวต่อกอ ถ้าระดับหนอนเฉลี่ยต่ำกว่า 2 ตัวต่อกอ จะสามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมได้ใกล้เคียงกับการใช้ Bt อย่างเดียว อย่างไรก็ตาม การนำ Bt ไปผสมกับ SeNPV และ SlNPV จะช่วยเพิ่มความมั่นใจให้แก่เกษตรกรผู้ใช้ โดย Bt จะให้ผลทำลายหนอนขนาดเล็กให้ตายในระยะ 2-3 วัน หลังจากนั้น SeNPV และ SlNPV จะทำลายหนอนในระยะตัวโตตายในระยะเวลา 5 – 8 วัน ถ้าเกษตรนำไปใช้ในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งในรูปแบบของการป้องกันมากกว่าการกำจัด โดยทำการพ่น Bt + NPV ทุก 7 วัน สามารถให้ผลควบคุมความเสียหายของหน่อไม้ฝรั่งจากหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักได้ การทดลองพ่นสาร Bt+SeNPV+SlNPV ควรต้องทดลองซ้ำอีก เพื่อยืนยันผล และควรต้องทดลองในระยะที่มีการระบาดของหนอนกระทู้ผักในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง เพื่อดูว่าการพ่น Bt+SlNPV จะให้ผลควบคุมหนอนกระทู้ผัก ได้แตกต่างจากการใช้ Bt อย่างเดียวหรือไม่

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bt และ ไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอน เจาะสมอฝ้ายในทานตะวัน

Study on Efficacy of the *Bacillus thuringiensis* and *Helicoverpa armigera* NPV to Control American bollworm on Sunflower

อิศเรส เทียนทัด อัจฉรา ตันติโชดก สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี คือ ไวรัส HaNPV 100, 150, 200, 250 มิลลิลิตรต่อไร่ และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ใช้การพ่นแบบน้ำน้อยอัตราการใช้น้ำ 40 ลิตรต่อไร่ โดยใช้เครื่อง mist blower ในการพ่นสาร ดำเนินการทดลองที่ ต.นิคมสร้างตนเอง อ.เมือง จ.ลพบุรี จากการสำรวจการระบาดของหนอนเจาะสมอฝ้ายก่อนการพ่นสารทดลอง พบว่ามีจำนวน 75, 78, 82, 75, 81 และ 77 ตัวตามลำดับ หลังจากการพ่นสารครั้งแรกผลการตรวจนับจำนวนแมลงในอีก 4 วันต่อมาพบว่ามีจำนวนหนอนเจาะสมอฝ้าย 36, 27, 23, 35, 27 และ 37 ตัวตามลำดับ และหลังจากการพ่นสารครั้งที่ 2 พบจำนวนหนอนเจาะสมอฝ้าย 31, 24, 28, 15, 11 และ 30 ตัวตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองในขั้นต้นทำให้ทราบว่าแนวโน้มอัตราการใช้ไวรัส HaNPV 100 – 250 มิลลิลิตรต่อไร่ จะให้ผลในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ดี เมื่อทานตะวันมีอายุ 60-65 วัน

คำนำ

ปัจจุบันพื้นที่ปลูกทานตะวันได้ขยายเพิ่มมากขึ้นเป็นพืชรุ่นที่สองตามหลังพืชหลัก เช่น ข้าว หรือข้าวโพด เนื่องจากเกษตรกรได้ราคาผลผลิตที่ดีขึ้นและมีการปลูกเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยว นอกจากนี้ปริมาณผลผลิตในแต่ละปีมีไม่เพียงพอต่อการบริโภคทั้งในด้านการบริโภคโดยตรง และการนำเมล็ดไปสกัดน้ำมัน ปัญหาด้านการผลิตของทานตะวันที่สำคัญคือ ต้นทุนการผลิตที่ยังสูง และปัญหาผลผลิตต่ำ ซึ่งจากปัญหาผลผลิตต่ำมีสาเหตุที่สำคัญคือ แมลงศัตรูทานตะวันมีประมาณ 20 ชนิด แต่ชนิดที่สำคัญและทำให้ผลผลิตลดลงคือ หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Heliothis armigera*(Hubner)) ซึ่งจะเข้าทำลายดอกทานตะวันตั้งแต่เริ่มมีจานดอกจนถึงระยะที่เมล็ดแก่ ทำให้จานดอกเสียหายส่งผลโดยตรงกับน้ำหนักผลผลิตที่ได้ และจานดอกมีลักษณะไม่สวยงามเสียทัศนียภาพในการเป็นสถานที่ท่องเที่ยว นอกจากนี้ตามปกติการปลูกทานตะวันจะไม่ค่อยมีการใช้สารฆ่าแมลง จึงทำให้มีศัตรูธรรมชาติอาศัยอยู่มาก แต่เมื่อมีการระบาดของหนอนเกิดขึ้นเกษตรกร

รหัสโครงการ 07-01-49-06

อาจจะต้องใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด ซึ่งผลกระทบและอันตรายของการใช้สารฆ่าแมลงก็เป็นที่รู้กันดีอยู่แล้ว ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการวิจัยทดลอง เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืชเพื่อทดแทนการใช้สารฆ่าแมลงที่มีอันตราย

วิธีดำเนินการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ

กรรมวิธี

1. HaNPV อัตรา 100 ml/ไร่
2. HaNPV อัตรา 150 ml/ไร่
3. HaNPV อัตรา 200 ml/ไร่
4. HaNPV อัตรา 250 ml/ไร่
5. วิธีการไม่พ่นสารฆ่าแมลง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เริ่มทำการสำรวจหนอนเจาะสมอฝ้าย เมื่อทานตะวันเริ่มมีจานดอก หรือเมื่อทานตะวันอายุประมาณ 40 วัน เมื่อพบปริมาณหนอนเจาะสมอฝ้ายถึงระดับ 20 ตัว/100 ต้น เริ่มทำการพ่นสารทดลองโดยใช้วิธีพ่นแบบน้ำน้อย อัตราการใช้น้ำ 40 ลิตรต่อไร่ ทำการพ่นสารทดลองติดต่อกัน 3 ครั้ง ระยะห่างกันทุก 5 วัน ทำการตรวจนับแมลงก่อนการพ่นสารทุกครั้งและหลังจากพ่นสารครั้งสุดท้าย 5 วัน ตรวจนับจำนวนดอกทานตะวันที่ถูกหนอนเจาะทำลายและตรวจชั่งน้ำหนักผลผลิตเมื่อถึงระยะการเก็บเกี่ยวผลผลิต

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลปริมาณหนอนกระทู้ผักและเจาะสมอฝ้าย ตั้งแต่ทานตะวันอายุ 40 วัน จนกระทั่งอายุ 60 วัน บันทึกการตายของหนอนบนดอกทานตะวันความเสียหายของดอกทานตะวันและน้ำหนักผลผลิตของทานตะวัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจการระบาดของหนอนเจาะสมอฝ้ายก่อนการพ่นสารทดลอง พบว่ามีจำนวน 75, 78, 82, 75, 81 และ 77 ตัวตามลำดับ หลังจากการพ่นสารครั้งแรกผลการตรวจนับจำนวนแมลงในอีก 4 วันต่อมาพบว่ามีจำนวนหนอนเจาะสมอฝ้าย 36, 27, 23, 35, 27 และ 37 ตัวตามลำดับ และหลังจากการพ่นสารครั้งที่ 2 พบจำนวนหนอนเจาะสมอฝ้าย 31, 24, 28, 15, 11 และ 30 ตัวตามลำดับ ซึ่งจากการทดลองในขั้นต้นทำให้ทราบว่าแนวโน้มอัตราการใช้ไวรัส HaNPV 100 – 250 มิลลิลิตรต่อไร่ จะให้ผลในการควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ดี เมื่อทานตะวันมีอายุ 60-65 วัน

ศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชของพืชส่งออก

Study on Species of Insect Pests of Exported Crops

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชของแก้วมังกร และกวนอิม ซึ่งเป็นพืชที่มีศักยภาพในการส่งออก ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2550 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูแก้วมังกร และกวนอิม จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าว ในเขตภาคตะวันออก ภาคกลาง และภาคเหนือ นำมาตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธานและตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องของแมลงแต่ละชนิด ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ปรากฏว่าไม่พบแมลงศัตรูพืชเข้าทำลายแก้วมังกร และกวนอิม ในการศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชส่งออกยังไม่สิ้นสุด จะต้องดำเนินการต่อในปี 2551

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม รายได้จากการส่งออกของประเทศ ส่วนใหญ่มาจากสินค้าเกษตร เช่น ไม้ดอก พืชผัก และไม้ผล ซึ่งปัจจุบันมีศักยภาพในการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ เช่น ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ อินเดีย และไต้หวัน จากการเปิดเสรีทางการค้า ทำให้ประเทศไทยในฐานะประเทศสมาชิกองค์การค้าโลก (World Trade Organization) ต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร ภายใต้ความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on Application of Sanitary and Phytosanitary Measure หรือ SPS) การบังคับใช้มาตรการนี้ ทำให้ประเทศกำลังพัฒนา ต้องประสบความยาก ลำบาก เพราะต้องเผชิญกับการแข่งขันด้านธุรกิจเกษตร กับประเทศที่พัฒนาแล้ว ซึ่งมีประสบการณ์มากกว่า และมีเทคโนโลยีการผลิตที่ดีกว่าทุกประการ แต่กฎเกณฑ์ภายใต้ความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัย และสุขอนามัยพืชก็ระบุไว้ชัดเจนว่า ประเทศสมาชิกมีสิทธิ์และพันธกรณีพื้นฐาน (right and obligation) ในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชจากต่างประเทศ มิให้เข้าไปเป็นอันตรายหรือเกิดความเสียหายต่อสุขภาพ

รหัสโครงการ 07-01-49-07

มนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช โดยวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis : PRA) อาจจะเป็นโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และวัชพืช ชนิดใดชนิดหนึ่ง ที่เล็ดลอดติดมากับสินค้าเกษตรที่นำเข้า โดยที่ประเทศผู้นำเข้าจะต้องมีการขอบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และข้อมูลด้านศัตรูพืช แต่ละชนิดของสินค้าเกษตรนั้น ๆ ซึ่งประเทศผู้ส่งออกสินค้าเกษตรจะต้องเป็นผู้จัดทำ หากประเทศผู้ส่งออกไม่มีบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และข้อมูลศัตรูพืชที่พร้อมหรือครบถ้วน ตามความต้องการของผู้นำเข้า ย่อมส่งผลให้การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ไม่อาจกระทำได้ นำไปสู่การกีดกันทางการค้า โดยไม่ได้รับอนุญาตให้นำเข้าสินค้าเกษตรนั้นๆ เช่น อุปสรรคในการส่งลำไยสดจากประเทศไทยไปสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีการร้องขอให้ประเทศไทยส่งบัญชีรายชื่อศัตรูพืชของลำไย เพื่อให้องค์กรที่มีหน้าที่จัดทำการประเมินความเสี่ยงของศัตรูพืชคือ Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) ได้พิจารณาดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาก่อน หรือกรณีความล่าช้าในการส่งออกทุเรียนไปออสเตรเลีย ดังนั้นการศึกษาชนิดของแมลงศัตรูพืชส่งออกดังกล่าว มีความจำเป็นต้องเร่งดำเนินการเพื่อเป็นข้อมูลจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชที่ถูกต้องทางวิทยาศาสตร์เป็นปัจจุบันและสามารถตรวจสอบได้จากตัวอย่างแมลงที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง เป็นการเตรียมความพร้อมด้านข้อ มูลของศัตรูพืชสำหรับส่งให้ประเทศผู้นำเข้าเมื่อมีการร้องขอ ซึ่งจะช่วยให้เกิดความสะดวกและรวดเร็วในการเจรจาต่อรองทางการค้ากับประเทศคู่ค้าและเป็นการเพิ่มโอกาสในการเปิดตลาดการค้ากับประเทศผู้นำเข้ารายอื่นๆ ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดฆ่าแมลง ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ขวดดองแมลง สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ 70-80% และ AGA ฯลฯ

2. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง โดยวิธีการอบแห้ง ได้แก่ เข็มปักแมลง ไม้จัดรูปร่างแมลง (setting board) ปากคีบ ตู้อบแมลง ฯลฯ

3. อุปกรณ์ที่ใช้ทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ 60-100% โซเดียมไฮดรอกไซด์ โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ไซลีน โคลฟออย แคนาดาบัลซัม ฯลฯ บีคเกอร์ เตาไฟฟ้า แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป

5. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

6. เอกสารประกอบการวิเคราะห์ชนิดแมลง

7. คอมพิวเตอร์ และอุปกรณ์อื่นที่ประกอบคอมพิวเตอร์

วิธีการ

1. การสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูพืชจากเอกสารที่มีรายงานไว้ในประเทศไทย

2. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชส่งออก 2 พืช ได้แก่ องุ่น และทานตะวัน จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าว โดยใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่งหรือต้นพืชให้แมลงตกลงมาบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ / กิ่ง / ยอดพืชที่มีแมลงเกาะอยู่ด้วยกรรไกร ใช้พู่กันเขี่ยแมลงใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง หรือนำแมลงพร้อมพืชใส่ถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก หากตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้อยู่ในระยะหนอน / ตัวอ่อน ต้องแบ่งตัวอย่างนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

3. บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรูพืช และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ได้แก่ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่างแมลง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

4. จัดเตรียมตัวอย่างแมลงสำหรับวิเคราะห์ชนิดโดยการจัดรูปร่าง (set) หรือทำสไลด์ถาวร

5. ตรวจวิเคราะห์ชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้องจุลทรรศน์และวิเคราะห์ชนิดด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลง ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

6. จัดทำป้ายและบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ของแมลง พืชอาหาร วัน / เดือน / ปี และสถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และวัน / เดือน / ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด

7. เก็บรักษาตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยแล้วไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล (แมลงศัตรูพืชทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องมีตัวอย่างจริงเก็บรักษาไว้เพื่อการตรวจสอบ / สืบค้น / อ้างอิง)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2549 ถึง กันยายน 2550

สถานที่ แปลงปลูกแก้วมังกร และกวนอิม ของเกษตรกร จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าวในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกและภาคเหนือ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูของแก้วมังกร และกวนอิม จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าวในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกและภาคเหนือ ปรากฏว่าไม่พบแมลงศัตรูพืชเข้าทำลายแก้วมังกร และกวนอิม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูแก้วมังกร และกวนอิม โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูของแก้วมังกร และกวนอิม จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าวในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกและภาคเหนือ ปรากฏว่าไม่พบแมลงศัตรูพืชเข้าทำลายแก้วมังกร และกวนอิม

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพฯ. 75 หน้า

การศึกษาชนิดไรศัตรูของพืชเพื่อการส่งออก

Study on the Species of Mite Pests of Exported Crops

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

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและจำแนกชนิดไรศัตรูพืชส่งออกจากประเทศไทย รวม 17 ชนิด ได้แก่ ทุเรียน มังคุด ลำไย ลิ้นจี่ มะม่วง ฝรั่ง สับปะรด ส้มโอ มะขามหวาน หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพดฝักอ่อน พริก ขิง กระเจี๊ยบเขียว ข้าว กวนอิม และแก้วมังกร ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 จนถึงกันยายน 2550 ใน 11 จังหวัด ของประเทศไทย พบไรบนพืชส่งออกรวมทั้งสิ้น 8 วงศ์ 19 ชนิด เป็นไรศัตรูพืช รวม 4 วงศ์ 10 ชนิดคือ วงศ์ Eriophyidae 1 ชนิด วงศ์ Tarsonemidae 1 ชนิด วงศ์ Tenuipalpidae 2 ชนิด และ วงศ์ Tetranychidae 6 ชนิด ที่เหลืออีก 10 ชนิด เป็นไรตัวห้ำอยู่ในวงศ์ Phytoseiidae 6 ชนิด Cheyletidae 1 ชนิด Cunaxidae 1 ชนิด Stigmaeidae 1 ชนิด และAscidae 1 ชนิด และจากการรวบรวมตัวอย่างไรบนพืชส่งออกจากประเทศไทย จากพิพิธภัณฑ์ของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กรมวิชาการเกษตร ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2517 จนถึงเมษายน 2550 พบไรบนพืชส่งออกรวมทั้งสิ้น 12 วงศ์ 96 ชนิด แบ่งเป็นไรศัตรูพืช 5 วงศ์ 40 ชนิด และที่เหลือ 7 วงศ์ 56 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม รายได้จากการส่งออกของประเทศ ส่วนใหญ่มาจากสินค้าเกษตร โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจ 17 ชนิด ซึ่งปัจจุบันมีศักยภาพในการส่งออกค่อนข้างสูงคือ ทุเรียน มังคุด ลำไย ลิ้นจี่ มะม่วง ฝรั่ง สับปะรด ส้มโอ มะขามหวาน หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพดฝักอ่อน พริก ขิง กระเจี๊ยบเขียว ข้าว กวนอิม และแก้วมังกร โดยพืชส่งออกเหล่านี้ วัฒนาและคณะ (2544) ได้ทำการสำรวจรายงานการพบไรศัตรูพืชต่าง ๆ ในประเทศไทยมากมายดังนี้ ส้มโอ ได้แก่ ไรเหลืองส้ม (Citrus yellow mite) *Eotetranychus cendanai* Rimando, ไรแดงแอฟริกัน(African red mite) *Eutetranychus africanus* (Tucker),ไรแพสชั่นฟรุท *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes),

---

รหัสโครงการ 07-01-49-07

ไรสนิมส้ม (Citrus rust mite), *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) ไรแมงมุมฟิจิ (Fiji spider mite) *Tetranychus fijiensis* Hirst ทุเรียนพบไรแดงชมพู่ (Rose apple red mite) *Oligonychus biharensis* (Hirst) และไรแดงแอฟริกัน (African red mite) ลำไยพบไรแดงชมพู่ (Rose apple red mite) และไรกำมะหยี่ลิ้นจี่ (Litchi erineum mite) *Aceria litchii* (Keifer) มะม่วงพบไรแดงมะม่วง (Mango red mite) *Oligonychus mangiferus* (Rahman and Sapra), ไรตามะม่วง (Mango bud mite) *Aceria mangiferae* Sayed และไรขาวพริก (Broad mite) *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) ฝรั่งพบไรแดงชมพู่ (Rose apple red mite) และไรแดงมะม่วง (Mango red mite) กระเจี๊ยบเขียว พบไรแดงกระเจี๊ยบ (Okra red mite) *Tetranychus macfarlanei* Baker and Pritchard และ ไรแดงหม่อน (Mulberry red mite) *Tetranychus truncatus* Ehara ส่วนในข้าว พบไรแมงมุมคันซาวา (Kanzawa spider mite) *Tetranychus kanzawai* Kishida และไรเขียวข้าว (Rice green mite) *Schizotetranychus yoshimekii* Ehara and Wongsiri ในต่างประเทศมีรายงานพบไร False spider mite, *Brevipalpus* sp. ซึ่งเป็นไรที่ไม่ค่อยมีความสำคัญมากนักเข้าทำลายทุเรียน และมังคุด ที่มลรัฐควีนแลนด์ (Astridge and Fay, 2005) บนลำไยพบไร (Longan gall mite), *Eriophyes dimocarpi* ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการพุ่มไม้กวาด (witches' broom) (Feng *et al*, 2005) ส่วนไร Citrus red mite, *Panonychus citri* เป็นศัตรูสำคัญที่ทำลายใบของลำไยและลิ้นจี่ ส่วนไรศัตรูพืชสำคัญที่เข้าทำลายผลลิ้นจี่คือ (Citrus flat mite) *Brevipalpus lewisi* (Mossler and Nesheim, 2005) สำหรับไม้ผลอื่น ๆ มีรายงานพบไรศัตรูที่เข้าทำลายดังนี้ ไรขาว *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) พบแพร่กระจายที่ออสเตรเลีย เอเชีย แอฟริกา อเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ และหมู่เกาะไอแลนด์ โดยเข้าทำลายมะม่วง ฝรั่ง มะเขือเทศ และพืชอื่น ๆ อีกหลายชนิด นอกจากนี้ มีรายงานพบไรที่เข้าทำลายฝรั่งอีกชนิดหนึ่ง คือ (False spider mite) *Brevipalpus phoenicis* (Jayma and Ronald, 2005; Mossler and Nesheim, 2005) สำหรับไรศัตรูสับปะรดมีอยู่ 2 ชนิดคือ *Oligonychus ununguis* (Jacobi) และไร *Oligonychus subnudus* (Hanson and Walker, 2004 ; Cranshew and Sclar, 2004) ไรศัตรูพืชที่สำคัญในข้าวอยู่ในวงศ์ Tarsonemidae คือ (rice mite) *Steneotarsonemus spinki* Smiley พบแพร่ระบาดที่ทวีปเอเชียในปี 1930 ต่อมาปี 1990 พบแถบแคลิฟอเนีย ปี 2004 พบที่ อเมริกากลาง แต่ไม่มีรายงานพบในอเมริกาใต้ จึงเป็นไรศัตรูกักกันที่ห้ามไม่ให้เข้าในพื้นที่ (Novia *et al*, No date) จะเห็นได้ว่า การจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อไรศัตรูพืชส่งออกทั้ง 17 ชนิด คือ ทุเรียน มังคุด ลำไย ลิ้นจี่ มะม่วง ฝรั่ง สับปะรด ส้มโอ มะขามหวาน หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพดฝักอ่อน พริก ขิง กระเจี๊ยบเขียว ข้าว กวนอิม และแก้วมังกร มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งโดยเฉพาะเมื่อมีการเปิดเสรีทางการค้าทำให้ประเทศไทยในฐานะประเทศสมาชิกองค์การค้าโลก ต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์ภายใต้ความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช ซึ่งประเทศสมาชิกได้กำหนดขึ้นเพื่อป้องกัน

อันตราย และความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับสุขภาพ มนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อมภายในประเทศของตน อันเนื่องมาจากการนำเข้าสินค้าเกษตรนั้น ๆ ที่อาจมีศัตรูพืช หรือสิ่งปนเปื้อนติดเข้ามาได้ ในการนี้ประเทศไทย ซึ่งเป็นผู้ส่งออกสินค้าเกษตรทั้ง 17 ชนิดดังกล่าว ต้องจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชส่งให้ประเทศผู้นำเข้าเพื่อนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การศึกษาชนิดของไรศัตรูพืชส่งออกเหล่านี้ ทำให้สามารถตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ให้ถูกต้องเป็นปัจจุบัน พร้อมทั้งหาข้อมูลเกี่ยวกับชีววิทยา นิเวศวิทยา และศึกษาหาวิธีการป้องกันกำจัดไรศัตรูที่สำคัญของพืชส่งออกดังกล่าว หากประเทศไทยไม่มีข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชที่จะส่งออก 17 ชนิดนี้ ส่งให้ตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า ก็จะไม่สามารถส่งสินค้าเกษตรเหล่านั้นเข้าไปขายในประเทศคู่ค้าได้ จึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ควรเร่งดำเนินการ เพื่อเป็นการเปิดตลาดส่งออกสินค้าเกษตร และนำรายได้เข้าสู่ประเทศซึ่งเป็นการสร้างความมั่นคงให้แก่เศรษฐกิจของประเทศต่อไป

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไร ได้แก่ กล่องพลาสติกใสสำหรับใส่ตัวอย่างพืชที่ถูกไรทำลาย กล่องพลาสติกรักษาความเย็นขนาดความจุ 68 ควอทซ์ แว่นขยาย (กำลังขยาย 20x) กล้องสำหรับถ่ายภาพลักษณะการทำลายของไรบนส่วนต่าง ๆ ของพืช

2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการจำแนกชนิด ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope เข็มเขี่ยปลายแหลม พู่กันเบอร์ 0 (ตัดขนที่ปลายบางส่วนออก) slide, coverglass น้ำยาเมาท์สไลด์ (Hoyer's solution) ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตู้อบสไลด์ ยาทาเล็บ และแอลกอฮอล์

3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรศัตรูพืช และไรตัวห้ำ ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope, key สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรศัตรูพืช และไรศัตรูธรรมชาติ

วิธีการ

1. ออกสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างไร บนพืชเศรษฐกิจส่งออกทั้ง 17 ชนิด จากแปลงปลูกของเกษตรกร และสถานที่ทดลองของส่วนราชการในท้องที่จังหวัดต่าง ๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยเด็ดใบและส่วนต่าง ๆ ของพืชที่ถูกไรทำลาย ใส่กล่องพลาสติกใส พร้อมบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะการทำลายพืชอาศัย วันที่ สถานที่ ๆ เก็บตัวอย่างไรได้ และชื่อผู้เก็บไว้ที่กล่อง ก่อนที่จะนำไปแช่ในกล่องพลาสติกรักษาความเย็นขนาดความจุ 68 ควอทซ์ ภายในบรรจุน้ำแข็ง เพื่อนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

2. นำตัวอย่างไรที่เก็บได้จากใบ 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 และชื่อผู้เก็บไว้ที่มุมด้านซ้ายของสไลด์

3. นำตัวอย่างไรบนสไลด์มาตรวจจำแนกชนิดใต้กล้อง compound microscope โดยใช้ key สำหรับจำแนกชนิดของไรศัตรูพืช ในกรณีพบไรตัวห้ำบนพืชที่กล่าวมาแล้ว ก็ใช้ key สำหรับจำแนกชนิดของไรตัวห้ำ เช่น key สำหรับจำแนกไรในวงศ์ Phytoseiidae

4. รวบรวมรายชื่อไรศัตรู ทั้งจากตัวอย่างที่เก็บมาได้ และจากรายชื่อที่ได้จากการตรวจเอกสาร และที่มีอยู่เดิมในพิพิธภัณฑ์ เพื่อจัดทำบัญชีรายชื่อไรศัตรูพืชเศรษฐกิจส่งออกทั้ง 17 ชนิด เพื่อการส่งออกต่อไป

5. จดบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของไรที่เก็บได้บนพืชเศรษฐกิจส่งออกทั้ง 17 ชนิดรวมทั้งลักษณะการทำลาย สถานที่ วันที่ ๆ เก็บตัวอย่างไรได้ ผู้เก็บ และพืชอาศัยที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียง

เวลาและสถานที่

เวลา : ตุลาคม 2546 - ตุลาคม 2550

สถานที่ : อ.บางแพ อ.เมือง จ.ราชบุรี อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี, อ..เวียงเหนือ อ. เวียงใต้ จ.ลำปาง, อ.เมือง อ.พรหมพิราม จ.พิษณุโลก, อ.แกลง จ.ระยอง อ. ท่ายาง อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี, อ.ปากช่อง อ.วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา, อ.แม่สาย อ.ภูกามยาว อ.แม่สรวย จ.เชียงราย, อ.แกลง จ.ระยอง, อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่, อ. หนองเสือ จ.ปทุมธานี

ผลและวิจารณ์การทดลอง

การศึกษาชนิดไรศัตรูส่งออก

ผลจากการสำรวจและจำแนกชนิดของไรศัตรูพืชส่งออกจากประเทศไทยรวม 17 ชนิด ได้แก่ ทุเรียน มังคุด ลำไย ลิ้นจี่ มะม่วง ฝรั่ง สับปะรด ส้มโอ มะขามหวาน หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพดอ่อน พริก ขิง กระเจี๊ยบเขียว ข้าว กวนอิม และแก้วมังกร ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2546 จนถึงตุลาคม 2550 พบไรบนพืชส่งออกรวมทั้งสิ้น 8 วงศ์ 19 ชนิด 2 อันดับ (Order) คือ Acariformes และ Parasitiformes และ 2 อันดับย่อย คือActinedida Gamasida โดยเป็นไรศัตรูพืชรวม 4 วงศ์ คือ Tetranychidae 6 ชนิด Tenuipalpidae 2 ชนิด Eriophyidae 1 ชนิด และ Tarsonemidae 1 ชนิด

ที่เหลืออีก 10 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ อยู่ในวงศ์ Phytoseiidae 6 ชนิด Cheyletidae 1 ชนิด Cunaxidae 1 ชนิด Stigmaeidae 1 ชนิด และ Ascidae 1 ชนิด ดังแสดงใน Table 1 และ 2

จากการเก็บรวบรวมไรบนพืชส่งออกจากประเทศไทยรวม 17 ชนิด ที่ได้จากพิพิธภัณฑ์ของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กรมวิชาการเกษตร ตั้งแต่มีนาคม 2517 จนถึงเมษายน 2550 พบไรรวมทั้งสิ้น 12 วงศ์ 96 ชนิด อยู่ใน 2 อันดับ (order) คือ Acariformes และ Parasitiformes และ 3 อันดับย่อยคือ Acaridae Actinedida และ Gamasida โดยเป็นไรศัตรูพืชรวม 5 วงศ์ 40 ชนิด ที่เหลืออีก 7 วงศ์ 56 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ โดยแบ่งเป็นไรที่พบในพืชต่าง ๆ ดังนี้คือ

ไรที่พบบนทุเรียนรวมทั้งสิ้น 7 วงศ์ 24 ชนิด โดยแบ่งเป็นไรศัตรูพืช 1 วงศ์ 6 ชนิด ทั้งหมดเป็นไรศัตรูที่เข้าทำลายใบทุเรียน ส่วนที่เหลืออีก 6 วงศ์ 18 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนมังคุดรวมทั้งสิ้น 5 วงศ์ 6 ชนิด โดยแบ่งเป็นไรศัตรูพืช 2 วงศ์ 2 ชนิด ที่เหลืออีก 3 วงศ์ 4 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนลำไยรวมทั้งสิ้น 6 วงศ์ 17 ชนิด โดยแบ่งเป็นไรศัตรูพืช 3 วงศ์ 7 ชนิด ทั้งหมดเป็นไรศัตรูพืชที่เข้าทำลายใบ ที่เหลืออีก 3 วงศ์ 10 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนลิ้นจี่ รวมทั้งสิ้น 10 วงศ์ 24 ชนิด โดยแบ่งเป็นไรศัตรูพืช 5 วงศ์ 8 ชนิด ที่เหลืออีก 5 วงศ์ 16 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนมะม่วงรวมทั้งสิ้น 7 วงศ์ 19 ชนิด โดยแบ่งเป็นไรศัตรูพืช 3 วงศ์ 9 ชนิด ที่เหลืออีก 4 วงศ์ 10 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนฝรั่ง รวมทั้งสิ้น 3 วงศ์ 4 ชนิด เป็นไรศัตรูที่เข้าทำลายใบทั้งหมด 1 วงศ์ 2 ชนิด ที่เหลืออีก 2 วงศ์ 2 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนสับปะรด มีทั้งหมด 3 วงศ์ 3 ชนิด เป็นไรศัตรูพืช 1 ชนิด พบเข้าทำลายใบ ที่เหลืออีก 2วงศ์ 2 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนส้มโอมีทั้งหมด 10 วงศ์ 27 ชนิด เป็นไรศัตรูพืช 4 วงศ์ 11 ชนิด ทั้งหมดเข้าทำลายใบ ที่เหลืออีก 6 วงศ์ 16 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนพริกมี 3 วงศ์ 3 ชนิด เป็นไรศัตรูพืช 2 วงศ์ 2 ชนิด และที่เหลืออีก 1 ชนิดเป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนกระเจี๊ยบเขียว 4 วงศ์ 7 ชนิด เป็นไรศัตรูพืช 1 วงศ์ 2 ชนิด ที่เหลืออีก 3 วงศ์ 5 ชนิด เป็นไรตัวห้ำ

ไรที่พบบนข้าวมี 10 วงศ์ 14 ชนิด เป็นไรศัตรูพืช 3 วงศ์ โดยพบ 5 ชนิด เข้าทำลายใบ อีก 1 ชนิด เข้าทำลายเมล็ดข้าวสาร ที่เหลืออีก 7 วงศ์ 8 ชนิดเป็นไรตัวห้ำ ดังแสดงใน Table 3 และ 4

สำหรับพืชอีก 5 ชนิด คือ หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพดฝักอ่อน ขิง กวนอิม และแก้วมังกรยัง สำรวจไม่พบไรศัตรูพืช

เอกสารอ้างอิง

วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2544. ไรศัตรูพืช. กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. 192 น.

Astridge, D. and H. Fay. (2004). False spider mite in rare fruit. [Online]. vailable:http://dpi.qld.gov.au/ horticulture/5101.html [2004, Fabruary 4]

Cranshaw, W. S. and D. C. Sclar. (2004). Spider mite. [Online]. Available: http://www.ext.colostate.edu/pubs/insect/05507.html [2004, August 24]

Feng, Q., M.Zeng., J. Chen., H. Liu., and D. He. (2005). Occurrence and chemical control of Longan gall mites during panicle development. [Online]. Available:// www.actahort.org/books/665/665_50.thm [2005, August 7]

Hanson, T., and E. B. Walker. (2204). Spider mite on Conifers *Oligonychus ununguis* (Jacobi). [Online]. Available: http://www.forestpests.org/vermont/spiderconifer.html[2004, September 8]

Jayma, L. and F. L. Ronald. 2005. *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) [Online]. Available:http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/p_latus.htm [2005, November 7]

Mossler, M. A. and O. N. Nesheim. (2005). Tropical fruit pest Management strategic plan(PMSP). [Online]. Available:htttp://www.edis.ifas.ufl/edu/PI062 [2005, November 7]

Table 1. Mites found on exported crops from different locations in Thailand. (October 2004 – October 2007)

Scientific name of mite	Host plant	Part of plants infected by mite pests	Location
Mite pest			
Brevipalpus phoenicis (Geijskes)	Tamarind	leaf	Lampang
Cisaberoptus kenyae Keifer	Mango	leaf	Kanchanaburi
Dolichotetranychus floridanus (Banks)	Pineapple	leaf	Phetchaburi
Eutetranychus africanus (Tucker)	Durian	leaf	Rayong
Oligonychus biharensis (Hirst)	Guava	leaf	Kanchanaburi
Oligonychus biharensis (Hirst)	Guava	leaf	Ratchaburi
Oligonychus biharensis (Hirst)	Durian	leaf	Rayong
Oligonychus sp.	Tamarind	leaf	Lumpang
Polyphagotarsonemus latus (Banks)	Chilli	leaf	Ratchaburi
			Kanchanaburi
Tetranychus macfarlanei Baker and Pritchard	Okra	leaf	Phetchaburi
			Kanchanaburi
	Okra		Phetchaburi

Table 2. Predatory mites found on exported crop from different location of Thailand (October 2004 – October 2007)

Scientific name of mite	Host plant	Part of plants infected by mite pests	Location
Predatory mite			
Amblyseius baraki Athias-Henriot	Pineapple	leaf	Phetchaburi
Amblyseius cinctus Corpuz and	Chilli	leaf	Nakhon Ratchasima
Rimado	Dragon Fruit	fruit	Chiangrai
Amblyseius imbricatus Corpuz &	Rice	leaf	Phitsanulok
Rimando			
Amblyseius longispinosus (Evans)	Okra	leaf	Phetchaburi
			Kanchanaburi
Amblyseius nicholsi Ehara and Lee	Tamarind	leaf	Lampang
	Chilli	leaf	Nakhon Ratchasima
		leaf	Ratchaburi
Family Cheyletidae	Pineapple	leaf	Phetchaburi
Family Cunaxidae	Guava	leaf	Ratchaburi
	Mango		Kanchanaburi
Family Phytoseiidae	Guava	leaf	Ratchaburi
	Chilli	leaf	Kanchanaburi
Family Stigmaeidae	Guava	leaf	Kanchanaburi
			Ratchaburi
Family Ascidae	Dragon Fruit	fruit	Phayao

Table 3. Mites found on exported crop from different locations in Thailand (March 1974 – April 2005)

Scientific name of mite	Host plant	Part of plants infected by mite pests	Location
Mite pest			
Aceria litchii (Keifer)	Litchi	leaf	Samut Prakan, Chiang Rai, Chiang Mai, Nakhon Ratchasima, Phetchabun, Nan
Aceria longana Boczek and Knihinicki	Longan	leaf	Chiang mai, Lamphun, Suphan Buri, Lampang
Aceria mangiferae Sayed	Mango	leaf	Bangkok, Nong Khai, Ratchaburi, Nakhon Ratchasima, Kanchanaburi, Chachoengsao
Aceria sp.	Longan	leaf	Chiang Mai, Nakhon Ratchasima
Aceria sp.	Litchi	leaf	Nakhon Ratchasima
Brevipalpus californicus (Banks)	Pomelo	leaf	Samut Songkhram
Brevipalpus phoenicis (Geijskes)	Longan	leaf	Lamphun, Phichit
Brevipalpus phoenicis (Geijskes)	Litchi	leaf	Chiang Rai
Brevipalpus phoenicis (Geijskes)	Pomelo	leaf	Kanchanaburi, Prachin Buri, Chai Nat, Rayong, Loei, Nakhon Pathom, Chumphon, Trang, Phichit, Chiyaphum, Phetchaburi,

Scientific name of mite	Host plant	Part of plants infected by mite pests	Location
			Sukhothai, Uttaradit, Chumphon
Brevipalpus sp.	Longan	leaf	Chiang Mai
Cisaberoptus kenyae Keifer	Mango	leaf	Bangkok, Pathum Thani, Chanthaburi, Prachin Buri, Chiang Mai, Suphan Buri, Sakon Nakhon, Kanchanaburi, Nakhon Si Thammarat, Phrae
Dolichotetranychus floridanus (Banks)	Pineapple	leaf	Phetchaburi
Eotetranychus cendanai Rimando	Pomelo	leaf	Phichit, Prachin Buri, Pathum Thani, Chai Nat, Nakhon Si Thammarat, Sukhothai
Eriophyes litchii (Keifer)	Litchi	leaf	Bangkok, Chiang Mai, Samut Prakan, Chiang Rai, Chanthaburi, Samut Songkhram
Eriophyes sp.	Longan	leaf	Chiang Mai, Lamphun
Eutetranychus africanus (Tucker)	Durian	leaf	Chanthaburi, Phrae, Si Sa Ket
Eutetranychus africanus (Tucker)	Pomelo	leaf	Chai Nat, Phichit, Chiang Mai, Kanchanaburi, Pathum Thani, Bangkok, Saraburi, Ratchaburi, Nakhon Pathom,

Scientific name of mite	Host plant	Part of plants infected by mite pests	Location
			Sukhothai, Chumphon, Nakhon Si Thammarat
Eutetranychus orientalis (Klein)	Pomelo	leaf	Phetchabun
Eutetranychus orientalis (Klein)	Durian	leaf	Prachin Buri, Chanthaburi
Eutetranychus orientalis (Klein)	Litchi	leaf	Chiang Mai
Hemitarsonemus sp.	Litchi	leaf	Kamphaeng Phet
Oligonychus biharensis (Hirst)	Durian	leaf	Chanthaburi, Chumphon, Prachin Buri, Rayong, Uttaradit
Oligonychus biharensis(Hirst)	Longan	leaf	Chiang Mai ,Phetchabun Lamphun,Phichit
Oligonychus biharensis (Hirst)	Litchi	leaf	Bangkok, Chiang Mai, Chai Nat, Chiang Rai, Chanthaburi, Nan
Oligonychus biharensis (Hirst)	Guava	leaf	Bangkok, Kanchanaburi
Oligonychus coffeae (Nietner)	Mangosteen	leaf	Chanthaburi
Oligonychus coffeae (Nietner)	Guava	leaf	Bangkok
Oligonychus mangiferus (Rahman and Sapra)	Mango	leaf	Nakhon Pathom, Bangkok, Ratchaburi, Pathum Thani, Phetchabun, Chachoengsao,

Scientific name of mite	Host plant	Part of plants infected by mite pests	Location
			Kanchanaburi, Chai Nat, Chumphon, Suphan Buri
Oligonychus modestus (Banks)	Rice	leaf	Chai Nat, Bangkok
Oligonychus sp.	Longan	leaf	Chiang Mai, Lamphun, Nakhon Pathom
Oligonychus sp.	Litchi	leaf	Nong Khai, Chiang Mai
Oligonychus sp.	Mango	leaf	Nakhon Pathom
Oligonychus sp.	Rice	leaf	Bangkok
Panonychus citri (McGregor)	Durian	leaf	Chanthaburi
Phyllocoptruta oleivora (Ashmead)	Pomelo	leaf	Phichit, Prachin Buri, Saraburi, Pathum Thani, Chai Nat, Sukhothai, Loei, Phetchaboon, Samut Songkhram, Chaiyaphum, Phetchaburi, Chumphon, Nakhon Si Thammarat
Polyphagotarsonemus latus (Banks)	Mangosteen	fruit	Chanthaburi
Polyphagotarsonemus latus (Banks)	Pomelo	leaf	Nakhon Pathom, Phichit, Prachin Buri, Chai Nat, Bangkok, Chumphon, Nakhon Si Thammarat, Prachin Buri
Polyphagotarsonemus latus (Banks)	Mango	leaf	Bangkok, Chiang Mai
Polyphagotarsonemus latus (Banks)	Chilli	leaf	Ratchaburi, Phichit, Kanchanaburi

Scientific name of mite	Host plant	Part of plants infected by mite pests	Location
Schizotetranychus yoshimekii Ehara and Wongsiri	Rice	leaf	Bangkok, Chachoengsao
Steneotarsonemus spinki Smiley	Rice	leaf	Bangkok, Philippine, Phitsanulok, Chai Nat
Suidasia pontifica Oudemans	Rice	Rice	Bangkok
Tarsonemus sp.	Mango	leaf	Ratchaburi
Tarsonemus sp.	Pomelo	leaf	Prachin Buri, Phichit, Nakhon Pathom, Chai Nat
Tetranychus fijiensis Hirst	Durian	leaf	Chanthaburi, Surat Thani, Rayong
Tetranychus fijiensis Hirst	Mango	leaf	Kanchanaburi
Tetranychus fijiensis Hirst	Pomelo	leaf	Songkhla, Phichit, Prachin Buri, Chai Nat, Rayong, Loei, Phatthalung, Chumphon, Nakhon Si Thammarat, Sukhothai, Uttaradit, Chumphon
Tetranychus fijiensis Hirst	Okra	leaf	Nakhon Pathom
Tetranychus kanzawai Kishida	Mango	leaf	Chanthaburi
Tetranychus kanzawai Kishida	Rice	leaf	Bangkok
Tetranychus macfarlanei Baker and Pritchard	Okra	leaf	Bangkok , Pathum Thani, , Ratchaburi, Kanchanaburi, Nakhon Pathom, Ang Thong, Phetchaburi
Tetranychus sp.	Pomelo	leaf	Chai Nat

Scientific name of mite	Host plant	Part of plants infected by mite pests	Location
Tetranychus sp.	Chilli	leaf	Chiang Mai
Tetranychus taiwanicus Ehara	Mango	leaf	Kanchanaburi
Tetranychus taiwanicus Ehara	Pomelo	leaf	Prachin Buri, Phichit, Kanchanaburi, Nakhon Pathom, Bangkok, Chai Nat, Loei, Chumphon, Surat Thani, Samut Songkhram

Table 4. Predatory mites found on exported crop from different locations of Thailand (March 1974 – April 2005)

Scientific name of mite	Host plant	Location
Predatory pest		
Agistemus exsertus Gonzalez	Rice	Chai Nat
Agistemus sp.	Durian	Chanthaburi
Agistemus sp.	Litchi	Phetchabun, Chiang Mai, Nan
Agistemus sp.	Mango	Ratchaburi, Nakhon Pathom, Nakhon Ratchasima, Kanchanaburi, Chiang Rai
Agistemus sp.	Pomelo	Nakhon Si Thammarat, Prachin Buri, Nakhon Si Thammarat, Chai Nat
Amblyseius asiaticus	Litchi	Sakon Nakhon
Amblyseius baraki	Pineapple	Phetchaburi
Amblyseius cinctus Corpuz and Rimando	Durian	Chanthaburi, Prachin Buri, Rayong, Chumphon
Amblyseius cinctus Corpuz and Rimando	Longan	Lamphun, Suphan Buri, Nan
Amblyseius cinctus Corpuz and Rimando	Mangosteen	Chanthaburi
Amblyseius cinctus Corpuz and Rimando	Okra	Kanchanaburi
Amblyseius cinctus Corpuz and Rimando	Pomelo	Phichit, Prachin Buri, Chai Nat, Rayong, Nakhon Pathom, Chumphon, Loei, Nakhon Si Thammarat, Chaiyaphum, Phrae, Surat Thani
Amblyseius deleoni Muma and Denmark	Durian	Chanthaburi
Amblyseius deleoni Muma and Denmark	Litchi	Samut Songkhram
Amblyseius deleoni Muma and Denmark	Mango	Nakhon Si Thammarat, Suphan Buri

Scientific name of mite	Host plant	Location
Amblyseius deleoni Muma and Denmark	Pomelo	Nakhon Pathom, Phatthalung, Trang, Samut Songkhram, Nakhon Si Thammarat, Chai Nat, Phrae, Loei, Phichit, Rayong, Kanchanaburi
Amblyseius heidrunae	Durian	Chanthaburi
Amblyseius imbricatus Corpuz and Rimando	Rice	Chai Nat, Chiang Rai, Sukhothai, Phitsanulok
Amblyseius lagoensis (Muma)	Durian	Chanthaburi, Rayong, Nakhon Si Thammarat
Amblyseius largoensis (Muma)	Litchi	Chiang Mai
Amblyseius largoensis (Muma)	Longan	Nakhon Pathom
Amblyseius largoensis (Muma)	Mango	Chachoensao, Bangkok, Pathum Thani, Nakhon Pathom, Phetchaburi, Samut Sakhon, Ratchaburi
Amblyseius largoensis (Muma)	Okra	Pathum Thani
Amblyseius largoensis (Muma)	Pomelo	Chai Nat, Nakhon Pathom, Phetchaburi, Suphan Buri, Ratchaburi, Phatthalung
Amblyseius longispinosus (Evans)	Durian	Chanthaburi
Amblyseius longispinosus (Evans)	Mango	Chanthaburi
Amblyseius longispinosus (Evans)	Okra	Pathum Thani, Kanchanaburi, Nakhon Pathom, Angthong, Phetchaburi
Amblyseius longispinosus (Evans)	Pomelo	Chai Nat, Pathum Thani, Nakhon Pathom, Sakon Nakhon
Amblyseius longispinosus (Evans)	Rice	Bangkok
Amblyseius multidentatus Swirski and Shechter	Pomelo	Chai Nat
Amblyseius nicholsi Ehara and Lee	Litchi	Nakhon Ratchasima
Amblyseius nicholsi Ehara and Lee	Longan	Kanchanaburi
Amblyseius nicholsi Ehara and Lee	Mango	Ratchaburi, Kanchanaburi
Amblyseius paraaecrialis Muma	Durian	Chanthaburi
Amblyseius paraaerialis Muma	Litchi	Chiang Rai, Chiang Mai
Amblyseius paraaerialis Muma	Longan	Chiang Mai

Scientific name of mite	Host plant	Location
Amblyseius paraaerialis Muma	Pomelo	Phrae, Loei, Chai Nat, Phichit
Amblyseius peltatus Vander Merwe	Durian	Chanthaburi, Rayong
Amblyseius peltatus Vander Merwe	Litchi	Nakhon Ratchasima
Amblyseius phillipsi McMurtry and Schicha	Durian	Chanthaburi
Amblyseius phillipsi McMurtry and Schicha	Litchi	Chiang Mai
Amblyseius phillipsi McMurtry and Schicha	Longan	Chiang Mai , Phichit
Amblyseius siamensis	Durian	Chanthaburi
Amblyseius sp.	Durian	Chanthaburi
Amblyseius sp.	Litchi	Samut Songkhram Chiang Mai, Nong Khai, Chai Nat
Amblyseius sp.	Longan	Lamphun
Amblyseius sp.	Mango	Chachoengsao, Nakhon Pathom Ratchaburi
Amblyseius sp.	Pomelo	Rayong, Chai Nat, Nakhon Si Thammarat
Amblyseius syzygii Gupta	Durian	Chanthaburi, Rayong
Amblyseius syzygii Gupta	Litchi	Chiang Mai
Amblyseius syzygii Gupta	Mango	Kanchanaburi
Amblyseius syzygii Gupta	Mangosteen	Nakhon Si Thammarat
Amblyseius syzygii Gupta	Pomelo	Rayong, Kanchanaburi, Loei, Uttaradit
Amblyseius tareensis Chicha	Durian	Chanthaburi
Amblysieus longispinosus (Evans)	Chilli	Bangkok
Amblysius cinctus Corpuz and Rimando	Mango	Kanchanaburi, Sakon Nakhon
Family Ascidae	Durian	Rayong, Chanthaburi
Family Ascidae	Mangosteen	Chanthaburi
Family Ascidae	Pomelo	Phatthalung, Chumphon, Samut Songkhram, Chumphon, Prachin Buri, Nakhon Si Thammarat

Scientific name of mite	Host plant	Location
Family Ascidae	Rice	Chai Nat, Singburi, ไม่ระบุ
Family Bdellidae	Durian	Chanthaburi, Loei, Nakhon Pathom, Rayong
Family Bdellidae	Litchi	Samut Prakan,Chiang Mai Chanthaburi Nakhon ratchasima, Sakon Nakhon, Nan
Family Bdellidae	Mango	Bangkok, Sakon Nakhon, Nakhorn Phanom, Nakhon Ratchasima, Chanthaburi,
Family Bdellidae	Pomelo	Chai Nat, Chumphon
Family Cheyletidae	Litchi	Chanthaburi
Family Cheyletidae	Pineapple	Phetchaburi
Family Cheyletidae	Pomelo	Nakhon Pathom
Family Cheyletidae	Rice	Phra Nakhon Si Ayutthaya
Family Cunaxidae	Durian	Chanthaburi, Rayong, Chumphon,
Family Cunaxidae	Litchi	Bangkok, Phetchabun ,Samut Songkhram Nakhon Ratchasima,Chiang Mai
Family Cunaxidae	Longan	Lamphun, Chiang Mai
Family Cunaxidae	Mango	Kanchanaburi, Chiang Mai, Nakhorn Ratchasima, Ratchaburi, Phrae
Family Cunaxidae	Pumelo	Phichit, Kanchanaburi, Nakhon Pathom, Chai Nat, Samut Songkhram, Rayong, Loei, Trang, Chiyapum, Sukhothai, Nakhon Si Thammarat, Chumphon
Family Cunaxidae	Rice	Bangkok
Family Parasitidae	Rice	Bangkok
Family Phytoseiidae	Guava	Nakhon Pathom
Family Phytoseiidae	Okra	Nakhon Pathom
Phytoseius hawaiiensis Prasad	Litchi	Chiang Mai
Phytoseius hawaiiensis Prasad	Longan	Chiang Mai, Lamphun, Suphan Buri
Phytoseius hawaiiensis Prasad	Pomelo	Phatthalung, Chai Nat, Phichit, Phetchaburi
Phytoseius hongkongensis Swirski and Shechter	Litchi	Chiang Mai

Scientific name of mite	Host plant	Location
Phytoseius hongkongensis Swirski and Shechter	Pomelo	Chai Nat, Nakhon Pathom
Family Stigmaeidae	Durian	Chanthaburi, Rayong
Family Stigmaeidae	Guava	Kanchanaburi
Family Stigmaeidae	Longan	Chiang Mai, Chanthaburi, Nakhon Ratchasima, Phetchabun, Phrae, Chiang Rai
Family Stigmaeidae	Mangosteen	Chanthaburi
Family Stigmaeidae	Okra	Nakhon Pathom, Kanchanaburi
Family Stigmaeidae	Pomelo	Ratchaburi, Prachin Buri, Chanthaburi, Chai Nat, Phichit, Pathum Thani, Saraburi, Nakhon Pathom, Loei
Family Stigmaeidae	Rice	Chai Nat, Pathum Thani
Typhlodromus sp.	Durian	Chanthaburi
Typhlodromus sp.	Litchi	Chiang Rai

การศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูพืชส่งออก

Survey and Identify the Species of Snail and Slug Pest in Some Economic Crops that Having Been Exported for Arranging the PL / PRA

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด
ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจชนิดหอยทากและทากในแปลงพืชส่งออก ได้แก่ ส้มโอ, Pummelo ,*Citrus grandis* (L.) : Rutaceae ทุเรียน ,Durian (*Durio zibethinus* L. : Bombacaceae แก้วมังกร , Dragon fruit , *Hylocereus undatus* (Haw.) Britt & Rose : Cactaceae กวนอิม, Lucky Bamboo , *Dracaena sanderiana* Sander ex.Mast. : Ruscaceae โดยสุ่มตรวจนับรอบลำต้นใต้ทรงพุ่มแห่งละ 2 ตารางเมตร รวม10 ตำแหน่งต่อสวนส้มโอและทุเรียน สำหรับแก้วมังกรและกวนอิม สุ่มตรวจนับ 10 แห่งๆ ละ 1 ตารางเมตร พบหอยทากที่เป็นศัตรูพืช 3 ชนิด, 4 ชนิด,4 ชนิด และ 0 ชนิด ตามลำดับ

คำนำ

การติดต่อค้าขายผลผลิตทางการเกษตรกับประเทศต่างๆนั้น จำเป็นต้องมีการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่จะนำเข้านั้นๆ(Pest list) ได้แก่แมลง ไร โรค วัชพืชและสัตว์ พร้อมรายละเอียดตามแบบฟอร์มที่ได้กำหนดและยอมรับกันเป็นสากล ให้แก่ประเทศที่จะเป็นคู่ค้าในอนาคตได้รับทราบล่วงหน้า ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการสำรวจหอยทากและทากในแหล่งผลิตพืชต่างๆทั่วประเทศ เพื่อเก็บรวบรวมเป็นข้อมูลพื้นฐานของประเทศไทยเสียก่อน การศึกษานี้เพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์หอยทากและทากศัตรูพืช ทำให้ได้บัญชีรายชื่อหอยทากและทากศัตรูพืชในส่งออกเข้าปีละ 2 พืช รวม 4 พืช ได้แก่ ส้มโอ, Pummelo ,*Citrus grandis* (L.) : Rutaceae ทุเรียน ,Durian (*Durio zibethinus* L. : Bombacaceae แก้วมังกร , Dragon fruit , *Hylocereus undatus* (Haw.) Britt & Rose : Cactaceae กวนอิม, Lucky Bamboo , *Dracaena sanderiana* Sander ex.Mast. : Ruscaceae และรวบรวมตัวอย่างเก็บไว้ใน collection เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิง

รหัสโครงการ 07-01-49-07

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงพืชเศรษฐกิจที่นำเข้าได้แก่ ส้มโอ ทุเรียน แก้วมังกร กวนอิม
- ตู้กระจก กล่องพลาสติกและถุงพลาสติกใส่หอยทาก
- เวอร์เนียร์ คาลิปเปอร์
- กระดาษเช็ดมือ(paper towel)
- ดินขุยมะพร้าว
- แว่นขยาย (hand lens)
- กล้องจุลทรรศน์
- กล้องถ่ายภาพ

วิธีการ

สำรวจและนับจำนวนประชากร หอยทากและทากที่เป็นศัตรูพืช ในแปลงพืชนำเข้าในพืชจำพวกไม้ผล สำรวจในบริเวณพื้นที่รอบโคนต้นไม้ผลนั้นๆ และขยายออกมาโดยรอบภายใต้ทรงพุ่ม จำนวน 2 ตารางเมตรต่อต้น ในพืชไร่และไม้ดอก ตรวจนับตารางเมตร 10 ตำแหน่ง ต่อไร่ และศึกษาการทำลายพืชนั้นๆในแปลงโดยวิธีการสำรวจที่ลำต้น กิ่งและใบ ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่างหอยที่มีชีวิตเพื่อนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และศึกษาชีววิทยาด้านการกินอาหาร รวมทั้งเก็บตัวอย่างเปลือกหอย นำมาทำความสะอาดและจัดเก็บเป็นหมวดหมู่ในตู้เก็บตัวอย่างหอยทาก

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550
ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา
แหล่งปลูกพืชทั่วประเทศ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

หอยทากมีทั้งชนิดที่กินพืชสดเช่นใบและยอดอ่อน กินซากพืชที่เน่าเปื่อย กินเนื้อหอยทากชนิดอื่น และกินตะไคร่ตามลำต้นพืชใหญ่ โดยมิได้เจาะจงว่าเป็นพืชชนิดใด ดังนั้นในแต่ละพืชจึงมุ่งเน้นสำรวจในสวนหรือไร่ที่มีวัชพืชปกคลุมหรืออยู่ในบริเวณที่มีความชื้นสูง รวมทั้งอยู่ใกล้ภูเขาหรือแหล่งน้ำเท่านั้น

จากการสำรวจชนิดหอยทากในพืชนำเข้า 4 ชนิด ได้ผลดังนี้

ส้มโอ, Pummelo ,*Citrus grandis* (L.) : Rutaceae อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่พบหอยทากศัตรูพืชได้แก่ หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* (Tomlin) : Arionphantidae จังหวัดพิจิตร พบ หอยศัตรูพืช 3 ชนิดได้แก่ หอยทากยักษ์อาฟริกา ,Giant African snail *Achatina fulica* Bowdich : Achatinidae หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* (Tomlin) : Arionphantidae หอยเจดีย์เล็ก Tiny Awlsnail *Lamellaxis gracilis* (Hutton) : Subulinidae ที่ไม่ใช่ศัตรูพืช 1 ชนิด ได้แก่ *Pseudobuliminus siamensis* (Redfield) : Bradaybaenidae

ทุเรียน ,Durian (*Durio zibethinus* L. : Bombacaceae จังหวัดระยอง และจันทบุรี พบหอยทากศัตรูพืช 3 ชนิด ได้แก่ หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* (Tomlin) : Arionphantidae หอยทากยักษ์อาฟริการิกา ,Giant African snail *Achatina fulica* Bowdich : Achatinidae หอยสาริกา *Sarika* spp. : Arionphantidae และ ทากฟ้า slug *Semperula siamensis* (Martens) Veronicellidae พบหอยทากที่ไม่ใช่ศัตรูพืช 2 ชนิดได้แก่ หอยอำพัน , Amber snail *Succinea* spp. : Succineidae หอยขมิ้น *Amphidromus* spp. : Camnaenidae

แก้วมังกร , Dragon fruit , *Hylocereus undatus* (Haw.) Britt & Rose : Cactaceae อำเภอเมือง เชียงใหม่ และอำเภอหาดใหญ่ สงขลา พบหอยทากศัตรูพืชได้แก่ หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* (Tomlin) : Arionphantidae

ไร่แก้วมังกรจังหวัดลพบุรีพบหอยทากศัตรูพืช 3 ชนิด ได้แก่ หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* (Tomlin) : Arionphantidae หอยทากยักษ์อาฟริกา Giant African snail *Achatina fulica* Bowdich : Achatinidae หอยสาริกา *Sarika* spp. : Arionphantidae พบหอยทากที่ไม่ใช่ศัตรูพืช 2 ชนิดได้แก่ หอยหอม *Cyclophorus* spp. : Cyclophoridae และไม่ทราบชื่อ 1 ชนิด

ไร่แก้วมังกรจังหวัดสมุทรสาคร พบ หอยทากศัตรูพืช 1 ชนิด ได้แก่ หอยเจดีย์ Tiny Awlsnail *Lamellaxis gracilis* (Hutton) : Subulinidae

กวนอิม, Lucky Bamboo , *Dracaena sanderiana* Sander ex. Mast. : Ruscaceae อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย ไม่พบหอยทากศัตรูพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พบหอยทากที่เป็นศัตรูพืชในส้มโอ 3 ชนิด ทุเรียน 4 ชนิด แก้วมังกร 4 ชนิด และ ในกวนอิมไม่พบ และการสำรวจกระทำในพื้นที่จำนวนน้อยมากเนื่องจากงบประมาณจำกัด หากเป็นไปได้ควรมีการสำรวจทุกภาคของประเทศ

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.

เต็ม สมิตินันท์. 2544 . ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย.บริษัทประชาชนจำกัด กรุงเทพฯ . 812 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.

Panha, Somsak . 1996. A checklist and Classification of the Terrestrial Pulmonate Snails of Thailand. Walkerana, 1995 – 1996, 8(19) : 31 – 40 .

Solem Alan. 1966. Some Non-Marine Mollusks from Thailand, with Notes on Classification of the Helicarionidae. Spolia Zool. Mus. Haun., Copen.

การศึกษาชนิดของโรคแก้วมังกรและกวนอิมเพื่อการส่งออก

Diseases Survey and Diagnosis for Import Dragon Fruit and Ribbon Plant

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

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคชนิดต่าง ๆ ของแก้วมังกรและกวนอิม จากจังหวัดเชียงราย พะเยา ระยอง ราชบุรี และสมุทรสาคร นำตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2549- กันยายน 2550 พบโรคของแก้วมังกรหลายชนิด ได้แก่ โรคเน่าเปียกที่ดอก สาเหตุเกิดจากรา *Choanephora* โรคผลเน่า สาเหตุเกิดจากรา *Drechslera cactivora* โรคแอนแทรคโนสที่ผล สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum* sp. โรค stem canker สาเหตุเกิดจากรา *Dothiorella* sp. และโรคแอนแทรคโนสบนลำต้น สาเหตุเกิดจาก *Colletotrichum gloeosporioides*

จากการสำรวจโรคกวนอิมพบโรคลำต้นเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* โรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากรา *Colleotrichum gloeosporioides* และโรคโคนเน่า สาเหตุเกิดจาก *Aspergillus niger*

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ในปัจจุบันการนำสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออกและนำเข้านั้นจะต้องมีข้อมูลการระบาดของศัตรูพืชของประเทศที่จะส่งสินค้าออกและประเทศคู่ค้า และประเทศไทยเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก โดยสมาชิกมีพันธกรณีต้องปฏิบัติภายใต้ข้อตกลงด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement)

แก้วมังกร หรือ Dragon fruit เป็นพืชในตระกูลแคคตัส มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Hylocercus undatus* (Haw) Brit. & Rose มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกากลาง แก้วมังกรมีลักษณะเป็นไม้เลื้อย สามารถปลูกได้ดีในทุกสภาพพื้นที่ ปัจจุบันนิยมปลูกแพร่หลายในหลายจังหวัดของประเทศไทย

กวนอิม หรือ Ribbon plant เป็นพืชในตระกูล Lilaceae มีหลายชนิด ได้แก่ กวนอิมทอง มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Dracaena sonderiana* "Gold" กวนอิมเงิน มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Dracaena sonderiana*"silver" มีถิ่นกำเนิดในประเทศคาเมรูนและคองโก กวนอิมทองเป็นพรรณไม้ยืนต้นคล้ายกับสกุลหวาย กวนอิมทองต่างกับกวนอิมเงินที่ลำต้นมีสีขาวหรือเหลือง ส่วนของใบนั้นกวนอิมทองพื้นใบสีเขียวอ่อนสลับกับสีเหลืองอ่อน หรือเหลืองทองพาดไปตามยาวของใบ คนไทยกวนอิมทองเป็นไม้มงคล

ในปัจจุบันแก้วมังกรและกวนอิมเป็นพืชส่งออกที่มีความสำคัญมากขึ้นในประเทศไทย และประเทศผู้นำเข้าต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูของสินค้าเกษตร ดังนั้นการสำรวจ การประเมินความรุนแรง และการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุของโรคแก้วมังกรและกวนอิมจึงมีความสำคัญ เนื่องจากได้บัญชีรายชื่อโรคของพืชทั้งสองชนิดซึ่งเป็นข้อมูลการระบาดและความรุนแรงของโรคในปัจจุบัน ตลอดจนทราบชนิดสาเหตุของโรค เพื่อนำข้อมูลเหล่านี้ไปวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชต่อไป โดยการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาอนุกรมวิธานทั้งหมดไปจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญอย่างยิ่งที่ต้องส่งให้ประเทศคู่ค้าได้นำไปพิจารณาก่อนนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศไทย ในขณะเดียวกันข้อมูลด้านอนุกรมวิธานก็ใช้เป็นข้อมูลสำคัญของประเทศสำหรับเปรียบเทียบกับข้อมูลบัญชีรายชื่อของประเทศคู่ค้าที่ส่งมา เพื่อประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ก่อนนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศคู่ค้านอกจากนี้ข้อมูลด้านอนุกรมวิธานยังเป็นประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน (Quarantine Pest) เพื่อการควบคุมศัตรูพืชจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาแพร่กระจายในประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ส่วนของแก้วมังกรและกวนอิมที่เป็นโรค

2. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิล แอลกอฮอล์ 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. สืบค้นข้อมูลโรคแก้วมังกรและกวนอิมในประเทศไทย

สืบค้นข้อมูลโรคแก้วมังกรและกวนอิมในประเทศไทย จากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเลคโทรนิค

2. การสำรวจรวบรวม และศึกษาโรคของพุทราและทับทิม

เก็บตัวอย่างโรคแก้วมังกรและกวนอิมที่แสดงอาการโรคที่ใบ ดอก ผล ลำต้น และราก โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติค 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)

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

4. การพิสูจน์เชื้อ

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของแก้วมังกรหรือกวนอิม โดยทำแผลและไม่ทำแผลอย่างละ 10 เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

เวลา	**เริ่มต้น – สิ้นสุด**
	ตุลาคม 2549 – **กันยายน** 2550
สถานที่	แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
	ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช
	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลโรคแก้วมังกรและกวนอิมในประเทศไทย

ไม่พบรายงานของโรคแก้วมังกรและกวนอิมที่พบในประเทศไทย

2. การสำรวจรวบรวม โรคของแก้วมังกรและกวนอิม

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคชนิดต่าง ๆ ของแก้วมังกรและกวนอิม ในภาคกลางจากจังหวัดเชียงราย พะเยา ระยอง ราชบุรี และสมุทรสาคร พบโรคของแก้วมังกร 5 ชนิด และโรคของกวนอิม 2 ชนิด

และนำตัวอย่างโรคมาศึกษาในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในระหว่างเดือนตุลาคม 2549- กันยายน 2550

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

โรคแก้วมังกร

โรคเน่าเปียก (wet rot)

จากการสำรวจพบโรคเน่าเปียกเกิดบนดอก ที่อำเภอแกลง จังหวัดระยอง (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการ มักพบอาการดอกเน่าในช่วงที่มีความชื้นสูง พบเส้นใยของราเจริญปกคลุมดอกทำให้ดอกเน่าและไม่สามารถเจริญเป็นผลได้

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจตัวอย่างพืชเป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ เส้นใยสีเทาดำเจริญปกคลุมอยู่บนดอก

ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Choanephora*

โรคผลเน่า

จากการสำรวจครั้งนี้พบโรคผลเน่าที่จังหวัดระยอง ราชบุรี และสมุทรสาคร พบโรคผลเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Drechslera cactivora* (ตารางที่ 1)

โรคผลเน่า

จากการสำรวจครั้งนี้พบโรคผลเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Drechslera cactivora* ที่จังหวัดระยอง ราชบุรี และสมุทรสาคร

ลักษณะอาการ มักพบอาการแผลฉ่ำน้ำ มีสีเขียวมะกอกและสีดำลักษณะเป็นผงปกคลุมรอยแผล

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคใบจุดดำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเป็นกลุ่มฟูอยู่บริเวณบนผลใบ มีสีเขียวมะกอกและสีดำ

ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Drechsler cactivora* (Petrak) M.B. Ellis comb. nov.

Satoshi และคณะ (2007) รายงานพบโรคผลเน่าของแก้วมังกร สาเหตุเกิดจากรา *Biporalis cactivora* ในโรงเรือนหลังเก็บเกี่ยว ที่เมือง Itoman จังหวัด Okinawa ประเทศญี่ปุ่น ในปี 2006

โรคแอนแทรคโนสบนผล

จากการสำรวจครั้งนี้พบโรคผลเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum* sp. ที่จังหวัดระยอง ราชบุรี และสมุทรสาคร

ลักษณะอาการ มักพบอาการแผลฉ่ำน้ำ ยุบตัวลง มีสีดำ และมักพบราสร้าง setae อยู่ใน acervulus เจริญอยู่บนแผล

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคผลเน่า ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound ผลของการตรวจเชื้อพบราหลายชนิดดังนี้

สาเหตุ *Colletotrichm* sp

ยังไม่พบรายงานโรคผลเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichm* sp

โรค stem canker

จากการสำรวจครั้งนี้พบโรค stem canker ที่จังหวัดระยอง ราชบุรี และสมุทรสาคร

ลักษณะอาการ เกิดเป็นจุดเล็ก ๆ สีน้ำตาล บนลำต้น ขยายตัวอย่างรวดเร็วเป็นแผลสีเทาและน้ำตาล มักพบราสร้าง pycnidia บนแผล

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคใบจุดดำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอพบโคโลนีของเชื้อขึ้นเป็นกลุ่มฟูอยู่บริเวณบนผลใบ มีสีเขียวมะกอกและสีดำ

ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Dothiorella* sp.

Valencia และคณะ (2003) รายงานโรค stem spot เกิดบนลำต้นของแก้วมังกร สาเหตุเกิดจาก *Botryosphaeria dothidea* (Anamorphic state: *Fusicoccum*) พบระบาดในประเทศเม็กซิโก รา *Dothiorella* และ *Fusicoccum* เป็นระยะ Anamorphic state ของรา *Botryosphaeria* ซึ่งกำลังศึกษาว่าเป็นราชนิดเดียวกันหรือไม่

โรคแอนแทรคโนส

จากการสำรวจครั้งนี้พบโรคแอนแทรคโนส บนลำต้นแก้วมังกร ที่จังหวัดราชบุรี สมุทรสาคร และ เชียงราย (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการ มักพบอาการแผลฉ่ำน้ำ สีน้ำตาล บนลำต้น

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคใบจุดดำภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ พบราสร้าง fruiting body บนแผล

ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides*

ในปี 2004 Palmateer และ Ploetz รายงานพบโรคแอนแทรคโนสบนลำต้นของแก้วมังกร สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* ระบาดใน Miami-Dade County ประเทศสหรัฐอเมริกา

โรคกวนอิม

โรคลำต้นเน่า

จากการสำรวจครั้งนี้พบอาการลำต้นเน่า ที่อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ แสดงอาการบนใบและบนลำต้น เป็นแผลขนาด 0.5- 2 เซ็นติเมตร แผลสีน้ำตาล ถ้าอาการรุนแรงมักพบราสร้างเม็ด sclerotium ด้วย

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

เมื่อทำการจากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Sclerotium rolfsii*

ยังไม่พบรายงานโรคลำต้นเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium rolfsii*

โรคแอนแทรคโนส

จากการสำรวจครั้งนี้พบโรคแอนแทรคโนส ที่อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย และอำเภอดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ แสดงอาการบนใบและบนลำต้น เป็นจุดเล็ก สีนำตาล เป็นกลุ่มแผลมีขนาด1- 3 เซ็นติเมตร

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

เมื่อทำการจากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides*

ยังไม่พบรายงานโรคแอนแทคโนสสาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides*

โรคโคนเน่า

จากการสำรวจครั้งนี้พบโรคโคนเน่า ที่อำเภอดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา (ตารางที่ 2)

ลักษณะอาการ แสดงอาการบนโคนต้น เกิดรอยช้ำ สีน้ำตาล ถ้ารอาการรุนแรงมักพบราสร้างสปอร์สีดำบนแผล

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

เมื่อทำการจากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ผลการตรวจเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกเชื้อสาเหตุ ดังนี้

สาเหตุ *Aspergillus niger*

ยังไม่พบรายงานโรคนี้ในประเทศไทย

จากการสำรวจและจำแนกชนิดโรคของแก้วมังกรและกวนอิม ได้จัดทำบัญชีรายชื่อโรคของแก้วมังกรและกวนอิมที่ได้จากการสำรวจ (ตารางที่ 3 และ 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคชนิดต่าง ๆ ของแก้วมังกรและกวนอิม จากจังหวัดเชียงราย พะเยา ระยอง ราชบุรี และสมุทรสาคร ระหว่างเดือนตุลาคม 2549- กันยายน 2550 พบโรคของแก้วมังกรหลายชนิด ได้แก่ โรคเน่าเปียกที่ดอก สาเหตุเกิดจากรา *Choanephora* โรคผลเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Drechslera cactivora* โรคแอนแทรคโนสที่ผล สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum* sp. โรค stem canker สาเหตุเกิดจากรา *Dothiorella* sp. และโรคแอนแทรคโนสบนลำต้น สาเหตุเกิดจาก *Colletotrichum gloeosporioides*

จากการสำรวจโรคกวนอิมพบโรคลำต้นเน่าสาเหตุเกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* โรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากรา *Colleotrichum gloeosporioides* และโรคโคนเน่า สาเหตุเกิดจาก *Aspergillus niger*

เนื่องจากแก้วมังกรและกวนอิมเป็นพืชใหม่ซึ่งยังไม่ค่อยมีการศึกษาเกี่ยวกับโรคของพืชทั้งสอง มีความเห็นว่าควรที่จะต้องทำการสำรวจโรคมากกว่า 1 ปี ขึ้นไป โดยเฉพาะในปัจจุบันมีการปลูกแก้วมังกรกันมากและมีปัญหาของโรคหลายชนิดที่เกิดขึ้นและยังไม่ทราบสาเหตุและการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุของโรคนั้น จึงต้องใช้เวลามากกว่า 1 เพื่อการสำรวจและจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ

เอกสารอ้างอิง

Palmateer, A.J. and R.C. Ploetz. 2007. First occurrence of anthracnose caused by *olletotrichum gloeosporioides* on Piahaya. Plant Disease 91 (5): 631.

Satoshi Taba, N. Miyahira, K. Nasu, T. Takushi and Z Moromizato. 2007. Fruit rot of strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. Journal of General Plant \ Pathology, Vol. 73 (5): 374-376)

Sivanesan, A.1984. The Bitunicate Ascomycetes and their anamorphs. J. Cramer. 700pp.

Valencia-Botin, A.J., J.S. Sandoval-Islas, E. Càrdennas-Soriano, T.J. Michailides and G. endon-Sànchez. 2003. *Botryosphaeriadothidea* causing stem spots on *Hylocereus undatus* in Mexico. Plant Pathology 52: 803.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 โรคแก้วมังกรและเชื้อสาเหตุที่พบการระบาดในจังหวัดต่างๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550

โรค	เชื้อสาเหตุ	ส่วนที่เป็นโรค	สถานที่
โรคเน่าเปียก (wet rot)	*Choanephora*	ผล	- อ. แกลง จ. ระยอง
โรคผลเน่า (fruit rot)	*Drechslera cactivora*	ผล	- อ. แกลง จ. ระยอง - อ. บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร - อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี
โรคแอนแทรคโนส	*Colletotrichum* sp.	ผล	- อ. แกลง จ. ระยอง - อ. บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร - อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี
โรค stem canker	*Dothiorella* sp.	ลำต้น	- อ. แกลง จ. ระยอง - อ. บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร - อ. บ้านโพหัก จ. ราชบุรี - อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี
โรคแอนแทรคโนส	*Colletotrichum gloeosporioides*	ลำต้น	- อ. บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร - อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี - อ. แม่สรวย จ. เชียงราย

ตารางที่ 2 โรคกวนอิมและเชื้อสาเหตุที่พบการระบาดในจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550

โรค	เชื้อสาเหตุ	ส่วนที่เป็นโรค	สถานที่
โรคลำต้นเน่า	*Sclerotium rolfsii*	ลำต้น, ใบ	- อ. แม่สาย จ. เชียงราย
โรคแอนแทรคโนส	*Colletotrichum gloeosporioides*	ลำต้น ใบ	- อ. แม่สาย จ. เชียงราย - อ. ดอกคำใต้ จ. พะเยา - อ. แม่สาย จ. เชียงราย
โรคโคนเน่า	*Aspergillus niger*	ลำต้น	- อ. ดอกคำใต้ จ. พะเยา

ตารางที่ 3 บัญชีรายชื่อโรคแก้วมังกร ที่พบการระบาดในจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550

Pest	Geographical Distribution	Plant Part Affected	Quarantine Pest	Likely to Follow Partway
FUNGI				
Choanephora sp. Choanephoraceae Mucorales [Zygomycetes	- อ. แกลง จ. ระยอง	Flower		
Colletotrichum gloeosporioides [Mitosporic Fungi]	- อ. บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร - อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี - อ. แม่สรวย จ.เชียงราย	Stem		
Colletotrichum sp. [Mitosporic Fungi]	- อ. แกลง จ. ระยอง - อ. บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร - อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี	Fruit		

Pest	Geographical Distribution	Plant Part Affected	Quarantine Pest	Likely to Follow Partway
FUNGI				
Dothiorella sp. [Anamorphic]	- อ. แกลง จ. ระยอง - อ. บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร - อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี - อ. โพหัก จ.ราชบุรี	Stem		
Drechsler cactivora (Petrak) M.B. Ellis comb. nov. [Anamorphic]	- อ. แกลง จ. ระยอง - อ. บ้านแพ้ว จ. สมุทรสาคร - อ. ดำเนินสะดวก จ. ราชบุรี	Fruit		

ตารางที่ 4 บัญชีรายชื่อโรคกวนอิม ที่พบการระบาดในจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550

Pest	Geographical Distribution	Plant Part Affected	Quarantine Pest	Likely to Follow Partway
FUNGI				
Aspergillus niger [Anamorphic]	- อ. ดอกคำใต้ จ. พะเยา	Stem		
Colletotrichum gloeosporioides [Anamorphic]	- อ. แม่สาย จ. เชียงราย - อ. ดอกคำใต้ จ. พะเยา	Stem		
Colletotrichum gloeosporioides [Anamorphic]	- อ. แม่สาย จ. เชียงราย	Leaf		
Sclerotium rolfsii [Anamorphic]	- อ. แม่สาย จ. เชียงราย	Stem Leaf		

การศึกษาชนิดและข้อมูลวัชพืชของพืชส่งออก : แก้วมังกร

Study on Weed Species in Exported Plant : Strawberry Pear

จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ จรัญญา ปิ่นสุภา
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจวัชพืชในแปลงแก้วมังกร ได้ดำเนินงานตามพื้นที่ปลูกแก้วมังกรภาคต่างๆ คือ ภาคเหนือที่จังหวัดพะเยา และ จังหวัดเชียงใหม่ ภาคกลางที่จังหวัดปทุมธานี จังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดลพบุรี จังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดเพชรบูรณ์ จังหวัดพิจิตร และจังหวัดสุโขทัย ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่จังหวัดนครราสีมา จังหวัดสุรินทร์ จังหวัดศรีษะเกษ จังหวัดอุบลราชธานี จังหวัดขอนแก่น จังหวัดอุดรธานี จังหวัดชัยภูมิ และจังหวัดหนองคาย ภาคตะวันออก ที่จังหวัดระยอง จังหวัดจันทร์บุรี และจังหวัดสระแก้ว ภาคตะวันตก จังหวัดปราจีนบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และภาคใต้ ที่สงขลาจังหวัด พบวัชพืชทั้งหมด 87 ชนิด จำแนกตามอนุกรมวิธานพืชได้ 87 พันธุ์ (species) 67 สกุล (genus) 29 วงศ์(family) และยังสามารถจำแนกวัชพืชตามรูปร่างและลักษณะของใบ เพื่อประกอบการใช้สารกำจัดวัชพืชให้มีประสิทธิภาพ คือกลุ่มวัชพืชใบกว้าง(B) จำนวน 62 ชนิด วัชพืชใบแคบ(N) 17ชนิด และวัชพืชจำพวกกก(S) 8 ชนิด

คำนำ

แก้วมังกรเป็นต้นไม้จำพวกเดียวกับกระบองเพชร มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษหลายชื่อเช่น Strawberry Pear, Dragon fruit , night – blooming cereus และ Red Pitaya เป็นต้น ชื่อวิทยาศาสตร์ *Hylocereus undatus* (Haw) Britt. & Rose (syn. *Cereus triangularis* L.; *Cactus triangularis* Haw.) จัดอยู่ในวาศ์ Cactaceae ลำต้น แบน มีปีกหรือสันหยัก 3 แฉก ซึ่งเป็นส่วนของใบที่เปลี่ยนรูป ลำต้น เลื้อยทอด แตกกิ่งก้านจำนวนมาก มีความยาว 50 – 100 เซนติเมตร ที่ตาข้างมีหนามแหลม 2 – 5 เส้น ดอกสีขาวนวล เมื่อบานเป็นรูปทรงกรวย ผล รูปไข่ยาว สีแดง หรือเหลือง ขนาดผล ยาว x กว้าง10 x 6.5 เซนติเมตร เนื้อผลเป็นสีแดง หรือสีขาว เมล็ดสีดำอยู่ในเนื้อผล (http://en.wikpedia.org/wiki/Hylocereus undatus)

แก้วมังกรมีถิ่นกำเนิดที่ประเทศเม็กซิโก บริเวณแปซิฟิกที่ประเทศกัวเตลมาลา คอสตาริกา

รหัสโครงการ 07-01-49-07

และเอลวัลวาดอร์ (http://en.wikpedia.org/wiki/Hylocereus undatus) สำหรับแก้วมังกรในประเทศไทยได้ถูกนำเข้ามาจากประเทศเวียตนาม เมื่อประมาณ 10 – 15 ปีที่ผ่านมา ปัจจุบันปลูกได้ทั่วประเทศไทย

การให้ผลผลิต ต้นแก้วมังกรที่ปลูกจากกิ่งปักชำ เมื่ออายุประมาณ 8 – 10 เดือนจะให้ผลผลิต เริ่มออกดอกที่ปลายกิ่ง หลังจากนี้ประมาณ 40 -50 วัน สามารถเก็บเกี่ยวผล ตามปกติจะเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ประมาณ 4 รุ่นต่อปี ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงสิงหาคม ต้นแก้วมังกรจะเริ่มให้ดอกชุดแรกเดือนมีนาคม และดอกชุดสุดท้ายในเดือนกรกฎาคม สำหรับผลผลิตต่อไร่นั้นสูงถึง 8,000 – 12,000 กิโลกรัมต่อไร่ (เมื่ออายุต้นประมาณ 3 ปี) และอายุการให้ผลผลิตยาวนาน 10 – 15 ปี ถ้าราคากิโลกรัมละ 30 บาท เกษตรกรจะมีกำไรสุทธิ ประมาณ 150,000 บาท (http: www.doe.go.th/vgnew/careersinfo/careersfree/major)

การตลาดของแก้วมังกร ปัจจุบันความนิยมบริโภคภายในประเทศมีมากขึ้น ผลผลิตจำหน่ายได้ทั้งภายในประเทศ ตลาดท้องถิ่น และตลาดกรุงเทพฯ นอกจากนี้ยังมีตลาดต่างประเทศเพิ่มขึ้น เช่นประเทศจีน และสิงคโปร์ เป็นต้น

มีรายการวิชาการด้านต่างๆของแก้วมังกร เช่น การปลูก การดูแลรักษา การขยายพันธุ์ เป็นต้น แต่การรายงานเกี่ยวกับวัชพืชมีน้อยมากหรือแทบจะไม่มีเลย และเนื่องจากมาตรการสุขอนามัยระหว่างประเทศ การส่งออกผลผลิตพืชทุกชนิด จะต้องจัดเตรียมข้อมูลศัตรูพืช เพื่อส่งให้ประเทศคู่ค้า ซึ่งจะเป็นข้อมูลประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูของประเทศผู้นำเข้า ดังนั้นจึงได้ศึกษาชนิดวัชพืชในแหล่งปลูกแก้วมังกรภายในประเทศ เพื่อจะได้ข้อมูลเตรียมจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืชในแก้วมังกรส่งให้กับประเทศคู่ค้าในกรณีที่มีการร้องขอ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เลนส์ขยาย
- วัสดุ และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก เฟรมอัดตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์/กระดาษฟาง กระดาษลูกฟูก และเชือกมัดเฟรม
- อุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่นกระดาษ หรือ แบบฟอร์มในการบันทึกข้อมูล และกล้องบันทึกภาพ

วิธีการ

1. การค้นคว้าจากเอกสาร

ค้นคว้าเอกสารวิชาการ ข้อมูลชนิดพันธุ์ต่าง ๆ การปลูก แหล่งปลูก การจัดการศัตรูพืช และการตลาดของแก้วมังกร

2. การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชจากแปลงปลูกแก้วมังกร

วางแผนสำรวจวัชพืชในแหล่งปลูกแก้วมังกรตามภาคต่างๆคือ ภาคเหนือ จังหวัดพะเยา ที่อำเภอเมือง กิ่งอำเภอภูกามยาว จังหวัดเชียงใหม่ ที่อำเภอเมือง ภาคกลาง จังหวัดปทุมธานี ที่อำเภอหนองเสือ จังหวัดสมุทรสาคร ที่อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดลพบุรี ที่อำเภอหนองม่วง อำเภอพัฒนานิคม จังหวัดเพชรบูรณ์ ที่อำเภอเมือง อำเภอเขาค้อ จังหวัดนครสวรรค์ ที่อำเภอหนองบัว จังหวัดพิจิตร ที่อำเภอทับคล้อ จังหวัดสุโขทัย ที่อำเภอศรีสำโรง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดสุรินทร์ ที่อำเภอกาบเชิง อำเภอสังขะ จังหวัดอุบลราชธานี ที่อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี ที่อำเภอกุมภวาปี จังหวัดขอนแก่น ที่อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ที่อำเภอปากช่อง อำเภอเมือง อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดชัยภูมิ ที่อำเภอครสวรรค์ อำเภอภูเขียว อำเภอแก่งคร้อ จังหวัดหนองคาย ที่อำเภอเมือง อำเภอท่าบ่อ อำเภอสังคม จังหวัดเลย ที่อำเภอปากชม อำเภอภูกระดึง จังหวัดศรีษะเกษ ที่อำเภอเบญจลักษณ์ อำเภอขุนหาญ ภาคตะวันออก จังหวัดระยอง ที่อำเภอแกลง จังหวัดจันทบุรี ที่อำเภอท่าใหม่ จังหวัดสระแก้ว ที่กิ่งอำเภอวังสมบูรณ์ ภาคตะวันตก จังหวัดกาญจนบุรี ที่อำเภอท่าม่วง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ที่อำเภอเมือง ภาคใต้ จังหวัดสงขลา ที่อำเภอเมือง และอำเภอ หาดใหญ่

วิธีการสำรวจ สุ่มนับวัชพืชโดยใช้แปลงสุ่ม(sampling plot)สี่เหลี่ยมจตุรัส ขนาด 0.5 x 0.5 เมตร วางแปลงสุมโดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous, 1982) ทำการสุ่มวัชพืช 4 จุดต่อ หนึ่งแปลง จดบันทึกรายชื่อวัชพืช และจัดจำแนก วงศ์ และสกุล บันทึกภาพ เก็บตัวอย่างวัชพืชเพื่อจัดทำตัวอย่างแห้ง บันทึกข้อมูลสภาพแวดล้อม

ระยะเวลา

เริ่มทำการสืบค้นข้อมูล วางแผนการสำรวจ จัดเตรียมอุปกรณ์ในการปฏิบัติงาน และดำเนินงานสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกแก้วมังกร จัดทำตัวอย่างแห้ง และจำแนกชนิดวัชพืช ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

ได้ดำเนินการสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกแก้วมังกรตามภาคต่างๆที่ได้กำหนดในแผนดำเนินงาน พบว่าแก้วมังกรมีการปลูกหลายแบบขึ้นอยู่กับสภาพพื้นที่ คือถ้าพื้นที่เป็นที่ดอนน้ำไม่ท่วมขัง จะปลูกแก้วมังกรแบบไม่ยกร่อง ส่วนพื้นที่มีน้ำท่วมขังจะยกร่อง และปลูกบนสันร่อง

เนื่องจากแก้วมังกรเป็นไม้เลื้อยลำต้นอ่อนจำเป็นต้องมีหลักยึด ซึ่งจะใช้หลักเป็นไม้เนื้อแข็งหรือเสาซีเมนต์ ฝังหลักลงดินลึกประมาณ 40 – 50 เซนติเมตร หลักที่โผล่พ้นดินสูงประมาณ 150 – 200 เซนติเมตร ด้านบนของหลักทำเป็นร้านให้กิ่งเกาะ ปลูกแก้วมักรหลักละ 4 ท่อนพันธุ์ เนื่องจากทรงต้นของแก้วมังกรไม่ทำให้เกิดร่มเงา ดังนั้นจึงมีวัชพืชจำนวนมาก การกำจัดวัชพืชของเกษตรกรส่วนใหญ่จะกำจัดโดยวิธีผสมผสานโดยวีธีกลและใช้สารเคมี แต่เกษตรกรบางรายจะใช้วิธีตัดด้วยแรงคนหรือเครื่องจักรเพียงอย่างเดียว

แก้วมังกรในแปลงที่สำรวจนั้น พบว่ามีหลายพันธุ์ คือ พันธุ์เวียดนาม เนื้อในของผลสีขาว เปลือกแดง พันธุ์ไต้หวัน เนื้อในของผลสีแดง เปลือกแดง พันธุ์ไทย ผลขนาดเล็กกว่าพันธุ์เวียดนามและพันธุ์ลูกผสม (เวียดนามกับไทย) และอีกพันธุ์เปลือกสีทองหรือสีเหลือง เนื้อในสีขาว

ขนาดและอายุของต้นแก้วมังกรของแปลงที่สำรวจนั้นมีหลายขนาด คือ แปลงที่แก้วมังกรมีอายุตั้งแต่ 2 เดือนถึง 10 ปี และส่วนใหญ่จะเป็นการปลูกโดยไม่ยกร่อง

วัชพืชที่สำรวจพบในแปลงปลูกแก้วมังกร มีความหลากหลายและแตกต่างกันไป ตามสภาพพื้นที่ การปฏิบัติดูแลของเจ้าของสวน จากการสำรวจพบวัชพืชทั้งหมด 87 ชนิด จำแนกได้ 87 พันธุ์ (species) 67 สกุล (genus) 29 วงศ์ (family) ได้แก่ ครอบฟันสี โสนดอน โสนคางคก สาบแร้งสาบกา ผักขมหนาม ผักขม ผักเป็ด ถั่วลิสงนา มะไฟนกคุ่ม หญ้ามาเลเซีย หญ้าหางนกยูงใหญ่ หญ้ามาเลเซีย ก้นจ้ำ ผักขมหิน กระดุมใบใหญ่ กระดุมใบเล็ก หญ้าตีนติด หญ้าปุ้ง หญ้ารังนก สาบเสือ หญ้าสาบ ผักส้มเสี้ยน ผักเสี้ยนขน ผักเสี้ยนผี ผักปลาบ ผักปลาบ ปอวัชพืช หญ้าคาอ่อน หญ้าแพรก กกสามเหลี่ยม กกทราย กกดอกตุ้ม กกช่อดอกขน แห้วหมู หญ้าปากควาย หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู กะเม็ง หญ้าตีนกา หูปลาช่อน หญ้าหวาย หญ้ายาง น้ำนมราชสีห์ หนวดปลาดุก หนวดปลาดุก กินกุ้งน้อย บานไม่รู้โรยป่า หญ้าลิ้นงู หญ้างวงช้าง หญ้าเจ้าชู้ แมงลักป่า หญ้าคา สอึก ขยุ่มตีนหมา เงี่ยงป่า เงี่ยงน้ำ หญ้ากาบหอย ตำแย หญ้าดอกขาว เทียนนา เซ่งใบมน ไมยราบเลื้อย ไมยราบ กระดุมขน มะระขี้นก ส้มกบ ตดหมูตดหมา หญ้าชันกาศ หญ้านมหนอน หญ้าสะกาดน้ำเค็ม หญ้าปล้องหิน กระทกรก หญ้าขจรจบดอกเล็ก ผักกระสัง เซ่งใบยาว ถั่วผีลูกใต้ใบ ต้อยติ่ง กระต่ายจาม ฆ้องกลอง ผักคราดหัวแหวน พันงูขียว ผักแครด ผักเบี้ยหิน ตีนตุ๊กแก อุตพิต และหญ้าละออง (ตารางที่1)

วัชพืชจำนวน 29 วงศ์จากการสำรวจมีดังนี้ Poaceae มีวัชพืชจำนวน 19 ชนิด Asteraceae 12 ชนิด Cyperaceae 8 ชนิด Rubiaceae 5 ชนิด Amaranthaceae 4 ชนิด Scrophulariaceae 4 ชนิด Papilionoideae 4 ชนิด Euphorbiaceae 3 ชนิด Capparidaceae 3 ชนิด Mimosaceae 2 ชนิด Sterculiaceae 2 ชนิด Commelinaceae 3 ชนิด Convolvulaceae 2 ชนิด นอกนั้นจะเป็นวงศ์ที่มีวัชพืชเพียงชนิดเดียว คือ Malvaceae Lythraceae Nyctaginaceae Tiliaceae Boraginaceae Laminaceae Urticaceae Onagraceae Oxalidaceae

Passifloraceae Piperaceae Acanthaceae Verbinaceae Aizoaceae Cucurbitaceae และ Araceae

นอกจากนี้ยังสามารถจัดจำแนกวัชพืชตามขนาดและรูปร่างของใบ เพื่อความเหมาะในการกำจัดวัชพืชโดยใช้สารกำจัดวัชพืช เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชบางชนิดจะกำจัดวัชพืชได้ทุกชนิด แต่สารกำจัดวัชพืชบางชนิดจะเลือกทำลายวัชพืช จากการสำรวจครั้งนี้จึงแบ่งวัชพืชได้ดังนี้คือ กลุ่มวัชพืชใบกว้าง(B) จำนวน 62 ชนิด วัชพืชใบแคบ(N) จำนวน 17 ชนิด และวัชพืชพวกกก (S) จำนวน 8 ชนิด (ตารางที่1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. วัชพืชที่สำรวจพบในพื้นที่ปลูกแก้วมังกรทั้งหมด 87 ชนิด จำแนกได้ 87 พันธุ์ (specie) 69 สกุล (genus) 35 วงศ์ (family)
2. จัดจำแนกตามรูปร่างลักษณะของใบวัชพืช เพื่อประกอบการเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ คือจัดเป็นกลุ่มใบกว้าง (B) 62 ชนิด ใบแคบ(N) 17 ชนิด พวกกก (S) 8 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันท์ 2544 ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร 810 หน้า

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

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

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

http://en.wikpedia.org/wiki/Hylocereus undatus

http: www.doe.go.th/vgnew/careersinfo/careersfree/major

Table 1 List of Weeds Species in Strawberry Pear Plantation and Their Family.

no.	Thai name	Species	Family	Form
1	ครอบฟันสี	*Abutilon indicum* Sweet	MALVACEAE	B
2	โสนดอน	*Aeschynomene Americana* L.	PAPILIONOIDEAE	B
3	โสนคางคก	*Aeschynomene aspera* L	PAPILIONOIDEAE	B
4	สาบแร้งสาบกา	*Ageratum conyzoides* L.	ASTERACEAE	B
5	ผักขมหนาม	*Amaranthus spinosus* L.	AMARANTHACEAE	B
6	ผักขม	*Amaranthus viridis* L.	AMARANTHACEAE	B
7	ผักเป็ด	*Alternanthera sessilis* (L.) DC.	AMARANTHACEAE	B
8	ถั่วลิสงนา	*Alysicapus vaginalis* (L.) DC.	PAPILIONOIDEAE	B
9	มะไฟนกคุ่ม	*Ammania baccifera* L.	LYTHRACEAE	B
10	หญ้าหางนกยูงใหญ่	*Arachne racemosa* Ohwi.	POACEAE	N
11	หญ้ามาเลเซีย	*Axonopus compressus* (Sw.) Beauv.	POACEAE	N
12	ก้นจ้ำ	*Bidens pilosa* L.	ASTERACEAE	B
13	ผักขมหิน	*Boerhavia diffusa* L.	NYCTAGINACEAE	B
14	กระดุมใบใหญ่	*Borreria latifolia* (Aubil.) Schum.	RUBIACEAE	B
15	กระดุมใบเล็ก	*Borreria laevis* (LAMK) Griseb	RUBIACEAE	B
16	หญ้าตีนติด	*Brachiaria retans* (L.) Gard.& Hubb.	POACEAE	N
17	หญ้าบุ้ง	*Cenchrus echinatus* L.	POACEAE	N
18	หญ้ารังนก	*Chloris barbata* Sw.	POACEAE	N
19	สาบเสือ	*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H.Rob.	ASTERACEAE	B
20	หญ้าสาบ	*Chromolaena sp.*	ASTERACEAE	B
21	ผักส้มเสี้ยน	*Cleome gynandra* L.	CAPPARIDACEAE	B
22	ผักเสี้ยนขน	*Cleome rutidosperma* DC.	CAPPARIDACEAE	B
23	ผักเสี้ยน ผี	*Cleome viscose* L.	CAPPARIDACEAE	B
24	ผักปลาบ	*Commellina diffusa* Burm.	COMMELINACEAE	B
25	ผักปลาบ	*Commellina benghalensis* L.	COMMELINACEAE	B
26	ปอวัชพืช	*Corchorus olitorius* L.	TILIACEAE	B

Table 1 List of Weeds Species in Strawberry Pear Plantation and Their Family. (continued)

27	หญ้าคออ่อน	*Crassocephallum crepidioides*(Benth.) S.More	ASTERACEAE	B
28	หญ้าแพรก	*Cynodon dactylon* (L.) Pers.	POACEAE	N
29	กกขนาก	*Cyperus difformis* L.	CYPERACEAE	S
30	กกสามเหลี่ยม	*C. imbicatus* Retz.	CYPERACEAE	B
31	กกทราย	*C. iria* L.	CYPERACEAE	S
32	กกดอกตุ้ม	*C. kyllingia* L.	CYPERACEAE	S
33	กกช่อดอกขน	*C. pilosus* vahl	CYPERACEAE	S
34	แห้วหมู	*C.rotundus* L.	CYPERACEAE	S
35	หญ้าปากควาย	*Dactylocthenium aegyptium* (L.) P.B.	POACEAE	N
36	หญ้าตีนนก	*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.	POACEAE	N
37	หญ้านกสีชมพู	*Echinochloa colona* (L.) Link.	POACEAE	N
38	กะเม็ง	*Eclipta alba* (L.) Hassk.	ASTERACEAE	B
39	หญ้าตีนกา	*Eleusine indica* (L.) Gaertn.	POACEAE	N
40	หูปลาช่อน	*Emilia sonchifolia* (L.) DC.	ASTERACEAE	B
41	หญ้าหวาย	*Eragrostis tenella* (L.) P. Beauv.	POACEAE	N
42	หญ้ายาง	*Euphorbia heterophylla* L.	EUPHORBIACEAE	B
43	น้ำนมราชสีห์	*Euphorbia hirta* L.	EUPHORBIACEAE	B
44	หญ้านิ้วหนู	*Fimbristylis dichotoma* (L.) Vahl.	CYPERACEAE	S
45	หนวดปลาดุก	*Fimbristylis maliacea*(L.) Vahl.	CYPERACEAE	S
46	กินกุ้งน้อย	*Murdannia nudifiora* (L.) Brenan.	COMMELINACEAE	B
47	บานไม่รู้โรยป่า	*Gomphrena celosioides* Mart.	AMARANTHACEAE	B
48	หญ้าลิ้นงู	*Hedyotis corymbosa* (L.) Lam.	RUBIACEAE	B
49	หญ้างวงช้าง	*Heliotropium indicum* L.	BORAGINACEAE	B
50	หญ้าเจ้าชู้	*Heteropogon contortus* (L.) Roem.& Schult	POACEAE	B
51	แมงลักป่า	*Hyptis suaveolens* Poit.	LAMIACEAE	B
52	หญ้าคา	*Imperata cylindrical* (L.) P. Beauv.	POACEAE	B
53	สอึก	*Ipomoea gracilis* R.H.	CONVOLVULACEAE	B

Table 1 List of Weeds Species in Strawberry Pear Plantation and Their Family. (continued)

54	ขยุ้มตีนหมา	*Ipomoea pes-tigridis* L.	CONVOLVULACEAE	
55	เงี่ยง ป่า	*Lindernia anagallis* (Burm.f.) Penn.	SCROPHULARIACEAE	B
56	เงี่ยงน้ำ	*L. ciliata* (Solm.) Penn.	SCROPHULARIACEAE	B
57	หญ้ากาบหอย	*L. crustacean* (L.) F. Muell.	SCROPHULARIACEAE	
58	ตำแย	*Laportea bulbiflora* (Siebold & Zucc.) Wedd.	URTICACEAE	B
59	หญ้าดอกขาว	*Leptochloa chainensis* (L.)	POACEAE	N
60	เทียนนา	*Ludwigia hyssocepifolia Ness.*	ONAGRACEAE	B
61	เซ่งใบมน	*Melochia corchonifolia* L.	STERCULIACEAE	B
62	ไมยราบเลื้อย	*Mimosa invisa* Mart.	MIMOSACEAE	B
63	ไมยราบ	*Mimosa pudica* L.	MIMOSACEAE	B
64	กระดุมขน	*Mitracapus villosus* (Sw.) DC.	RUBIACEAE	B
65	มะระขี้นก	*Momordica charantia* L.	CUCURBITACEAE	B
66	ส้มกบ	*Oxalis corniculata* L.	OXALIDACEAE	B
67	ตดหมูตดหมา	*Paederia linearis* (Hook.) L.	RUBIACEAE	B
68	หญ้าซันกาศ	*Panicum repens* L.	POACEAE	N
69	หญ้านมหนอน	*Paspalum conjugatum* Berg.	POACEAE	N
70	หญ้าสะกาดน้ำเค็ม	*Paspalum distichum* L.	POACEAE	N
71	หญ้าปล้องหิน	*P.scorbiculatum* L.	POACEAE	N
72	กระทกรก	*Passifiora foetida* L.	PASSIFLORACEAE	B
73	หญ้าขจรจบดอกเล็ก	*Pennisetum polystachyon* (L.) Schult.	POACEAE	N
74	ผักกระสัง	*Peperomia pellucida* (L.) Humb.Bonpl.	PIPERACEAE	B
75	เซ่งใบยาว	*Pentapetes phoenicea* L.	STERCULIACEAE	B
76	ถั่วผี	*Phaseolus atropurpureus*	PAPILIONACEAE	B
77	ลูกใต้ใบ	*Phyllanthus amarus* (schumach.) Thonn.	EUPHORBIACEAE	B
78	ต้อยติ่ง	*Ruellia tuberosa* L.	ACANTHACEAE	
79	กระต่ายจาม	*Scoparia dulcis* L.	SCROPHULARIACEAE	B

Table 1 List of Weeds Species in Strawberry Pear Plantation and Their Family. (continued)

80	ฆ้องกลอง	*Sphaerantus africanus* L.	ASTERACEAE	B
81	ผักคราดหัวแหวน/	*Spilanthes paniculata* Wall ex DC.	ASTERACEAE	B
82	พันงูขียว	*Stachytarpeta indica* (L.) Vahl.	VERBINACEAE	B
83	ผักแครด	*Synedrilla nodiflora* (L.) Gaertn.	ASTERACEAE	B
84	ผักเบี้ยหิน	*Trianthema portulacastrum* l.	AIZOACEAE	B
85	ตีนตุ๊กแก	*Tridax procumbens* L.	ASTERACEAE	B
86	อุตพิต	*Typhonium trilobatum* (L.) Shott.	ARACEAE	B
87	หญ้าละออง	*Vernonia cineria* (L.) Less.	ASTERACEAE	B

B = broad leaf weed N = narrow leaf weed S =sedge

การศึกษาชนิดและข้อมูลวัชพืชของพืชส่งออก : กวนอิม

Study on Weed Species in Exported Plant : Ribbon plant

จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจวัชพืชได้ดำเนินงานที่จังหวัดเชียงราย จังหวัดพะเยา จังหวัดนครนายก และจังหวัดปราจีนบุรี ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 พบวัชพืชทั้งหมด 29 ชนิด จัดจำแนกได้ 29 พันธุ์ (species) 26 สกุล (genus) 16 วงศ์ (family) ได้แก่ สาบแร้งสาบกา (*Ageratum cornyzoides* L.) ผักขม (*Amaranthus viridis* L.) ผักเป็ด (*Alternanthera sessilis* (L.) DC.) มะไฟนกคุ่ม(*Ammania baccifera* L.) ก้นจ้ำ (*Bidens pilosa* L.) กระดุมใบเล็ก (*Borreria laevis* (LAMK) Griseb.) บัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urb.) ผักกูดเขากวาง (*Ceratopteris thalictroides* Brongn.) ผักปลาบ (*Commellina diffusa* Burm.) หญ้าคออ่อน (*Crassocephallum crepidioides*(Benth.) S. More.) กกทราย (*Cyperus iria* L.) กกดอกตุ้ม (*C. kyllingia* L.) กกช่อดอกขน (*C. pilosus* Vahl.) หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) กะเม็ง (*Eclipta alba* (L.) Hassk.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) เงี่ยงน้ำ (*Lindernia anagallis* (Burm.f.) Penn.) เงี่ยงป่า (*L. ciliata* (Solm.) Penn.) ตำแย (*Laportea bulbiflora* (Siebold & Zucc.) Wedd.) หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chainensis* L.) เทียนนา (*Ludwigia hyssocepifolia Ness.*) หญ้านมหนอม (*Paspal;um conjugatum* Berg.) หญ้าปล้องหิน (*P.scorbiculatum* L.) ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* (schumach.) Thonn.) กระต่ายจาม (*Scoparia dulcis* L.) ผักคราดหัวแหวน (*Spilanthes paniculata* Wall ex DC.) พันงูเขียว (*Stachytarpeta indica* (L.) Vahl.) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) และ หญ้าละออง (*Vernonia cineria* (L.) Less.)

รหัสโครงการ 07-01-49-01

คำนำ

กวนอิม (Ribbon plant) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Dracaena sonderiana* วงศ์ Liliaceae เป็นไม้พุ่มยืนต้นคล้ายสกุลหวาย ลำต้นโตประมาณ 1 – 2 เซนติเมตร ต้นสูงประมาณ 1 – 3 เมตร ทรงกลม ลำต้นเป็นข้อ ไม่แตกกิ่งก้านใบเป็นใบเดี่ยวแตกออกจากส่วนยอดของลำต้น มีกาบใบห่อหุ้มลำต้นสลับกันเป็นชั้น ๆ ตามข้อของลำต้น ลักษณะใบแคบเรียวยาว ปลายแหลม โคนใบรองลงมาถึงกาบใบ พื้นใบสีเขียว หรือมีสีขาวพาดตามยาวของใบขนาดกว้าง 2 – 3 เซนติเมตร ยาว 6 – 8 เซนติเมตร

กวนอิม มีถิ่นกำเนิดในประเทศคามารู และคองโกในทวีปอัฟริกาตอนกลาง คนไทยโบราณเชื่อว่ากวนอิมเป็นไม้มงคล หรือเป็นต้นไม้ศักดิ์สิทธิ์ เพราะคนโบราณใช้ต้นกวนอิมประกอบในพิธีบูชาพระเจ้า และพิธีมงคลทางศาสนา (http://plants.usda.gov/vaval/profile ?Symbol/=DRFR2)

ปัจจุบันกวนอิมเป็นไม้ประดับที่กำลังเป็นที่นิยมของตลาดทั้งภายในประเทศและภายนอกประเทศ เนื่องจากมีความเชื่อว่าเป็นไม้มงคลที่มีความสวยเป็นอมตะ และมีความคงทนอยู่ได้นาน อีกทั้งในแปลงปลูกมีโรคและแมลงรบกวนน้อยมาก จึงมีแนวโน้มที่จะขยายพื้นที่การปลูกเพิ่มมากขึ้น แหล่งผลิตกวนอิมที่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุดในประเทศไทยอยู่ที่อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย มีการปลูกถึง 300 ไร่ ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่นา การดูแลกำจัดวัชพืชนั้นใช้วิธีกล เน้นการกำจัดวัชพืชโดยใช้แรงงาน

การขยายพันธุ์ต้นกวนอิม สามารถขยายพันธ์โดยใช้ส่วนของลำต้น โดยตัดลำต้นจากต้นแม่ยาวประมาณ 50 เซนติเมตร แล้วนำไปปลูกได้เลย กวนอิมนั้นสามารถเก็บเกี่ยวครั้งแรกเมื่ออายุ 180 วัน จะเก็บเกี่ยวได้ 30,000 ต้นต่อไร่ และหลังจากนั้นก็สามารถเก็บเกี่ยวได้ตลอดปี (เทคโนโลยีการผลิตไผ่กวนอิมเพื่อการค้า . htm.)

ปัจจุบันมีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีตลาดต่างประเทศเพิ่มขึ้น และประกอบกับมาตรการสุขอนามัยพืช ประเทศผู้ส่งออกจำเป็นต้องเตรียมข้อมูลทางวิชาการโดยเฉพาะทางด้านศัตรูพืชเพื่อส่งให้ประเทศคู่ค้าในกรณีที่มีการร้องขอ เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชของประเทศผู้นำเข้า ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ได้วางแผนการสำรวจวัชพืชในกวนอิมเพื่อเป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืช เพื่อเตรียมส่งให้ประเทศคู่ค้า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เลนส์ขยาย
- วัสดุ และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก เฟรมอัดตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์/กระดาษฟาง กระดาษลูกฟูก และเชือกมัดเฟรม
- อุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่นกระดาษ หรือ แบบฟอร์มในการบันทึกข้อมูล และกล้องบันทึกภาพ

วิธีการ

1. การค้นคว้าจากเอกสาร

ค้นคว้าเอกสารวิชาการ ข้อมูลชนิดพันธุ์ต่าง ๆ การปลูก แหล่งปลูก การจัดการศัตรูพืช และการตลาดของกวนอิม

2. การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชจากแปลงปลูกกวนอิม

วางแผนสำรวจวัชพืชในแหล่งปลูกกวนอิมที่ภาคเหนือ จังหวัดเชียงราย และพะเยา และที่แหล่งขายพันธุ์ไม้ จังหวัดปทุมธานี และ นครนายก

วิธีการสำรวจ เนื่องจากพื้นที่ปลูกกวนอิมมีไม่มาก ไม่แพร่หลาย และขนาดแปลงปลูกไม่ใหญ่มาก ดังนั้นการสำรวจจึงใช้วิธี preliminary survey คือเดินสำรวจในแปลง โดยกำหนดเส้นทางสำรวจเป็นเส้นทางทแยงมุมของพื้นที่ จดบันทึกรายชื่อวัชพืช และจัดจำแนก วงศ์ และสกุล บันทึกภาพ เก็บตัวอย่างวัชพืชเพื่อจัดทำตัวอย่างแห้ง บันทึกสภาพแวดล้อม (Anonymous, 1982)

ระยะเวลา

เริ่มทำการสืบค้นข้อมูล วางแผนการสำรวจ จัดเตรียมอุปกรณ์ในการปฏิบัติงาน และดำเนินงานสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกกวนอิม จัดทำตัวอย่างแห้ง และจำแนกชนิดวัชพืช ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

เนื่องจากมีรายงานว่าได้เริ่มปลูกกวนอิมหรือไผ่กวนอิมในพื้นที่อำเภอแม่สาย เป็นครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2529 และมีพื้นที่ปลูกจำนวนมาก จึงได้เริ่มทำการสำรวจวัชพืชในพื้นที่ปลูกกวนอิม ที่ตำบลโป่งมา อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย การปลูกกวนอิมของเกษตรกรนั้นปลูกในนาข้าว พื้นที่ปลูกของเกษตรกรแต่ละคนประมาณ 10 – 30 ไร่ เกษตรกรจะไถดะแล้วตากหน้าดิน ไถพรวนเพื่อ

กำจัดวัชพืช และปรับพื้นที่พร้อมกับใช้แกลบทำคลุกดินปลูก ยกร่องแปลงปลูก กว้างประมาณ 1 เมตร สูง 30 -40 เซนติเมตร ทำร่องระบายน้ำระหว่างแปลงกว้างประมาณ 50 เซนติเมตร

การปลูกนั้นจะทำโรงเรือนขนาดใหญ่ครอบคลุมพื้นที่ปลูกทั้งหมด เพราะไผ่กวนอิมเป็นพืชที่ต้องการแสงน้อย โดยใช้ตาข่ายพรางแสง 50 % การกำจัดวัชพืชใช้วิธีกลโดยใช้แรงคนดายและคราดประมาณ 2 เดือนต่อครั้ง

ไผ่กวนอิม จะเก็บเกี่ยวครั้งแรกเมื่ออายุประมาณ 180 วัน โดยตัดลำต้นให้ห่างจากพื้นดิน 4 นิ้ว กิ่งกวนอิมเพื่อการส่งออกนั้นเกษตรกรจะนำมาถักสานให้อยู่ในรูปสวยงามตามความต้องการของตลาดในแต่ละประเทศ

ไผ่กวนอิม ที่ปลูกที่ อ.แม่สาย และ จ.เชียงราย และกิ่งอำเภอภูกามยาว จังหวัดพะเยา มีอยู่ 3 พันธุ์ พันธุ์แรก คือ พันธุ์ไผ่หยก กวนอิมชนิดนี้มีใบสีเขียวล้วน พันธุ์ที่สอง คือ ไผ่ทองเป็นกวนอิมที่มีใบ 3 สีในใบดียวกัน คือ สีเขียว เหลือง และขาว พันธุ์ที่สาม คือ ไผ่เงิน กวนอิมชนิดนี้ มี 2 สีในใบเดียวกัน คือ สีเขียว และสีขาว

การสำรวจวัชพืชในแปลงกวนอิมที่ ตำบลโป่งผา อำเภอสาย จังหวัดเชียงราย พบวัชพืชทั้งหมด 19 ชนิดจำแนกได้ 19 พันธุ์ (species) 17 สกุล(genus) 11 วงศ์(family) ได้แก่ สาบแร้งสาบกา ผักขม ผักเป็ด มะไฟนกคุ้ม ก้นจ้ำ กระดุมใบเล็ก บัวบก ผักปลาบ หญ้าคออ่อน กกช่อดอกขน เงี่ยงน้ำ เงี่ยงป่า กะเม็ง หญ้าตีนกา หญ้าดอกขาว หญ้านมหนอน หญ้าปล้องหิน กระต่ายจาม และ ผักคราดหัวแหวน (ตารางที่ 1)

การสำรวจวัชพืชในแปลงกวนอิมที่ตำบลแม่อิง กิ่งอำเภอภูกามยาว จังหวัดพะเยา พบวัชพืชทั้งหมด 15 ชนิด จำแนกได้ 15 พันธุ์ (species) 14 สกุล(genus) 13 วงศ์(family) ได้แก่ สาบแร้งสาบกา ผักขม ผักเป็ด บัวบก ผักกูดเขากวาง ผักปลาบ กกทราย กกดอกตุ้ม หญ้าตีนนก หญ้านมหนอน ลูกใต้ใบ กระต่ายจาม ผักคราดหัวแหวน พันงูเขียว และ หญ้าละออง (ตารางที่ 1)

ชนิดของวัชพืชที่สำรวจพบทั้ง 2 จังหวัดมี 8 ชนิด คือ สาบแร้งสาบกา ผักขม ผักเป็ด บัวบก ผักปลาบ หญ้านมหนอน กระต่ายจาม และ ผักคราดหัวแหวน

การสำรวจวัชพืชในแปลงกวนอิมบริเวณแหล่งปลูกไม้ประดับที่จังหวัดนครนายกและจังหวัดปราจีนบุรีนั้น ไม่พบแปลงปลูกกวนอิม จะเป็นเพียงเรือนเพาะชำที่ปลูกต้นกวนอิมในกระถาง ซึ่งเป็นการรับมาจากแหล่งปลูกอีกทอดหนึ่ง จึงไม่มีรายงานวัชพืชในการสำรวจ

สรุปภาพรวมของการสำรวจวัชพืชในครั้งนี้ พบวัชพืชทั้งหมด 29 ชนิด จำแนกตามหลักอนุกรมวิธานได้ 29 พันธุ์ (species) 26 สกุล(genus) 16 วงศ์(family) วงศ์ที่พบวัชพืชมากชนิดที่สุดคือ Asteraceae มีวัชพืชที่พบจากการสำรวจ 6 ชนิด ลำดับต่อมาคือ Poaceae มีวัชพืชจำนวน 4ชนิด Cyperaceae มีวัชพืช 4 ชนิด Scrophulariaceae มีวัชพืช 3 ชนิด Amaranthaceae มีวัชพืช 2 ชนิด นอกจากนี้ที่เหลืออีก 7 วงศ์ คือ Lythaceae Rubiaceae

Umbelliferae Commelnaceae Urticaceae Onagraceae และ Aizoaceae จะมีวัชพืชในแต่ละวงศ์เพียง 1 ชนิดเท่านั้น (ตารางที่ 1)

วัชพืชที่สำรวจพบในครั้งนี้สามารถจำแนกเพื่อความเหมาะสมในการป้องกันกำจัดโดยใช้สารกำจัดวัชพืชให้มีประสิทธิภาพตรงตามคุณสมบัติของสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิด คือ แบ่งเป็นวัชพืชใบกว้าง(B) 20 ชนิด วัชพืชใบแคบ(N) 5 ชนิด วัชพืชจำพวกกก(S) 3 ชนิด และ วัชพืชชนิดอื่นๆคือ เฟิน 1 ชนิด (ตารางที่ 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การสำรวจวัชพืชในแปลงกวนอิมที่ อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงใหม่ และที่กิ่งอำเภอภูกามยาว พบวัชพืช ทั้งหมด 29 ชนิด จำแนกได้ 29 พันธุ์ (species) 26 สกุล (genus) 16 วงศ์(family)
2. วัชพืชที่สำรวจพบจัดอยู่ในกลุ่มวัชพืชใบกว้าง 20 ชนิด วัชพืชใบกว้าง 5 ชนิด วัชพืชใบแคบ 3 ชนิด และเฟิน 1 ชนิด
3. วัชพืชที่สำรวจพบทั้งที่อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย และที่กิ่งอำเภอภูกามยาว มี 8 ชนิด คือ สาบแร้งสาบกา ผักขม ผักเป็ด บัวบก ผักปลาบ หญ้านมหนอน กระต่ายจาม และผักคราดหัวแหวน

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันท์ 2544 ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร 810 หน้า

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

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

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

เทคโนโลยีการผลิตไผ่กวนอิมเพื่อการค้า. Htm.

htm: II plants. Usda.govijavaiprofile?symbol=DRFR2

Table 1 List of Weeds Species in Ribbon Plant Plantation and Their Family.

no.	Thai name	Species	Family	Form
1	สาบแร้งสาบกา	*Ageratum cornyzoides* L.	ASTERACEAE	B
2	ผักขม	*Amaranthus viridis* L.	AMARANTHACEAE	B
3	ผักเป็ด	*Alternanthera sessilis* (L.) DC.	AMARANTHACEAE	B
4	มะไฟนกคุ่ม	*Ammania baccifera* L.	LYTHRACEAE	B
5	ก้นจ้ำ	*Bidens pilosa* L.	ASTERACEAE	B
6	กระดุมใบเล็ก	*Borreria laevis* (LAMK) Griseb	RUBIACEAE	B
7	บัวบก	*Centella asiatica* (L.) Urb.	UMBELINACEAE	B
8	ผักกูดเขากวาง	*Ceratopteris thalictroides* Brongn.	PARKERIACEAE	F
9	ผักปลาบ	*Commellina diffusa* Burm.	COMMELINACEAE	B
10	หญ้าคออ่อน	*Crassocephallum crepidioides*(Benth.) S.More	ASTERACEAE	B
11	กกทราย	*Cyperus iria* L.	CYPERACEAE	S
12	กกดอกตุ้ม	*C. kyllingia* L.	CYPERACEAE	S
13	กกช่อดอกขน	*C. pilosus* vahl	CYPERACEAE	S
14	หญ้าตีนนก	*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.	POACEAE	N
15	กะเม็ง	*Eclipta alba* (L.) Hassk.	ASTERACEAE	B
16	หญ้าตีนกา	*Eleusine indica* (L.) Gaertn.	POACEAE	N
17	เงี่ยง	*Lindernia anagallis* (Burm.f.) Penn.	SCROPHULARIACEAE	B
18	เงี่ยง	*L. ciliata* (Solm.) Penn.	SCROPHULARIACEAE	B
19	ตำแย	*Laportea bulbiflora* (Siebold & Zucc.) Wedd.	URTICACEAE	B
20	หญ้าดอกขาว	*Leptochloa chainensis* (L.)	POACEAE	N
21	เทียนนา	*Ludwigia hyssocepifolia Ness.*	ONAGRACEAE	B
22	หญ้านมหนอน	*Paspalum conjugatum* Berg.	POACEAE	N
23	หญ้าปล้องหิน	*P.scorbiculatum* L.	POACEAE	N
24	ลูกใต้ใบ	*Phyllanthus amarus* (schumach.) Thonn.	EUPHORBIACEAE	B
25	กระต่ายจาม	*Scoparia dulcis* L.	SCROPHULARIACEAE	B
26	ผักคราดหัวแหวน	*Spilanthes paniculata* Wall ex DC.	ASTERACEAE	B

Table 1 List of Weeds Species in Ribbon Plant Plantation and Their Family. (continued)

27	พันงูขียว	*stachytarpeta indica* (L.) Vahl.	VERBINACEAE	B
28	ผักเบี้ยหิน	*Trianthema portulacastrum* l.	AIZOACEAE	B
29	หญ้าละออง	*Vernonia cineria* (L.) Less.	ASTERACEAE	B

B = broad leaf weed N = narrow leaf weed S =sedge

ศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชของพืชนำเข้า

Study on Species of Insect Pests of Imported Crops

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - เดือนกันยายน 2550 ในพืชนำเข้า 2 พืช คือ องุ่น และทานตะวัน จากการสืบค้นข้อมูล และจากการสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูองุ่น และทานตะวัน ผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธานและตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง พบแมลงศัตรูองุ่น จำนวน 3 อันดับ 6 วงศ์ 9 ชนิด โดยที่อันดับ Lepidoptera วงศ์ Noctuidae พบ 4 ชนิด วงศ์ Sphingidae พบ 1 ชนิด วงศ์ Cossidae พบ 1 ชนิด วงศ์ Tortricidae พบ 1 ชนิด อันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae พบ 1 ชนิด อันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae พบ 1 ชนิด สำหรับแมลงศัตรูทานตะวัน พบจำนวน 5 อันดับ 13 วงศ์ 17 ชนิด โดยที่อันดับ Lepidoptera วงศ์ Noctuidae พบ 3 ชนิด วงศ์ Trotricidae พบ 1 ชนิด วงศ์ Pyralidae พบ 1 ชนิด อันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae พบ 1 ชนิด วงศ์ Chrysomelidae พบ 1 ชนิด อันดับ Hemiptera วงศ์ Pentatomidae พบ 1 ชนิด วงศ์ Coreidae พบ 2 ชนิด วงศ์ Lygaeidae พบ 1 ชนิด อันดับ Homoptera วงศ์ Cicadellidae พบ 1 ชนิด วงศ์ Aphididae พบ 1 ชนิด วงศ์ Pseudococcidae พบ 1 ชนิด วงศ์ Aleyrodidae พบ 1 ชนิด อันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae พบ 2 ชนิด

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

การที่ประเทศไทยสนับสนุนให้มีเขตการค้าเสรี (Free Trade Area, FTA) กับประเทศต่างๆ เพิ่มขึ้น สินค้าที่เคยมีการนำเข้าแล้วจะมีปริมาณนำเข้าเพิ่มขึ้น และเปิดโอกาศให้มีการนำเข้าสินค้าชนิดใหม่จากต่างประเทศ หากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เข้มงวด นอกจากจะเสียเปรียบต่อประเทศคู่ค้าแล้ว อาจก่อให้เกิดปัญหาของศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศติดมากับสินค้าที่นำเข้า เกิดการแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดผลเสียต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างใหญ่หลวง จึงจำเป็นจะต้องทบทวนมาตรการสุขอนามัยพืชของพืชที่มีการนำเข้าทั้งหมด เฉพาะอย่างยิ่งสินค้าที่มีปริมาณนำเข้ามากและมีความเสี่ยงสูงที่จะมีศัตรูพืชเล็ดลอดติดเข้ามา Wongsiri, 1991 ได้รายงานชนิดแมลงศัตรูอุ่นที่พบในประเทศไทย จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อมวนหวาน *Othreis fullonia* (Cierck) หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hubner) วงศ์ Sphingidae ได้แก่ หนอนผีเสื้อเหยี่ยว *Theretra clotho* Drury วงศ์ Cossidae ได้แก่ หนอนเจาะกิ่ง *Zeuzera coffeae* Nietner อันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae ได้แก่ ด้วงกุหลาบ *Adoretus compressus* (Weber) อันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood ดังนั้นจึงต้องเร่งทำการวิจัยเกี่ยวกับด้านชนิด จำนวนแมลงของศัตรูพืช ชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัด เพื่อทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชที่พบในประเทศไทยในพืชนำเข้าทั้ง 9 พืช ไว้ตรวจสอบกับบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชที่ประเทศคู่ค้าส่งมา รวมทั้งนำไปเป็นข้อมูลสำคัญของฝ่ายกักกันพืชในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต่อไป รวมทั้งเป็นการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์ เพื่อใช้เป็นแหล่งสืบค้นอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดฆ่าแมลง ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ขวดดองแมลง สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ 70-80% และ AGA ฯลฯ

2. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง โดยวิธีการอบแห้ง ได้แก่ เข็มปักแมลง ไม้จัดรูปร่างแมลง (setting board) ปากคีบ ตู้อบแมลง ฯลฯ

3. อุปกรณ์ที่ใช้ทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ 60-100% โซเดียมไฮดรอกไซด์ โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ไซลีน โคลฟออย แคนาดาบัลซัม ฯลฯ บีคเกอร์ เตาไฟฟ้า แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป

5. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

6. เอกสารประกอบการวิเคราะห์ชนิดแมลง

7. คอมพิวเตอร์ และอุปกรณ์อื่นที่ประกอบคอมพิวเตอร์

วิธีการ

1. การสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูพืชจากเอกสารที่มีรายงานไว้ในประเทศไทย

2. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชส่งออก 2 พืช ได้แก่ องุ่น และทานตะวัน จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าว โดยใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่งหรือต้นพืชให้แมลงตกลงมาบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ / กิ่ง / ยอดพืชที่มีแมลงเกาะอยู่ด้วยกรรไกร ใช้พู่กันเขี่ยแมลงใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง หรือนำแมลงพร้อมพืชใส่ถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก หากตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้อยู่ในระยะหนอน / ตัวอ่อน ต้องแบ่งตัวอย่างนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

3. บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรูพืช และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ได้แก่ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่างแมลง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

4. จัดเตรียมตัวอย่างแมลงสำหรับวิเคราะห์ชนิดโดยการจัดรูปร่าง (set) หรือทำสไลด์ถาวร

5. ตรวจวิเคราะห์ชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้องจุลทรรศน์และวิเคราะห์ชนิดด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลง ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

6. จัดทำป้ายและบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ของแมลง พืชอาหาร วัน / เดือน / ปี และสถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และวัน / เดือน / ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด

7. เก็บรักษาตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยแล้วไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล (แมลงศัตรูพืชทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องมีตัวอย่างจริงเก็บรักษาไว้เพื่อการตรวจสอบ / สืบค้น / อ้างอิง)

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2549 ถึง กันยายน 2550

สถานที่ แปลงปลูกองุ่น และทานตะวันของเกษตรกร ทั่วทุกภาคของประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูองุ่นและทานตะวัน ซึ่งเป็นพืชที่มีศักยภาพในการส่งออก โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูองุ่นและทานตะวัน จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าวทั่วทุกภาค

ของประเทศไทย ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธานและตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง สามารถวิเคราะห์ชนิดแมลงศัตรูองุ่น และแมลงศัตรู ทานตะวัน ได้ดังต่อไปนี้

ชื่อพืช	ชื่อแมลง		อันดับ	วงศ์	ส่วนที่ถูกทำลาย
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์			
องุ่น	ผีเสื้อมวนหวาน	*Othreis fullonia* (Cierck)	Lepidoptera	Noctuidae	ผล
	หนอนกระทู้หอม	*Spodoptera exigua* (Hubner)	Lepidoptera	Noctuidae	ใบ
	กระทู้ผัก	*Spodoptera litura* (Fabricius)	Lepidoptera	Noctuidae	ใบ
	หนอนเจาะสมอฝ้าย	*Helicoverpa armigera* (Hübner)	Lepidoptera	Noctuidae	ดอก
	หนอนผีเสื้อเหยี่ยว	*Theretra clotho* Drury	Lepidoptera	Sphingidae	ใบ
	หนอนเจาะกิ่ง	*Zeuzera coffeae* Nietner	Lepidoptera	Cossidae	กิ่ง
	หนอนม้วนใบส้ม	*Archips micaceana* (Walker)	Lepidoptera	Tortricidae	ใบ
	ด้วงกุหลาบ	*Adoretus compressus* (Weber)	Coleoptera	Scarabaeidae	ใบ
	เพลี้ยไฟพริก	*Scirtothrips dorsalis* Hood	Thysanoptera	Thripidae	ใบอ่อน
ทานตะวัน	กระทู้ผัก	*Spodoptera litura* (Fabricius)	Lepidoptera	Noctuidae	ใบ
	หนอนเจาะสมอฝ้าย	*Helicoverpa armigera* (Hübner)	Lepidoptera	Noctuidae	ดอก
	หนอนคืบเขียว	*Chrysodeixis chalcites* Esper	Lepidoptera	Noctuidae	ใบ
	หนอนม้วนใบส้ม	*Archips micaceana* (Walker)	Lepidoptera	Tortricidae	ใบ
	หนอนเจาะต้นข้าวโพด	*Ostrinia funacalis* (Guenée)	Lepidoptera	Pyralidae	ลำต้น จานดอก
	แมลงค่อมทอง	*Hypomeces squamosus* Fabricius	Coleoptera	Curculionidae	ใบ
	ด้วงหมัด	*Monolepta signata* Olivier	Coleoptera	Chrysomelidae	ใบ
	มวนเขียวข้าว	*Nezara viridula* (Linnaeus)	Hemiptera	Pentatomidae	ใบ ยอดอ่อน เมล็ด
	มวนปอแก้ว	*Cletus trigonus* (Thunberg)	Hemiptera	Coreidae	ใบ ยอดอ่อน เมล็ด
	มวนดูดน้ำเลี้ยง	*Leptoglossus membranaceus* Fabricius	Hemiptera	Coreidae	ใบ ยอดอ่อน เมล็ด
	มวนขี้ครอก	*Lygaeus hospes* Fabricius	Hemiptera	Lygaeidae	ใบ ยอดอ่อน เมล็ด
	เพลี้ยจักจั่นฝ้าย	*Amrasca biguttula biguttula* Ishina	Homoptera	Cicadellidae	ใบ
	เพลี้ยอ่อนฝ้าย	*Aphis gossypii* Glover	Homoptera	Aphididae	ใบอ่อน ยอดอ่อน
	เพลี้ยแป้ง	*Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley	Homoptera	Pseudococcidae	ใบ
	แมลงหวี่ขาวยาสูบ	*Bemisia tabaci* (Gennadius)	Homoptera	Aleyrodidae	ใบ
	เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย	*Thrips hawaiiensis* (Morgan)	Thysanoptera	Thripidae	ดอก
	เพลี้ยไฟฝ้าย	*Thrips palmi* Karny	Thysanoptera	Thripidae	ดอก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาชนิดของแมลงศัตรูพืชส่งออก 2 พืช ได้แก่ องุ่น และทานตะวัน ที่เก็บรวบรวมได้จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าว พบแมลงศัตรู องุ่น ทั้งหมด จำนวน 3 อันดับ 6 วงศ์ 9 ชนิด อันดับ Lepidoptera วงศ์ Noctuidae ได้แก่ ผีเสื้อมวนหวาน *Othreis fullonia* (Cierck) หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* (Hubner) หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) หนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa amigera* Hübner วงศ์ Sphingidae ได้แก่ หนอนผีเสื้อเหยี่ยว *Theretra clotho* Drury วงศ์ Cossidae ได้แก่ หนอนเจาะกิ่ง *Zeuzera coffeae* Nietner วงศ์ Tortricidae ได้แก่ หนอนม้วนใบส้ม *Archips micaceana* (Walker) อันดับ Coleoptera วงศ์ Scarabaeidae ได้แก่ ด้วงกุหลาบ *Adoretus compressus* (Weber) อันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae ได้แก่ เพลี้ยไฟพริก *Scirtothrips dorsalis* Hood

พบแมลงศัตรู ทานตะวัน จำนวน 5 อันดับ 13 วงศ์ 17 ชนิด อันดับ Lepidoptera วงศ์ Noctuidae ได้แก่ หนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) หนอนเจาะสมอฝ้าย *Helicoverpa amigera* Hübner หนอนคืบเขียว *Chrysodeixis chalcites* Esper วงศ์ Trotricidae ได้แก่ หนอนม้วนใบ *Archips micaceana* (Walker) วงศ Pyralidae ได้แก่ หนอนเจาะต้นข้าวโพด*Ostrinia funacalis* (Guenée) อันดับ Coleoptera วงศ์ Curculionidae ได้แก่ แมลงค่อมทอง *Hypomeces squamosus* Fabricius วงศ์ Chrysomelidae ได้แก่ ด้วงหมัด *Monolepta signata* Olivier อันดับ Hemiptera วงศ์ Pentatomidae ได้แก่ มวนเขียวข้าว *Nezara viridula* (Linnaeus) วงศ์ Coreidae ได้แก่ มวนปอแก้ว *Cletus trigonus* (Thunberg) มวนดูดน้ำเลี้ยง *Leptoglossus membranaceus* Fabricius วงศ์ Lygaeidae ได้แก่ มวนขี้ครอก *Lygaeus hospes* Fabricius อันดับ Homoptera วงศ์ Cicadellidae ได้แก่ เพลี้ยจักจั่นฝ้าย *Amrasca biguttula biguttula* Ishina วงศ์ Aphididae ได้แก่ เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover วงศ์ Pseudococcidae ได้แก่ เพลี้ยแป้ง *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley วงศ์ Aleyrodidae ได้แก่ แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) อันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ฮาวาย *Thrips hawaiiensis* (Morgan) เพลี้ยไฟฝ้าย *Thrips palmi* Karny

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพฯ. 75 หน้า

Wongsiri, N. 1991. List of Insect, Mite and Other Zoological Pests of Economic Plants in Thailand. Entomology and Zoology Division Department of Agriculture Bangkok, Thailand. 168 p.

การศึกษาชนิดไรศัตรูของพืชเพื่อการนำเข้า

Study on the Species of Mite Pests of Imported Crops

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

บทคัดย่อ

จากการสำรวจไรศัตรูพืชนำเข้าที่มีการปลูกในประเทศไทยได้แก่ พุทราไทย พุทราจีน ทับทิม องุ่นและทานตะวัน ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2550 บนพื้นที่ 8 จังหวัด เพื่อนำไปจัดทำบัญชีรายชื่อไรศัตรูพืช พบไรรวมทั้งสิ้น 20 ชนิด 5 วงศ์ แบ่งเป็นไรศัตรูพืช 11 ชนิด 3 วงศ์ และไรศัตรูธรรมชาติ 9 ชนิด 2 วงศ์ โดยไรศัตรูพืชที่สำรวจพบทั้งหมดเป็นไรศัตรูพืชที่พบได้ทั่วไป สำหรับไรศัตรูพืชบนพืชนำเข้าที่มีการปลูกในประเทศไทย โดยเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กรมวิชาการเกษตร ตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2517 จนถึงปัจจุบัน พบไรศัตรูพืช รวมทั้งสิ้น 18 ชนิด 4 วงศ์ โดยเป็นไรในวงศ์ Tetranychidae 12 ชนิด ไรในวงศ์ Tenuipalpidae 3 ชนิด และไรในวงศ์ Tarsonemidae 2 ชนิด และไรในวงศ์ Eriophyidae 1 ชนิด

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 องุ่น และทานตะวัน) มีรายงานพบไรศัตรูพืชหลายชนิดด้วยกันที่เป็นศัตรูที่สำคัญเข้าทำลายพืชที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศเช่น *Brevipalpus lewisi* McGregor (Citrus flat mite) เป็นไรที่มีการสำรวจพบครั้งแรกบนมะนาวที่แคลลิฟลอเนียในปี 1942 มีพืชอาหารที่กว้างมากเช่น ส้ม ถั่วแอลฟัลฟา กุหลาบ ทับทิมและ ฝ้าย (Kerns *et al*., No date) นอกจากนี้มีรายงานพบไรอีก 3 ชนิดในทับทิมได้แก่ *Tenuipalpus punicae* Pritchard and Baker, *Eriophyes granati* Canestrini และ *Lorrya formosa* Cooreman (Juan *et a*l., No date*)* Bolland *et al* (1998) รายงานพบไรศัตรูพืชในทับทิม พุทรา ทานตะวัน และองุ่นหลายชนิดด้วยกัน เช่น ในทับทิมพบไร *Oligonychus coffeae* (Neitner), *O. punicae* (Hirst), *Tetranychus kanzawai* Kishida และ *Tetranychus urticae* Koch ในพุทรา เช่น *Eutetranychus banksi* (McGregor) และ *Eutetanychus orientalis* (Beglyarov & Mitrofanov)*, T. urticae* และ *Tetranychus truncatus* Ehara ในทานตะวัน เช่น *T. kanzawai*, *Tetranychus ludeni* Zacher , *Tetranychus neocaledonicus* Andre และ *T. truncatus*

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

จากที่มีรายงานพบไรศัตรูพืชที่สำคัญบนพืชนำเข้าต่าง ๆ จะเห็นได้ว่า การสำรวจและตรวจจำแนกชนิดของศัตรูพืชเหล่านี้ที่ปรากฏอยู่ในประเทศไทย เป็นสิ่งจำเป็นที่จะช่วยให้สามารถจัดทำ

บัญชีรายชื่อศัตรูพืชนำเข้าเพื่อวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช 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 องุ่น และทานตะวัน 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. จดบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของไรที่เก็บได้ในพุทรา ทับทิม องุ่นและทานตะวัน รวมทั้งลักษณะการทำลาย พืชอาศัย และเขตแพร่กระจายของไรบนพืชต่าง ๆ เหล่านั้น

เวลาและสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน มกราคม 2548-ธันวาคม 2550 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างบนพื้นที่ 8 จังหวัดได้แก่ เชียงราย, เชียงใหม่, กาญจนบุรี, นครปฐม, สมุทรสาคร, กรุงเทพ, สระบุรี ลพบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จจากการสำรวจไรศัตรูพืชนำเข้าที่มีการปลูกในประเทศไทยได้แก่ พุทราไทย พุทราจีน ทับทิม องุ่นและทานตะวัน ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2550 บนพื้นที่ 8 จังหวัด พบไรรวมทั้งสิ้น 20 ชนิด 5 วงศ์ แบ่งเป็นไรศัตรูพืช 11 ชนิด 3 วงศ์ และไรศัตรูธรรมชาติ 9 ชนิด 2 วงศ์ ดังแสดงใน (Table 1 และ 2)

สำหรับไรศัตรูพืชนำเข้าที่มีการปลูกในประเทศไทย ที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ของกลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม กรมวิชาการเกษตร ตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2517 จนถึงเดือนตุลาคม 2548 พบไรศัตรูพืช รวมทั้งสิ้น 18 ชนิด 4 วงศ์ โดยเป็นไรในวงศ์ Tetranychidae 12 ชนิด ไรในวงศ์ Tenuipalpidae 3 ชนิด และไรในวงศ์ Tarsonemidae 2 ชนิด และไรในวงศ์ Eriophyidae 1 ชนิด โดยในพุทราจีน พุทราไทย พบไรศัตรูพืช 8 ชนิด 2 วงศ์ ในองุ่นพบไรศัตรูพืช 11 ชนิด 3 วงศ์ ในทับทิมพบไรศัตรูพืช 6 ชนิด 2 วงศ์ และในทานตะวันพบไรศัตรูพืช 5 ชนิด 2 วงศ์ ดังแสดงใน Appendix 1

Table 1. Mite pests found on imported crops from different locations in Thailand. (Sept 2005-Dec 2007)

Host plant	Scientific name of mite	Part of plants infected by mite pests	Location
Jujube	*Eutetranychus africanus* (Tucker)	leaf	Chiang Rai (Mae Suai)
			Lop Buri (Muang)
	Oligonychus biharensis (Hirst)	leaf	Nakhon Pathom (Kamphaeng Saen)
	Tetranychus kanzawai Kishida	leaf	Chiang Rai (Wiang Pa Pao), Chiang Mai (Fang)
	Tetranychus truncatus Ehara	leaf	Chiang Rai (Mae Suai)
Grape	Eriophyidae	leaf	Bangkok (Bangkhen)
	Eutetranychus africanus (Tucker)	leaf	Samut Sakhon (Ban Phaeo)
	Oligonychus mangiferus (Rahman and Sapra)	leaf	Samut Sakhon (Ban Phaeo), Saraburi (Muak Lek)
Pomegranate	*Brevipalpus phoenicis* (Geijskes)	leaf	Bangkok (Bangkhen), Kanchanaburi (Tha Maka)
	Oligonychus mangiferus (Rahman and Sapra)	leaf	Bangkok (Bangkhen)
Sunflower	*Tetranychus gloveri* Banks	leaf	Bangkok (Bangkhen)
	Tetranychus macfarlanei Baker & Pritchard	leaf	Lop Buri (Muang)
	Tetranychus piercei McGregor	leaf	Bangkok (Bangkhen)
	Tetranychus sp.	leaf	Lop Buri (Muang)

Table 2. Predatory mite found on imported crops from different locations in Thailand. (Jan 2005-Dec 2007)

plant	Scientific name of predatory mite	Location
Jujube	*Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando	Chiang Rai (Wiang Pa Pao), Chiang Rai (Mae Suai), Chiang Mai (Fang)
	Amblyseius syzygii Gupta	Chiang Mai (Fang)
	Phytoseius sp.	Nakhon Pathom (Kamphaeng Saen)
	Phytoseius hawaiiensis Prasad	Kanchanaburi (Tha Muang)
	Family Stigmaeidae	Chiang Rai (Mae Suai),
Grape	*Amblyseius nicholsi* Ehara & Lee	Saraburi (Muak Lek)
Pomegranate	*Amblyseius nicholsi* Ehara & Lee	Kanchanaburi (Tha Maka)
	Typhlodromus sp.	Kanchanaburi (Tha Maka)
Sunflower	*Amblyseius longispinosus* (Evans)	Lop Buri (Muang)
	Paraphytoseius multidentatus Swirski & Shechter	Lop Buri (Muang)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจไรศัตรูพืชนำเข้าที่มีการปลูกในประเทศไทยได้แก่ พุทราไทย พุทราจีน ทับทิม องุ่นและทานตะวัน ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2550 บนพื้นที่ 8 จังหวัด พบไรรวมทั้งสิ้น 20 ชนิด 5 วงศ์ แบ่งเป็นไรศัตรูพืช 11 ชนิด 3 วงศ์ และไรศัตรูธรรมชาติ 9 ชนิด 2 วงศ์ ซึ่งข้อมูลที่สำรวจได้นี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่นำไปใช้ในการจัดทำบัญชีรายชื่อไรศัตรูพืชบนพืชนำเข้า

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.

Ehara, S. and T. Wongsiri. 1975. The spider mites of Thailand (Acarina: Tetranychidae). Mushi. 48(13):149-185.

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]. Available: 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

APPENDIX1 : Pests of Jujube survey Sept 1985-Oct 2007.

Scientific name	Common Name	Geographical Disytibutiion	Plant Part Affected	Reference
Brevipalpus californicus (Banks)	-	Kanchanaburi,	leaf	
Brevipalpus phoenicis (Geijskes)	Raddish black flate mite	Lop Buri	leaf	
Eotetranychus celtis Ehara	-	Samut Sakhon, Lop Buri, Ayutthaya, Tak Rayong,Lampang, Sukhothai,	leaf	
Eutetranychus africanus (Tucker)	-	Chiang Rai, Samut Sakhon, Phetchaburi Kanchanaburi, Khon Kean, Ayutthaya, NaKhon Sawan,Phichit, Rayong,Lampang, Sukhothai, Lop Buri	leaf	
Larvacarus transitans Ewing	Gall forming mite	Chiang Mai, NaKhon Sawan	branch	
Oligonychus biharensis (Hirst)	Alibangbang spider mite	Nakhon Pathom	leaf	
Tetranychus kanzawai Kishida	Cassava spider mite	Chiang Rai	leaf	
Tetranychus truncatus Ehara	Mulberry red mite	Bangkok, Chiang Rai	leaf	

1063

APPENDIX1 : Pests of Grape survey March 1977-Oct 2007.

Scientific name	Common Name	Geographical Disytibutiion	Plant Part Affected	Reference
Eriophyidae	-	Bangkok	leaf	
Eotetranychus celtis Ehara	-	Chiang Mai,Phitsanulok	leaf	
Eutetranychus africanus (Tucker)	-	Samut Sakhon,Ratchaburi	leaf	
Oligonychus biharensis (Hirst)	Alibang band spider mite	Nakhon Phanom	leaf	
Oligonychus coffeae (Nietner)	Red tea mite	Nakhon Pathom,Ratchaburi	leaf	
Oligonychus mangiferus (Rahman and Sapra)	-	Bangkok, Samut Sakhon ,Ratchaburi , Chiang Mai, Chaiyaphum, Saraburi	leaf	
Polyphagotarsonemus latus Banks	Yellow tea mite, Tropical mite	Samut Sakhon,Ratchaburi, Chiang Mai	leaf	
Tarsonemidae	-	Bangkok	leaf	
Tetranychus kanzawai Kishida	Cassava spider mtie	Ratchaburi	leaf	
Tetranychus sp.	-	Loei, Nakhon Phanom	leaf	
Tetranychus urticae Koch	Glass house spider mite, Two spotted spider mtie	Chiang Mai		

1064

APPENDIX1 : Pests of Pomegranate survey June 1974-Oct 2007.

Scientific name	Common Name	Geographical Disytibutiion	Plant Part Affected	Reference
Brevipalpus californicus (Banks)	-	Samut Prakan, Chaiyaphum	leaf	
Brevipalpus phoenicis (Geijskes)	Reddish black flate mite	Bangkok, Phetchaburi Kanchanaburi, Suphan Buri	leaf	
Eutetranychus africanus (Tucker)	-	Bangkok	leaf	
Oligonychus coffeae (Nietner)	Red tea mite	Bangkok , Chai Nat, Phetchaburi, , Suphan Buri, Chaiyaphum	leaf	
Oligonychus mangiferus(Rahman& Sapra)	-	Bangkok	leaf	
Oligonychus punicae (Hirst)	-	Bangkok	leaf	

1065

APPENDIX1 : Pests of Sunflower survey June 1974-Oct 2007.

Scientific name	Common Name	Geographical Disytibutiion	Plant Part Affected	Reference
Brevipalpus californicus (Banks)	-	Saraburi	leaf	
Brevipalpus phoenicis (Geijskes)	Reddish black flate mite	Saraburi	leaf	
Tetranychus gloveri Banks	-	Bangkok	leaf	
Tetranychus piercei McGregor	The first Philippine spider mite	Bangkok	leaf	
Tetranychus truncatus Ehara		Bangkok	leaf	

การศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูพืชนำเข้า

Survey and Identify the Species of Snail and Slug Pest in Some Economic Crops that Having Been Imported for Arranging the PL / PRA

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด
ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจชนิดหอยทากและทากในแปลงพืชนำเข้า ได้แก่ ทับทิม,pomegranate (*Punica granatum* L. : Punicaceae) พุทราจีน, common jujube (*Zizyphus rotundifolia* Lamk. : Rhamnaceae) ทานตะวัน, sunflower(*Helianthus annuus* L.: Compositae) และองุ่น ,summer or pigeon grape (*Vitis aestivalis* Michx. : Vitaceae) โดยสุ่มตรวจนับ 10 แห่งๆละ 1 ตารางเมตร พบหอยทากที่เป็นศัตรูพืชในทับทิม 0 ชนิด พุทราจีน 2 ชนิด ทานตะวัน 1 ชนิด และ ในองุ่น 2 ชนิด

คำนำ

การติดต่อค้าขายผลผลิตทางการเกษตรกับประเทศต่างๆนั้น จำเป็นต้องมีการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูของพืชที่จะนำเข้านั้นๆ (Pest list) ได้แก่แมลง ไร โรค วัชพืชและสัตว์ พร้อมรายละเอียดตามแบบฟอร์มที่ได้กำหนดและยอมรับกันเป็นสากล ให้แก่ประเทศที่จะเป็นคู่ค้าในอนาคตได้รับทราบล่วงหน้า ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการสำรวจหอยทากและทากในแหล่งผลิตพืชต่างๆทั่วประเทศ เพื่อเก็บรวบรวมเป็นข้อมูลพื้นฐานของประเทศไทยเสียก่อน การศึกษานี้เพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์หอยทากและทากศัตรูพืช ทำให้ได้บัญชีรายชื่อหอยทากและทากศัตรูพืชในพืชนำเข้าปีละ 2 พืช รวม 4 พืช ได้แก่ ทับทิม,pomegranate(*Punica granatum* L. : Punicaceae) พุทราจีน, common jujube (*Zizyphus rotundifolia* Lamk. : Rhamnaceae) ทานตะวัน, sunflower (*Helianthus annuus* L.: Compositae) และองุ่น ,summer or pigeon grape (*Vitis aestivalis* Michx. : Vitaceae) และรวบรวมตัวอย่างเก็บไว้ใน collection เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิง

รหัสโครงการ 07-01-49-07

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงพืชเศรษฐกิจที่นำเข้าได้แก่ ทับทิม พุทราจีน ทานตะวัน และองุ่น
- ตู้กระจก กล่องพลาสติกและถุงพลาสติกใส่หอยทาก
- เวอร์เนียร์ คาลิปเปอร์
- กระดาษเช็ดมือ(paper towel)
- ดินขุยมะพร้าว
- แว่นขยาย (hand lens)
- กล้องจุลทรรศน์
- กล้องถ่ายภาพ

วิธีการ

สำรวจและนับจำนวนประชากร หอยทากและทากที่เป็นศัตรูพืช ในแปลงพืชนำเข้า **ในพืชจำพวกไม้ผล** สำรวจในบริเวณพื้นที่รอบโคนต้นไม้ผลนั้นๆ และขยายออกมาโดยรอบภายใต้ทรงพุ่ม จำนวน 2 ตารางเมตรต่อต้น **ในพืชไร่และไม้ดอก** ตรวจนับตารางเมตร 10 ตำแหน่ง ต่อไร่ และศึกษาการทำลายพืชนั้นๆในแปลงโดยวิธีการสำรวจที่ลำต้น กิ่งและใบ ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่างหอยที่มีชีวิตเพื่อนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และศึกษาชีววิทยาด้านการกินอาหาร รวมทั้งเก็บตัวอย่างเปลือกหอย นำมาทำความสะอาดและจัดเก็บเป็นหมวดหมู่ในตู้เก็บตัวอย่างหอยทาก

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550
ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา
แหล่งปลูกพืชทั่วประเทศ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

หอยทากมีทั้งชนิดที่กินพืชสดเช่นใบและยอดอ่อน กินซากพืชที่เน่าเปื่อย กินเนื้อหอยทากชนิดอื่น และกินตะไคร่ตามลำต้นพืชใหญ่ โดยมิได้เจาะจงว่าเป็นพืชชนิดใด ดังนั้นในแต่ละพืชจึงมุ่งเน้นสำรวจในสวนหรือไร่ที่มีวัชพืชปกคลุมหรืออยู่ในบริเวณที่มีความชื้นสูง รวมทั้งอยู่ใกล้ภูเขาหรือแหล่งน้ำเท่านั้น

จากการสำรวจชนิดหอยทากในพืชนำเข้า 4 ชนิด ได้ผลดังนี้

ทับทิม,pomegranate(*Punica granatum* L. : Punicaceae) ไม่พบหอยทาก

พุทราจีน , common jujube (*Zizyphus rotundifolia* Lamk. : Rhamnaceae) จังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย พบหอยทากศัตรูพืชได้แก่ หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* (Tomlin) : Arionphantidae และAsian Tramp snail, *Bradybaena similaris* (Ferussac) : Bradybaenidae ไม่ใช่ศัตรูพืชได้แก่ หอยอำพัน , Amber snail *Succinea* spp. : Succineidae

ทานตะวัน , sunflower(*Helianthus annuus* L.: Compositae) สำรวจหอยทากในไร่ทานตะวัน พื้นที่จังหวัดลพบุรี พบหอยดักดาน *Cryptozona* sp.: Arionphantidae ซึ่งเป็นศัตรูพืช และพบหอยหอม *Cyclophorus* spp. ซึ่งไม่ใช่หอยทากศัตรูพืช

องุ่น,summer or pigeon grape (*Vitis aestivalis* Michx. : Vitaceae) ในท้องที่จังหวัดนครปฐมและสมุทรสาคร พบหอยศัตรูพืช ได้แก่ หอยเจดีย์เล็ก, Tiny Awlsnail , *Lamellaxis gracilis* (Hutton) : Subulinidae และ หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* (Tomlin) : Arionphantidae

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พบหอยทากที่เป็นศัตรูพืชในทับทิม 0 ชนิด พุทราจีน 2 ชนิด ทานตะวัน 1 ชนิด และ ในองุ่น 2 ชนิด และการสำรวจกระทำในพื้นที่จำนวนน้อยมากเนื่องจากงบประมาณจำกัด หากเป็นไปได้ควรมีการสำรวจทุกภาคของประเทศ

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.

เต็ม สมิตินันท์. 2544 . ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย.บริษัทประชาชนจำกัด กรุงเทพฯ . 812 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.

Panha, Somsak . 1996. A checklist and Classification of the Terrestrial Pulmonate Snails of Thailand. Walkerana, 1995 – 1996, 8(19) : 31 – 40 .

Solem Alan. 1966. Some Non-Marine Mollusks from Thailand, with Notes on Classification of the Helicarionidae. Spolia Zool. Mus. Haun., Copen.

การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชบนเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันนำเข้า

Pest Risk Analysis for The Importation of Oil plam seeds

ชลธิชา รักใคร่ อุดร อุณหวุฒิ
สุรพล ยินอัศวพรรณ ศรีวิเศษ เกษสังข์
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ปาล์มน้ำมัน(Oil plam) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Elaeis quineensis Jacg เป็นพืชน้ำมันที่มีศักยภาพในการแข่งขันสูงพืชหนึ่งในตลาดโลก นอกจากผลิตเพื่อการบริโภคแล้วยังเป็นพืชอุตสาหกรรมให้พลังงานอีกด้วย รัฐบาลมีนโยบายให้ขยายพื้นที่ผลิตเพิ่มมากขึ้นทุกปี จึงจำเป็นต้องนำเข้าเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ เช่น คอสตาริกา ปาปัวนิวกินี คอนโก เบนิน ไอโวรีโคต และอินเดีย เป็นต้น ปี 2548

มีการนำเข้า จำนวน 6.24 ล้านเมล็ด ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ปาล์มน้ำมันจากทุกแหล่งทั่วโลกจัดเป็นสิ่งต้องห้ามแต่ยังคงให้นำเข้าได้ ตามบทเฉพาะกาล ดังนั้นในการนำเข้าแค่มีใบรับรองปลอดศัตรูพืชแนบมาเท่านั้น จากข้อกำหนดดังกล่าว ประเทศไทยได้อนุญาตการนำเข้าปาล์มน้ำมัน จากทั่วโลก การนำเข้าไม่ต้องระบุข้อความเพิ่มเติมลงในใบรับรองปลอดศัตรูพืช (Phytosanitary certificate) แต่อย่างใด ผลการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของปาล์มน้ำมันในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) พบว่า จากการค้นคว้ารวบรวมรายงานจากทั่วโลกมีสิ่งมีชีวิตที่เป็นศัตรูของปาล์มน้ำมันรวมทั้งสิ้นจำนวน 373 ชนิด สิ่งมีชีวิตดังกล่าวข้างต้นเป็นศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) ที่มีรายงานพบทำลายบนส่วนเมล็ดพันธุ์ จำนวน 134 ชนิด เป็นแมลง 81 ชนิด ไร 3 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด แบคทีเรีย 1 ชนิด เชื้อรา 22 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิดและ วัชพืช 20 ชนิด และศัตรูพืชอื่นๆผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน (Risk assessment) แต่ละชนิดพบว่า มีศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง (High risk) 6 ชนิด ความเสี่ยงปานกลาง (Medium risk) 25 ชนิด ความเสี่ยงต่ำ (Low risk) 65 ชนิด และ ความเสี่ยงต่ำมาก (Very low risk) 38 ชนิด มาตรการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน (Risk management) ที่มีความเสี่ยงสูงจะประกอบด้วยมาตรการ กำหนดให้ปาล์มนำมันเป็นสิ่งต้องห้ามในการนำเข้าต้องปฏิบัติตามเงื่อนไขที่กรมวิชาการเกษตรกำหนด

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ปาล์มน้ำมัน เป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย ปัจจุบันได้มีการขยายพื้นที่ปลูกออกไปอย่างกว้างขวางทั้งในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การศึกษาเบื้องต้นพบว่าปาล์มน้ำมัน มีศัตรูพืชร้ายแรง ที่มีรายงานการแพร่ระบาดในต่างประเทศ ศัตรูพืชหลายชนิดยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทยและประเทศไทยยังคงมีความต้องการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปาล์มนำมันอีกจำนวนมาก จากรายงานในปี 2548 พบว่ามีการนำเข้าจำนวน 6.24 ล้านเมล็ด (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2548) การที่ประเทศไทยปล่อยให้มีการนำเข้าปาล์มนำมันจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลกเข้ามาเป็นจำนวนมากและเป็นระยะเวลานานโดยไม่มีมาตรการทางสุขอนามัยพืชที่รัดกุมอาจจะทำให้ศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) ที่ร้ายแรงติดมากับปาล์มนำมันจนก่อให้ให้เกิดความเสียหายทำลายพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทยได้

ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ปาล์มน้ำมัน จัดอยู่ในกลุ่มสิ่งต้องห้ามแต่ยังคงให้นำเข้าโดยไม่มีเงื่อนไขตามบทเฉพาะกาลดังนั้นการนำเข้าแค่มีใบรับรองปลอดศัตรูพืชแนบมาเท่านั้น จากข้อกำหนดดังกล่าวประเทศไทยได้อนุญาตการนำเข้าปาล์มน้ำมัน จากทั่วโลก การนำเข้าไม่ต้องระบุข้อความเพิ่มเติมลงในใบรับรองปลอดศัตรูพืช (Phytosanitary certificate) แต่อย่างใด ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อศึกษาการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของปาล์มนำมันที่นำเข้าจากต่างประเทศเพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูพืชกักกันของปาล์มนำมันและ เพื่อใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ไว้สนับสนุนการประกาศทบทวนมาตรการทางสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าปาล์มนำมันจากต่างประเทศให้รัดกุมต่อไป

วิธีดำเนินการ

วิธีการ

ศึกษา ค้นคว้า รวบรวมข้อมูลงานวิจัยทั้งทั้งในและต่างประเทศจากฐานข้อมูลตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆทั่วโลก ที่เกี่ยวกับศัตรูพืชที่มีรายงานพบในต่างประเทศ ซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุดที่มีรายงานจนถึงปัจจุบันนี้และเชื่อถือได้ แล้วนำมาวิเคราะห์ตามหลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุข อนามัยพืช ฉบับที่ 2 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่องคำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO, 2005) และมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (FAO, 2004)

ตามหลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชนั้น 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)

1. **ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มขบวนการวิเคราะห์** (Initiation)

จุดมุ่งหมายของขั้นตอนการเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ก็เพื่อจำแนกศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืช ซึ่งเป็นที่สนใจการกักกันพืช และควรจะได้รับการพิจารณาสำหรับการพิจารณาสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกันกับพื้นที่หนึ่งที่กำหนดซึ่งทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2. **ขั้นตอนที่ 2 : การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช** (Pest Risk Assessment)

กระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช สามารถแบ่งออกได้อย่างกว้างเป็น 3 ขั้นตอนซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน

- การจำแนกประเภทศัตรูพืช
- การประเมินศักยภาพการเข้ามาและการแพร่ระบด
- การประเมินศักยภาพของผลกระทบของศัตรูพืชทางเศรษฐกิจ

ในหลายๆ กรณี ขั้นตอนเหล่านี้จะใช้ในกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเรียงตามลำดับ แต่ไม่จำเป็นเสมอไปที่จะต้องดำเนินการตามลำดับ การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชต้องการเพื่อแสดงเหตุผลทางวิชาการอย่างสมบูรณ์ ณ สถานการณ์เวลานั้น มาตรฐานนี้ยินยอมการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เฉพาะเจาะจงได้รับการพิจารณาตัดสินตามหลักเกณฑ์ของความจำเป็น, ให้มีผลกระทบน้อยที่สุด, มีความโปร่งใส, ความเท่าเทียมกัน, การวิเคราะห์ความเสี่ยง, การจัดการความเสี่ยง และไม่เลือกปฏิบัติ ซึ่งกำหนดไว้ใน ISPM No. 1: Principles of plant quarantine as relate to international trade (FAO, 1995)

3. **ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช** (Pest risk management)

ข้อสรุปจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่าจำเป็นหรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยง และมาตรการที่ใช้จัดการความเสี่ยงจะมีความเข้มแข็งเพียงพอที่จะใช้หรือไม่ เนื่องจากความเสี่ยงที่เป็นศูนย์ไม่ใช่เป็นทางเลือกที่มีเหตุมีผลที่สามารถดำเนินการได้ โดยหลักการคำแนะนำในการจัดการความเสี่ยงจะต้องจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับวิธีการที่สามารถดำเนินการได้และทรัพยากร การจัดการความเสี่ยง (ในแง่มุมด้านการวิเคราะห์) เป็นกระบวนการจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงที่เป็นผลจากการประเมิน โดยมีการประเมินประสิทธิภาพของวิธีการจัดการ และระบุวิธีการที่เหมาะสมที่สุดต่อผู้มีอำนาจในการตัดสินใจ นอกจากนี้ในการพิจารณาเลือกวิธีการจัดการความเสี่ยงจะต้องคำนึงถึงปัจจัยความไม่แน่นอนซึ่งบันทึกไว้ในการประเมินผลที่เกิดตามมาทางด้านเศรษฐกิจและโอกาสการเข้ามาเจริญแพร่ขยายพันธุ์ด้วย

ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่1. จุดเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย การผลิตต้นกล้าเมล็ดพันธุ์เพื่อทดแทนการนำเข้ายังมีไม่พอจำเป็นต้องนำเข้าจากต่างประเทศจึงมีโอกาสที่ศัตรูพืชร้ายแรงจะเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายได้ ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ปาล์มน้ำมัน จัดอยู่ในกลุ่มสิ่งกำกัดการนำเข้าแค่มีใบรับรองปลอดศัตรูพืชแนบมาเท่านั้น ในปี 2548 มีข้อมูลจากด่านตรวจพืชมีการนำเข้าจำนวน 6.24 ล้านเมล็ด จากข้อกำหนดดังกล่าว ประเทศไทยได้อนุญาตการนำเข้าปาล์มน้ำมัน จากทั่วโลก และการนำเข้าไม่ต้องระบุข้อความเพิ่มเติมลงในใบรับรองปลอดศัตรูพืช (Phytosanitary certificate) แต่อย่างใดจากรายงานการค้นคว้าพบว่าปาล์มน้ำมันมีศัตรูพืชจากทั่วโลกทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตจำนวนทั้งสิ้น 135 ชนิด แบ่งเป็น แมลง 78 ชนิด ไร 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิดโปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 22 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด และวัชพืช 23 ชนิด

ในจำนวนศัตรูพืชดังกล่าวเป็นศัตรูพืชที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย แบ่งเป็น แมลง 39 ชนิด ไส้เดือนฝอย 3 ชนิด โปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 14 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด วัชพืช 1 ชนิด ข้อมูลรายชื่อศัตรูพืชที่กล่าวมาจัดแสดงอยู่ในเอกสารแนบ 1ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงครั้งนี้มุ่งพิจารณาศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมัน นำเข้าจากต่างประเทศ

สรุปผลขั้นตอนที่ 1ผลการวิเคราะห์เส้นทางศัตรูพืชและวิเคราะห์ศัตรูพืชจากข้อมูลรายชื่อศัตรูพืชปาล์มน้ำมัน และมีการอนุญาตให้มีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์จำนวนมากความเสี่ยงที่จะมีศัตรูพืชกักกันติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีปรับปรุงมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันใหม่ เพื่อให้สามารถควบคุมการนำเข้า ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น กำหนดให้ปาล์มน้ำมันจัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ซึ่งจะได้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีศักยภาพที่จะเป็นศัตรูพืชกักกันในขั้นตอนที่2

ขั้นตอนที่ 2. การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk assessment)

1. **การจำแนกประเภทศัตรูพืช** (Pest categorization) ได้ดำเนินการค้นคว้าข้อมูลทางวิชาการจากเอกสารต่างๆ เพื่อจำแนกชนิดศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันจากรายงานพบว่าการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) ที่พบบนปาล์มน้ำมัน ได้ดำเนินการโดยการค้นคว้ารวบรวมรายชื่อของสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานพบบนปาล์มน้ำมัน โดยจัดแบ่งออกเป็นทั้งหมด 9 กลุ่ม เรียงตามลำดับดังนี้ (1). แมลง (Insect) (2). ไร (Mite) (3). ไวรัส (Virus) (4). ไวรอยด์ (Viroid) (5). แบคทีเรีย (Bacteria)). เชื้อรา (Fungus) (7). ไส้เดือนฝอย (Nematode) (8). ไมโครพลาสมา (Mycoplasma) (9). วัชพืช (Weed)

สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่มีรายงานพบบนปาล์มน้ำมันจะถูกบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับ (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) และเอกสารอ้างอิง (Reference) เป็นต้น

รายงานการค้นคว้าพบว่าปาล์มน้ำมันมีศัตรูพืชจากทั่วโลกทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตจำนวนทั้งสิ้น 135 ชนิด แบ่งเป็น แมลง 78 ชนิด ไร 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิดโปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 22 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด และวัชพืช 23 ชนิด รายละเอียดแสดงไว้ในเอกสารแนบ 1

ประเทศไทยนำเข้าปาล์มน้ำมันจากต่างประเทศใน 2 ลักษณะได้แก่ เมล็ดที่ยังไม่งอกและเมล็ดที่งอกแล้ว การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชจะประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในปาล์ม

น้ำมันกับเมล็ดที่ยังไม่งอกและที่งอกแล้วเนื่องจากการนำเข้ามีทั้ง 2 ลักษณะและมีศัตรูพืชที่ต่างกันบ้างเล็กน้อยและจะประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกับประเทศที่นำเข้า เป็นประจำมีทั้งหมด 6 ประเทศ ได้แก่ เบนิน ปาปัวนิวกีนี คองโก ไอเวอรี่โคสท์ คอสตาริกา และอินโดนีเซียในการจัดกลุ่มศัตรูพืชแต่ละประเทศได้แสดงไว้ในตารางที่ 1-6

2. การประเมินศักยภาพในการเข้ามาของศัตรูพืช

ประเทศไทยนำเข้าปาล์มน้ำมันจากต่างประเทศใน 2 ลักษณะได้แก่ เมล็ดที่ยังไม่งอกและเมล็ดที่อกแล้ว การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชจะประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในปาล์มน้ำมันกับเมล็ดที่ยังไม่งอกและที่งอกแล้วเนื่องจากการนำเข้ามีทั้ง 2 ลักษณะและมีศัตรูพืชที่ต่างกันบ้างเล็กน้อยและจะประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกับประเทศที่นำเข้าทุกประเทศ

2.1 ประเทศเบนิน มีรายงานศัตรูพืชที่เข้าทำลายส่วนเมล็ดปาล์มน้ำมันรวม 24 ชนิด มีรายงานในประเทศไทยแล้ว 15 ชนิดที่ยังไม่มีรานงานในประเทศไทย 9 ชนิดและมีความเสี่ยงสูง 4 ชนิดที่จะติดเข้ามากับส่วนของเมล็ดพันธุ์ปาล์มน้ำมันได้แก่ *Cercospora elaeidis (Cercospora leaf spot) ,Fusarium oxysporum f.sp. elaeidis (fusarium wilt of oil palm) , Macrophomina phaseolina (charcoal rot of bean/tobacco), Phellinus noxius (brown tea root disease)* ที่มีความเสี่ยงปานกลาง 1 ชนิดได้แก่ *Pinnaspis strachani (lesser snow scale)* และที่มีความเสี่ยงต่ำ 4 ชนิด*ได้แก่ Dysmicoccus brevipes (pineapple mealybug) , Oryctes monoceros (coconut beetle) , Pimelephila ghesquierei (African spear borer), Zonocerus variegatus (variegated grasshopper)* ข้อมูลที่ใช้ประเมินอยู่ในเอกสารแนบ

2.2 ประเทศคองโก มีรายงานศัตรูพืชเข้าทำลายส่วนเมล็ดปาล์มน้ำมันจำนวน 17 ชนิดแบ่งเป็น แมลง 5 ชนิด ไร1 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด เชื้อรา 9 ชนิด และวัชพืช 1 ชนิด มีรายงานในประเทศไทยแล้ว 14 ชนิด ทียังไม่มีรายงานในประเทศไทย 3 ชนิดและมีความเสี่ยงสูงทั้ง 3 ชนิดได้แก่ *Trichodorus (stubby root nematodes) , Cercospora elaeidis (Cercospora leaf spot) , Fusarium oxysporum f.sp. elaeidis (fusarium wilt of oil palm) , Pythium splendens*

ประเทศ คอสตาริกา มีรายงานศัตรูพืชเข้าทำลายส่วนเมล็ดปาล์มน้ำมันจำนวน 11 แบ่งเป็น แมลง 2 ชนิด ไร 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด และเชื้อรา 5 ชนิด มีรายงานในประเทศไทยแล้ว 8 ชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย 3 ชนิดและทั้งหมดมีความเสี่ยงสูง 3 ชนิดได้แก่ *Trichodorus (stubby root nematodes) ,Phytomonas staheli (hartrot (oil plam) , Thanatephorus cucumeris (many names, depending on host)*

2.4 **ประเทศ อินโดนีเซีย** มีรายงานศัตรูพืชเข้าทำลายส่วนเมล็ดปาล์มน้ำมันจำนวน 28 ชนิดแบ่งเป็น แมลง 13 ชนิด ไร 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และเชื้อรา 5 ชนิด ที่มีรายงานในประเทศไทยแล้ว 23 ชนิดที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย 5 ชนิดและมีความเสี่ยงสูง 3 ชนิด*ได้แก่ Saturnia cartoonensis (oil palm muncher)hight , Trichodorus (stubby root nematodes), . Macrophomina phaseolina (charcoal rot of bean/tobacco)* ชนิดที่มีความเสี่ยงต่ำ 2 ชนิดได้แก่ *Ganoderma philippii (tea root rot) Marasmius palmivorus (oil palm bunch rot)*

2.5 **ประเทศ ไอเวอรี่โคสท์** มีรายงานศัตรูพืชเข้าทำลายส่วนเมล็ดปาล์มน้ำมันจำนวน 20 ชนิดแบ่งเป็น แมลง 7 ชนิด ไส้เดือนฝอย 3 ชนิด และเชื้อรา 10 ชนิด ที่มีรายงานในประเทศไทยแล้ว 12 ชนิดที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย 8 ชนิดและมีความเสี่ยงสูง 4 ชนิดได้แก่

Trichodorus (stubby root nematodes). Cercospora elaeidis (Cercospora leaf spot) , . Cercospora elaeidis (Cercospora leaf spot) , Fusarium oxysporum f.sp. elaeidis (fusarium wilt of oil palm) ที่มีความเสี่ยงปานกลาง 1 ชนิด *ได้แก่ Pimelephila ghesquierei (African spear borer)* ที่มีความเสี่ยงต่ำ 3 ชนิดได้แก่ *Oryctes monoceros (coconut beetle) , Pythium splendens , Pythium splendens*

2.6 **ประเทศปาปัวนิวกีนีมี**รายงานศัตรูพืชเข้าทำลายส่วนเมล็ดปาล์มน้ำมันจำนวน 23 ชนิดแบ่งเป็น แมลง 7 ชนิด ไร 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด และเชื้อรา 12 ชนิด ที่มีรายงานในประเทศไทยแล้ว 18 ชนิดที่ไม่มีรายงานในประเทศไทย 5 ชนิดและมีความเสี่ยงสูง 1 ชนิดได้แก่ *Macrophomina phaseolina (charcoal rot of bean/tobacco)* ที่มีความเสี่ยงต่ำ 4 ชนิดได้แก่ *Tetranychus piercei , .Marasmius palmivorus (oil palm bunch rot) , 3. Pythium myriotylum (brown rot of groundnut), Pythium splendensl*

เชื้อสาเหตุโรคพืชศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงสำหรับปาล์มน้ำมันที่มีโอกาสติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศได้แก่ *Cercospora elaeidis (*Cercospora leaf spot*) ,Fusarium oxysporum f.sp. elaeidis (*fusarium wilt of oil palm*) , Phytomonas staheli (*hartrot (oil plam *) Rhadinaphelonchus cocophilus*, Red ring

1. **ชื่อวิทยาศาสตร์** :*Cercospora leaf spot*

ชื่อพ้อง : *Cercospora leaf spot*

ชื่อสามัญ : Cercospora leaf spot,freckle of oil palm,leaf spot of oil palm,oil palm leaf spot

พืชอาศัย : C. elaeidis affects the African oil palm, Elaeis guineensis. The American oil palm, Elaeis oleifera, and its hybrids with E. guineensis, are more susceptible than E. guineensis). It affects seedlings in the prenursery and nursery and young palms in the field.

ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย : **ต้นกล้า ส่วนของพืชที่เจริญเติบโต**

แหล่งที่แพร่ระบาด Sierra Leone, Liberia Ghana, Ivory Coast, Togo, Rebulic of Benin, Nigerla, Cameroon, San Tane, Congo, Zaire, Papua nvw Guinea, Angola.

ชีววิทยา :เชื้อราขยายพันธุ์โดยใช้ conidia เป็นตัวแพร่กระจายเชื้อโดยไปทาง กระแสลมหรือ นำฝน conidia จะงอกติดอยู่บริเวณใบ เมื่องอกแล้ว จะแทงเข้าพืชบริเวณปากใบ โดยมีระยะบ่มเชื้อที่ประมาณ 25 วัน(Renard and Quillec, 1977) Conidiophores ของเชื้อต้องการความชื้น อยู่ระหว่าง 81 – 100 % และอุณหภูมิ ที่เหมาะสมประมาณ 27 C Sporulation จะสร้างที่มีความชื้น 93 % และที่อุณหภูมิ ต่ำกว่า 32 C Conidial เมื่อ แก่จะงอกและแพร่กระจายที่อุณหภูมิ 25-32 C อย่างไรก็ตามการงอกก็ขึ้นอยู่กับ ความชื้นบริเวณบนใบด้วย อย่างไรก็ตามการเข้าทำลายของเชื้อขึ้นกับสภาพแวดล้อมทั้งหมดด้วยที่จะเป็นตัวกระตุ้น จากรายงานที่ผ่านๆมาพบว่าช่วงระยะฤดู ฝนจะเป็นช่วงที่เหมาะสมที่สุด

โอกาสการเข้ามา : ต่ำ เพราะไม่ติดกับเมล็ดพันธุ์ แต่ถ้านำเข้าต้นกล้าจะมีโอกาสสูงที่จะติดเข้ามาได้

โอกาสเข้ามาตั้งรกราก : สูง ถ้านำเข้าต้นกล้าเข้ามาโดยตรง เพราะระยะแรกเที่เชื้อเข้าทำลายจะยังไม่แสดงอาการแต่ถ้าเข้ามาได้จะแพร่กระจายอย่างรวดเร็วเพราะอุณหภูมิทางภาคใต้ของไทยเหมาะสมสำหรับเชื้อ

ศักยภาพการแพร่กระจาย : สูง มีพืชอาศัยเหมาะสมโดยเฉพาะปาล์มน้ำมันทางภาคใต้

ความสำคัญด้านเศรษฐกิจ : เป็นเชื้อที่สำคัญที่สุดเชื้อหนึ่งของปาล์มน้ำมัน และประเทศไทยปลูกปาล์มน้ำมันมากหากเชื้อนี้เข้ามาแพร่ระบาดจะก่อให้เกิดความเสียหายแก่เกษตรกรที่ปลูกน้ำมันอย่างสูง

สถานภาพศัตรูพืช: ศัตรูพืชกักกัน

ระดับความเสี่ยง : ปานกลาง

2. **ชื่อวิทยาศาสตร์** *Fusarium oxysporum f.sp. elaeidis*

ชื่อสามัญ : fusarium wilt of oil palm

พืชอาศัย : *F. oxysporum* f.sp. *elaeidis* is pathogenic to the artificially inoculated South American oil palm, *Elaeis oleifera* (Renard et al., 1980). Isolates of *F. oxysporum* obtained from the root tissue of symptomless weed species (*Amaranthus spinosus*, Eupatorium odoratum, Mariscus alternifolius and Imperata cylindrica) from a Nigerian plantation were pathogenic to seedling oil palm (Oritsejafor,

1986). Under laboratory conditions, isolates of *F. oxysporum* pathogenic to oil palm can cause vascular wilt of date palm, while date palm isolates (*F. oxyspo*rum f.sp. *albedinis*) are equally pathogenic to oil palm (Paul, 1995).

ส่วนของพืชที่เข้าทำลาย ; ทุกส่วนของพืชโดยเฉพาะ ใบ ลำต้น ราก

แหล่งที่แพร่ระบาด : Zaire (Wardlaw, 1946) western Africa: Ivory Cote, Nigeria, Ghana, Cameroon and Congo (Wardlaw, 1948; Renard and Quillec, 1984; Oritsejafor, 1989). Brazil (Van de Lande, 1984) and Ecuador (Renard and de Franqueville, 1989). Early reports of the disease in Suriname (Anon., 1951) and Colombia (Sanchez Potes, 1966) remain unconfirmed.

ชีววิทยา : เชื้อเข้าทำลายพืชอาศัยได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ถ้าหากอาการรุนแรงในระยะกล้าอาจจะทำให้ต้นตายได้โดยเชื้อเข้าทำลายเนื้อเยื่อบริเวณ cortical ของราก และ เนื้อเยื่อปาล์ม ในระยะติดผลพืชจะแสดงอาการอาการเหี่ยวโดยที่ใบยังมีอาการเขียวอยู่ ใบล่างไม่เปลี่ยนเป็นสีเหลือง ท่อน้ำท่ออาหารไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และจะพบอาการโคนเน่าบริเวณเหนือพื้นดินประมาณ 15-30 เซนติเมตร จะแสดงอาการเหี่ยวและแคระแกรนทำให้ผลผลิตลดลง

เชื้อรานี้สามารถอยู่ในดินและเศษซากพืช สภาพเหมาสมต่อการเกิดโรคคืออากาศเย็น และเชื้อรานี้สามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ ลม ฝน น้ำชลประทาน และเครื่องมือเครื่องใช้การเขตกรรมได้

โอกาสที่จะเข้ามา : **สูง** โดยสามารถติดเข้ามากับเมล็ดพันธุ์ นำเข้าได้

โอกาสเข้ามาตั้งรกราก : สูง เพราะสภาพแวดล้อมเหมาะสม พืชอาศัยมาก

ศักยภาพการแพร่กระจาย : **สูง** ถ้าเชื้อเข้ามาได้แล้วจะแพร่กระจายได้ง่ายเพราะอุณภูมิและความชื้นเหมาะสมอีกทั้งพืชอาศัยมีจำนวนมาก

ความสำคัญด้านเศรษฐกิจ: **สูง** เนื่องจากเกษตรกรที่ปลูกปาล์มน้ำมันมีจำนวนมากและรายได้จากการผลิตปาล์มน้ำมันสูงหากเกิดการแพร่ระบาดจะทำให้ผลผลิตลดลงเกษตรกรขาดรายได้เคยมีรายงานความเสียหายพบว่าผลผลิตลดลง 50 % ปาล์มที่อายุ 6 ปีจากรายงานมีความเสียหายลดลง 6-16 %

สถานภาพศัตรูพืช: ศัตรูพืชกักกัน

ระดับความเสี่ยง : สูง

3. **ชื่อวิทยาศาสตร์** : *Phytomonas staheli*

ชื่อสามัญ : hartrot oil plam , hartrot oilpalms, fatal wilt coconut

พืชอาศัย : *Maximiliana maripa* (Slobbe et al., 1978); *Attalea funifera* (Bezerra et al., 1983); *Betinckia nicobarica* (Kastelein, 1987); Roystonea regia (Attias et al., 1987

ส่วนของพืชที่เข้าทำลาย : ระยะดอก, ระยะผล และทุกส่วนของพืชที่เป็นช่วงระยะเจริญเติบโต

แหล่งที่แพร่ระบาด : Colombia, Trinidst, Veneguela, Surinum, peru, Brazil, Ecaedon, Guxlana

ชีววิทยา : มีเอกสารเรื่องนี้ไม่มากนัก สำหรับโปรโตซัวนี้เคลื่อนที่โดยใช้ flagellates ที่เข้าทำลายพืช สำหรับกลไกไม่มีข้อมูลเคยมีรายงานที่ทดลองบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ้าง มีรายงานว่าจะเข้าทำลายกับปาล์มที่มีอายุมากไม่เข้าทำลายปาล์มที่ยังอ่อนๆโปรโตซัวนี้อาศัยบริเวณลำต้น และใบของ พืชอาศัย รวมทั้งพืชอาศัยที่เป็นวัชพืช

โอกาสการเข้ามาของเชื้อ: ปานกลาง มีพืชอาศัยไม่กว้างมาก

โอกาสเข้ามาตั้งรกราก : ปานกลาง มีพืชอาศัยที่เป็นปาล์ม และวัชพืชบางชนิด

ศักยภาพการแพร่กระจาย: ปานกลาง เนื่องจากพืชอาศัยเหมาะสม

ความสำคัญด้านเศรษฐกิจ: เป็นศัตรูที่สำคัญของปาล์มน้ำมันในประเทศไทย มีรายงานความเสียหายระดับเศรษฐกิจ

สถานภาพศัตรูพืช : **ศัตรูพืชกักกัน**

ระดับความเสี่ยง : **ปานกลาง**

4. **ชื่อวิทยาศาสตร์** : *Rhadinaphelonchus cocophilus* Aphelenchus cocophilus Cobb, 1919Aphelenchoides cocophilus (Cobb, 1919) Goodey, 1933 Chitinoaphelenchus cocophilus (Cobb, 1919) Chitwood in Corbett, 1959 Bursaphelenchus cocophilus (Cobb, 1919) Baujard, 1989

ชื่อสามัญ : red ring nematode

พืชอาศัย : Major hosts *Cocos nucifera* (coconut), *Elaeis guineensis* (African oil palm) Minor hosts *Phoenix canariensis* (palm (Canary Island)), *Phoenix dactylifera* (date-palm), *Sabal palmetto* (Cabbage palmetto)

ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย : ระยะดอก, ระยะผล และระยะเจริญเติบโต ส่วนที่ถูกทำลาย ได้แก่ ผล ใบ ลำต้น และทุกๆส่วน

แหล่งแพร่ระบาด : Coston Rica, Cdombis, Hondurus Panarma, Venezuala Surinum Brazil, West Indis, EL, Salvador, Mexico Zaire, Souda Arabia.

ชีววิทยา :ไส้เดือนฝอยชนิดนี้ มีแมลงพาหะได้แก่ R. cocophilus เป็นพาหะของปาล์ม วงจรไส้เดือนฝอยนี้อยู่กับแมลง การเข้าทำลายจะเข้าบริเวณรากพืช(Gerber and Giblin-Davis, 1990 ตัวอ่อนของแมลงพาหะกินอาหารทางลำต้นพืชอาศัย ตัวแก่ของแมลงพาหะจะเข้าทำลายปาล์ม มีรายงานกับมะพร้าวเนื้อเยื่อถูกทำลายเสียหาย โดยเฉพาะบริเวณราก ลำต้นและใบ รวมทั้งส่วนของผล ในระยะแรกจะเข้าอยู่เป็น parasites ต่อมาพบใน intercellularly สามารถพบไส้เดือนฝอยจำนวน

มากในเนื้อเยื่อพืชประมาณ 10,000 ตัว ไส้เดือนฝอยนี้ชอบอาศัยบริเวณที่ชื้นเป็นระยะเวลานานๆ2-3 เดือน วงจรชีวิต R. cocophilus พบในมะพร้าวตั้งแต่ระยะไข่- ไข่ อีกครั้งใช้ระยะเวลา 9-10 วัน

โอกาสเข้ามาของเชื้อ : สูง อาจติดเข้ามากับพืชพวกปาล์ม /มะพร้าว

โอกาสเข้ามาตั้งรกราก : ปานกลาง-สูง มีแมลงเป็นพาหะมีพืชอาศัยที่เป็นทั้งปาล์ม/มะพร้าว

ศักยภาพการแพร่กระจาย : ปานกลาง- สูง มีพืชอาศัยและแมลงเหมาะสม

ความสำคัญด้านเศรษฐกิจ : R. cocophilus causes major crop loss of coconut R. cocophilus เป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดความเสียหายในแหล่งปลูก มีการกำหนดเขตควบคุมแหล่งปลูกมะพร้าวที่พบไส้เดือนฝอยชนิดนี้มีรายงานความเสียหายกับปาล์มน้ำมันในระยะต้นอ่อน ซึ่งติดไส้เดือนฝอยชนิดนี้ง่าย R. cocophilus ชอบอาศัยในแหล่งปลูกพืชที่ชื้นๆติดต่อกันนาน 2-3 เดือน

สถานภาพศัตรูพืช : **ศัตรูพืชกักกัน**

ระดับความเสี่ยง : **สูง**

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

ตามพระราชบัญญัติ กักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติ กักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ได้แบ่งพืชออกเป็น 3 ประเภท คือ 1. สิ่งต้องห้าม (Prohibited materials) 2. สิ่งกำกัด (Restricted materials) และ 3. สิ่งไม่ต้องห้าม (Unprohibited materials) ปัจจุบัน ปาล์มน้ำมันไม่ว่าจะเป็นเมล็ดหรือส่วนหนึ่งส่วนใดของปาล์มน้ำมันจัดอยู่ในกลุ่มของพืชสิ่งกำกัด การนำสิ่งกำกัดเข้ามาในราชอาณาจักร นั้น ตามมาตรา 9 กำหนดไว้ว่า "ห้ามมิให้บุคคลใดนำเข้าหรือนำผ่านซึ่งสิ่งกำกัด เว้นแต่จะมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชของเจ้าหน้าที่ของประเทศซึ่งสิ่งกำกัดนั้นออก" จากข้อกฎหมายดังกล่าวข้างต้น ปาล์มน้ำมันจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลกสามารถส่งเข้ามาจำหน่ายยังประเทศไทยได้ โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์นั้นในใบรับรองปลอดศัตรูพืช ไม่จำเป็นต้องมีคำรับรองใด ๆ พิเศษ แนบมากับสินค้าที่นำเข้า เพียงแต่เมื่อนำเข้ามาถึงราชอาณาจักร ต้องนำเข้าด่านตรวจพืชและผ่านการตรวจสอบศัตรูพืชก่อนนำเข้า

จากผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันปรากฏว่า ศัตรูพืชในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงนี้หากเข้ามาในประเทศไทยแล้วจะก่อให้เกิดผลกระทบอย่างรุนแรงต่อการผลิตพืชเพื่อส่งออกและ/หรือสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการแก้ไปปรับปรุงมาตรการกักกันพืชใหม่ให้สอดคล้องกับชนิดของศัตรูพืช เพื่อให้สามารถป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงเหล่านั้นแพร่กระจายเข้ามาในประเทศไทย

เนื่องจากศัตรูพืชในแต่ละกลุ่มมีความสำคัญแตกต่างกัน ดังนั้น มาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันในแต่ละกลุ่มจะแตกต่างกันออกไป ดังนี้

1. **การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง** จะประกอบด้วยมาตรการ ดังนี้

(1) โดยอาศัยพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กำหนดพืช ปาล์มน้ำมันเป็นสิ่งต้องห้าม

(2) พืชตามประกาศในข้อ (1) จะไม่ได้รับอนุญาตให้นำเข้าเพื่อวัตถุประสงค์อื่นๆ จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเสร็จสิ้น โดยการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะเป็นไปตามคำแนะนำที่กำหนดในมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standard for Phytosanitary Measures, ISPM) การนำเข้าเพื่อวัตถุประสงค์อื่นๆ นอกเหนือจากที่ระบุในข้อ (2) ต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด

2. **การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันกลุ่มที่มีความเสี่ยงปานกลาง** จะประกอบด้วยมาตรการ ดังนี้

(2.1) หน่วยงานอารักขาพืชระดับประเทศจะต้องให้คำรับรองเพิ่มเติมในส่วนของข้อความเพิ่มเติม (Additional declaration) ในใบรับรองปลอดศัตรูพืช โดยระบุว่า "เมล็ดพันธุ์ของพืชในสินค้าที่นำเข้าชุดนี้ได้ผ่านการตรวจตามขั้นตอนทางราชการที่เหมาะสมแล้วและพบว่าปราศจาก

(ชื่อศัตรูพืช) (" Seed in this consignment have been inspected in accordance with appropriate official procedures and found free from (Organism name) ")

(2.2) สินค้านำเข้าที่ไม่ปฏิบัติตามเงื่อนไขดังกล่าวข้างต้นจะต้องถูกทำลาย ส่งกลับ หรือผ่านการกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะสมก่อนอนุญาตนำเข้า

3. **การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันกลุ่ม ที่มีความเสี่ยงต่ำ** ศัตรูพืชกักกันในจะประกอบด้วยมาตรการดังนี้

(1) ระบุการคลุกยาในเมล็ดพันธุ์ก่อนการส่งออกลงในใบรับรองปลอดศัตรูพืช

(2) ระบุการรมยาเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชก่อนการส่งออก

(3) สุ่มตัวอย่างและตรวจสอบในห้องปฏิบัติการหาศัตรูพืชเหล่านี้ซึ่งอาจจะติดมากับเมล็ดพันธุ์

(4) เมื่อตรวจสอบพบศัตรูพืชเหล่านี้ อาศัยอำนาจตามมาตรา 13 ในพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 สั่งให้ทำลาย ส่งกลับ คัดแยกสินค้าที่มีศัตรูพืชทำลายออก หรือกำจัดศัตรูพืชด้วยวิธีการที่เหมาะสม

สรุปผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

จากรายงานการศึกพบว่าปาล์มน้ำมันมีศัตรูพืชจากทั่วโลกทั้งที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต จำนวนทั้งสิ้น 135 ชนิด แบ่งเป็น แมลง 78 ชนิด ไร 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 6 ชนิดโปรโตซัว 1 ชนิด เชื้อรา 22 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด และวัชพืช 23 ชนิด จำเป็นต้องมีการจัดการความเสี่ยงดังนี้

1. ออกประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กำหนดพืช ปาล์มน้ำมันเป็นสิ่งต้องห้าม

2. ไม่ได้รับอนุญาตให้นำเข้าเพื่อวัตถุประสงค์อื่นๆ จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เสร็จสิ้น

3. ระบุการคลุกยาในเมล็ดพันธุ์ก่อนการส่งออกลงในใบรับรองปลอดศัตรูพืช

4. ระบุการรมยาเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชก่อนการส่งออก

5. สุ่มตัวอย่างและตรวจสอบในห้องปฏิบัติการหาศัตรูพืชเหล่านี้ซึ่งอาจจะติดมากับเมล็ดพันธุ์

6.เมื่อตรวจสอบพบศัตรูพืชเหล่านี้ อาศัยอำนาจตามมาตรา 13 ในพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 สั่งให้ทำลาย ส่งกลับ คัดแยกสินค้าที่มีศัตรูพืชทำลายออก หรือกำจัดศัตรูพืชด้วยวิธีการที่เหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2548. ปาล์มน้ำมัน เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 16 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร. 2548 แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด เอกสารวิชาการลำดับที่ 1/2548 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กองกีฏและสัตววิทยา. 2544. แมลงศัตรูปาล์มน้ำมันในประเทศไทย กลุ่มวิจัยแมลงศัตรูพืชสวน อุตสาหกรรม กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

ประยงค์ สูเตชะพันธุ์. 2547. ปาล์มน้ำมัน สำนักพิมพ์เกษตรสยามบุ๊ค ถนนเพชรเกษม ภาษีเจริญ กรุงเทพฯ. 136 หน้า.

ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์. 2514. ปาล์มน้ำมัน สำนักพิมพ์เพชรกะรัตจำกัด ถนน บรมราชชนนี เขตตลิ่งชัน กรุงเทพ. 212 หน้า.

ชัยรัตน์ นิลนนท์ และจำเป็น อ่อนทอง. 2538. ปาล์มน้ำมัน คณะทรัพย์กรธรรมชาตมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, อ.หาดใหญ่. จังหวัดสงขลา. 102 หน้า.

CABI. 2005. Crop Protection Compendium, 2005 ed. Walling ford, UK: CAB Cambridge.

IPPC. 2005. Guidelines for Pest Risk Analysis (2005 edition). The International Plant Protection Convention (IPPC), FAO, Rome. 12 pp.

FAO. 1992. The International plant Protection convention (IPPC), Rome.

FAO. 2004. ISPM No. 11 (2004) Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk and living modified organism. International Plant Protection Convention. FAO, Rome.

FAO. 2006. Revision of ISPM No. 2 Guidelines for pest risk analysis. International Plant protection convention. FAO. Rome.

WTO. 2005 World trade Organization

การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าองุ่นผลสด จากประเทศสหรัฐอเมริกา

Study on Pest Risk Analysis for Importation of table grapes (*Vitis Vinifera* L.) from The United states of America

ชลธิชา รักใคร่ อุดร อุณหวุฒิ
จำลอง ลภาสาธุกุล สุรพล ยินอัศวพรรณ ณัฏฐพร อุทัยมงคล
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

องุ่น (Grape, *Vitis vinifera*) เป็นผลไม้ที่มีการปลูกทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่นมีสถิติการนำเข้าในปริมาณมากและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี สหรัฐอเมริกา เป็นประเทศผู้ส่งออกองุ่นมายังประเทศไทยมากเป็นอันดับหนึ่ง โดยเฉพาะมาจากแคลิฟอร์เนีย ซึ่งมีศัตรูพืชกักกันแพร่ระบาดอยู่ จึงมีโอกาสสูงที่จะมีศัตรูพืชกักกันติดเข้ามา ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง แนวทางปฏิบัติสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO, 2005) และมาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางด้านสิ่งแวดล้อม (FAO, 2004) ผลการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงพบว่า องุ่นที่ปลูกในสหรัฐอเมริกามีศัตรูพืชเข้าทำลายจำนวน 371 ชนิด เป็นแมลง 137 ชนิด ไร 10 ชนิด ไวรัส 33 ชนิด ไวรอยด์ 6 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 60 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด ไส้เดือนฝอย 14 ชนิดและวัชพืช 106 ชนิด ศัตรูพืชองุ่นที่มีรายงานในแคลิฟอร์เนีย มี 99 ชนิด ไม่มีรายงานในประเทศไทย 89 ชนิด ในจำนวนนี้เป็นแมลงศัตรูพืชกักกันจำนวน 16 ชนิดที่มีความเสี่ยงสูงที่จะติดเข้ามา (Entry) ตั้งรกราก (Establishment)และ แพร่กระจาย (Spread) จนก่อให้เกิดความเสียหายถึงระดับเศรษฐกิจได้ (Economic importance)

รหัสโครงการ 07-01-49-07

ในขั้นตอนการจัดการความเสี่ยง จึงกำหนดให้รมยาด้วยเมทิลโบร์ไมด์ที่ อัตรา 32 กรัมต่อลูกบาศ์เมตร นาน 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ที่ประเทศต้นทางสำหรับเชื้อสาเหตุโรคพืชและวัชพืชกักกันนั้นผลการประเมินความเสี่ยงพบว่ามีความเสี่ยงต่ำเป็นส่วนมากเพราะว่าเป็นศัตรูพืชกักกันที่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ (Official control) หรือระบาดเฉพาะในแปลงผลิตเท่านั้นซึ่งสามารถลดความเสี่ยงได้โดยการตรวจสอบและกำจัดตั้งแต่ในแปลงปลูกก่อนเก็บเกี่ยวได้ จึงกำหนดมาตรการให้ตรวจสอบและระบุคำรับรองลงในใบรับรองปลอดศัตรูพืชให้ปราศจากศัตรูพืชกักกันดังกล่าว เมื่อสินค้ามาถึงจะถูกสุ่มตรวจ 450 หน่วยต่อสินค้า ที่ไม่เกิน 1000 หน่วย กรณีที่เกินจาก 1000 หน่วย จะถูกสุ่ม 600 หน่วยและหากตรวจพบศัตรูพืชกักกันจะถูกทำลายหรือให้ส่งกลับ

คำนำ

องุ่นเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทยแต่เดิมปลูกมากในจังหวัด นครปฐม ราชบุรี ปัจจุบันขยายพื้นที่ปลูกออกไปอย่างกว้างขวางทั้งในพื้นที่ภาคกลางตอนบน เช่น ชัยนาท พิจิตร เพชรบูรณ์ และ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น นครราชสีมา และเลย เป็นต้น ซึ่งเป็นการปลูกเพื่อบริโภคผลสด และเพื่อการอุตสาหกรรม แต่ อย่างไรก็ตาม ก็ยังคงมีการนำเข้าองุ่นผลสดจากต่างประเทศอีกจำนวนมาก ประเทศนำเข้าที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา แอฟริกาใต้ ออสเตรเลีย ชิลี และ สาธารณรัฐประชาชนจีนโดยเฉพาะจากสหรัฐอเมริกามีการนำเข้าในปี 2549 จำนวน4,196,409 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 294,686,563 บาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2549) ตามพระราชบัญญัติ กักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 องุ่นก่อนที่จะประกาศเป็นสิ่งต้องห้ามในปี 2550 นั้นแต่เดิม จัดอยู่ในกลุ่มของพืชสิ่งไม่ต้องห้าม ตามมาตรา 11 ระบุไว้ว่าการนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งไม่ต้องห้าม ให้แจ้งต่อพนักงานเจ้าหน้าที่ตามแบบที่กำหนดในกฎกระทรวงจากข้อกำหนดดังกล่าว ประเทศไทยได้อนุญาตการนำเข้าองุ่นจากทั่วโลก โดยการนำเข้าไม่จำเป็นต้องมีใบรับรองปลอดศัตรูพืช (Phytosanitary certificate) เพียงแต่เมื่อสินค้ามาถึงประเทศไทย ต้องแจ้งการนำเข้าต่อพนักงานเจ้าหน้าที่เท่านั้น

ในการศึกษาเบื้องต้นพบว่ามีศัตรูพืชร้ายแรงขององุ่นซึ่งเป็นไม้ผลในเขตอบอุ่นแล้วยังมีรายงานการทำลายไม้ผลในเขตร้อนได้ด้วย ศัตรูพืชดังกล่าวนี้หลายชนิดยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย แม้ปัจจุบันจะประกาศกำหนดเป็นสิ่งต้องห้ามแล้วก็ตามแต่ยังคงนำเข้าได้จากทุกแหล่งที่เคยนำเข้าในช่วง 5 ปีที่ผ่านมาตามบทเฉพาะกาลที่ยกเว้นให้จนกว่าการวิเคราะห์ความเสี่ยงจะเสร็จสิ้นการที่ประเทศไทยปล่อยให้มีการนำเข้าองุ่นจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลกเข้ามาเป็นจำนวนมากและเป็นระยะเวลานานโดยไม่มีมาตรการทางสุขอนามัยพืชที่รัดกุม อาจจะทำให้ศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) ที่ร้ายแรงติดมากับผลองุ่นและแพร่ระบาดทำลายไม้ผลเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ เพื่อวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขององุ่นที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาเพื่อให้ทราบชนิดศัตรูพืชกักกัน เพื่อกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับใช้ควบคุมการนำเข้าองุ่นผลสดจากแคลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกาให้มีประสิทธิภาพป้องกันมิให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาทำระบาดทำความเสียหายแก่การเกษตรของประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

วิธีการ

ศึกษา ค้นคว้า รวบรวมข้อมูลงานวิจัยทั้งทั้งในและต่างประเทศจากฐานข้อมูลตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆทั่วโลก ที่เกี่ยวกับศัตรูพืชที่มีรายงานพบในต่างประเทศ ซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุดที่มีรายงานจนถึงปัจจุบันนี้และเชื่อถือได้ แล้วนำมาวิเคราะห์ตามหลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุข อนามัยพืช ฉบับที่ 2 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่องคำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO, 2005) และมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (FAO, 2004)

ตามหลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชนั้น 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)

1. ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มขบวนการวิเคราะห์ (Initiation)

จุดมุ่งหมายของขั้นตอนการเริ่มกระบวนการวิเคราะห์ก็เพื่อจำแนกศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืช ซึ่งเป็นที่สนใจการกักกันพืช และควรจะได้รับการพิจารณาสำหรับการพิจารณาสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกันกับพื้นที่หนึ่งที่กำหนดซึ่งทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

2. ขั้นตอนที่ 2 : การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Assessment)

กระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช สามารถแบ่งออกได้อย่างกว้างเป็น 3 ขั้นตอนซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน

- การจำแนกประเภทศัตรูพืช
- การประเมินศักยภาพการเข้ามาและการแพร่ระบด
- การประเมินศักยภาพของผลกระทบของศัตรูพืชทางเศรษฐกิจ

ในหลายๆ กรณี ขั้นตอนเหล่านี้จะใช้ในกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเรียงตามลำดับ แต่ไม่จำเป็นเสมอไปที่จะต้องดำเนินการตามลำดับ การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชต้องการเพื่อแสดงเหตุผลทางวิชาการอย่างสมบูรณ์ ณ สถานการณ์เวลานั้น มาตรฐานนี้ยินยอมการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เฉพาะเจาะจงได้รับการพิจารณาตัดสินตามหลักเกณฑ์ของความจำเป็น, ให้มีผลกระทบน้อยที่สุด, มีความโปร่งใส, ความเท่าเทียมกัน, การวิเคราะห์ความเสี่ยง, การจัดการความเสี่ยง และไม่เลือกปฏิบัติ ซึ่งกำหนดไว้ใน ISPM No. 1: Principles of plant quarantine as relate to international trade (FAO, 1995)

3. **ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช** (Pest risk management)

ข้อสรุปจากการประเมินความเสี่ยงจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่าจำเป็นหรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยง และมาตรการที่ใช้จัดการความเสี่ยงจะมีความเข้มแข็งเพียงพอที่จะใช้หรือไม่ เนื่องจากความเสี่ยงที่เป็นศูนย์ไม่ใช่เป็นทางเลือกที่มีเหตุมีผลที่สามารถดำเนินการได้ โดยหลักการคำแนะนำในการจัดการความเสี่ยงจะต้องจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับวิธีการที่สามารถดำเนินการได้และทรัพยากร การจัดการความเสี่ยง (ในแง่มุมด้านการวิเคราะห์) เป็นกระบวนการจำแนกวิธีการที่จะดำเนินการกับความเสี่ยงที่เป็นผลจากการประเมิน โดยมีการประเมินประสิทธิภาพของวิธีการจัดการ และระบุวิธีการที่เหมาะสมที่สุดต่อผู้มีอำนาจในการตัดสินใจ นอกจากนี้ในการพิจารณาเลือกวิธีการจัดการความเสี่ยงจะต้องคำนึงถึงปัจจัยความไม่แน่นอนซึ่งบันทึกไว้ในการประเมินผลที่เกิดตามมาทางด้านเศรษฐกิจและโอกาสการเข้ามาเจริญแพร่ขยายพันธุ์ด้วย

ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

ขั้นตอนที่1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation of pest risk analysis)

สืบเนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงนโยบายใหม่ที่ใช้ควบคุมการนำเข้าองุ่นที่เคยนำเข้ามาก่อนตามพระราชบัญญัติกักพืช 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ.2542 นั้นองุ่นจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม มาตรา 11 ระบุไว้ว่าการนำเข้าหรือนำผ่านสิ่งไม่ต้องห้ามให้แจ้งการนำเข้าต่อพนักงานเจ้าหน้าที่ตามแบบที่กำหนดในกฎกระทรวง จากข้อกำหนดดังกล่าวประเทศไทยอนุญาตนำเข้าองุ่นจากทั่วโลก โดยไม่จำเป็นต้องมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับมาด้วย (Phytosanitary Certificate) ด้วยเหตุนี้ทำให้ข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชขององุ่น (Interception) ในประเทศที่เคยนำเข้าจากต่างประเทศมีน้อยมากจนกระทั่งปี 2550 นี้ได้ปรับองุ่นให้เป็นสิ่งต้องห้ามแต่ยังคงให้มีการนำเข้าได้เฉพาะที่เคยนำเข้ามาในช่วง 5 ปีที่ผ่านมาตามบท

เฉพาะกาล ดังนั้นในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชครั้งนี้จึงได้ดำเนินการ วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขององุ่นผลสดที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาโดยเฉพาะจากมลรัฐแคลิฟอร์เนียเพื่อเป็นข้อมูลทางวิชาการสำหรับใช้ควบคุมการนำเข้า องุ่นจากต่างประเทศต่อไป สหรัฐอเมริกาเป็นผู้ผลิตองุ่นรายใหญ่ออกสู่ตลาดโลก พบว่าในปี 2001 ผลิตองุ่นส่งออกได้จำนวน 815,992 เมตริกตันในจำนวนนี้ผลิตในแคลิฟอร์เนียจำนวน 803,000 เมตริกตันอัตราการเพิ่มผลผลิตอยู่ที่ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อปี ตลาดใหญ่ที่สุดที่ส่งออกได้แก่ แคนาดา อังกฤษ ฮ่องกงและมาเลเซีย (World Horticulture Trade/US. Export, March, 2002) ประเทศไทยนำเข้าองุ่นเพื่อการบริโภคผลสดจากสหรัฐอเมริกาในปี 2549 มีการนำเข้าจำนวน4,196,409 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 294,686,563 บาท จากสถิติการนำเข้าของสำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตรในปี พ.ศ.2550 พบว่าองุ่นจากสหรัฐอเมริกานำเข้ามาทางด่านตรวจพืช เช่นด่านปาดังเบซาร์ สะเดา ลาดกระบัง ท่าเรือกรุงเทพ แหลมฉบัง และท่าอากาศยานสุวรรณภูมิ ซึ่งอยู่ไม่ไกลจากแหล่งผลิตองุ่นที่สำคัญภายในประเทศ เช่น ราชบุรี นครปฐม สมุทรสาคร นครราชสีมา และ เพชรบูรณ์ เมื่อได้พิจารณาความเสี่ยงของศัตรูพืชในเบื้องต้นแล้ว จำลองและคณะ (2547)รายงานศัตรูพืชขององุ่นจากทั่วโลกพบว่ามีศัตรูพืชจำนวน 373 ชนิด เป็นชนิดที่ไม่มีรายงานการแพร่ระบาดในประเทศไทยจำนวน 93 ชนิด และทั้ง 93 ชนิดนั้น มีการแพร่กระจายในแหล่งผลิตองุ่นที่สำคัญของโลก 5 อันดับแรกได้แก่ประเทศสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย แอฟริกาใต้ ชิลี และจีน (ภาคผนวก 1) จากการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชขององุ่นที่มีรายงานการแพร่ระบาดในสหรัฐอเมริกาและในแคลิฟอร์เนียนั้นได้จัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) ขององุ่น ประกอบด้วย ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญแหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่เข้าทำลาย มีหรือไม่มีในประเทศผู้นำเข้าและประเทศผู้ส่งออกและเอกสารอ้างอิง(ภาคผนวก 2)

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest risk assessment)

2.1 การจัดกลุ่มศัตรูพืช

ศัตรูพืชที่มีรายงานพบทำลายบนองุ่นในสหรัฐอเมริกานั้น จากผลการศึกษาพบว่า มีศัตรูพืชจำนวนทั้งสิ้น 371 ชนิด เป็นแมลง 137 ชนิด ไร 10 ชนิด ไวรัส 33 ชนิด ไวรอยด์ 6 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 60 ชนิด ไส้เดือนฝอย 14 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด และวัชพืช 106 ชนิด จำนวนศัตรูพืชทั้งหมดได้สรุปไว้ใน ตารางที่ 1 ศัตรูพืชที่มีรายงานพบทำลายบนองุ่นในแคลิฟอร์เนียมี จำนวน 204 ชนิดแบ่งเป็นแมลง 99 ชนิด โรคพืช 88 ชนิดและวัชพืช 17 ชนิด ชนิดที่เป็นศัตรูพืชกักกัน มี จำนวน 55 ชนิด แบ่งเป็นเป็นแมลง 16 ชนิด ไร 10 ชนิด เชื้อรา 20 ชนิด และวัชพืช จำนวน 9 ชนิด

2.2 ศัตรูพืชปรากฏ/ไม่ปรากฏในประเทศไทย

แมลง ชนิดที่เป็นศัตรูพืชมีรายงานในสหรัฐอเมริกาจำนวน 137 ชนิดมีรายงานในแคลิฟอร์เนีย 99 ชนิด ในจำนวนดังกล่าวมีรายงานในประเทศไทย 10 ชนิด และไม่มีรายงานในประเทศไทย 89 ชนิดและในจำนวนนี้มีโอกาสติดเข้ามากับผลสดองุ่นนำเข้าจำนวน 16 ชนิดชนิดที่มีความเสี่ยงสูงได้แก่ลำดับที่ 1-3 ชนิดที่มีความเสี่ยงปานกลางได้แก่ลำดับที่ 4-7 และชนิดที่มีความเสี่ยงต่ำได้แก่ลำดับที่ 8-16 เรียงตามลำดับดังนี้

1. *Argyrotaenia citrana*(orange tortrix.)
2. *Platynota stultana* (omnivorous leaf roller)
3. *Scirtothrips citri* (California citrus thrips)
4. Colomerus *vitis* (grape bud mite)
5. Frankliniella *occidentalis* (western flower thrips)
6. *Pseudococcus maritimus* (grape vine mealybug)
7. Tetranychus *pacificus* (Pacific spider mite)
8. *Amyelois transitella*(navel orangeworm)
9. *Caliothrips fasciatus* (bean thrips. *Desmia funeralis* (grape leaffolder)
10. *repanothrips reuteri* (grape vine thrips)
11. *Desmia funeralis* (grape leaffolder)
12. *Eotetranychus carpini* (grapevine yellow spider mite)
13. *Eotetranychus willamettei* (Willamette spider mite)
14. *Estigmene acrea* (salt marsh caterpillar)
15. *Frankliniella minuta* (minute flower thrips.*)*
16. *Harrisina brillians* (western grape leaf skeletonizer)

2.3 สถานภาพการควบคุมศัตรูพืช

<u>แมลง</u>

ศัตรูพืชร้ายแรงขององุ่นที่มีรายงานในสหรัฐอเมริกาแต่ไม่มีรายงานในแคลิฟอร์เนียและไม่มีในประเทศไทยแต่อยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ (Official control program in California) ของแคลิฟอร์เนียดังนี้

1. *Ceratitis capitata* (Medfly) Pest free area
2. *Craponius inaequalis* (Grape curculio) Pest free area
3. *Eulithis diversilineata* (Grape looper) Pest free area
4. *Fidia viticida* (Grape root worm) Pest free area

5. *Polychrosis viteana* (Grape berry moth) Pest free area

6. *Tetranychus mcdanieli* (Mcdanieli spider mite) Non Host status

7. *Scirtothrips persea* โดย (Californian thripes) Non Host status

<u>โรคพืช</u>

เชื้อสาเหตุโรคพืชศัตรูพืชกักกันขององุ่นที่มีรายงานในสหรัฐอเมริกาแต่ไม่มีรายงานในแคลิฟอร์เนีย และอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ (Official control program in California) มีจำนวน 4 ชนิดได้แก่

1. *Guignadia bidwellii* (Black rot)

2. *Mycospaerella angulata* (Angular leaf spot)

3. *Physopella ampelopsidis* (Rust)

4. *Pseudopezcula tetraspora* (Angular leaf scorch)

2.4 ศักยภาพการเข้ามาเจริญแพร่พันธุ์ในประเทศไทยชนิดที่ความเสี่ยงระดับสูงดังนี้

วิเคราะห์ความเสี่ยงจากภาคผนวก 3

1. *Argyrotaenia citrana(orange tortrix.*

2. *Platynota stultana (omnivorous leaf roller)*

3. *Pseudococcus maritimus (grape vine mealybug)*

4. *Scirtothrips citri (California citrus thrips)*

5. *Frankliniella occidentalis (western flower thrips)*

การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันชนิดที่เป็นแมลงที่ความเสี่ยงระดับปานกลางได้แก่

1. *Caliothrips fasciatus* (bean thrips.)

2. *Colomerus vitis* (grape bud mite)

3. *Desmia funeralis* (grape leaffolder)

4. *Drepanothrips reuteri* (grape vine thrips)

5. *Eotetranychus carpini* (grapevine yellow spider mite)

6. *Amyelois transitella*(navel orangeworm)

7. *Eotetranychus willametteii* (Willamette spider mite.)

8. *Estigmene acrea* (salt marsh caterpillar)

9. *Frankliniella minuta* (minute flower thrips

10. Frankliniella *occidentalis* (western flower thrips)

11. *Harrisina brillians* (western grape leaf skeletonizer)

12. *Tetranychus pacificus* (Pacific spider mite)

2.5 ศักยภาพในการก่อให้เกิดผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจ

<u>แมลง</u>

1. *Amyelois transitella*(navel orangeworm)มีรายงานความเสียหายกับแอลมอลที่แคลิฟอร์เนีย ในปี พ.ศ. 2516 คิดเป็นมูลค่าประมาณ 10 ล้านเหรียญสหรัฐและกับวอล์นัท ที่แคลิฟอร์เนียเช่นกัน ในปี 2519 คิดเป็นมูลค่า 20 ล้านเหรียญสหรัฐ

2. *Argyrotaenia citrana*(orange tortrix.) ปานกลาง, ในระยะตัวหนอนมีรายงานเข้าทำลายส้มวาเลนเซีย ที่แคลิฟอร์เนีย ใน ปี พ.ศ .2476 ก่อให้เกิดความเสียหายเฉลี่ย 597.5 ผลต่อต้น สามรถลดระดับความเสียหายได้โดยการฉีดพ่นยากำจัดแมลง หากตรวจพบว่ามีการรแพร่ระบาดในสวนองุ่นที่จะส่งออกเพื่อลดระดับความเสียหายที่อาจเกิดขึ้น มีรายงานว่าสามารถลดลงได้ถึง 25 เปอร์เซนต์

3. *Caliothrips fasciatus* (bean thrips.) ปานกลางมีรายงานในสหรัฐอเมริกาว่าก่อให้เกิดความเสียหายได้

4. *Colomerus vitis* (grape bud mite) ปานกลางมีรายความเสียหายเกิดกับใบองุ่นผิดรูปร่าง

5. *Desmia funeralis* (grape leaffolder) ระยะตัวหนอนเข้าทำลายใบจะมากหรือน้อยขึ้นกับจำนวนประชากรของหนอน

6. *Drepanothrips reuteri* (grape vine thrips) สูงเป็นศัตรูพืชที่สำคัญขององุ่น

7. *Eotetranychus carpini* (grapevine yellow spider mite) สูงทำลายองุ่นเป็นปัญหาที่สำคัญในแหล่งปลูกองุ่น

8. *Eotetranychus willamettei*(Willamette spider mite.) ต่ำมีรายงานการทำลายไม่มากนัก

9. *Estigmene acrea* (salt marsh caterpillar) ไม่มีข้อมูลความเสียหาย

10. *Frankliniella minuta* (minute flower thrips.*)* ต่ำมีรายงานบ้างเล็กน้อย

11. Frankliniella *occidentalis* (western flower thrips) ปานกลาง- สูงและอาจเป็นปัญหาสำคัญได้

12. *Harrisina brillians* (western grape leaf skeletonizer) ปานกลาง, ในระยะตัวหนอนมีรายงานเข้าทำลายส้มวาเลนเซีย ที่แคลิฟอร์เนีย ใน ปี พ.ศ .2476 ก่อให้เกิดความเสียหายเฉลี่ย 597.5 ผลต่อต้น สามรถลดระดับความเสียหายได้โดยการฉีดพ่นยากำจัดแมลง หากตรวจ

พบว่ามีการรแพร่ระบาดในสวนองุ่นที่จะส่งออกเพื่อลดระดับความเสียหายที่อาจเกิดขึ้น มีรายงานว่าสามารถลดลงได้ถึง 25 เปอร์เซ็นต์

13. *Platynota stultana* (omnivorous leaf roller) สูงมีรายงานความเสียหายในระดับเศรษฐกิจ

14. *Pseudococcus maritimus* (grape vine mealybug)

15. *Scirtothrips citri* (California citrus thrips)สูง

16. *Tetranychus pacificus* (Pacific spider mite) สูง

2.6 ศักยภาพในการเข้ามา แพร่ขยายพันธุ์และแพร่กระจาย(Entry, Establishment, Spread) สรุปรายงานผลตามภาคผนวก 3

2.6.1 ชนิดของแมลงที่มีความเสี่ยงระดับสูง ที่จะเข้ามา (Entry)ได้แก่

1. Frankliniella *occidentalis* (western flower thrips)

2. *Platynota stultana* (omnivorous leaf roller)

ชนิดของแมลงที่มีความเสี่ยงระดับสูง ที่จะเจริญพันธุ์ (Establishment)ได้แก่

1. *Argyrotaenia citrana*(orange tortrix.)

2. *Platynota stultana* (omnivorous leaf roller)

3. *Frankliniella occidentalis* (western flower thrips)

4. *Scirtothrips citri* (California citrus thrips)

2.6.2 ชนิดของแมลงที่มีความเสี่ยงระดับสูง ที่จะแพร่กระจาย (Spread)ได้แก่

1. .*Amyelois transitella*(navel orangeworm)

2. *Caliothrips fasciatus* (bean thrips. *Desmia funeralis* (grape leaffolder)

3. *Drepanothrips reuteri* (grape vine thrips

4. *Estigmene acrea* (salt marsh caterpillar)

5. *Frankliniella occidentalis* (western flower thrips)

6. *Frankliniella occidentalis* (western flower thrips

7. *Tetranychus pacificus* (Pacific spider mite)

โรคพืช

1. ข้อมูลรายชื่อเชื้อสาเหตุโรคพืชขององุ่นที่มีรายงานในสหรัฐอเมริกามีเชื้อสาเหตุโรคพืชรวม 118 ชนิด แบ่งเป็น เชื้อรา 60 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 33 ชนิด ไวรอยด์6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 14 ชนิด และไฟโตพลาสมา2 ชนิด (ตารางที่ 1)

2. ข้อมูลรายชื่อเชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีรายงานที่แคลิฟอร์เนีย มีจำนวน 85 ชนิด ได้แก่เชื้อรา 43 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 24 ชนิด ไวรอยด์ 6 ชนิดและไส้เดือนฝอย 9 ชนิด ไม่มีเชื้อไฟโตพลาสมา (ตารางที่ 1)

3. เชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีรายงานเข้าทำลายส่วนของผลและสามรถติดมากับผลองุ่นนำเข้าได้ บางชนิดไม่มีรายงานในประเทศไทยกับองุ่นแต่บางชนิดก็มีรายงานกับพืชไม้ผลอื่นๆอย่างไรก็ตามมีความเสี่ยงต่ำที่จะติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (Pathway) เพราะเชื้อดังกล่าวสามารถตรวจสอบได้ขณะทำการเก็บเกี่ยวหรือบรรจุลงกล่อง (Inspection) ก่อนการส่งออกและสามารถควบคุมและกำจัดได้ตั้งแต่ยังอยู่ในสวน

รายชื่อเชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีโอกาสติดเข้ามากับผลองุ่นนำเข้า (pathway)ได้มีดังนี้

1. *Alternaria spp*. (rasin mould)
2. *Alternaria tenuis* (prape rot)
3. *Ascophyta spp*. (bunch rot)
4. *Aspergillus aculeatus* (bunch rot)
5. *Aspergillus niger* (bunch rot)
6. *Botryosphaeria dothidea* (Botryosphaeria rot)\
7. *Botrytis cinerea* (Botrytis bunch rot)
8. *Cladosporium herbarum* (Cladosporium)
9. *Colletotrichum gloeosporioides* (ripe rot)
10. *Glomerella cingulata* (ripe rot)
11. *Greeneria uvicola* (bitter rot)
12. *Helminthosporium* spp. (bunch rot)
13. *Monilinia fructicola* (bunch rot)
14. *Penicillium* spp. (bunch rot)
15. *Phoma vitis* (fruit rot)
16. *Rhyzopus arrhizus* (fruit rot)
17. *Rhyzopus arrhizus* (fruit rot)
18. *Stemphylium botryosum* (bunch rot)
19. *Torula* spp. (bunch rot)
20. *Uncinula necator* (powdery mildew)
21. *Botryosphaeria dothidea* (Botryosphaeria rot)

22. *Botrytis cinerea* (Botrytis bunch rot)

23. *Cladosporium herbarum* (Cladosporium)

24. *Colletotrichum gloeosporioides* (ripe rot)

25. *Glomerella cingulata* (ripe rot)

26. *Greeneria uvicola* (bitter rot)

27. *Helminthosporium* spp. (bunch rot)

28. *Monilinia fructicola* (bunch rot)

29. *Penicillium* spp. (bunch rot)

30. *Phoma vitis* (fruit rot)

31. *Rhyzopus arrhizus* (fruit rot)

32. *Rhyzopus arrhizus* (fruit rot)

33. *Stemphylium botryosum* (bunch rot)

34. *Torula* spp. (bunch rot)

35. *Uncinula necator* (powdery mildew)

วัชพืชวัชพืชที่มีรายงานในแคลิฟอร์เนียและสหรัฐอเมริกามีจำนวน 106 ชนิดแต่มีรายงานในไร่องุ่นจำนวน 17 ชนิดและ มีรายงานในประเทศไทย 3 ชนิด (ตารางที่2) วัชพืชดังกล่าวมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงที่จะมีโอกาสที่จะติดปะปนมากับองุ่นนำเข้าได้มีดังนี้

Amsinckia intermedia

Cenchrus spp

Eremocarpus setigerus

Euphorbia maculate

Xanthium strumarium var. canadense

Chloris virgata

Digitaria sanguinalis

Lactuca serriola

Sorghum halepense

การประเมินความเสี่ยงองุ่นในการเป็นวัชพืช

การนำเข้าองุ่นที่มีเมล็ดติดมากับผลนั้น มีโอกาสที่จะนำเข้าองุ่นบางชนิดที่มีรายงานการเป็นวัชพืช เช่นVitis aestivalis, V. candicans,V. hastate ,V.rotundifolia ,V.triforia ,V.vulpina, อย่างไรก็ตามในองุ่นที่ปลูกเป็นการค้าทุกวันนี้ (Vitis vinifera) ได้ผ่านการประเมินแล้วว่าชนิดนี้ไม่เป็นวัชพืช

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management)

สำหรับแมลงมาตราการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดมากับองุ่นนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาโดยเฉพาะจากมลรัฐแคลิฟอร์เนียนั้นในกรณีที่เป็นแมลงสัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงต่ำ 9 ชนิด มีความเสี่ยงปานกลาง 4 ชนิดและมีความเสี่ยงสูง 3 ชนิดกรณีที่มีความเสี่ยงต่ำสามารถจัดการความเสี่ยงได้โดยวิธีการตรวจ (Inspection) ส่วนศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงในระดับปานกลางและสูงนั้นจะให้เลือกดำเนินการดังนี้

1. การรมยาด้วย Methyl bromide เพื่อกำจัดศัตรูพืชกักกันอัตราที่ใช้

32 กรัม/m นาน 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 21 C

40 กรัม/m นาน 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 16-20 C

48 กรัม/m นาน 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 11-15 C

ในกรณีที่อุณหภูมิลดลงแต่ละ 5 C จะต้องเพิ่มความเข้มข้นของ Methely bromide จำนวน 8 กรัม/m(อัตราที่ใช้กำหนดนี้ตามข้อกำหนดของAQISที่ใชกำจัดศัตรูพืชขององุ่นนำเข้าจากต่างประเทศ)

2. การใช้ความเย็นกำจัดศัตรูพืชกักกัน

กรรมวิธีที่ 1

อุณหภูมิ 1+-0.5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน 16 วัน

อุณหภูมิ 2+-0.5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน 16 วัน

อุณหภูมิ 3+-0.5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน 16 วัน

กรรมวิธีที่ 2

อุณหภูมิ 1+-0.5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน 16 วัน

อุณหภูมิ 2+-0.5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน 18 วัน

อุณหภูมิ 3+-0.5 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า นาน 20 วัน

การกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความเย็นทั้ง 2 กรรมวิธีสามารถดำเนินการได้ก่อนการส่งออกหรือระหว่างการขนส่ง

โรคพืช

1. เชื้อสาเหตุโรคพืชขององุ่นที่สำคัญเช่นโรค Zonate leaf spot ที่เกิดจากเชื้อ Cristulariella moricola นี้เกิดการแพร่กระจายรุนแรงในสหรัฐอเมริกาปี 1993และ 1996 แต่ปัจจุบันไม่พบแล้วในแคลิฟอร์เนีย และได้ทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวัง (Surveillance) หากเมื่อใดมีการตรวจพบเชื้อนี้จะต้องแจ้งให้กรมวิชาการเกษตรทราบ

2. โรค Pierce's disease ทีเกิดจากเชื้อ Xylella fastidiosa , โรค Black measl esca ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ Stereum hirsutum ,โรค authum leaf spot ที่เกิดจากเชื้อ Metschnikowia pulcherrima โรคเหล่านี้แม้ว่าผลการประเมินความเสียงจะออกมาในระดับต่ำเพราะไม่ติดกับผล แม้ว่าเป็นโรคร้ายแรง ก็ตามเช่นโรค Pierce's disease ทีเกิดจากเชื้อ Xylella fastidiosa เนื่องจากผลการวิจัยพบว่าโรคนี้อยู่ได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นองุ่นที่จะส่งออกมาประเทสไทยต้องเก็บที่อุณหภูมิ1-3 :C ก่อนการส่งออกอย่างไรก็ตามองุ่นที่นำเข้าห้ามมีใบองุ่น กิ่งหรือก้านติดมากับผลองุ่นเด็ดขาดหากตรวจพบจะโดนเผาทำลาย

วัชพืช

การบรรจุหีบห่อองุ่นจากสวนต้องระมัดระวังมิให้เมล็ดวัชพืชที่สำคัญทางกักกันพืชของประเทศไทยติดปะปนมากับองุ่นและองุ่นทุกครั้งที่มีการนำเข้าจะทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อการตรวจสอบ (Inspection) วัชพืชกักกันหากพบว่ามีการติดปะปนมากับองุ่นนำเข้าและไม่มีวิธีกำจัดที่มีประสิทธิภาพสินค้าชุดนั้นๆจะถูกยึดเผาทำลาย

ขั้นตอนการจัดการศัตรูพืชในแปลงปลูกและโรงบรรจุผลไม้ก่อนการส่งออก

1. สวนองุ่นเพื่อการส่งออกจะต้องมีการขึ้นทะเบียนสวนโดยหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติ
2. ต้องมีระบบการติดตามในแปลงปลูก
3. ต้องมีระบบการจัดการในโรงคัดบรรจุ
4. องุ่นต้องมาจากพื้นที่ที่ประกาศว่าเป็นแหล่งปลอดแมลงวันผลไม้ที่ได้รับการควบคุมเป็นทางการ
5. ต้องรมยากำจัดแมลงศัตรูพืชที่ต้นทาง ที่อัตรา 32 กรัม/ลูกบาลส์เมตรที่อุณหภูมิ 21,C นาน 2 ชั่วโมงเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชหรือกำจัดศัตรูพืชด้วยความเย็น
6. ต้องระบุข้อความเพิ่มเติมรับรองว่าปราศจากแมลงศัตรูพืชกักกัน16 ชนิด
7. องุ่นต้องไม่มีกิ่ง ก้าน ใบ และดินติดปะปนมา
8. ต้องตรวจรับรองว่าปราศจากเมล็ดวัชพืช ติดปะปนเข้ามา
9. เมื่อสินค้ามาถึงประเทศไทยจะเปิดสุ่มตรวจดังนี้ สินค้าที่นำเข้าน้อยกว่า 1000 หน่วย จะถูกสุ่มตรวจ 450 หน่วย กรณีที่นำเข้ามากกว่า 1000 หน่วยจะถูกสุ่ม 600 หน่วย

สรุป

ตามราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดย พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 องุ่นจากทุกแหล่งทั่วโลกจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม ขั้นตอนการนำเข้าซึ่งสิ่งไม่ต้องห้าม จึงเพียงแต่ให้แจ้งการนำเข้าต่อพนักงานเจ้าหน้าที่ ณ ด่านตรวจพืชที่นำเข้าเท่านั้น ผลการศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขององุ่นในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pests categorization) พบว่า จากการศึกษารวบรวมรายงานจากสหรัฐอเมริกามีสิ่งมีชีวิตทั้งที่เป็นศัตรู/ไม่เป็นศัตรูขององุ่นรวมทั้งสิ้นจำนวน 371 ชนิด เป็นแมลง 137 ชนิด ไร 10 ชนิด ไวรัส 33 ชนิด ไวรอยด์ 6 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 60 ชนิด ไส้เดือนฝอย 14 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด และวัชพืช 106 ชนิด

ศัตรูพืชที่มีรายงานพบทำลายบนองุ่นในแคลิฟอร์เนีย จำนวน 204 ชนิดแบ่งเป็นแมลง 99 ชนิด โรคพืช 88 ชนิดและวัชพืช 17 ชนิด ชนิดที่เป็นศัตรูพืชกักกัน มี จำนวน 55 ชนิด แบ่งเป็นเป็นแมลง 16 ชนิด ไร 10 ชนิด เชื้อรา 20 ชนิด และวัชพืช จำนวน 9 ชนิด

แมลง ศัตรูพืชองุ่นที่มีรายงานในแคลิฟอร์เนีย 99 ชนิด ในจำนวนดังกล่าวมีรายงานในประเทศไทย 10 ชนิด และไม่มีรายงานในประเทศไทย 89 ชนิดและในจำนวนนี้มีโอกาสติดเข้ามากับผลสดองุ่นนำเข้าจำนวน 16 ชนิด ที่มีความเสี่ยงสูงจำนวน 3 ชนิดได้แก่*Argyrotaenia citrana*(orange tortrix.), *Platynota stultana* (omnivorous leaf roller), *Scirtothrips citri* (California citrus thrips) ชนิดของแมลงที่มีความเสี่ยงปานกลาง 4 ชนิดได้แก่ Colomerus *vitis* (grape bud mite), Frankliniella *occidentalis* (western flowerthrips) ,*Pseudococcus maritimus* (grape vine mealybug), Tetranychus *pacificus* (Pacific spider mite) และ ชนิดของแมลงที่มีความเสี่ยงต่ำ 9 ชนิดได้แก่ *Amyelois transitella*(navel orangeworm),, *Caliothrips fasciatus* (bean thrips., *Desmia funeralis* (grape leaffolder), *Drepanothrips reuteri* (grape vine thrips), *Desmia funeralis* (grape leaffolder)*Eotetranychus carpini* (grapevine yellow spider mite),*Eotetranychus willamettei* (Willamette spider mite. *Estigmene acrea* (salt marsh caterpillar)*Frankliniella minuta* (minute flower thrips.)*Harrisina brillians* (western grape leaf skeletonizer)

โรคพืช ข้อมูลรายชื่อเชื้อสาเหตุโรคพืชขององุ่นที่มีรายงานในสหรัฐอเมริกามีเชื้อสาเหตุโรคพืชรวม 118 ชนิดแบ่งเป็น เชื้อรา 60 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 33 ชนิด ไวรอยด์6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 14 ชนิด และไฟโตพลาสมา2 ชนิด ข้อมูลรายชื่อเชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีรายงานที่

แคลิฟอร์เนีย มีจำนวน 85 ชนิด ได้แก่เชื้อรา 43 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 24 ชนิด ไวรอยด์ 6 ชนิดและไส้เดือนฝอย 9 ชนิดเชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีรายงานเข้าทำลายส่วนของผลและสามารถติดมากับผลองุ่นนำเข้าได้บางชนิดไม่มีรายงานในประเทศไทยกับองุ่นแต่บางชนิดก็มีรายงานกับพืชไม้ผลอื่นๆอย่างไรก็ตามมีความเสี่ยงต่ำที่จะติดมากับเส้นทางศัตรูพืช (Pathway) เพราะเชื้อดังกล่าวสามารถตรวจสอบได้ขณะทำการเก็บเกี่ยวหรือบรรจุลงกล่อง (Inspection) ก่อนการส่งออกและสามารถควบคุมและกำจัดได้ตั้งแต่ยังอยู่ในสวนผลการประเมินความเสี่ยงจัดให้อยู่ในระดับต่ำ

วัชพืช ศัตรูพืชกักกันกักกันที่มีความเสี่ยงสูง 9 ชนิด ได้แก่ วัชพืชที่มีรายงานในแคลิฟอร์เนียและสหรัฐอเมริกามีจำนวน 106 ชนิดแต่มีรายงานในไร่องุ่นจำนวน 17 ชนิดและ มีรายงานในประเทศไทย 3 ชนิด (ตารางที่2) วัชพืชดังกล่าวมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง 9 ชนิด ที่จะมีโอกาสที่จะติดปะปนมากับองุ่นนำเข้าได้มีดังนี้ *Amsinckia intermedia,Cenchrus spp,Eremocarpus setigerus, Euphorbia maculate ,Xanthium strumarium var. canadense, Chloris virgata, Digitaria sanguinalis, Lactuca serriola Sorghum halepense*

จากผลการศึกษาเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขององุ่น จำเป็นอย่างยิ่งต้องปรับเปลี่ยนมาตรการสุขอนามัยที่ใช้ควบคุมการนำเข้าองุ่นจากต่างประเทศในปัจจุบัน เนื่องจากมีศัตรูพืชกักกันหลายชนิดที่เป็นศัตรูพืชร้ายแรงซึ่งมีโอกาสติดกับองุ่นเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทยได้ การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน (Risk management) ควรจะประกอบด้วยมาตรการดังนี้

แมลง มาตราการในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดมากับองุ่นนำเข้าจากสหรัฐอเมริกาโดยเฉพาะจากมลรัฐแคลิฟอร์เนียนั้นในกรณีที่เป็นแมลงสัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงต่ำ 9 ชนิด มีความเสี่ยงปานกลาง 4 ชนิดและมีความเสี่ยงสูง 3 ชนิดกรณีที่มีความเสี่ยงต่ำสามารถจัดการความเสี่ยงได้โดยวิธีการตรวจ (Inspection) ส่วนศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงในระดับปานกลางและสูงนั้นจะให้รมยาด้วย Methyl bromideโดยประเทศไทยเป็นผู้กำหนดอัตราการรมยา และให้เลือกว่าจะรมยาต้นทางหรือปลายทางก็ได้ศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูงนั้นจำเป็นต้องรมยาเนื่องจากป้องกันมิให้ศัตรูพืชดังกล่าวเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทยได้ การรมยาจะทำให้กำจัดแมลงดังกล่าวได้โดยตรงซึ่งดีกว่าการตรวจสอบโดยวิธี ด้วยสายตา (Visual Inspection)

โรคพืช

1. เชื้อสาเหตุโรคพืชขององุ่นที่สำคัญเช่นโรค Zonate leaf spot ที่เกิดจากเชื้อ Cristulariella moricola นี้เกิดการแพร่กระจายรุนแรงในสหรัฐอเมริกาปี 1993และ 1996 แต่ปัจจุบันไม่พบแล้วในแคลิฟอร์เนีย และได้ทำการสำรวจเพื่อเฝ้าระวัง (Surveillance)หากเมื่อใดมีการตรวจพบเชื้อนี้จะต้องแจ้งให้กรมวิชาการเกษตรทราบ

2. โรค Pierce's disease ที่เกิดจากเชื้อ Xylella fastidiosa , โรค Black measl esca ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ Stereum hirsutum ,โรค authum leaf spot ที่เกิดจากเชื้อ Metschnikowia pulcherrima โรคเหล่านี้แม้ว่าผลการประเมินความเสียงจะออกมาในระดับต่ำเพราะไม่ติดกับผล แม้ว่าเป็นโรคร้ายแรง ก็ตามเช่นโรค Pierce's disease ทีเกิดจากเชื้อ Xylella fastidiosa เนื่องจากผลการวิจัยพบว่าโรคนี้อยู่ได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิต่ำ ดังนั้นองุ่นที่จะส่งออกมาประเทสไทยต้องเก็บที่อุณหภูมิ1-3 :C ก่อนการส่งออกอย่างไรก็ตามองุ่นที่นำเข้าห้ามมีใบองุ่น กิ่งหรือก้านติดมากับผลองุ่นเด็ดขาดหากตรวจพบจะโดนเผาทำลาย

วัชพืช

การบรรจุหีบห่อองุ่นจากสวนต้องระมัดระวังมิให้เมล็ดวัชพืชที่สำคัญทางกักกันพืชของประเทศไทยติดปะปนมากับองุ่นและองุ่นทุกครั้งที่มีการนำเข้าจะทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อการตรวจสอบ (Inspection) วัชพืชกักกันหากพบว่ามีการติดปะปนมากับองุ่นนำเข้าและไม่มีวิธีกำจัดที่มีประสิทธิภาพสินค้าชุดนั้นๆจะถูกยึดเผาทำลาย

เอกสารอ้างอิง

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2549 ข้อมูลการนำเข้าพืชจากด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

จำลอง ลภาสาธุกุล 2547 รายงานความก้าวหน้าผลการวิจัยประจำปี 2547 สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

Anonymous (2000c). AQIS Quarantine Treatments – Aspects and Procedures (Draft). AQIS:Canberra,Australia.http://www.aqis.gov.au/docs/appolicy/spsaus118ft.doc

Bond, E.J. (1984). Manual of fumigation for insect control. FAO Plant Production and Protection Paper No. 54, 432 pp.

CABI. 2005. Crop Protection Compendium, 2005 ed. Walling ford, UK : CACambridge.

de Mange, B.P. (1998). Response to questions raised by AQIS concerning Californian table grapes. Letter to Dr Brian Stynes, AQIS from APHIS dated 3 December 1998.de Mange, B.P. (1999). Response to your questions: grape pests. Letter to Dr T.K. Lim, AQIS from APHIS dated 3 July 1999.

FAO. 1992 The International plant Protection convention (IPPC), Rome.

FAO. 2004 ISPM No. 11 (2004) Pest risk analysis for qurarantine pest including analysis of environmental risk and living modified organism. International Plant Protection Convention. FAO, Rome.

FAO. 2006 Revision of ISPM No. 2 Guidelenes for pest risk analysis. International Plant protection convention. FAO. Rome.

IPPC. 2005 Guidelines for Pest Risk Analysis (2005 edition). The International Plant Protection Convention (IPPC), FAO, Rome 12 pp.

Pradhan, S. and Govindan, M. (1953). Effect of temperature on the degree of susceptibility of insects to fumigation. Indian Journal of Entomology 15: 362-375.

Purcell, A.H. (1999b). General insect category. http://www.cnr.berkeley.edu/xylella/geninsct.html

Purcell, A.H. (1999c). Glassy-winged sharpshooter. http://www.cnr.berkeley.edu/xylella/oss.html

Purcell, A.H. (1999d). Green sharpshooter. http://www.cnr.berkeley.edu/xylella/grnshrp.html

Purcell, A.H. (1999e). Red-headed sharpshooter. http://www.cnr.berkeley.edu/xylella/rhss.html

WTO. 2005 World trade Organization

การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Plant parasitic nematodes Associated with Imported Potato

วานิช คำพานิช [1] **มนตรี เอี่ยมวิมังสา** [2]
ปรียพรรณ พงศาพิชณ์ [1] **วันเพ็ญ ศรีชาติ** [1]
[1] **กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
[2] **กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

ในการสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ มีรายงานไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งในประเทศไทยอยู่ 19 ชนิด และจากต่างประเทศ 55 ชนิด แต่เป็นไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืชกักกันตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 15 ชนิด ได้แก่ *Belonolaimus longicaudatus*, *Ditylenchus destructor*, *Ditylenchus dipsaci*, *Globodera pallida, Globodera rostochiensis*, *Heterodera glycines, Heterodera oryzae, Heterodera trifolii*, *Hoplolaimus indicus*, *Meloidogyne chitwoodi*, *Nacobbus aberrans*, *Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus loosi*, *Xiphinema americanum* และ *Xiphinema diversicaudatum*

ส่วนการศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืช จำนวน 16 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 3 ชนิด และ ในการสำรวจ ติดตาม และสุ่มตัวอย่างดินและหัวพันธุ์มันฝรั่ง เพื่อตรวจสอบหาชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 21 แปลง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 7 ชนิด

มาตรการที่ใช้ในการควบคุมและลดความเสี่ยงเนื่องจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าให้ใช้มาตรการทางกฎหมายตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

มันฝรั่ง (Potato, *Solanum tuberosum*) เป็นพืชที่จัดว่าเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 และเป็นพืชที่ประเทศไทยได้มีการนำเข้ามาปริมาณมากเพื่อใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมเช่นแปรรูปเป็นมันฝรั่งทอดกรอบ ในประเทศไทยมีการนำเข้ามันฝรั่งจากหลายประเทศด้วยกันได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย สหราชอาณาจักร (สก็อตแลนด์ และอังกฤษ) สหรัฐอเมริกา แคนาดา นิวซีแลนด์ เนเธอร์แลนด์ อิสราเอล ลาว เป็นต้น และการจะนำเข้าพืชมายังประเทศไทยนั้นประเทศไทยจำเป็นจะต้องเปิดเสรีทางการค้า ซึ่งประเทศไทยในฐานะประเทศสมาชิกองค์การค้าโลก ต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตรภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on 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, Nacobbus aberrans* (Evans และคณะ,1993) และอาจจะมีไส้เดือนฝอยชนิดอื่นอีก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการตรวจสอบและศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ รวมทั้งมีการสำรวจและติดตามไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อกำหนดมาตรการในการควบคุมการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งและลดความเสี่ยงศัตรูพืชอันเนื่องมาจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชซึ่งอาจติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งและอาจจะเข้ามาระบาดในประเทศไทยได้

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์ และวิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ

สืบค้นข้อมูลรายชื่อวิทยาศาสตร์ และแหล่งแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในมันฝรั่ง

2. การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณตู้บรรจุสินค้า และตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าที่มีดินติดมาด้วย ณ ด่านตรวจพืช มาทำการแยกไส้เดือนฝอย ตรวจสอบ และจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชด้วยวิธีดังต่อไปนี้ ทำการล้างตัวอย่างดินที่เก็บได้ และดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งออกมา และนำตัวอย่างหัวพันธุ์ที่ล้างดินออกส่วนหนึ่งไปปลอกเปลือกออกนำไปหั่นให้เปลือกให้เป็นชิ้นเล็กๆ ด้วยมีด แล้วนำตัวอย่างทั้งหมดไปแยกไส้เดือนฝอยตามวิธีของ Cobb's sieving & Baermann funnel (Zuckerman และคณะ,1990 ; นุชนารถ, 2546) หลังจากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดไปตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอและแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ

3. การสำรวจและติดตามไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ

ดำเนินการสำรวจ ติดตาม และเก็บตัวอย่างพืชที่พบลักษณะอาการผิดปกติหรืออาการที่สงสัยว่าจะมีไส้เดือนฝอยศัตรูพืชระบาดอยู่ในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดตาก ลำปาง และจังหวัดเชียงใหม่ โดยจะทำการเก็บตัวอย่างดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งบริเวณที่สำรวจมาทำการตรวจสอบและแยกไส้เดือนฝอยตามวิธีของ Cobb's sieving & Baermann funnel และนำตัวอย่างที่ได้ไปจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตริโอและแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ ทำการบันทึกผลการสำรวจและติดตามไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแปลงปลูกมันฝรั่งเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืช

4. การศึกษาการวิเคราะห์ความเสี่ยงไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งในเบื้องต้น

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งในเบื้องต้นโดยรวบรวมข้อมูลรายชื่อวิทยาศาสตร์ แหล่งแพร่ระบาด จากทั่วโลก (ตารางที่ 1) และผลจากการตรวจสอบ ณ ด่านตรวจพืช และในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2548 - กันยายน 2550

สถานที่ทดลอง : 1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. ด่านตรวจพืชลาดกระบัง และ ด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

3. แปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดตาก ลำปาง และจังหวัดเชียงใหม่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ

จากการสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งพบว่ามีรายงานในประเทศไทย 19 ชนิด และจากรายงานต่างประเทศ 55 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 และมีไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 15 ชนิด ได้แก่ *Belonolaimus longicaudatus*, *Ditylenchus destructor*, *Ditylenchus dipsaci*, *Globodera pallida, Globodera rostochiensis*, *Heterodera glycines, Heterodera oryzae*, *Heterodera trifolii*, *Hoplolaimus indicus*, *Meloidogyne chitwoodi*, *Nacobbus aberrans*, *Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus loosi*, *Xiphinema americanum* และ *Xiphinema diversicaudatum*

2. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

สุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณตู้บรรจุสินค้า และตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าที่มีดินติดมา ณ ด่านตรวจพืชเพื่อตรวจสอบ และจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชทั้งหมด 16 ตัวอย่าง ได้แก่หัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจาก 5 ประเทศ ได้แก่ ประเทศสหราชอาณาจักร 12 ตัวอย่าง ประเทศอิสราเอล 1 ตัวอย่าง ประเทศลาว 1 ตัวอย่าง ประเทศเนเธอร์แลนด์ 1 ตัวอย่าง และหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศแคนาดาอีก 1 ตัวอย่าง ผลการตรวจไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจาก 5 ประเทศ พบว่าในหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากประเทศสหราชอาณาจักร แคนาดา และประเทศลาว ตรวจแล้วไม่พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ส่วนตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศอิสราเอล พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 2 ชนิดคือ *Helicotylenchus* spp. และ *Tylenchorhynchus martini* และหัวพันธุ์ มันฝรั่งนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ตรวจพบอีก 1 ชนิดคือ *Hoplolaimus* spp. ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูพืชทั้ 3 ชนิดเป็นไส้เดือนศัตรูพืชที่ตรวจพบในดินที่ร่วงหล่นตามบริเวณตู้บรรจุสินค้า (loose soil) และดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง (cake soil)

3. การสำรวจและติดตามไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ

การสำรวจและติดตามโดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดิน และหัวพันธุ์มันฝรั่งในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย จังหวัด

ตาก ลำปาง และจังหวัดเชียงใหม่ นำมาตรวจสอบ และจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ผลการตรวจสอบ พบว่า ในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้า ในพื้นที่จังหวัดตากจำนวน 12 แปลง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 7 ชนิดคือ *Criconemella ornata, Helicotylenchus* spp., *Tylenchorhynchus martini*, *Hoplolaimus seinhorsti, Trichodorus christei, Meloidogyne incognita* (สืบศักดิ์ , 2541) และ *Tylenchulus* sp. จังหวัดลำปางจำนวน 2 แปลง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 3 ชนิดคือ *Hoplolaimus seinhorsti* , *Tylenchorhynchus martini* และ *Tylenchulus* sp. และจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 7 แปลง ตรวจพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 5 ชนิดคือ *Helicotylenchus* spp., *Tylenchorhynchus martini*, *Meloidogyne incognita Hoplolaimus seinhorsti* ซึ่งสอดคล้องกับ นุชนารถ และคณะ, 2534 ;มนตรี, 2541 และ สืบศักดิ์, 2538 และ *Tylenchulus* sp. ซึ่งไส้เดือนฝอยศัตรูพืชทั้ 7 ชนิดนี้ โดยส่วนใหญ่เป็นไส้เดือนศัตรูพืชที่อยู่ในดินและสามารถติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งได้ แต่มีไส้เดือนฝอยศัตรูพืชบางชนิดสามารถทำความเสียหายให้กับมันฝรั่งในระดับเศรษฐกิจได้ ไม่เพียงทำให้ผลผลิตลดลงยังส่งผลต่อคุณภาพของผลผลิต เช่น ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita*

4. การศึกษาการวิเคราะห์ความเสี่ยงไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งในเบื้องต้น

จากการศึกษาการวิเคราะห์ความเสี่ยงไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งในขั้นตอนการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืช พบไส้เดือนฝอยของมันฝรั่งทั้งหมด 58 ชนิด (ตารางที่ 1) ในจำนวนนี้มีรายงานในประเทศไทยประมาณ 21 ชนิด จากต่างประเทศ 54 ชนิด และมีไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืชกักกัน 15 ชนิด ซึ่งมีโอกาสติดมากับติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า และสามารถแพร่ระบาด รวมทั้งมีศักยภาพที่จะก่อให้เกิดความเสียหายในระดับเศรษฐกิจหลังจากเข้ามาในประเทศไทย และจากการตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 3 ชนิดที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืช และในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ พบไส้เดือนฝอยศัตรูพืช 7 ชนิด และพบว่ายังมีไส้เดือนฝอยศัตรูพืชอื่นที่มีความเสี่ยงและมีโอกาสติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้า จึงจำเป็นต้องมีมาตรการในการควบคุมเพื่อลดความเสี่ยงอันเนื่องมาจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยกำหนดมาตรการเบื้องต้นตามขั้นตอนดังนี้

1. ต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืช (Phytosanitary certificate; PC)

ในใบรับรองสุขอนามัยพืช ต้องระบุข้อความว่าปลอด หรือปราศจาก ไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืชกักกัน 15 ชนิด ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ได้แก่ *Belonolaimus longicaudatus*, *Ditylenchus destructor*, *Ditylenchus dipsaci*, *Globodera pallida, Globodera rostochiensis*, *Heterodera glycines, Heterodera oryzae, Heterodera trifolii*, *Hoplolaimus indicus*, *Meloidogyne chitwoodi*, *Nacobbus aberrans*, *Pratylenchus goodeyi*, *Pratylenchus loosi*, *Xiphinema americanum* และ *Xiphinema diversicaudatum*

2. ทำการตรวจสอบศัตรูพืชเบื้องต้น ณ ด่านตรวจ หรือ ณ จุดนำเข้า พร้อมสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจสอบศัตรูพืชที่อาจจะติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง

3. เงื่อนไขการนำเข้ามันฝรั่งในเรื่องดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง ได้กำหนด tolerance level loose soil ไว้ 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก (ไม่เกิน 100 กรัมต่อหัวมันฝรั่ง 50 กิโลกรัม) ยกเว้นกรณีที่ในปีที่มีสภาพอากาศชื้นและฝนตกมากให้เพิ่มระดับ tolerance level loose soil เป็น 0.3 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก (ไม่เกิน 150 กรัมต่อหัวมันฝรั่ง 50 กิโลกรัม) ส่วนกรณีที่เป็น cake soil กำหนดให้มีดินติดเกิน 20 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ผิว มีได้ไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ (30 หัว จาก 600 หัว)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จากการสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งจากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศมีรายงานพบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของมันฝรั่งในประเทศไทย 19 ชนิด และจากต่างประเทศ 55 ชนิด แต่เป็นไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืชกักกัน 15 ชนิด

2. การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืช จำนวน 16 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอยที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 3 ชนิด

3. ในการสำรวจ ติดตาม และสุ่มตัวอย่างดินและหัวพันธุ์มันฝรั่ง เพื่อตรวจสอบหาชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืช ในแปลงปลูกขยายพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 21 แปลง พบไส้เดือนฝอยที่ติดมากับดินและหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวน 7 ชนิด

4. จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงไส้เดือนฝอยของมันฝรั่งในเบื้องต้นพบว่าไส้เดือนฝอยที่ตรวจพบมีความเสี่ยงศัตรูพืช

5. การกำหนดมาตรการในการควบคุมเพื่อลดความเสี่ยงเนื่องจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าให้ใช้มาตรการทางกฎหมายตามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด สมควร คีรีวัลย์ และจรัส ชื่นราม. 2534. การศึกษาการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมันฝรั่งในประเทศไทย. น. 23-33. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2534. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2546. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช. กลุ่มงานไส้เดือนฝอย. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 39 น.

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 น.

Cabi, 2005. Crop Protection Compendium, 2005 ed. Wallingford, UK: CAB International [CD-ROM].

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.

ตารางที่ 1 ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชในมันฝรั่งและแหล่งแพร่ระบาด

ชื่อวิทยาศาสตร์	ประเทศที่พบการแพร่ระบาด	เอกสารอ้างอิง
Belonolaimus longicaudatus	สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005
Criconemella ornata	**ไทย**	สืบศักดิ์, 2540
Ditylenchus africanus	แอฟริกาใต้	CPC, 2005
Ditylenchus destructor	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, แคนาดา สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Ditylenchus dipsaci	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Globodera pallida	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, แคนาดา, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Globodera rostochiensis	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Globodera tabacum	สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005
Helicotylenchus dihystera	สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, **ไทย**, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย , นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Helicotylenchus pseudorobustus	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, **ไทย**, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Heterodera glycines	แคนาดา, สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005
Heterodera oryzae	อินเดีย, ญี่ปุ่น	CPC, 2005
Heterodera trifolii	เนเธอร์แลนด์,สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Heterodera zeae	**ไทย**, สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005

ชื่อวิทยาศาสตร์	ประเทศที่พบการแพร่ระบาด	เอกสารอ้างอิง
Hexatylus vigissi	อินเดีย	Hooker, 1981
Hirschmanniella oryzae	**ไทย**, สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005
Hoplolaimus indicus	จีน, อินเดีย	CPC, 2005
Hoplolaimus seinhorsti	**ไทย**, อินเดีย	CPC, 2005
Longidorus sp.	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, **ไทย**, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Meloidogyne arenaria	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, **ไทย**, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Meloidogyne acronea	แอฟริกาใต้	CPC, 2005
Meloidogyne microcephala	**ไทย**, ญี่ปุ่น	CPC, 2005
Meloidogyne chitwoodi	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005
Meloidogyne fallax	เนเธอร์แลนด์, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Meloidogyne graminicola	**ไทย**, สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005
Meloidogyne hapla	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, **ไทย**, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Meloidogyne incognita	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, **ไทย**, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Meloidogyne javanica	สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, **ไทย**, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Meloinema sp.	เกาหลี	Hooker, 1981
Nacobbus aberrans	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005

ชื่อวิทยาศาสตร์	ประเทศที่พบการแพร่ระบาด	เอกสารอ้างอิง
Neotylenchus abulbosus	สหรัฐอเมริกา	Hooker, 1981
Pratylenchus sp.	**ไทย**,เนเธอร์แลนด์สหราชอาณาจักร, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย ,นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Paratrichodorus pachydermus	สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005
Paratylenchus spp.	สหรัฐอเมริกา	Hooker, 1981
Pratylenchus andinus	สหราชอาณาจักร	Hooker, 1981
Pratylenchus brachyurus	อิสราเอล, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Pratylenchus coffeae	สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Pratylenchus crenatus	ญี่ปุ่น	Hooker, 1981
Pratylenchus goodeyi	ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Pratylenchus loosi	จีน , อินเดีย, ญี่ปุ่น	CPC, 2005
Pratylenchu neglectus	สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Pratylenchus penetrans	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, แคนาดา สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Pratylenchus scribneri	สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005
Pratylenchus thornei	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Pratylenchus vulnus	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Pratylenchus zeae	สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Radopholus similis	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, **ไทย** แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Rotylenchulus parvus	สหรัฐอเมริกา	CPC, 2005
Rotylenchulus reniformis	เนเธอร์แลนด์, อิสราเอล, **ไทย**, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005

ชื่อวิทยาศาสตร์	ประเทศที่พบการแพร่ระบาด	เอกสารอ้างอิง
Scutellonema clathricaudatum	จีน, อินเดีย, **ไทย**	CPC, 2005
Trichodorus christiei	**ไทย**	สืบศักดิ์, 2540
Tylenchorhynchus martini	**ไทย**	สืบศักดิ์, 2540
Tylenchulus sp.	**ไทย**,เนเธอร์แลนด์,สหราชอาณาจักร ,แคนาดา,สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	
Tylenchorhynchus claytoni	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Xiphinema americanum	สหราชอาณาจักร, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย	CPC, 2005
Xiphinema diversicaudatum	เนเธอร์แลนด์, สหราชอาณาจักร, อิสราเอล, แคนาดา, สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Xiphinema index	สหรัฐอเมริกา, ออสเตรเลีย, นิวซีแลนด์	CPC, 2005
Zygotylenchus guevarai	สหราชอาณาจักร	CPC, 2005

วิจัยและพัฒนาเทคนิคอณูชีววิทยาในการตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ร่วมกับเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv.*vesicatoria*

Multiplex PCR detection of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas axonopodis* pv.*vesicatoria*

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ชลธิชา รักใคร่ ศรีวิเศษ เกษสังข์
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 การเจริญบนอาหาร King's B ลักษณะโคโลนีสีขาวใสถึงเขียวอมเหลือง สร้างสารเรืองแสงสีเขียว สายพันธุ์ FC59, PT007 และ PT008 ให้ผลบวกต่อปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ ปฏิกิริยาออกซิเดสเป็นลบ และไม่สร้าง pectolytic enzyme การทดสอบการเกิดโรคบนใบมะเขือเทศ เชื้อสายพันธุ์ FC59, PT007 และ PT008 แสดงอาการเป็นแผลจุดช้ำเล็กๆ เมื่ออาการรุนแรงมากใบจะช้ำและเหี่ยว ทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอนเป็นสับสเตรท บนอาหารทดสอบ Biolog® พบว่า FC59 เป็นแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *tomato* ส่วนสายพันธุ์ PT007 และ PT008 มีคุณสมบัติและลักษณะที่เป็นแบคทีเรีย *P. syringae* ส่วนสายพันธุ์ PT117 และ PT008 เป็นแบคทีเรีย *P. fluorescens* ทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยไพรเมอร์ 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 โดยทั้งสองคู่ไพรเมอร์ไม่สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Xav.) ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรีย การทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อร่วม Pst. และ Xav. พบว่าคู่ไพรเมอร์ XAVR2/XAVF2 และ Pcof/Pcor สามารถตรวจเชื้อ Xav. และ Pst. ได้ตามลำดับ

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* และ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ เพื่อการเฝ้าระวังและติดตามการเกิดโรคในประเทศไทย และเพื่อประโยชน์ในการตรวจสอบเชื้อที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้า หรือตรวจรับรองเมล็ดพันธุ์ส่งออกในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเลี้ยงแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* บนอาหารสังเคราะห์และการเก็บรักษาเชื้อ

ติดต่อขอแบคทีเรีย *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	Hagborg 1253, Isolated by W.A.F. Hagborg, Winnipeg,
(ATCC10862)	Manitoba, Canada, 1941
PT 008	Hagborg 1253, Isolated by W.A.F. Hagborg, Winnipeg,
(NRRL B-883)	Manitoba, Canada, 1941
PT116	From UK, Isolated by Lelliot T77 in 1960 from tomato
(NCPPB1108)	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. **ศึกษาคุณสมบัติชีวเคมีบางประการ ของแบคทีเรีย** ***Pseudomonas syrinage*** **pv.*tomato***

เตรียมแบคทีเรียเพื่อใช้ในการศึกษาเช่นเดียวกับในข้อ 2 ทดสอบปฏิกิริยา LOPAT

3.1 ทดสอบ Levan activity การสร้างเมือกของแบคทีเรีย โดยการแตะโคโลนีของแบคทีเรียมาลากบนอาหาร Nutrient agar ที่ผสม 5% sucrose บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-5 วัน

3.2 ทดสอบ Oxidase test โดยเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient glucose agar แล้วใช้ลูปแตะแบคทีเรียมาลากบนกระดาษกรองที่หยดด้วยสาร 1% (w/v) aqueous tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride

3.3 ทดสอบปฏิกิริยา Pectolytic activity บนหัวมันฝรั่ง

เตรียมหัวมันฝรั่งที่สะอาด พ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% ให้ทั่วหัวมันฝรั่ง แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้ง วางลงในจานเลี้ยงเชื้อที่รองด้วยกระดาษกรองชื้น ใช้ไม้จิ้มฟันนึ่งฆ่าเชื้อ แตะเชื้อแบคทีเรียจิ้มลงในหัวมันฝรั่งลึกเข้าไปในผลประมาณ 1 เซนติเมตร วางจานเลี้ยงเชื้อในกล่องพลาสติก ปิดฝา บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการสร้างเอ็นไซม์ย่อยเนื้อเยื่อมันฝรั่ง

3.4 ทดสอบ Arginine dihydrolase activity โดยการปลูกเชื้อลงในอาหาร Thornley's medium เททับด้วย mineral oil บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3-5 วัน

3.5 ทดสอบปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ (Tobacco Hypersensitive Reaction)

ใช้หลอดฉีดยาพลาสติก โดยไม่ใช้เข็มฉีดยา ฉีดอัดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าทางด้านใต้ใบยาสูบใบใหญ่ (*Nicotina tabacum*) อย่างช้าๆ โดยไม่ให้เซลล์พืชถูกทำลาย จากนั้นทำการเก็บต้น

พืชที่ฉีดเชื้อไว้ที่ความชื้น 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*

จากการตรวจเอกสารงานวิจัยเกี่ยวกับการตรวจเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* ด้วยเทคนิค PCRเลือกสังเคราะห์ไพรเมอร์ 2 คู่ ได้แก่ Pcof/Pcor และ D21/D22 จากบริษัท 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 แยกขนาดของแถบดีเอ็นเอ 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)

6. ปฏิกิริยา PCR ในการตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* ร่วมกับเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*

ทดสอบปฏิกิริยา PCR ในการตรวจเชื้อแบบ multiplex PCR โดยใช้คู่ไพรเมอร์ 2 ชนิด ได้แก่ ไพรเมอร์ Pcof /Pcor ที่จำเพาะสำหรับการตรวจเชื้อ *P. syringae* pv. *tomato* และคู่ไพรเมอร์ XAVF2 (5'GAAGCGTT CGTGCTGCAGGA3') /XAVR2 (5'GGAACTGCTG ACCAGCGTGA3') ที่ได้พัฒนาขึ้นใหม่มีความจำเพาะในการตรวจเชื้อ *X. axonopodis* pv.*vesicatoria* 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 Pcof 25 pM	1	25 pM
ไพรเมอร์ Pcor 25 pM	1	25 pM
ไพรเมอร์ XAVF2 25 pM	1	25 pM
ไพรเมอร์ XAVR2 25 pM	1	25 pM
Taq DNA polymerase 5 U/ ul	0.25	1.25 U
ดีเอ็นเอต้นแบบ 50 นาโนกรัม	0.5	25 ng
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	13.25	-
DNA template	2	-

สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ PE 2400 thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA) โดยใช้อุณหภูมิและเวลา ในการทำปฏิกิริยา ดังนี้ 1.เริ่มต้นแยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ 94°C 2 นาที 2.แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ 94 °C 30 วินาที 3.ไพรเมอร์จับดีเอ็นเอแม่แบบ 53 °C 1 นาที 4.สังเคราะห์สายดีเอ็นเอ 72 °C 1 นาที 5.สังเคราะห์สายดีเอ็นเอรอบสุดท้าย 72 °C 6 นาที ทำปฏิกิริยาซ้ำในขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ 30 รอบ และหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอเช่นเดียวกับวิธีการในข้อ 5

7. การตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* ร่วมกับเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

เตรียมเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศติดเชื้อ โดยการปลูกเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดบนผลมะเขือเทศในระยะผลอ่อน และเก็บเมล็ดเมื่อผลสุกแก่สีแดง จากนั้นเก็บแยกผล นำมาผ่าเก็บเมล็ดผึ่งแห้งบนกระดาษกรองฆ่าเชื้อ แล้วเก็บใส่หลอดทดลองพลาสติกขนาด 1.5 มล. เพื่อใช้เป็นตัวอย่างในการทดสอบปฏิกิริยา PCR

การเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจเชื้อจากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ใช้เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ 50 เมล็ดต่อตัวอย่าง เติมน้ำเกลือ (NaCl) 0.85% 500 µl แช่ทิ้งไว้ และเขย่าเป็นครั้งคราว นาน 1 ชั่วโมง นำน้ำแช่เมล็ดพันธุ์ไปตรวจด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ตัวอย่างละ 2 µl ตามขั้นตอนการตรวจเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* ด้วยไพรเมอร์ Pcof/Pcor และ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ด้วย

ไพรเมอร์ XAVF2/XAVR2 และการตรวจเชื้อแบบ multiplex PCR ด้วยไพรเมอร์ Pcor/Pcor และ XAVF2/XAVR2 ในข้อที่ 6

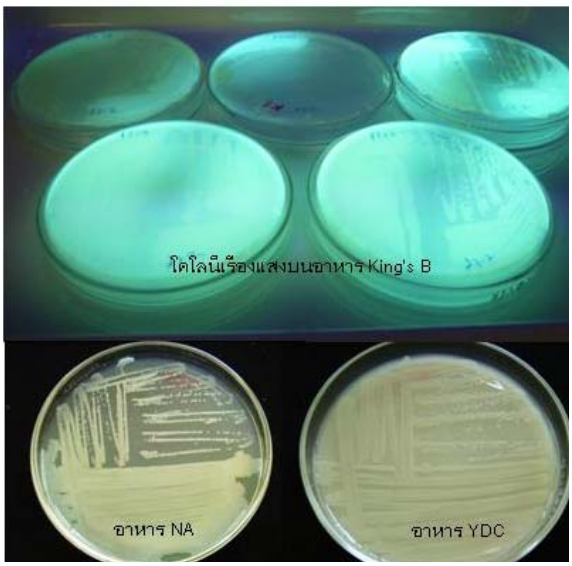
ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2550

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลองควบคุม
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

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

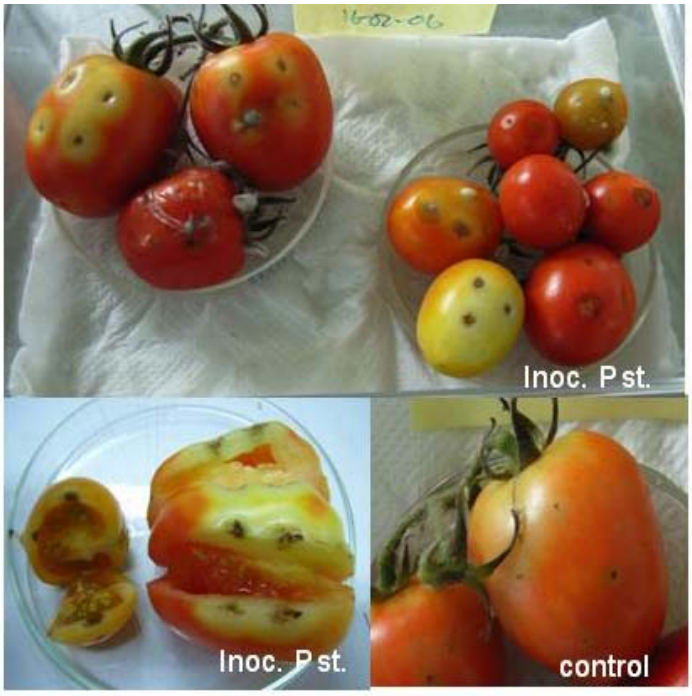


ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* บนอาหาร King's B ภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเล็ต โคโลนีจะเรืองแสงสีเขียวอมเหลือง และลักษณะโคโลนีบนอาหาร Nutrient agar และ Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$

2. การทดสอบการก่อให้เกิดโรคของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato*

การทดสอบอาการแผลจุดบนผลมะเขือเทศ พบว่าการเกิดโรคบนผลมะเขือเทศพันธุ์ผลใหญ่ และมะเขือเทศสีดา พบว่าสายพันธุ์ PT007 PT008 PT116 และ PT117 ทำให้ผลมะเขือเทศผลใหญ่แสดงอาการแผลจุดดำขอบแผลมีสีซีด สายพันธุ์ PT008 PT116 และ PT117 ทำให้มะเขือเทศสีดาแสดงอาการผลจุด (ภาพที่ 2) เมื่อทำการแยกเชื้อจากผลมะเขือเทศที่แสดงอาการจุดแผลขอบสีซีดขาว ได้เชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีเหมือนเดิม

การก่อให้เกิดโรคบนใบมะเขือเทศจากการเปรียบเทียบอาการใบจุดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย 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

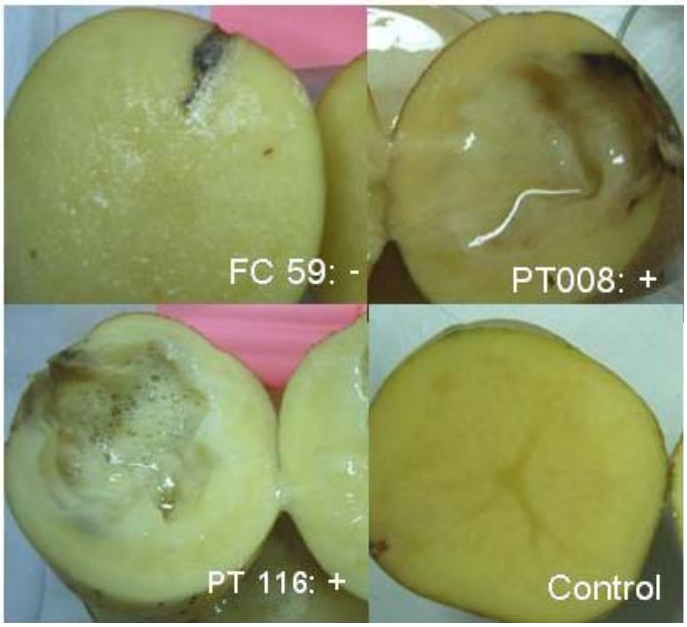
ภาพที่ 3 แสดงอาการแผลจุดจากการปลูกเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* สายพันธุ์ FC59 และ PT007 โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ PT116 และการทดลองเปรียบเทียบไม่เกิดโรค

3. **ศึกษาคุณสมบัติชีวเคมีบางประการ ของแบคทีเรีย *Pseudomonas syrinage* pv.*tomato***

การทดสอบปฏิกิริยา LOPAT พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ FC59 สร้างสารเรืองแสงที่ละลายน้ำได้ สร้างเมือก และทำให้ใบยาสูบแสดงอาการไหม้ แต่ให้ปฏิกิริยาลบต่อการทดสอบ Oxidase test การสร้าง Pectolytic enzyme และการทดสอบ Arginine dihydrolase ในขณะที่สายพันธุ์ PT007 และ PT008 ให้ผลการทดสอบคล้ายกับสายพันธุ์ FC59 ยกเว้นการสร้าง Pectolytic enzyme

ผลการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี

ปฏิกิริยาชีวเคมี	ผลการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมีต่อแบคทีเรีย						
	P. syringae	FC59	PT007	PT008	PT116	PT117	Xav.
Diffusable fluorescent pigment	+	+	+	+	+	+	-
Lypolitic activity	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase test	-	-	-	-	+	+	-
Pectolytic activity	V	-	+	+	+	+	-
Arginine dihydrolase	-	-	-	-	+	+	ND
Tobacco HR	+	+	+	+	-	-	+

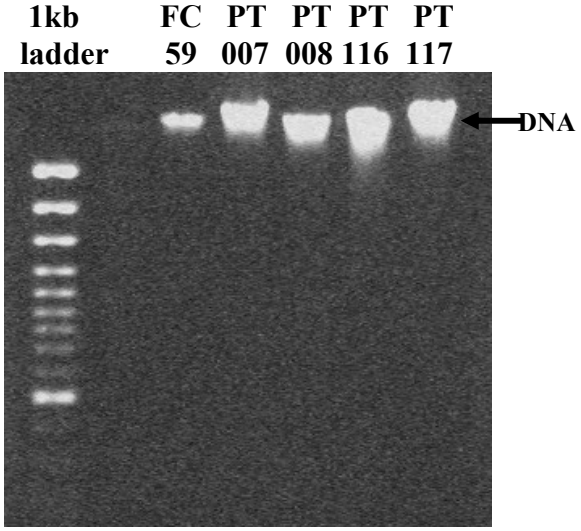


ภาพที่ 4 แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* สายพันธุ์ FC 59 ไม่สร้าง Pectolytic enzyme แต่สายพันธุ์ PT 116 และ PT008 สร้าง pectolytic enzyme ย่อยเนื้อเยื่อมันฝรั่ง และการทดลองเปรียบเทียบไม่เกิดปฏิกิริยา

ภาพที่ 5 ผลการฉีดแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* สายพันธุ์ FC59, PT007, PT008, PT116 และ PT117 เข้าใต้ใบยาสูบเพื่อทดสอบอาการตาย เฉียบพลัน 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



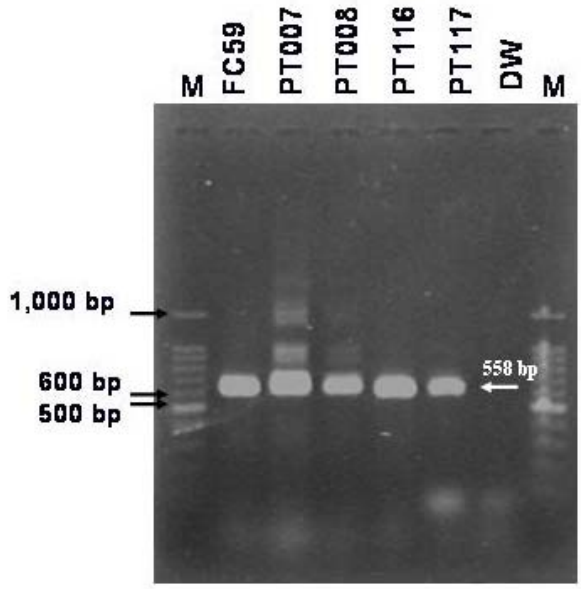
ภาพที่ 6 แสดง Genomic DNA ของแบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* เลนที่ 1 Marker 1 kb, เลนที่ 2 DNA FC59, เลนที่ 3 DNA PT007, เลนที่ 4 DNA PT008, เลนที่ 5 DNA PT116, เลนที่ 6 DNA PT117

5. **ปฏิกิริยา PCR ความจำเพาะ และความไวของไพรเมอร์ ในการตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato***

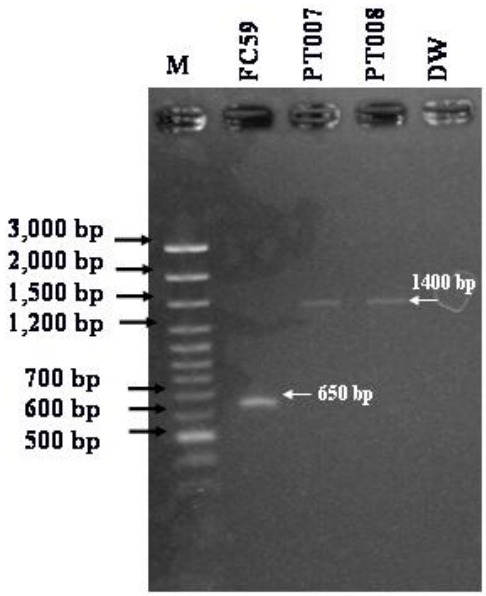
ปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยไพรเมอร์ D21/D22 (Manceau et al., 1997) จำเพาะสำหรับเชื้อ *P.syringae* pathovars สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* ทั้ง 5 สายพันธุ์ ขนาด 558 bp ซึ่งเป็นขนาดเดียวกันกับอ้างอิงโดย Manceau et al. (1997) แต่ยังพบการเกิดแถบ multiple DNA สำหรับแบคทีเรียสายพันธุ์ PT007 ทั้งนี้อาจจะต้องปรับ condition ที่เหมาะสม และทดสอบความจำเพาะของคู่ไพรเมอร์ต่อไป ความไวในการทดสอบปฏิกิริยาโดยคู่ไพรเมอร์ D21/D22 สามารถตรวจเชื้อได้ที่ความเข้มข้นของดีเอ็นเอ 1 นาโนกรัม -100 พิโคกรัม

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 สายพันธุ์ 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 ความไวในการทดสอบปฏิกิริยาโดยคู่ไพรเมอร์ Pcof/Pcor สามารถตรวจเชื้อได้ที่ความเข้มข้นของดีเอ็นเอ 1 นาโนกรัม -100 พิโคกรัม เช่นเดียวกับคู่ไพรเมอร์ D21/D22



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)

6. ปฏิกิริยา PCR ในการตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* ร่วมกับเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*

การทดสอบเทคนิค multiplex PCR ในการตรวจเชื้อ *P. syringae* pv. *tomato* สายพันธุ์ FC59 ร่วมกับเชื้อ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* Xav. 009 ด้วยไพรเมอร์ 2 คู่ คือ Pcof/Pcor และ XAVF2/ XAVR2 โดยใช้ดีเอ็นเอของเชื้อ และเซลล์แขวนลอยเชื้อ พบว่าปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่มี template ของเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* จะได้แถบดีเอ็นเอขนาด 650 bp โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ที่มี template ของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ตรวจพบแถบดีเอ็นเอขนาด 270 bp และในตัวอย่างที่ใส่ดีเอ็นเอของเชื้อทั้ง 2 ชนิด ตรวจพบแถบดีเอ็นเอ 2 แถบขนาด 650 และ 270 bp แต่ความไวในการตรวจเชื้อโดยใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อ ให้ผลที่ไม่แน่นอน ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณเซลล์ที่ใช้ไม่เหมาะสม

7. การตรวจเชื้อ *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* ร่วมกับเชื้อ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* จากเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

จากการทดสอบปฏิกิริยา PCR ในการตรวจเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* จากเมล็ดพันธุ์ด้วยคู่ไพรเมอร์ Pcof/Pcor (annealing tem. 55°C) พบแถบดีเอ็นเอเฉพาะตัวอย่างที่ใช้เซลล์

แขวนลอยเชื้อ FC59 และ PT008 ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณเชื้อที่ติดเมล็ดพันธุ์มามีปริมาณต่ำ ทำให้ไม่สามารถตรวจพบการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอ อาจต้องใช้เทคนิคการเพิ่มปริมาณเชื้อบนอาหารและตรวจเชื้อโดย Bio-PCR

การตรวจเชื้อ *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* ด้วยคู่ไพรเมอร์ XAVF2/XAVR2 (annealing tem. 60°C) ตรวจพบแถบดีเอ็นเอของเชื้อจากตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ปลูกเชื้อ Xav.009, Xav.036 และแถบดีเอ็นเอจากเซลล์แขวนลอยเชื้อทั้ง 2 ชนิด ทั้งนี้ไม่พบแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างเชื้อ *P. syringae* pv. *tomato* 2 สายพันธุ์ คือ FC59 และ PT007 แต่พบแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ปลูกเชื้อ FC59 และ PT008 ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดการปนเปื้อนของเชื้อในระหว่างการปลูกเชื้อและรอให้ผลสุกแก่เก็บเมล็ดพันธุ์

การตรวจเชื้อ *P. syringae* pv. *tomato* และ *X.axonopodis* pv. *vesicatoria* จากตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ด้วยวิธี multiplex PCR โดยไพรเมอร์ Pcof/Pcor และ XAVF2/XAVR2 สามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอขนาด 650 bp และ 270 bp ในตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ติดเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ โดยยืนยันผลจากการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร YDC และ KB

สรุปผลการทดลอง

1. แบคทีเรียที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก Dr.Norman Schaad, FDWSRU, ARS, USDA จำนวน 5 สายพันธุ์ จากการตรวจสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และตรวจสอบการสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ พบว่าสายพันธุ์ FC59 PT007 และ PT008 มีคุณสมบัติของแบคทีเรีย *P. syringae* โดยสายพันธุ์ FC59 ให้แถบดีเอ็นเอของ coronatine toxin gene เช่นเดียวกับเชื้อ *P. syringae* pv. *tomato* ส่วนสายพันธุ์ PT116 และ PT117 จัดเป็นแบคทีเรีย *P. fluorescens*

2. แบคทีเรีย *Pseudomonas syringae* pv.*tomato* สายพันธุ์ FC59 สาเหตุโรค Bacterial speck มะเขือเทศ บนอาหาร King's Bมีลักษณะโคโลนีสีขาวใสถึงเขียวอมเหลือง สร้างสารเรืองแสงสีเขียวเมื่อตรวจดูภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเลต การทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี LOPAT สามารถสร้างเมือก ให้ปฏิกิริยาลบต่อการทดสอบ Oxidase ไม่สร้าง Pectolytic enzyme ให้ผลลบต่อการทดสอบ Arginine dihydrolase และทำให้ยาสูบแสดงอาการตายเฉียบพลันได้

3. อาการการเกิดโรคใบจุด (bacterial speck) บนใบพืชแสดงอาการเป็นแผลจุดช้ำ มีขอบ halo เหลือง เล็กๆ เมื่ออาการรุนแรงมากแผลไหม้จะลามติดกัน ทำให้ใบไหม้แห้ง ส่วนอาการบนผลจะทำให้เกิดอาการแผลจุดดำ ขอบแผลสีซีด บางผลที่ปลูกเชื้อจะทำให้เมล็ดลีบดำถึงไม่ติดเมล็ด

4. ปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยไพรเมอร์ D21/D22 สามารถสังเคราะห์แถบดีเอ็นเอจากเชื้อ *P. syringae* pv.*tomato* ทั้ง 5 สายพันธุ์ ขนาด 558 bp โดยไพรเมอร์ Pcof/Pcor สังเคราะห์แถบดีเอ็นเอ ขนาด 650 bp จากเชื้อ Pst. สายพันธุ์ FC59

5. การทดสอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อร่วม Pst. และ Xav. พบว่าคู่ไพรเมอร์ XAVR2/XAVF2 และ Pcof/Pcor สามารถตรวจเชื้อ Xav. และ Pst. ได้ตามลำดับ โดยจะต้องปรับ conditions ของปฏิกิริยาพีซีอาร์ และทดสอบความไวของปฏิกิริยาในการตรวจเชื้อต่อไป

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.

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 of PVY Detection on Imported Potato Seed

สุรภี กีรติยะอังกูร ปรียพรรณ พงศาพิชณ์[1]
สิทธิศักดิ์ แสไพศาล กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร[2]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

หัวมันฝรั่งมีแป้งและน้ำตาลสูงทำให้เป็นปัญหาต่อการตรวจวินิจฉัย เชื้อ *Potato virus Y* (PVY) ต้องรอตรวจจากหน่ออ่อนนานหลายสัปดาห์ จึงทดลองพัฒนาปรับวิธี Gold labeled IgG Flow Technique (GLIFT) และ วิธีการสกัด RNA ให้สะอาดก่อนนำมาสังเคราะห์ DNA ด้วยวิธี RT-PCR มาตรวจสอบเชื้อ PVY ในเนื้อมันโดยตรงจากหัวพันธุ์ พบว่าสามารถตรวจสอบเชื้อ PVY ได้ทั้ง 2 วิธี วิธีแรกเป็นการพัฒนาชุด GLIFT ด้วยการนำวิธีการผลิตชุด GLIFT ตรวจสอบไวรัสของกล้วยไม้มาปรับใช้ แต่ต้องปรับเพิ่มวัสดุดูดซับน้ำคั้นพืชลงในตลับด้านบนให้มากขึ้นเป็น 2 เท่าของชุด GLIFT ปกติ เพื่อรองรับน้ำคั้นที่ต้องหยดเพิ่มมากขึ้นเป็น 5-6 หยด และปรับปรุงเพิ่มปริมาณสาร Na_2SO_3 ลงในบัฟเฟอร์ที่ใช้เตรียมตัวอย่างน้ำคั้นจาก 0.2% เป็น 0.4% จึงได้น้ำคั้นจากเนื้อมันฝรั่งที่ไม่อ๊อกซิไดซ ชุด GLIFT kit ที่ปรับปรุงนี้สามารถตรวจพบไวรัสได้ที่เนื้อมันรอบตา เนื้อมันบริเวณรอบวงท่ออาหาร โดยเตรียมน้ำคั้นให้มีความเข้มข้นเป็น 1:5-1:10 ด้วยบัฟเฟอร์ เกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ในเวลา 20-30 นาที การทดลองหาวิธีสกัด RNA ของเชื้อ PVY ให้สะอาดด้วยการบดเนื้อมันฝรั่งบริเวณวงท่ออาหารในสารสกัด TRIzal (GIBCO BRL) และ chloroform ได้ RNA ที่สะอาด เมื่อนำไปสังเคราะห์ DNA ด้วยปฏิกิริยา RT-PCR ใช้ ชุด primers 2 คู่ของ PVY-n (R 5’ GGT GAA GCT AAT CAT GTC AAC 3’ , F 5’ CAT TTG TGC CCA ATT GCC 3’) และ PVY-o (R 5’ CAT TTG TGC CCA ATT GCC 3’ , F 5’GAC AGT TGG ACT TTT GCA3’) ซึ่งสังเคราะห์ได้ชิ้น DNA ของ PVY-n และ PVY-o ขนาด 443 bp และ 281 bp ตามลำดับ ซึ่งสามารถจำแนกเชื้อได้ถึงระดับ strain ของ PVY-n และ PVY-o

---

รหัสโครงการ 07-01-49-07

[1] กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2] สำนักผู้เชี่ยวชาญ

คำนำ

ประเทศไทยนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวนมากกว่าหมื่นตันต่อปี จากประเทศออสเตรเลีย สก๊อตแลนด์ สหรัฐอเมริกา เป็นต้น ฝ่ายวิชาการกักกันพืชทำหน้าที่กักตรวจศัตรูพืชที่ติดเข้ามากับหัวมันฝรั่ง โดยเฉพาะโรคไวรัสที่เกิดจากเชื้อ *Potato virus Y* (PVY) และ *Potato leaf roll virus* (PLRV) ที่ประเทศไทยได้มีข้อตกลงระหว่างประเทศคู่ค้า โดยให้มีเชื้อทั้ง 2 ชนิดติดมากับหัวพันธุ์เข้ามาได้ไม่เกิน 4 % การสุ่มตรวจหัวพันธุ์มันฝรั่งมีปัญหาที่ต้องตรวจจากหน่ออ่อนที่งอกออกมา การตรวจไวรัสจากเนื้อของหัวมันโดยตรงทำได้ยากด้วยการตรวจสอบตามแบบปกติที่ใช้ตรวจไวรัสจากใบมันฝรั่งทั้งวิธี ELISA RT-PCR หรือ GLIFT เพราะหัวมันมีแป้งและน้ำตาลสูงทำให้น้ำคั้นจากหัวมันเกิดการอ๊อกซิไดซ์เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทำให้รบกวนปฏิกิริยา อ่านผลไม่ได้ ประกอบกับปริมาณเชื้อในหัวมันมีน้อย ซึ่งแต่เดิมจะต้องนำหัวพันธุ์มาวางไว้นานประมาณ 2-3 สัปดาห์ ให้แตกหน่ออ่อนแล้วนำมาตรวจได้ตามปกติทั้ง 3 วิธี จึงเป็นปัญหาล่าช้าและไม่สามารถกักหัวมันไว้นานจนตรวจเสร็จได้จึงเป็นปัญหาต่อการปฏิบัติการกักกันศัตรูพืช ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงทดลองศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจสอบให้สามารถตรวจไวรัสจากหัวพันธุ์มันฝรั่งได้โดยตรง เพื่อให้การตรวจสอบมีความรวดเร็ว สะดวกและแม่นยำ ไม่ให้เกิดความเสียหายต่อหัวพันธุ์และการพิจารณากักกันศัตรูพืชของมันฝรั่ง

วัตถุประสงค์

เพื่อให้ได้วิธีการตรวจสอบไวรัส (PVY) บนหัวพันธุ์มันฝรั่งนำเข้าก่อนตางอกหน่ออ่อน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การทดลองตรวจสอบเชื้อ PVY ด้วยวิธี Gold Labeled IgG Flow Technique (GLIFT)

จัดทำชุด GLIFT ตรวจสอบเชื้อ PVY ด้วย PVY IgG เช่นเดียวกับการจัดทำชุด GLIFT ตรวจสอบไวรัสของกล้วยไม้ (สุรภีและคณะ, 2547; กิตติศักดิ์ และคณะ, 2549)

ทดลองเติมสาร Na_2SO_3 ในบัฟเฟอร์ Na_2BO_3 ที่ใช้บดตัวอย่างทำน้ำคั้นพืช เปรียบเทียบกันใน 3 อัตรา คือ 0.2, 0.4 และ 0.8% ในการป้องกันการอ๊อกซิไดซ์ของน้ำคั้นเป็นสีน้ำตาล แล้วทดลองนำมาบดเนื้อมันเปรียบเทียบกันทั้ง 3 อัตรา

ทดลองตรวจหาไวรัสในเนื้อมันฝรั่งจากส่วนต่างๆของหัวมันเปรียบเทียบกันด้วย GLIFT kit ได้แก่ ใบมันฝรั่งไม่เป็นโรค ใบมันฝรั่งเป็นโรค หน่ออ่อนอายุ 1 ½ เดือน ส่วนผิวเปลือก ส่วนเปลือกปนเนื้อไม่มีตา ส่วนเปลือกปนเนื้อรอบตา ส่วนเนื้อใต้ผิวเปลือก ส่วนเนื้อท่ออาหาร ส่วน

เนื้อท้ายหัวมันฝรั่ง ส่วนเนื้อด้านบนหัวมันฝรั่ง ส่วนเนื้อกลางหัวมันฝรั่ง เตรียมน้ำคั้นในสารละลายบัฟเฟอร์ในอัตรา 1:5 - 1:10

ทดสอบจำนวนหยดที่เหมาะสมให้ปฏิกิริยาที่ชัดเจน 3 , 4 และ 5 หยด

2. การทดลองตรวจสอบเชื้อ PVY ด้วยวิธี RT-PCR

ทดสอบวิธีการสกัด RNA จากเนื้อมันฝรั่งบริเวณวงท่อน้ำอาหารด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ 3 ชนิดเปรียบเทียบกัน โดยใช้ชิ้นเนื้อมันขนาด 0.3 gm (สุรภี และกิตติศักดิ์,2539)

1. เตรียมสารละลาย 0.2% CTAB buffer (Chang et.al., 1993)

นำตัวอย่างเนื้อมันฝรั่งที่เป็นโรค 0.3 gm บดในโกร่งให้ละเอียด ใส่ CTAB บัฟเฟอร์ปริมาณ 1.5 ml ผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 65 $^{\circ}$ C นาน 20 นาที ดูดน้ำใสด้านบน 1 ml ใส่หลอดไมโครทิวบ์ เติม chloroform : Isoamyl alc. (24:1) 1 ml ผสมให้เข้ากัน นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วดูดน้ำใสส่วนบน ใส่ในไมโครทิวบ์ หลอดใหม่ แล้วเติม isopropanol 1 ml ผสมให้เข้ากัน นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอน RNA ด้วย 70% ethanol เขย่าล้างเบาๆ ทำ 2 ครั้ง แล้วปั่นตกตะกอน RNA ผึ่งตะกอนให้แห้งใน desicator นาน 10-15 นาที แล้วละลายตะกอน RNA ด้วยน้ำกลั่นอบฆ่าเชื้อ

50 μl นำไปใช้เป็น RNA ต้นแบบ

2. สารผสม glycine : phenol

นำตัวอย่างหัวมันฝรั่งเป็นโรคจากเชื้อ PVY จำนวน 0.3 gm บดให้ละเอียดในโกร่งบดตัว อย่าง เติม glycine บัฟเฟอร์ 500 μl ผสมให้เข้ากันนำใส่ลงใน ไมโครทิวบ์ ขนาด 2 ml เติม phenol 500 μl แล้วผสมด้วย votex 30 วินาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดน้ำใสส่วนบนใส่ในไมโครทิวบ์อันใหม่ เติม 3 M Na-acetate pH 5.5 + ethanol 1 ml ปั่นตกตะกอนแล้วล้างตะกอน RNA ด้วย 75 % ethanol 1,000 μl โดยเขย่าเบาๆ แล้วปั่นตกตะกอน ทำ 2 ครั้ง ผึ่งตะกอนให้แห้งใน desicator 20 นาที ละลายตะกอน RNA ในน้ำกลั่นอบฆ่าเชื้อ 50 μl

3. สารผสม TRIzol

นำตัวอย่างเนื้อมันฝรั่งที่เป็นโรคเกิดจากเชื้อ PVY 0.3 gm บดให้ละเอียดใน 1 ml ของสารผสม TRIzol นำใส่ลงในหลอด 2 ml เขย่าให้เข้ากัน

บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาทีเติม 0.2 ml chloroform เขย่า 15 วินาที บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2-3 นาที หมุนเหวี่ยงด้วย microcentrifuge ที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดน้ำใสส่วนบน ใส่ในไมโครทิวบ์อันใหม่ เติม isopropyl alcohol 0.5 ml บ่มที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงตกตะกอน RNA แล้ว ล้างตะกอน RNA ด้วย 75 % ethanol 1 ml โดยเขย่าเบาๆ แล้วหมุนเหวี่ยงตกตะกอน ล้างตะกอน 2 ครั้ง แล้วผึ่งตะกอนให้แห้งใน desicator 20 นาทีละลายตะกอน RNA ด้วยน้ำกลั่นอบฆ่าเชื้อ 50 μl

2.2 ทดลองใช้ชุด primers 3 คู่ ในการสังเคราะห์ DNA ของ PVY คือ (Singh *et.al*., 2003)

1. คู่ที่ 1 PVY R : 5' TTT CTC TGC CAC CTC ATC G 3'
F : 5' GTT GGA GAA TTC AAG ATC CTG G 3'

(ได้ DNA 360 bp)

2. คู่ที่ 2 PVY-o R 5' CAT TTG TGC CCA ATT GCC 3'
F 5' GAC AGT TGG ACT TTT GCA 3'

(ได้ DNA 281 bp)

3. คู่ที่ 3 PVY-n R 5' GGT GAA GCT AAT CAT GTC AAC 3'
F 5' CAT TTG TGC CCA ATT GCC 3'

(ได้ DNA 443 bp)

2.3 สังเคราะห์ DNA ด้วยปฏิกิริยา RT-PCR โดยใช้ SuperScript II สังเคราะห์ cDNA ในปฏิกิริยา

RT ที่ 75°C 5 นาที และ 42°C 45 นาที และ PCR ที่ 94°C 4 นาที ต่อด้วย 30 รอบ ของ

denature ที่ 94°C 15 วินาที annealing ที่ 55°C 15 วินาที extension ที่ 72°C 1 นาที แล้วต่อ

ด้วย 72°C 10 นาที แล้ววิเคราะห์ผล DNA ด้วย transluminater

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการทดลองตรวจสอบเชื้อ PVY ด้วยวิธี Gold Labeled IgG Flow Technique (GLIFT)

ในการผลิตชุด GLIFT ตรวจ เชื้อ PVY ในหัวพันธุ์มันฝรั่ง พบว่าปริมาณสาร Na_2SO_3 0.4% สามารถป้องกันการอ๊อกซิไดซ์ของน้ำคั้นได้เช่นเดียวกับ 8% จึงเลือกใช้ Na_2SO_3

0.4% ในการเตรียมบัฟเฟอร์สำหรับเตรียมน้ำคั้นจากเนื้อมันฝรั่ง จำนวนหยดที่เหมาะสมที่ให้ปฏิกิริยาที่ชัดเจน คือ 5 หยด จึงต้องเพิ่มความหนาของวัสดุดูดซับน้ำคั้นให้หนาขึ้น จึงทำให้ไม่มีการไหลย้อนกลับของน้ำคั้นลงมารบกวนปฏิกิริยาที่เกิด จึงได้ชุด GLIFT kit ที่เหมาะสมในการตรวจสอบ PVY ในหัวมันฝรั่ง และเมื่อนำ GLIFT kit มาตรวจสอบไวรัสจากส่วนต่างๆของหัวมันสามารถตรวจพบ PVY ในเปลือกปนเนื้อรอบตา เนื้อบริเวณท่ออาหาร เนื้อด้านบนหัวมันฝรั่ง เนื้อใต้ผิวเปลือก และเปลือกปนเนื้อไม่มีตา สำหรับผิวเปลือก เนื้อท้ายหัวมันฝรั่ง และเนื้อกลางหัวมันฝรั่งตรวจไม่พบไวรัส ส่วนที่ตรวจพบเชื้อไวรัสมากที่สุดคือ เนื้อท่ออาหาร ใช้ใบมันฝรั่งเป็นโรค และหน่ออ่อน เป็นปฏิกิริยาเปรียบเทียบ

2. ผลการทดลองตรวจสอบเชื้อ PVY ด้วยวิธี RT-PCR

สารผสม TRIzol ของ GIBCO BRL สกัด RNA ได้สะอาดมากกว่าสารสกัดอีก 2 ชนิด ทำให้สามารถนำ RNA ที่ได้มาสังเคราะห์ DNA ของ PVY ในเนื้อมันฝรั่งตรงบริเวณท่ออาหารจากหัวมันได้ ด้วยPrimers ชุดที่ 2 และ 3 ได้ DNA ของ PVY ขนาด 281 bp และ 443 bp และ primers ทั้ง 2 คู่นี้ เป็น primers ที่ ใช้ตรวจสอบ PVY แยกเป็น strain PVY-o และ PVY-n จึงสามารถจำแนกได้ถึงระดับ strain ส่วน primer ชุดที่ 1 สามารถใช้ในการสังเคราะห์ DNA ของ PVY ได้ แต่การสกัด RNA ต้องมีคุณภาพที่สมบูรณ์มาก จึงจะให้ได้ชิ้น DNA ขนาด 360 bp

สรุปผลการทดลอง

1. ชุด GLIFT ตรวจสอบ PVY ที่ได้รับการปรับปรุงเพิ่มวัสดุดูดซับน้ำคั้นจำนวน 5 หยดเหมาะกับการใช้ตรวจ PVY ในเนื้อจากหัวมันฝรั่งก่อนงอก หยดมากเพื่อเพิ่มปริมาณไวรัสช่วยให้ปฏิกิริยาชัดเจน
2. บัฟเฟอร์บดเนื้อมันฝรั่งที่เหมาะสมสำหรับเตรียมน้ำคั้นเพื่อตรวจเชื้อ PVY ด้วย GLIFT kit คือ บัฟเฟอร์ Na_2BO_3 ที่มี 4 % Na_2SO_3 และเตรียมน้ำคั้นจากเนื้อมันรอบตา และบริเวณท่องอาหารรอบหัว ดีที่สุดก่อนที่ sprout งอก
3. การตรวจเชื้อ PVY ด้วย RT-PCR ควรตรวจจากเนื้อบริเวณตาและตรงบริเวณท่ออาหารจากหัวมัน ด้วยPrimers ชุดที่ 2 และ 3 จะสังเคราะห์ DNA ของ PVY ขนาด 281 bp และ 443 bp และ primers ทั้ง 2 คู่นี้ ยังเป็น primers ที่ ใช้ตรวจสอบ PVY แยกได้ในระดับ strain เป็น PVY-o และ PVY-n

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรภี กีรติยะอังกูร และ เยาวภา ตันติวานิช. 2549. GLIFT kit เพื่อการตรวจสอบเชื้อ *Potato virus Y* ในมันฝรั่ง. วารสารวิชาการเกษตร. ปีที่ 24 ฉบับที่ 2 หน้า168-177.

สุรภี กีรติยะอังกูร และ กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร. 2539. การตรวจเชื้อ ORSV ในกล้วยไม้ด้วยวิธี RT-PCR และ Hybridization. รายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติ ครั้งที่ 2 วันที่ 14-17 กุภาพันธ์ 2539 ณ โรงแรมดวงตะวัน จ. เชียงใหม่. ISBN 974-8027-29-5 หน้า 52-65.

สุรภี กีรติยะอังกูร ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์ และ กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร. 2547. ชุดตรวจสอบโรคไวรัสในกล้วยไม้. วารสารโรคพืช ปีที่ 18 เล่มที่ 1-2 : 1-14. ISSN-0125-5878.

Chang, S.J. and J.Cainey . 1993 . A sample and efficient method for isolating RNA from pinetrees . Plant Molecular Biology Reporter Vol. 11(2)

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 Methode of its Detection. Plant Disease Vol.87(6): 679-685.

การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชในส้มโอ

Survey and Collection of Weed Species in Pomelo Plantation

จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ ไชยยศ สุพัฒนกุล เพ็ญศรี นันทสมสราญ
ศิริพร ซึงสนธิพร จรัญญา ปิ่นสุภา
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจรวบรวมชนิดวัชพืชในส้มโอ ได้ดำเนินงานในพื้นที่ปลูกส้มโอตามภาคต่าง ๆ ของประเทศคือภาคเหนือ ที่จังหวัดเชียงราย และ เชียงใหม่ ภาคกลาง ที่จังหวัดเพชรบูรณ์ พิจิตร ชัยนาถ ลพบุรี นครปฐม และ สมุทรสงคราม ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่จังหวัดหนองคาย ศรีษะเกษ และบุรีรัมย์ ภาคตะวันออก ที่จังหวัดปราจีนบุรี สระแก้ว และตราด ภาคตะวันตก ที่จังหวัดกาญจนบุรี และราชบุรี และภาคใต้ ที่จังหวัดชุมพร ระนอง และสงขลา เริ่มดำเนินงานตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 จนถึงเดือนกันยายน 2550 จากการสำรวจพบวัชพืชในสวนส้มโอทั้งหมด 97ชนิด จัดจำแนกได้ 35 วงศ์ (family) 74 สกุล (genus) 97 พันธุ์ (species) วัชพืชที่พบปริมาณมากและมีความถี่ที่พบสูงจะจัดเป็นวัชพืชเด่น (dominant species) ของการสำรวจในครั้งนี้ โดยพิจารณาจากค่า sum-dominant ratio (SRD) ซึ่งได้แก่ ผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) มีค่า SRD 7.8 % ส่วนวัชพืชลำดับรอง (Co – dominant species) พบ 5 ชนิด ได้แก่ หญ้านมหนอน (*Paspalum conjugatum* Berg.) หญ้าสาบ *(Chromolaena* sp.) กระดุมใบใหญ่ *(Borreria latifolia* (Aubl. Shum.) หญ้าตีนกา (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) และสาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) มีค่า SDR 4.9 %, 4.8 %, 4.4 %, 4.1 % และ 3.2 % ตามลำดับ วัชพืชที่รวบรวมได้จากการสำรวจในครั้งนี้ สามารถนำไปอ้างอิง และจัดทำเป็นบัญชีรายชื่อวัชพืชตามหลักสากลเพื่อส่งให้กับประเทศคู่ค้าในการส่งออกทุเรียนตามมาตรการสุขอนามัย นอกจากนี้ยังใช้เป็นหลักฐานในการสืบค้นข้อมูล และการจัดทำฐานข้อมูลเกี่ยวกับวัชพืชต่อไป

คำค้น Pomelo, unrestricted sampling method, survey, collection, family, genus, species, dominant species, co-dominant species, relative density, relative frequency และ sum dominant ratio

---

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

แหล่งปลูกส้มโอในประเทศไทยกระจายไปทั่วทุกภาคของประเทศเช่น ภาคเหนือที่จังหวัด อุตรดิตถ์ เชียงใหม่ และ เชียงราย ภาคกลางที่จังหวัด พิจิตร ชัยนาท สิงห์บุรี ลพบุรี อ่างทอง สุพรรณบุรี สระบุรี นนทบุรี นครปฐม ปทุมธานี นครนายก พระนครศรีอยุธยา สมุทรสาคร และ สมุทรสงคราม ภาคตะวันออกที่จังหวัด ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา จันทบุรี ตราด และสระแก้ว ภาค ตะวันตกที่ กาญจนบุรี ราชบุรี ภาคใต้ที่จังหวัดพัทลุง สงขลา ระนอง พังงา ชุมพร กระบี่ สตูล นราธิวาส สุราษฎร์ธานี และตรัง จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุดคือ จังหวัดชุมพร นครศรีธรรมราช เชียงใหม่ เชียงราย และนครปฐม แต่จะมีชื่อเสียงมากที่จังหวัดนครปฐม พื้นที่ปลูกทั้งหมด ประมาณ 210,000 ไร่ มูลค่าส่งออก 102 ล้านบาท (http://www.doa.go.thlpl data/PUMMELO/ 1start/st02.html)

ส้มโอที่ปลูกในแต่ละแหล่งมีความแตกต่างกันไปในเรื่องของพันธุ์ พันธุ์ที่ตลาดต่างประเทศ ต้องการ คือ พันธุ์ทองดี และพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง ประเทศที่มีการสั่งซื้อส้มโอมากที่สุดคือ ฮ่องกง จีน และ สิงคโปร์ ซึ่งใช้ในเทศกาล นอกจากนี้ยังส่งออกส้มโอไปยังตลาดยุโรป เช่น เนเธอร์แลนด์ ฝรั่งเศส เบลเยี่ยม กรีซ แต่การนำเข้าในประเทศเหล่านี้ไม่แน่นอน ซึ่งอาจจะไปซื้อส้มโอจากประเทศ อิสราเอลซึ่งผลิตส้มโอได้คุณภาพสม่ำเสมอกว่า (http://www.doa.go.thlpl data/PUMMELO/ 1start/st02.html)

สำหรับด้านวัชพืช มีรายงานวัชพืชที่พบในสวนส้มโอ แยกเป็นประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้า ตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนกา หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้ารังนก หญ้าคา หญ้าชันกาด หญ้าขน และหญ้าแพรก วัชพืชใบกว้าง ได้แก่ หญ้าสาบแร้งสาบกา กระดุมใบ ผักเบี้ยหิน ผักเบี้ยใหญ่ ผัก ขม สาบเสือ ผักปลาบ และไมยราบเครือ ประเภทกก ได้แก่ กกทราย หนวดปลาดุก และหญ้าแห้ว หมู (http://www. isdoa.net/know/?sitc=category&cat) แต่ยังไม่มีรายงานเป็นเอกสารวิชาการ ในการสำรวจและการรวบรวมตัวอย่างวัชพืช ในพื้นที่ปลูกส้มโอของประเทศไทย ดังนั้นการศึกษา ในครั้งนี้จึงได้ดำเนินการสำรวจวัชพืชในแหล่งปลูกส้มโอของประเทศ เพื่อเป็นหลักฐานในการสืบค้น ข้อมูลทางด้านวัชพืช และเป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืช ส่งให้กับประเทศคู่ค้าในกรณี ส่งออกส้มโอ ตามข้อตกลงมาตรการสุขอนามัยพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงสุ่ม (Sample plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร
- เลนส์ขยาย

- วัสดุ และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก เฟรมอัดตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์/กระดาษฟาง กระดาษลูกฟูก และเชือกมัดเฟรม

- อุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่นกระดาษ หรือ แบบฟอร์มในการบันทึกข้อมูล และกล้องบันทึกภาพ

วิธีการ

1. การค้นคว้าจากเอกสาร

ค้นคว้าเอกสารวิชาการต่าง ๆ เกี่ยวกับส้มโอ แหล่งปลูกส้มโอ การแพร่กระจายของวัชพืช และการตลาด

2. การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชจากแปลงปลูกส้มโอ

แผนการสำรวจวัชพืชในส้มโอ ได้แบ่งเขตการสำรวจตามภาคต่าง ๆ ดังนี้ ภาคเหนือ จังหวัดเชียงราย ที่อำเภอเวียงแก่น อำเภอเชียงแสน อำเภอแม่สรวย และอำเภอเวียงเวียงป่าเป้า และจังหวัดเชียงใหม่ที่ อำเภอเชียงดาว ภาคกลางจังหวัดเพชรบูรณ์ สำรวจที่อำเภอเขาค้อ จังหวัดพิจิตร ที่ อำเภอเมือง จังหวัดชัยนาทที่อำเภอเมือง อำเภอสรรคบุรี และอำเภอวัดสิงห์ จังหวัดลพบุรี สำรวจที่ อำเภอหนองม่วง จังหวัดนครปฐม ที่อำเภอสามพราน จังหวัดสมุทรสงคราม ที่อำเภอบางคนที อำเภอ อัมพวา และอำเภอเมือง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดหนองคาย สำรวจที่อำเภอศรีเชียงใหม่ จังหวัดศรีษะเกษที่อำเภอกันทรลักษณ์ และจังหวัดบุรีรัมย์ ที่อำเภอนางรอง ภาคตะวันออก จังหวัดปราจีนบุรี ที่อำเภอเมือง และอำเภอกบินทร์ จังหวัดสระแก้ว ที่อำเภอเมือง จังหวัดตราดที่กิ่งอำเภอเกาะช้าง อำเภอเขาสมิง และอำเภอแหลมงอบ ภาคตะวันตก จังหวัดกาญจนบุรี ที่อำเภอไทรโยค จังหวัดราชบุรี ที่อำเภอสวนผึ้ง และภาคใต้ จังหวัดชุมพร ที่อำเภอเมือง อำเภอประทิว และอำเภอสวี จังหวัดระนอง ที่อำเภอสิชล และจังหวัดสงขลาที่อำเภอหาดใหญ่ อำเภอนาหม่อม และอำเภอสะเดา

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

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

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

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

การจำแนกวัชพืช (classification) 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.

2. 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.

ระยะเวลา

ระยะเวลาในการดำเนินงาน เริ่มตั้งแต่ สืบค้นข้อมูล วางแผนการสำรวจและสำรวจวัชพืชในพื้นที่ปลูกส้มโอ และรวบรวมตัวอย่างวัชพืช ได้ดำเนินการตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2549

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

เนื่องจากการปลูกส้มโอมีหลายแบบขึ้นกับลักษณะของสภาพพื้นที่ เช่น ถ้าเป็นพื้นที่ตอนน้ำไม่ท่วมขัง จะปลูกส้มโอโดยไม่ยกร่อง หรืออาจยกร่องเป็นลักษณะลูกฟูกเพื่อช่วยระบายน้ำ ระยะระหว่างแถวและต้น 6 x 6 เมตร ส่วนในพื้นที่ลุ่มมีน้ำท่วมขังจะยกร่อง และปลูกบนสันร่องกว้างประมาณ 6 เมตร ระหว่างร่องกว้างประมาณ 1 เมตร ระยะปลูกระหว่างแถวและต้น 8 x 6 เมตร ดังนั้นการสำรวจจึงได้เลือกแปลงสำรวจที่มีการปลูกส้มโอทั้ง 2 ลักษณะ คือ ส้มโอที่ปลูกโดยไม่ยกร่อง และปลูกโดยยกร่อง

สำหรับพันธุ์ส้มโอในแปลงสำรวจนั้นมีหลายพันธุ์ขึ้นอยู่กับความต้องการของตลาด และภาวะการณ์การระบาดของโรคซึ่งเป็นศัตรูสำคัญของส้มโอ เช่นพันธุ์ทองดี มักปลูกที่จังหวัดนครปฐม สมุทรสาคร ราชบุรี และเชียงราย พันธุ์ขาวน้ำผึ้งแหล่งปลูกเช่นเดียวกับพันธุ์ทองดี แต่จะปลูกมากที่จังหวัดนครปฐม พันธุ์ขาวแตงกวา แหล่งปลูกอยู่ที่จังหวัดชัยนาท นครสวรรค์ และอุทัยธานี พันธุ์ท่าข่อยแหล่งปลูกที่จังหวัดพิจิตร และพิษณุโลก และพันธุ์หอมหาดใหญ่ (ควนรัง) แหล่งปลูกที่อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา เป็นต้น

นอกจากนี้ได้เลือกแปลงสุ่มที่ส้มโออายุขนาดต่าง ๆ คือ มีตั้งแต่ส้มโออายุไม่ถึงปีคือประมาณ 8 เดือน ซึ่งเป็นช่วงที่ต้นส้มโอมีขนาดเล็ก ส้มโอที่เริ่มให้ผลผลิตอายุประมาณ 4 ปี จนถึงสวนที่มีอายุส้มโออายุ 20 – 23 ปี

วัชพืชที่สำรวจพบในแปลงปลูกส้มโอนั้นมีความหลากหลายและปริมาณแตกต่างกันไปตามฤดูกาล ขนาดของต้นส้มโอ สถานที่ และการจัดการ เช่น ในฤดูแล้งชนิดและปริมาณวัชพืชจะน้อยกว่าในฤดูฝน และในขณะเดียวกัน สวนที่มีส้มโออายุน้อยทรงพุ่มของต้นยังไม่ทำให้เกิดร่มเงาก็จะพบชนิดและปริมาณวัชพืชมาก ส่วนสวนส้มโอที่มีขนาดใหญ่ทรงพุ่มต้นแผ่กว้าง บริเวณรอบโคนต้นมักจะมีปริมาณวัชพืชน้อย หรือแทบจะไม่พบเลย และทำนองเดียวกัน สวนส้มโอที่มีการจัดการดี มีการกำจัดวัชพืชเกือบทุกเดือน (โดยเฉพาะหน้าฝน) พบวัชพืชในปริมาณน้อย วิธีการกำจัดวัชพืชโดยทั่วไปของชาวสวนมักจะใช้วิธีกำจัดวัชพืชโดยวิธีกลคือการตัดร่วมกับการใช้สารกำจัดวัชพืช

จากการสำรวจวัชพืชในสวนส้มโอตามพื้นที่ที่ได้กำหนดในแผนดังกล่าวข้างต้น พบวัชพืชทั้งหมด 97ชนิด สามารถจำแนกได้) 35 วงศ์ (family) 74 สกุล (genus) 97 พันธุ์ (species) ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยหาค่า RD RF และ SDR ของวัชพืชแต่ละชนิด เพื่อนำมาเป็นตัวกำหนดในการจัดแบ่งกลุ่มวัชพืชตามปริมาณของวัชพืชที่พบในแปลงสำรวจ โดยจัดแบ่งเป็นกลุ่มวัชพืชเด่น (dominant species) และวัชพืชลำดับรอง (co – dominant species) จากข้อมูลตามตารางที่ 1 สามารถแบ่งวัชพืชได้ 4 กลุ่มคือ กลุ่มวัชพืชเด่น เป็นวัชพืชที่พบปริมาณมาก และพบบ่อยครั้งที่สุดมีค่า SDR สูงสุดซึ่งได้แก่ ผักแครด มีค่า SDR 7.8% กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มวัชพืชลำดับรองมีอยู่ 5 ชนิด ได้แก่ หญ้านมหนอน หญ้าสาบ กระดุมใบใหญ่ หญ้าตีนกา และสาบแร้งสาบกา มีค่า SDR 4.9 %, 4.8 %, 4.4 %, 4.1 %, และ 3.2 % ตามลำดับ กลุ่มที่ 3 กลุ่มวัชพืชที่พบระดับปานกลาง มีจำนวนทั้งสิ้น 28 ชนิด มีค่า SDR ตั้งแต่ 1 % - 2.7 % ได้แก่ ลูกใต้ใบ บาหยา หญ้าแห้วหมู น้ำนมราชสีห์ กระดุมใบเล็ก หญ้าตีนติด น้ำนมราชสีห์เล็ก กกดอกตุ้ม ส้มกบ ผักเสี้ยนผีต้อยติ่ง สร้อยนกเขา ผักโขม เงี่ยงปา ผักปลาบ หญ้าตีนกา ผักปลาบ หญ้าละออง หญ้ายางกระเม็ง ผักเป็ด ผักกระสัง หญ้าดอกขาว หญ้านกสีชมพู เงี่ยง ถั่วลิสงนา หญ้าคา และกระดุมขน และกลุ่มสุดท้ายคือกลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่พบวัชพืชระดับน้อยมีจำนวน 63 ชนิด จะเป็นกลุ่ม

วัชพืชที่พบปริมาณน้อย และพบไม่บ่อย วัชพืชแต่ละชนิดมีค่า SDR ต่ำกว่า 1 % ได้แก่ หญ้าปากควาย เทียนนา ฟันงูเขียว ไมยราบ หญ้านก *Lygodium* หญ้าตอแหล หญ้าละมาน ก้นจ้ำ ปอวัชพืช ตีนตุ๊กแก หญ้ามาเลเซีย เซ่งใบมน ตดหมูตดหมา หญ้าสะกาดน้ำเค็ม กกหางกระรอก *Brachiaria* sp. หญ้าแพรก อุตพิต ผักเบี้ยหิน กระต่ายจาม กกดอกเขียว หญ้าโขย่ง สาบเสือ หญ้าหวาย พรหมพระอินทร์ ผักขมหิน หญ้าคออ่อน หญ้าไข่เหา หูปลาช่อน ผักส้มเสี้ยน หญ้าขจรจบดอกเหลือง บายไม่รู้โรยป่า กระทกรก หญ้าชันกาศ หญ้ารังนก *Digitaria* sp. หญ้าลิ้นงู ไมยราบเลื้อย บัวบก มะไฟนกคุ่ม สะอึก ฆ้องกลอง ครอบฟันสี หญ้าขน ฟันงูแดง สตาร์กลาส เถาคัน หนวดปลาดุก หญ้าขจรจบดอกเล็ก *Cyperus* sp. กกทราย ขี้ไก่ย่าน กำมะหยี่ ผักขมหนาม *Chloris pycnothis* Trin ตำแย มันมือเสือ หนอนตายยาก ขยุ้มตีนหมา ถั่วผี ผักบุ้ง และโทงเทง

วัชพืชที่สำรวจพบในแปลงส้มโอนั้น สามารถจัดแบ่งออกตามลักษณะและขนาดของใบเพื่อความเหมาะสมในการเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชให้มีประสิทธิภาพ และวัชพืชที่สำรวจพบในครั้งนี้สามารถแบ่งเป็นวัชพืชใบกว้าง(B) 63 ชนิด เป็นวัชพืชที่มีขนาดใบกว้างกว่าวัชพืชใบแคบ และมีรูปร่างของใบหลายแบบ เช่น รูปไข่ และ รูปทรงกลมเป็นต้น ประกอบด้วยวัชพืชหลายวงศ์ เช่น Asteraceae Rubiaceae Euphorbiaceae Convolvulaceae และ Amaranthaceae เป็นต้น วัชพืชใบแคบ(N) 20 ชนิด เป็นวัชพืชที่มีขนาดของใบแคบเรียวยาว มีส่วนของใบและกาบใบ มีข้อและปล้อง เป็นวัชพืชในวงศ์ Poaceae วัชพืชพวกกก(S) 7 ชนิด เป็นวัชพืชที่มีขนาดของใบแคบเรียวยาวคล้ายพวกใบแคบ แต่ไม่มีข้อและปล้อง และมีการเรียงของใบเป็น 3แถว เป็นวัชพืชในวงศ์ Cyperaceae และวัชพืชพวกเฟิน(F) 1 ชนิด เป็นพวกที่ขยายพันธุ์โดยสร้างสปอร์ และใบอ่อนจะม้วนงอ (ตารางที่ 1)

เมื่อพิจารณาถึงจำนวนวัชพืชที่สำรวจพบในแต่ละวงศ์นั้นพบว่าวงศ์ Poaceae มีจำนวนวัชพืชมากที่สุดคือ สำรวจพบ 25 ชนิด รองลงมาคือ วงศ์ Asteraceae มีจำนวนวัชพืช 13 ชนิด วงศ์ Cyperaceae มีจำนวนวัชพืช 8 ชนิด และมี 2 วงศ์ คือ Rubiaceae และ Amaranthaceae ที่สำรวจพบวัชพืช 5 ชนิด มี 3 วงศ์คือ Euphorbiaceae Scrophurariaceae และ Convolvulaceae ที่สำรวจพบวัชพืช 3 ชนิด มีอีก 6 วงศ์ คือ Acanthaceae Capparidaceae Commelinaceae Mimosoideae Papilionoidceae และ Scrophurariaceae ที่สำรวจพบวัชพืช 2 ชนิด และที่เหลือทั้งหมด 21 วงศ์ คือ Oxalidaceae Molluginaceae Piperaceae Onagraceae Verbenaceae Schizaeaceae Tiliaceae Araceae Aizoaceae Portulacaceae Nyctaginaceae Passifloraceae Umbelliferae Lythraceae Malvaceae Vitaceae Dioscoreaceae Stemonaceae Solanaceae Stercullariaceae และ Urticaceae ที่สำรวจพบวัชพืชเพียงชนิดเดียว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การสำรวจวัชพืชในพื้นที่ปลูกส้มโอตามภาคต่าง ๆ คือภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ของประเทศไทย พบวัชพืชทั้งหมด 97 พันธุ์ (species) จัดจำแนกได้ 35 วงศ์ (family) 74 สกุล (genus)
2. วัชพืชเด่นจากการสำรวจ ในครั้งนี้คือ ผักแครด วัชพืชที่พบรองลงมามี 5 ชนิดคือ หญ้านมหนอน หญ้าสาบ กระดุมใบใหญ่ หญ้าตีนกา และสาบแร้งสาบกา
3. การจำแนกวัชพืชตามรูปร่างและลักษณะของใบนั้น จะเป็นประโยชน์ต่อการเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชให้มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชมีคุณสมบัติในการกำจัดวัชพืชแตกต่างกัน เช่นสารกำจัดวัชพืชบางชนิดจะเลือกทำลายเฉพาะพืชใบกว้าง บางชนิดเลือกทำลายเฉพาะพืชใบแคบ เป็นต้น และจากการสำรวจวัชพืชในครั้งนี้ จำแนกเป็นวัชพืชใบกว้างได้จำนวน 63 ชนิด วัชพืชใบแคบ 20 ชนิด วัชพืชกก 7 ชนิด และ เฟิน 1 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันท์ไ 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร 810 หน้า.

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

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

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

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

http : //www. doa. go. thlpl data/PUMMELO/1start/st02. htm

http : // www. isdoa. net/know/? sitc = category & cat.

Table 1 Relative density, relative frequency and sum dominance ratio of weed species in Pomelo plantation

Weed Species		Family	Form	%		
				RD	RF	SDR
ผักแครด	*Synedrella nodiflora* (L.) aertn.	Asteraceae	B	11.5	4.1	7.8
หญ้านมหนอน	*Paspalum conjugatum* Berg.	Poaceae	N	5.6	4.1	4.9
หญ้าสาบ	*Chromolaena* sp.	Asteraceae	B	6.2	3.4	4.8
กระดุมใบใหญ่	*Borreria latifolia* (Aubl) Schum.	Rubiaceae	B	5.6	3.2	4.4
หญ้าตีนนก	*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.	Poaceae	N	3.4	4.7	4.1
สาบแร้งสาบกา	*Ageratum conyzoides* L.	Asteraceae	B	4.1	2.2	3.2
ลูกใต้ใบ	*Phyllanthus amarus* schumach et Thonn.	Euphorbiaceae	B	1.9	3.4	2.7
บาหยา	*Asystasia gangetica* (L.) Anderson.	Acanthaceae	B	3.3	2.1	2.7
หญ้าแห้วหมู	*Cyperus rotundus* L.	Cyperaceae	S	3.8	1.3	2.6
น้ำนมราชสีห์	*Euphorbia hirta* L.	Euphorbiaceae	B	1.5	3.4	2.5
กระดุมใบเล็ก	*Borreria laevis* (Lamk.) Griseb	Rubiaceae	B	2.5	2.4	2.5
หญ้าตีนติด	*Brachiaria reptans*(L.) Gard & Hubb.	Poaceae	N	1.5	3.5	2.5
น้ำนมราชสีห์เล็ก	*Euphorbia thymifolia* L.	Euphorbiaceae	B	4.6	0.1	2.4
กกดอกตุ้ม	*Cyperus kyllingia* Endl.	Cyperaceae	S	2.2	2.5	2.4
ส้มกบ	*Oxalis corniculata* L.	Oxalidaceae	B	2.4	2.2	2.3
ผักเสี้ยนผี	*Cleome viscosa* L.	Capparidaceae	B	1.5	3.1	2.3
ต้อยติ่ง	*Ruellia tuberosa* L.	Acanthaceae	B	2.2	2.1	2.2
สร้อยนกเขา	*Mollugo pentaphylla* L.	Molluginaceae	B	2.5	1.3	1.9
ผักขม	*Amaranthus viridis* L.	Amaranthaceae	B	1.3	2.2	1.8
เงี่ยงปา	*Lindernia ciliata* Pernel	Scrophulariaceae	B	2.0	1.5	1.8
ผักปลาบ	*Commelina diffusa* Burm.f.	Commelinaceae	B	1.5	1.9	1.7
หญ้าตีนกา	*Eleusine indica* L. Gaertn.	Poaceae	N	1.0	2.2	1.6
ผักปลาบ	*Commelina benghalensis* L.	Commelinaceae	B	1.3	1.9	1.6
หญ้าละออง	*Vernonia cinerea* (L.) Less.	Asteraceae	B	0.8	2.2	1.5
หญ้ายาง	*Euphorbia heterophylla* L.	Euphorbiaceae	B	0.8	1.9	1.4

Table 1 Relative density, relative frequency and sum dominance ratio of weed species in Pomelo plantation

Weed Species		Family	Form	%		
				RD	RF	SDR
กะเม็ง	*Ecllpta alba* (L.) Hassk.	Asteraceae	B	0.7	1.8	1.3
ผักเป็ด	*Alternanthera philoxeroides* Griscb. (Mart.)	Amaranthaceae	B	1.2	1.3	1.3
ผักกระสัง	*Peperomia pellucida* (L.) H.B. & K	Piperaceae	B	1.7	0.9	1.3
หญ้าดอกขาว	*Leptochloa chinensis (*L.) Ness.	Poaceae	N	1.1	1.2	1.2
หญ้านกสีชมพู	*Echinochloa colona* (L.) Link.	Poaceae	N	0.6	1.6	1.1
เงี่ยง	*Lindernia* sp.	Scrophulariaceae	B	1.0	1.2	1.1
ถั่วลิสงนา	*Alysicapus vaginalis* (L.) DC.	Papilionoideae	B	1.3	0.7	1.0
หญ้าคา	*Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv.	Poaceae	N	0.9	1.0	1.0
กระดุมขน	*Mitracapus villosus* (Sw.) DC.	Rubiaceae	B	1.3	0.7	1.0
หญ้าปากควาย	*Dactylocthenium aegyptium* (L.) P.B.	Poaceae	N	0.4	1.3	0.9
เทียนนา	*Ludwigia hyssopifolia* (G.Don) Exell	Onagraceae	B	0.5	1.3	0.9
พันงูเขียว	*Stachytarpeta indica* (L.) Vahl.	Verbenaceae	B	0.9	1.0	0.9
ไมยราบ	*Mimosa pudica* L.	Mimosoideae	B	0.3	1.5	0.9
หญ้านก	*Eriochloa procera* C.E. Hubb.	Poaceae	N	0.5	1.0	0.8
-	*Lygodlium* sp.	Schizaeaceae	F	0.8	0.7	0.8
หญ้าตอแหล	*Leptochloa panicea* (Retz.) Ohwi.	Poaceae	N	0.1	0.1	0.8
หญ้าละมาน	*Ottochloa nodosa* (Kunth) Dandy	Poaceae	N	0.9	0.6	0.8
ก้นจ้ำ	*Bidens pilosa* L.	Asteraceae	B	0.7	0.9	0.8
ปอวัชพืช	*Corchorus olitorius* L.	Tiliaceae	B	0.6	1.0	0.8
ตีนตุ๊กแก	*Tridax procumbens* L.	Asteraceae	B	0.4	0.7	0.6
หญ้ามาเลเซีย	*Axonopus compressus* Beauv.	Poaceae	N	0.5	0.7	0.6
เซ่งใบมน	*Melochia corchorifolia* L.	Sterculiaceae	B	0.5	0.6	0.6
ตดหมูตดหมา	*Paederia linearis* Hook L.	Rubiaceae	B	0.5	0.6	0.6
หญ้าสะกาดน้ำเค็ม	*Paspalum distichum* L.	Poaceae	N	0.2	0.9	0.6

Table 1 Relative density, relative frequency and sum dominance ratio of weed species in Pomelo plantation

Weed Species		Family	Form	%		
				RD	RF	SDR
กกหางกระรอก	*Cyperus cyperoides* (L.) O.Kuntze	Cyperaceae	S	0.4	0.6	0.5
-	*Brachiaria* sp.	Poaceae	N	0.6	0.4	0.5
หญ้าแพรก	*Cynodon dactylon* (L.) Pers.	Poaceae	N	0.2	0.6	0.4
อุตพิต	*Typhonium trilobatum* (L.) Shott.	Araceae	B	0.1	0.7	0.4
ผักเบี้ยหิน	*Trianthema portulacas*trum L.	Aizoaceae	B	0.2	0.4	0.3
กระต่ายจาม	*Scoparia dulcis* L.	Scrophulariaceae	B	0.2	0.4	0.3
กกดอกเขียว	*Cyperus brevifolia* Rottb.	Cyperaceae	S	0.2	0.3	0.3
หญ้าโขย่ง	*Rottboellia exaltata* L. f.	Poaceae	N	0.1	0.4	0.3
สาบเสือ	*Chromolaena odoratum* (L.) R.M. King & H. Rob.	Asteraceae	B	0.2	0.6	0.3
หญ้าหวาย	*Eragrostis tenella (*L.) P. Beauv.	Poaceae	N	0.2	0.4	0.3
พรหมพระอินทร์	*Portulaca pillosa* L.	Portulacaceae	B	0.2	0.3	0.3
ผักขมหิน	*Boerhavia diffusa* (L.)	Nyctaginaceae	B	0.1	0.4	0.3
หญ้าคออ่อน	*Crassocephalum crepidioides* (Benth.)S.Morre	Asteraceae	B	0.2	0.4	0.3
หญ้าไข่เหา	*Eragrostis ciliata* (Roxb.) Nees	Poaceae	N	0.4	0.1	0.3
หูปลาช่อน	*Emilia sonchifolia* (L.) DC.	Asteraceae	B	0.2	0.4	0.3
ผักส้มเสี้ยน	*Cleome gynandra* L.	Capparidaceae	B	0.2	0.3	0.3
หญ้าขจรจบดอกเหลือง	*Pennisetum setosum* (Swz.) L. C. Rich	Poaceae	N	0.2	0.4	0.3
บานไม่รู้โรยป่า	*Gomphrena celosioides* Mart.	Amaranthaceae	B	0.3	0.3	0.3
กระทกรก	*Passiflora foetida* L.	Passifloraceae	B	0.1	0.3	0.2
หญ้าชันกาศ	*Panicum repens* L.	Poaceae	N	0.1	0.3	0.2
หญ้ารังนก	*Chloris barbata* Sw.	Poaceae	N	0.1	0.3	0.2
-	*Digitaria* sp	Poaceae	N	0.1	0.3	0.2
หญ้าลิ้นงู	*Hedyotis corymbosa* (L.) Lam.	Rubiaceae	B	0.1	0.3	0.2
ไมยราบเลื้อย	*Mimosa invisa* Mart.	Mimosoideae	B	0.1	0.3	0.2

Table 1 Relative density, relative frequency and sum dominance ratio of weed species in Pamelo plantation

Weed Species		Family	Form	%		
				RD	RF	SDR
บัวบก	*Centella asiatica (*L.) Urb.	Umbelliferae	B	0.3	0.1	0.2
มะไฟนกคุ่ม	*Ammania baccifera* L.	Lythraceae	B	0.1	0.3	0.2
สะอึก	*Ipomoea gracilis* R.H.	Convolvulaceae	B	0.1	0.3	0.2
ม้อนกลอง	*Sphaerantus africanus* L.	Asteraceae	B	0.1		0.2
ครอบฟันสี่	*Abutiton indicum* Sweet	Malvaceae	B	0.1	0.3	0.2
หญ้าขน	*Brachiaria mutica* (Frossk.) Stapf	Poaceae	N	0.1	0.1	0.1
พันงูแดง	*Cyathula prostrata* Blumes	Amaranthaceae	B	0.1	0.1	0.1
สตาร์กราส	*Cynodon nlemfuensis* Vanderust	Poaceae	N	0.1	0.1	0.1
เถาคัน	*Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch.	Vitaceae	B	0.1	0.1	0.1
หนวดปลาดุก	*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl	Cyperaceae	S	0.1	0.1	0.1
หญ้าขจรจบดอกเล็ก	*Pennisetum polystachyon* (L.) Schult	Poaceae	N	0.1	0.1	0.1
-	*Cyperus* sp.	Cyperaceae	S	0.1	0.1	0.1
กกทราย	*Cyperus iria* L.	Cyperaceae	S	0.1	0.1	0.1
ขี้ไก่ย่าน	*Mikania micrantha* H.B.K.	Asteraceae	B	0.1	0.1	0.1
กำมะหยี่	*Lagascea mollis* Cav.	Asteraceae	B	0.1	0.1	0.1
ผักขมหนาม	*Amaranthus spinosus* L.	Amaranthaceae	B	0.1	0.1	0.1
-	*Chloris pycnothis* Trin	Cyperaceae	N	0.1	0.1	0.1
ตำแย	*Laportca bulbifera* (Siebold & Zucc.) Wedd.	Urticaceae	B	0.1	0.1	0.1
มันมือเสือ	*Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill.	Dioscoreaceae	B	0.1	0.1	0.1
หนอนตายยาก	*Stemona tuberosa* Lour.	Stemonaceae	B	0.1	0.1	0.1
ขยุ้มตีนหมา	*Ipomoea pes-tigridis* L.	Convovulaceae	B	0.1	0.1	0.1
ถั่วผี	*Phaseolus lathyroides* L. f.	Papilionoideae	B	0.1	0.1	0.1
ผักบุ้ง	*Ipomoea aquatica* Forsk.	Convolvulaceae	B	0.1	0.1	0.1
โทงเทง	*Physalis minima* L.	Solanaceae	B	0.1	0.1	0.1

B = Board leaf weed N = narrow leaf weed S = sedge F = fern

การสำรวจและรวบรวมวัชพืชในทุเรียน

Survey and collection of Weed Species in Durian Plantution.

จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ ไชยยศ สุพัฒนกุล
เพ็ญศรี นันทสมสราญ จรัญญา ปิ่นสุภา
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจรวบรวมชนิดวัชพืชในแปลงปลูกทุเรียน ได้ดำเนินงานตามพื้นที่ปลูกทุเรียนตามภาคต่าง ๆ ของประเทศ คือ ภาคเหนือ ที่จังหวัดอุตรดิตถ์ ภาคกลาง ที่จังหวัดนนทบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่จังหวัดนครราชสีมา หนองคาย ศรีษะเกษ และ อุบลราชธานี ภาคตะวันออก ที่จังหวัดปราจีนบุรี ระยอง ตราด และจันทบุรี และภาคใต้ ที่จังหวัดชุมพร สุราษฎ์ธานี นครศรีธรรมราช จังระนอง และสงขลา โดยใช้แปลงสุ่ม (sampling plot) ขนาด 0.5 x 0.5 เมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous, 1982) เริ่มดำเนินงานตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2548 จนถึงเดือนกันยายน 2550 จากการสำรวจพบวัชพืชในสวนทุเรียนทั้งหมด 72 ชนิด จำแนกได้ 25 วงศ์ (family) 60 สกุล (genus) 72 พันธุ์ (species) วัชพืชที่พบปริมาณมากและมีความถี่ที่พบสูงจะจัดเป็นวัชพืชเด่น (dominant species) โดยพิจารณาจากค่า sum-dominant ratio (SRD) และจากการสำรวจในครั้งนี้ พบวัชพืชเด่น 2 ชนิด คือ กระดุมใบใหญ่ *(Borreria latifolia* (Aubl) Schum. และหญ้าสาบ *(Chromolaena* sp.) มีค่า SRD 8.7 % และ 8.3 % ตามลำดับ ส่วนวัชพืชที่พบลำดับรองลงมา (Co – dominant species) พบ 4 ชนิด ได้แก่ กกดอกตุ้ม *(Cyperus kyllingia* Endl.) หญ้าสาบแร้งสาบกา *(Ageratum conyzoides* L). หญ้านมหนอน (*Paspalum conjugatum* Berg.) และหญ้าตีนนก (*Eleusin indica* (Retz.) Koel) มีค่า SDR 6.8 %, 5.5 %, 4.5 %, และ 4.4 % ตามลำดับ วัชพืชที่รวบรวมได้จากการสำรวจในครั้งนี้สามารถนำไปอ้างอิง และจัดทำเป็นบัญชีรายชื่อวัชพืชส่งให้กับประเทศคู่ค้าในการส่งออกทุเรียนตามมาตรการสุขอนามัย นอกจากนี้ยังใช้เป็นหลักฐานในการสืบค้นข้อมูล และการจัดทำฐานข้อมูลเกี่ยวกับวัชพืชต่อไป

คำค้น *Durio, zibethius* Mer, survey, collection, family, genus, species, dominant specis co-dominant species, relative density, relative frequency และ sum dominant ratio

---

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ทุเรียน (durian) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Durio zibethinus* Merr. วงศ์ Bombaceaceae มีชื่อท้องถิ่นภาคเหนือ เรียก มะทุเรียน ภาคใต้ เรียก เรียน มาเลเซีย-ใต้ เรียก ดือแย ทุเรียนมีถิ่นกำเนิดที่บริเวณหมู่เกาะอินเดีย ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นไม้ผลที่มีขนาดผลใหญ่ มีหนามแหลม รสชาติหวานมัน ได้ชื่อว่าเป็นราชาของผลไม้ (King of the fruits) เนื้อทุเรียนให้ธาตุอาหารหลายชนิด ได้แก่ไนโตรเจน แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมงกานีส โพแทสเซียม และกำมะถัน เนื่องจากทุเรียนเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยม มีตลาดทั้งภายในประเทศ และต่างประเทศ (http://www. Kanchnapisek. Or th/kp6/Book 28/chapter4/128-4-15 htm//sect2) ในปี พ.ศ. 2541 พบว่ามีพื้นที่ปลูกประมาณ 860,269 ไร่ เป็นพื้นที่ให้ผลผลิตแล้ว 607,009 ไร่ ได้ผลผลิตสด และแช่แข็ง 90,882 ตัน และผลผลิตภัณฑ์แปรรูป 75,755 ตัน (hppt://www.sut.ac.th/c-texts/Agri/insectfind2/Insect%20Web/chapter 4-duriun.htm.)

แหล่งปลูกทุเรียนที่สำคัญอยู่ในภาคตะวันออก และภาคใต้ จังหวัดที่ผลิตทุเรียนได้มากที่สุดคือจังหวัดจันทบุรี ผลิตได้ประมาณร้อยละ 50 ของผลผลิตทั้งหมดของประเทศ รองลงมาได้แก่ จังหวัดระยอง ชุมพร และตราด พันธุ์ที่นิยมปลูกได้แก่ พันธ์หมอนทอง กระดุมทอง ชะนี พวงมณี และก้านยาว (http://www.doa.go.th/pl-data/DURIAN/Istab/st02.html)

การปลูกทุเรียนนั้นนอกจากจะมีปัญหาเรื่องแมลงและโรคแล้ว วัชพืชก็เป็นศัตรูพืชอีกชนิดหนึ่งที่ชาวสวนทุเรียนต้องดูแลอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะฤดูฝน ชาวสวนจะพบกับปัญหาวัชพืชมาก การกำจัดวัชพืชใช้แบบผสมผสาน คือด้วยวิธีกล และการใช้สารกำจัดวัชพืช วัชพืชในสวนทุเรียนมีทั้งวัชพืชฤดูเดียวได้แก่ หญ้าขจรจบ หญ้าตีนนก และวัชพืชข้ามปี ได้แก่ หญ้าชันกาศ และแห้วหมู (นิรนาม,2547)

มีเอกสารวิชาการเกี่ยวกับทุเรียนหลายฉบับ รายงานในเรื่องของพันธุ์ทุเรียน การปลูก การดูแลรักษา การกำจัดโรค แมลง และวัชพืช แต่ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชในแหล่งปลูกทุเรียน การศึกษาในครั้งนี้จึงได้ทำการสำรวจชนิดและรวบรวมวัชพืชในแหล่งปลูกทุเรียนที่สำคัญของประเทศเพื่อเป็นหลักฐานในการสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับวัชพืชรวมถึงการป้องกันกำจัด และการเตรียมจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืชในทุเรียนส่งให้ประเทศคู่ค้า

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- แปลงสุ่ม (Sample plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร
- เลนส์ขยาย
- วัสดุ และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก เฟรมอัดตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์/กระดาษฟาง กระดาษลูกฟูก และเชือกมัดเฟรม

- อุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่นกระดาษ หรือ แบบฟอร์มในการบันทึกข้อมูล และกล้องบันทึกภาพ

วิธีการ

1. การค้นคว้าจากเอกสารค้นคว้าเอกสารวิชาการต่าง ๆ เกี่ยวกับทุเรียน แหล่งปลูกทุเรียน การแพร่กระจายของวัชพืช และการตลาด
2. การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชจากแปลงปลูกทุเรียนแผนการสำรวจวัชพืชในทุเรียน ได้แบ่งเขตการสำรวจตามภาคต่าง ๆ ดังนี้ ภาคเหนือ จังหวัดอุตรดิตถ์ ที่อำเภอลับแล ภาคกลางจังหวัดนนทบุรี ที่อำเภอเมือง และอำเภอบางใหญ่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดนครราชสีมา ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดศรีษะเกษ ที่อำเภอกันทรลักษณ์ จังหวัดอุบลราชธานี ที่อำเภอวารินชำราบ และ อำเภอน้ำยืน ภาคตะวันออก จังหวัดปราจีนบุรี ที่อำเภอเมือง จังหวัดระยอง ที่อำเภอแกลง จังหวัดตราด ที่กิ่งอำเภอเกาะช้าง อำเภอเขาสมิง และอำเภอแหลมงอบ จังหวัดจันทบุรี ที่อำเภอท่าใหม่ อำเภอเมือง และอำเภอขลุง และภาคใต้ จังหวัดชุมพร ที่อำเภอเมือง อำเภอประทิว และอำเภอสวี จังหวัดสุราษฎ์ธานี ที่อำเภอเกาะสมุย จังหวัดนครศรีธรรมราช ที่อำเภอสิชล จังหวัดระนอง ที่อำเภอเมือง อำเภอละอุ่น และ อำเภอกะเปอร์ และจังหวัดสงขลาที่อำเภอหาดใหญ่ อำเภอนาหม่อม และอำเภอสะเดา

วิธีสุ่มตัวอย่างวัชพืชในการสำรวจนั้น ใช้แปลงสุ่ม (sample plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous, 1982) ทำการสุ่ม 4 จุดต่อหนึ่งแปลง บันทึกจำนวน 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 dominant ratio ซึ่งคำนวณได้จากค่า relative density และค่า relative frequency จากสมการดังต่อไปนี้

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

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

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

การจำแนกชนิดวัชพืช (classification) และการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ (identification) นั้นได้อาศัยความชำนาญและประสบการณ์ของนักวิชาการและเอกสารวิชาการดังต่อไปนี้

1. เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่ พับลิชชิ่ง. 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.
2. 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.

ระยะเวลา

ในการดำเนินงาน คือสืบค้นข้อมูล วางแผนการสำรวจ และดำเนินงานสำรวจและรวบรวมวัชพืชในแหล่งปลูกส้มโอ การตรวจหาชื่อวัชพืช และการเตรียมตัวอย่างแห้ง ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

การสำรวจวัชพืชในสวนทุเรียนนั้นได้เลือกแปลงปลูกทุเรียนหลายลักษณะ เช่น แปลงปลูกที่อยู่บนเนินเขา ได้แก่แปลงทุเรียนที่จังหวัดอุตรดิตถ์ และที่กิ่งอำเภอเกาะช้าง แปลงทุเรียนที่ปลูกในที่ดอน ไม่มีการยกร่อง ซึ่งจะเป็นแปลงส่วนใหญ่ของการสำรวจในครั้งนี้ และแปลงที่อยู่ในที่ลุ่มจะปลูกโดยยกร่อง ได้แก่แปลงทุเรียนที่จังหวัดนนทบุรี

สำหรับอายุของต้นทุเรียนในแปลงที่มีการสุ่มสำรวจนั้น พบว่ามีอายุตั้งแต่ 6ปี ถึง 30ปี ต้นทุเรียนที่มีอายุน้อย ลำต้นขนาดเล็ก จะพบวัชพืชปริมาณมาก ทั้งบริเวณรอบโคนต้น และระหว่างแถว ส่วนแปลงที่ต้นทุเรียนขนาดใหญ่ วัชพืชบริเวณโคนต้นจะมีปริมาณน้อย อย่างไรก็ตามปริมาณและชนิดวัชพืชนอกจากจะขึ้นอยู่กับขนาดของต้นทุเรียนแล้ว ยังขึ้นอยู่กับการจัดการดูแลสวนทุเรียน ถ้ามีการจัดการวัชพืชอย่างสม่ำเสมอ จะพบวัชพืชน้อยมาก แต่บางพื้นที่ที่เจ้าของดูแลไม่ทั่วถึง หรืออาจจะขาดแคลนแรงงาน จะพบวัชพืชหนาแน่น ซึ่งอาจจะมีผลเสีย คือวัชพืชนอกจากการแก่งแย่งธาตุอาหารและน้ำแล้ว ยังเป็นที่หลบซ่อนของไรแดงแอฟริกันศัตรูของทุเรียนอีกด้วย

จากการสำรวจและรวบรวมวัชพืชในพื้นที่ปลูกทุเรียน พบวัชพืชทั้งหมด 72 ชนิด จัดจำแนกตามอนุกรมวิธานพืชได้ 25 วงศ์ (family) 60 สกุล(genus) 72 พันธุ์(species) ทำการวิเคราะห์ลักษณะเชิงปริมาณของวัชพืชที่พบทั้งหมด เพื่อหาค่า RD RF และ SDR เพื่อจัดกลุ่ม

วัชพืชตามปริมาณ และความถี่หรือจำนวนครั้งที่พบวัชพืชแต่ละชนิด ซึ่งสามารถแบ่งวัชพืชได้ 4 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มวัชพืชเด่น(dominant spices) พบ 2 ชนิด ได้แก่ กระดุมใบใหญ่. และหญ้าสาบ มีค่า SRD 8.7 % และ 8.3 % ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มวัชพืชลำดับรอง (Co – dominant species) พบ 4 ชนิด ได้แก่ กกดอกตุ้ม หญ้าสาบแร้งสาบกา หญ้านมหนอน และหญ้าตีนนก มีค่า SDR 6.8 %, 5.5 %, 4.5 %, และ 4.4 % ตามลำดับ กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มวัชพืชที่พบระดับปานกลาง พบ 24 ชนิด ได้แก่ ผักปลาบ หญ้าละออง ลูกใต้ใบ เทียนนา หญ้าสะกาดน้เค็ม ผักแครด ผักปลาบ หญ้าคา หญ้ามาเลเซีย น้ำนมราชสีห์ *Cyperus sp.* ไมยราบ กระดุมใบเล็ก หญ้าท่าพระ หญ้าละมาน หญ้าตีนติด ผักเสี้ยนผี ผักกระสัง หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู สาบเสือ บาหยา กกสามเหลี่ยมเล็ก และ กินกุ้งน้อย มีค่า SDR 3.0% 2.9% 2.7% 2.2% 2.2% 2.1% 2.1% 1.9% 1.7% 1.7% 1.5% 1.5% 1.5% 1.4% 1.4% 1.4% 1.3% 1.3% 1.3% 1.3% 1.2 % 1.1% 1.0% และ 1.0% ตามลำดับ กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มวัชพืชที่พบระดับน้อย พบทั้งหมด 42 ชนิด ได้แก่ หนวดปลาดุก ขี้ไก่ย่าน หญ้ายาง กระดุมขน เงี่ยงป่า ผักเป็ด หญ้าปากควาย ต้อยติ่ง เงี่ยง ผักส้มเสี้ยน กกทราย ผักขม หญ้านก พันงูเขียว หญ้าขจรจบดอกเล็ก ตดหมูตดหมา สร้อยนกเขา บัวบก หญ้าคออ่อน ตีนตุ๊กแก ถั่วผี กกดอกเขียว *Lygodium sp.* หญ้าไม้กวาด ส้มกบ ครอบฟันสี หญ้าโขย่ง ขยุ้บตีนหมา สะอึก หญ้ากำมะหยี่ หญ้าเจ้าชู้ หงอนไก่ป่า ตำแย ฆ้องกลอง หญ้าแพรก ผักขมหิน จิงโจ้เล็ก แมงลักป่า หญ้าแห้วหมู และ หูปลาช่อน มีค่า SDR 0.9% 0.9% 0.9% % 0.9% % 0.9% 0.8% 0.8% 0.8% 0.7% 0.6% 0.6% 0.6% 0.6% 0.5% 0.5 0.5% 0.4% 0.4% 0.3% 0.3% 0.3 0.3% 0.3% 0.3 0.2% 0.2% 0.2% 0.2% 0.2% 0.2% 0.2% 0.1% 0.1% 0.1% 0.1% 0.1% 0.1% 0.1% 0.1% 0.1% 0.1% 0.1% 0.0% และ 0.0% ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

วัชพืชที่สำรวจพบในครั้งนี้ สามารถจัดแบ่งกลุ่มโดยอาศัยรูปร่างและลักษณะของใบเพื่อความเหมาะสมในการเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชให้ถูกต้องและมีประสิทธิภาพ เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชหลายชนิดมีคุณสมบัติในการเลือกทำลายพืช เช่น สารกำจัดวัชพืชบางชนิดจะทำลายเฉพาะวัชพืชใบกว้าง บางชนิดจะทำลายเฉพาะใบแคบ หรือบางชนิดอาจไม่เลือกทำลายเลย คือ ทำลายพืชทุกชนิด ดังนั้นในด้านวิทยาการวัชพืช จึงจำเป็นต้องจัดแบ่งวัชพืชด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น และวัชพืชที่สำรวจพบในครั้งนี้ สามารถแบ่งเป็นวัชพืชใบกว้าง(B) 48 ชนิด เป็นวัชพืชที่มีขนาดใบกว้างกว่าวัชพืชใบแคบ และมีรูปร่างของใบหลายแบบ เช่น รูปไข่ และ รูปทรงกลม ประกอบด้วยวัชพืชหลายวงศ์ เช่น Asteraceae Commelinaceae Euphorbiaceae Convolvulaceae และ Amaranthaceae เป็นต้น วัชพืชใบแคบ(N) 16 ชนิด เป็นวัชพืชที่มีขนาดของใบแคบเรียวยาว มีส่วนของใบและกาบใบ มีข้อและปล้อง เป็นวัชพืชในวงศ์ Poaceae วัชพืชพวกกก(S) 7 ชนิด เป็นวัชพืชที่มีขนาดของใบแคบเรียวยาวคล้ายพวกใบแคบ แต่ไม่มีข้อและปล้อง และมีการเรียงของ

ใบป็น 3แถว เป็นวัชพืชในวงศ์ Cyperaceae และวัชพืชพวกเฟิน(F) 1 ชนิด เป็นพวกที่ขยายพันธุ์โดยสร้างสปอร์ และใบอ่อนจะม้วนงอ (ตารางที่ 1)

จำนวนวงศ์ของวัชพืชที่สำรวจพบในครั้งนี้ มีทั้งหมด 25 วงศ์ แต่ละวงศ์จะมีจำนวนวัชพืชแตกต่างกัน เรียงตามลำดับวงศ์ของวัชพืชได้ดังนี้ Poaceae มีวัชพืชจำนวน 16 ชนิด Asteraceae มีวัชพืชจำนวน 11 ชนิด Cyperaceae มีวัชพืชจำนวน 7 ชนิด Rubiaceae มีวัชพืชจำนวน 5 ชนิด วงศ์ที่มีจำนวนวัชพืช 3 ชนิดมีอยู่ 4 วงศ์ คือ Commelinaceae Euphorbiaceae Convolvulaceae และ Amaranthaceae วงศ์ที่มีจำนวนวัชพืช 2 ชนิดมีอยู่ 4 วงศ์คือ Capparidaceae Acanthaceae Malvaceae และ Scrophulariaceae และวงศ์ที่มีวัชพืชเพียง 1 ชนิด มีทั้งหมด 13 วงศ์ คือ Onagraceae Mimosoideae Piperaceae Verbenaceae Mollluginaceae Umbelliferae Papilionoideae Schizaeaceae Oxalidaceae Passifloraceae Urticaceae Nyctaginaceae และ Labiaceae (ตารางที่ 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การสำรวจวัชพืชในสวนทุเรียน พบวัชพืชทั้งหมด 72 ชนิด จำแนกได้ 25 วงศ์ 60 สกุล 72 พันธุ์
   และสามารถนำวัชพืชที่ได้ระบุชื่อ(identification) พร้อมทั้งจำแนกชนิด(Classification) เรียบร้อยแล้ว ไปจัดทำเป็นบัญชีรายชื่อวัชพืชในทุเรียน ตามระบบสากล
2. วัชพืชเด่นมี 2 ชนิด คือ กระดุมใบใหญ่ และหญ้าสาบ ส่วนวัชพืชรองมี 4 ชนิด ได้แก่ กกดอกตุ้ม สาบแร้งสาบกา หญ้านมหนอน และหญ้าตีนนก
3. การจำแนกวัชพืชตามรูปร่างและลักษณะของใบนั้น จะเป็นประโยชน์ต่อการเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชให้มีประสิทธิภาพ จากการสำรวจพบวัชพืชใบกว้างจำนวน 48 ชนิด วัชพืชใบแคบ 16 ชนิด วัชพืชกก 7 ชนิด และ เฟิน 1 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทยใ (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.

นิรนาม. 2547. การปลูกและการดูแลรักษาทุเรียน. น. 15 – 18. ใน :เอกสารวิชาการ ทุเรียน. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ดอกเบี้ย กรุงเทพฯ.

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

Anonymous. 1997. Weeds in the Tropices. Sanbi Printing Co. Ltd.. Tokyo.Japan.

304 pp.

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

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

http://www.Kanchnapisek.Or th/kp6/Book 28/chapter4/128-4-15 htm//sect2

http://www.sut.ac.th/c-texts/Agri/insectfind2/insect%20Web/chapter4-durian.htm.

http://www.doa.go.th/pl-data/DURIAN/Istab/html

Table 1 Relative density, relative frequency and sum dominance ratio of weed species in Durian plantation

Weed Species		Family	Form	%		
				RD	RF	SDR
กระดุมใบใหญ่	*Borreria latifolia* (Aubl) Schum.	Rubiaceae	B	1.1	6.4	8.7
หญ้าสาบ	*Chromolaena* sp.	Asteraceae	B	12	4.9	8.3
กกดอกตุ้ม	*Cyperus kyllingia* Endl.	Cyperaceae	S	6.8	6.8	6.8
สาบแร้งสาบกา	*Ageratum conyzoides* L.	Asteraceae	B	9.1	1.9	5.5
หญ้านมหนอน	*Paspalum conjugatum* Berg.	Poaceae	N	4.0	5.1	4.5
หญ้าตีนนก	*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.	Poaceae	N	4.2	4.5	4.4
ผักปลาบ	*Commelina benghalensis* L.	Commelinaceae	B	2.8	3.2	3.0
หญ้าละออง	*Vernonia cinerea* (L.) Less.	Asteraceae	B	2.3	3.6	2.9
ลูกใต้ใบ	*Phyllanthus amarus* schumach. et Thonn.	Euphorbiaceae	B	1.9	3.5	2.7
เทียนนา	*Ludwigia hyssopifolia* (C.Don) Exell	Onagraceae	B	3.3	1.2	2.2
หญ้าสะกาดน้ำเค็ม	*Paspalum distichum* L.	Poaceae	N	1.8	2.6	2.2
ผักแครด	*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.	Asteraceae	B	1.9	2.3	2.1
ผักปลาบ	*Commelina diffusa* Burm.f.	Commelinaceae	B	2.1	2.2	2.1
หญ้าคา	*Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv.	Poaceae	N	1.7	2.2	1.9
หญ้ามาเลเซีย	*Axonopus compressus* Beauv.	Poaceae	N	1.4	2.0	1.7
น้ำนมราชสีห์	*Euphorbia hirta* L.	Euphorbiaceae	B	1.1	2.2	1.7
-	*Cyperus sp.*	Cyperaceae	S	1.8	1.2	1.5
ไมยราบ	*Mimosa pudica* L.	Mimosoideae	B	0.7	2.3	1.5
กระดุมใบเล็ก	*Borreria laevis* (Lamk.) Griseb	Rubiaceae	B	0.9	2.0	1.5
หญ้าท่าพระ	*Richardia brasiliensis* Gomez	Rubiaceae	B	2.2	0.7	1.4
หญ้าละมาน	*Ottochloa nodosa* (Kunth.) Dandy	Poaceae	N	1.5	1.3	1.4
หญ้าตีนติด	*Brachiaria reptans*(L.) Gard & Hubb.	Poaceae	N	1.1	1.7	1.4
ผักเสี้ยนผี	*Cleome viscosa* L.	Capparidaceae	B	0.8	1.9	1.3
ผักกระสัง	*Peperomia pellucida* (L.) H.B. & K	Piperaceae	B	0.9	1.7	1.3
หญ้าตีนกา	*Eleusine indica* L. Gaertn.	Poaceae	N	1.4	1.2	1.3
หญ้านกสีชมพู	*Echinochloa colona* (L.) Link.	Poaceae	N	1.4	1.2	1.3

Table 1 Relative density, relative frequency and sum dominance ratio of weed species in Durian plantation (cont.)

สาบเสือ	*Chromolaena odoratum* (L.) R.M. King & H. Rob.	Asteraceae	B	0.5	2.0	1.2
บาหยา	*Asystasia gangetica* (L.) Anderson.	Acanthaceae	B	1.3	0.9	1.1
กกสามเหลี่ยมเล็ก	*Cyperus imbricatus* Retz.	Cyperaceae	S	0.6	1.4	1.0
กินกุ้งน้อย	*Murdannia nudiflora* (L.) Brenan	Commelinaceae	B	0.9	1.0	1.0
หนวดปลาดุก	*Fimbristylis miliacea* (L.) Vahl	Cyperaceae	S	1.2	0.7	0.9
ขี้ไก่ย่าน	*Mikania micrantha* H.B.K.	Asteraceae	B	0.7	1.2	0.9
หญ้ายาง	*Euphorbia heterophylla* L.	Euphorbiaceae	B	0.5	1.3	0.9
กระดุมขน	*Mitracarpus villosus* (Sw.) DC.	Rubiaceae	B	0.7	1.0	0.9
เงี่ยงปา	*Lindernia ciliata* Pernel	Scrophulariaceae	B	1.0	0.7	0.9
ผักเป็ด	*Alternanthera philoxeroides* Griscb. (Mart.)	Amaranthaceae	B	0.5	1.0	0.8
หญ้าปากควาย	*Dactylocthenium aegyptium* (L.) P.B.	Poaceae	N	0.8	0.7	0.8
ต้อยติ่ง	*Ruellia tuberosa* L.	Acanthaceae	B	0.5	1.0	0.8
เงี่ยง	*Lindernia sp.*	Scrophulariaceae	B	0.6	0.7	0.7
ผักส้มเสี้ยน	*Cleome gynandra* L.	Capparidaceae	B	0.3	1.0	0.6
กกทราย	*Cyperus iria* L.	Cyperaceae	S	0.6	0.6	0.6
ผักขม	*Amaranthus viridis* L.	Amaranthaceae	B	0.2	0.9	0.6
หญ้านก	*Eriochloa procera* C.E. Hubb.	Poaceae	N	0.2	0.9	0.6
พันงูเขียว	*Stachytarpeta indica* (L.) Vahl.	Verbenaceae	B	0.4	0.6	0.5
หญ้าขจรจบดอกเล็ก	*Pennisetum polystachyon* (L.) Schult	Poaceae	N	0.2	0.7	0.5
ตดหมูตดหมา	*Paederia linearis* Hook L.	Rubiaceae	B	0.2	0.7	0.5
สร้อยนกเขา	*Mollugo pentaphylla* L.	Molluginaceae	B	0.4	0.4	0.4
บัวบก	*Centella asiatica (*L.) Urb.	Umbelliferae	B	0.2	0.6	0.4
หญ้าคออ่อน	*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Morre	Asteraceae	B	0.1	0.6	0.3
ตีนตุ๊กแก	*Tridax procumbens* L.	Asteraceae	B	0.3	0.4	0.3
ถั่วผี	*Phaseolus lathyroides* L.	Papilionoidceae	B	0.1	0.6	0.3

Table 1 Relative density, relative frequency and sum dominance ratio of weed species in Durian plantation (cont.)

กกดอกเขียว	*Cyperus brevifolia* Rottb.	Cyperaceae	S	0.2	0.4	0.3
-	*Lygodlium* sp.	Schizaeaceae	F	0.1	0.4	0.3
หญ้าไม้กวาด	*Sida acuta* Burm.f.	Malvaceae	B	0.1	0.4	0.3
ส้มกบ	*Oxalis corniculata* L.	Oxalidaceae	B	0.1	0.3	0.2
หญ้าปุ้ง	*Cenchrus echinatus* L.	Poaceae	N	0.1	0.3	0.2
กระทกรก	*Passiflora foetida* L.	Passifloraceae	B	0.1	0.3	0.2
ครอบฟันสี	*Abutiton indicum* Sweet	Malvaceae	B	0.1	0.3	0.2
หญ้าโขย่ง	*Rottboellia exaltata* L. f.	Poaceae	N	0.1	0.3	0.2
ขยุ้มตีนหมา	*Ipomoea pes-tigridis* L.	Convovulaceae	B	0.1	0.3	0.2
สะอึก	*Ipomoea gracilis* R.H.	Convolvulaceae	B	0	O.1	0.1
หญ้ากำมะหยี่	*Lagascea mollis* Cav.	Asteraceae	B	O.1	0.1	0.1
หญ้าเจ้าชู้	*Heteropogon contortua* (L.) Roem. & Schult	Poaceae	N	O.1	0.1	0.1
หงอนไก่ป่า	*Celosia argentea* L.	Amaranthaceae	B	0	0.1	0.1
ตำแย	*Laportea bulbifera* (Siebold & Zucc.) Wedd.	Urticaceae	B	0	0.1	0.1
ฝ้อนกลอง	*Sphaerantus africanus* L.	Asteraceae	B	0	0.1	0.1
หญ้าแพรก	*Cynodon dactylon* (L.) Pers.	Poaceae	N	0	0.1	0.1
ผักขมหิน	*Boerhavia diffusa* (L.)	Nyctaginaceae	B	0	0.1	0.1
จิงโจ้เล็ก	*Hewittia sublobata* (L. f.) O. Ktze.	Convolvulaceae	B	0	0.1	0.1
แมงลักป่า	*Hyptis suaveolens* (L.) Poit.	Labiatae	B	0	0.1	0.1
หญ้าแห้วหมู	*Cyperus rotundus* L.	Cyperaceae	S	0	0	0
หูปลาช่อน	*Emilia sonchifolia* (L.) DC.	Asteraceae	B	0	0	0

B = Board leaf weed N = narrow leaf weed S = sedge F = fern

สำรวจ รวบรวมและจำแนกราไมคอร์ไรซากล้วยไม้

Survey, Collection and Identification of the Orchid Mycorrhiza

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้รองเท้านารี 8 ชนิด ทำการแยกราไมคอร์ไรซาจาก peloton ในส่วนของคอร์เท็กซ์ภายในรากโดยวิธีปลอดเชื้อ บนอาหาร 1/6 NDY พบราไมคอร์ไรซากล้วยไม้ทั้งหมด 14 ไอโซเลท ศึกษาลักษณะโคโลนีของราพบโคโลนีมีสีน้ำตาลและสีขาว 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*

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 ทำการตัดขวางรากและตรวจดู

ด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบไมคอร์ไรซาในรากกล้วยไม้เกาะอาศัย 17 ชนิด และพบไมคอร์ไรซาในราก กล้วยไม้ดินทุกชนิด และจำแนกชนิดราไมคอร์ไรซาทั้งหมดที่แยกได้จากรากกล้วยไม้เกาะอาศัยและ ในรากกล้วยไม้ดินทุกชนิดเป็นรา *Rhizoctonia* spp.

Manoch และคณะ (2000) ศึกษารา *Rhizoctonia* –like fungi ในรากกล้วยไม้ดิน ทำการ แยกราจากรากกล้วยไม้ดิน 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 ลักษณะ ของโคโลนีบนอาหาร ลักษณะของ monilioid ลักษณะของเส้นใย และจำนวนนิวเคลียสของรา ตลอดจนการสืบค้นเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการจำแนกชนิดของราในกลุ่มนี้มีมากขึ้นจึงทำให้สามารถ จำแนกชนิดราได้ในระดับ 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 สาย พันธุ์ จำแนกชนิดได้ดังนี้ *Rhizoctonia cerealis, R. ramicola, Ceratorhiza goodyerae-repentis* และ รา *Rhizoctonia* ที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดได้อีก 1 ชนิด คือ *Rhizoctonia* sp. 1 ซึ่ง มีลักษณะคล้ายกับรา *Rhizoctonia* strain D 145 ของ Andersen ที่ศึกษาไว้แต่ยังไม่ได้จำแนก ชนิด และยังมีรายงานการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของราในกลุ่มนี้อีก (Athipunyakom, *et al*, 2002a, 2002b)

แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ในประเทศไทยยังมีน้อยและใน ปัจจุบันมีนักวิชาการและนักศึกษาในมหาวิทยาลัยให้ความสนใจในงานนี้เป็นจำนวนมาก ในขณะ ที่งานวิจัยทางด้านนี้ในต่างประเทศได้มีการศึกษากันมาก โดยเฉพาะในประเทศออสเตรเลีย ที่ Kings Park Botanic Garden ได้ผลิตไมคอร์ไรซากับเมล็ดกล้วยไม้ขายเป็นการค้าแล้ว ดังนั้นจึงมี ความสำคัญที่ควรจะทำการศึกษาโดยเฉพาะการศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์ราไมคอร์ไร ซาของกล้วยไม้ โดยการจำแนก รวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์รา เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการ เพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบเกื้อกูลซึ่งกันและกัน (symbiotic germination) ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่าง ยิ่งต่อกลุ่มผู้เลี้ยงกล้วยไม้เพื่อการค้า โดยเพาะเลี้ยงในสภาพธรรมชาติ หรือการผลิตโดยใช้ เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ชนิดนี้กับการผลิตกล้วยไม้นั้นจะ

ทำให้ระยะเวลาการผลิตเร็วขึ้น 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

เก็บรากกล้วยไม้ดิน จากแหล่งปลูกกล้วยไม้และในสภาพธรรมชาติ จากแหล่งภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยตัดรากห่อกระดาษ ใส่ถุงพลาสติค และบันทึกรายละเอียดชนิดกล้วยไม้ แหล่งที่เก็บ และวันที่เก็บ เก็บบรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำมาทำการแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ

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±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-10 วัน เมื่อราเจริญขึ้นมา ใช้เข็มปลายแหลมตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-10 วัน แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และเก็บรักษาสายพันธุ์ราไมคอร์ไรซาไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

3. การจำแนกราไมคอร์ไรซา

นำราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากข้อ 2 มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ เพื่อการจัดจำแนกชนิดของรา

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 และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ระยะเวลา 3 ปี เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2549
สิ้นสุด เดือนกันยายน 2553

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้

เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้รองเท้านารี 8 ชนิด จากจังหวัดกาญจนบุรี กระบี่ และกรุงเทพ ฯ ระหว่างเดือนกันยายน 2549 – ตุลาคม 2550

2. การแยกราจาก peloton ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้

แยกราไมคอร์ไรซาจาก peloton ในส่วนของคอร์เท็กซ์ภายในรากกล้วยไม้รองเท้านารี 8 ชนิด โดยวิธีปลอดเชื้อ บนอาหาร 1/6 NDY พบราไมคอร์ไรซากล้วยไม้ทั้งหมด 14 ไอโซเลท มีโคโลนีมีสีน้ำตาลและสีขาว

3. การจำแนกราไมคอร์ไรซา

ศึกษาราไมคอร์ไรซากล้วยไม้รองเท้านารีจำนวน 14 ไอโซเลท ศึกษาลักษณะโคโลนีของรา พบโคโลนีมีสีน้ำตาลและสีขาว และศึกษาราไมคอร์ไรซ่าบนอาหาร corn meal agar พบราโคโลนีน้ำตาล มี concentric zonation ลักษณะ monilioid รูปร่าง Dumbell สร้าง microsclerotium ในอาหาร และมีนิวเคลียสเป็น binucleate มี 2 นิวเคลียสต่อ 1 เซลล์ สำหรับราที่มีโคโลนีสีขาว พบว่าลักษณะ monilioid ของราบนอาหาร corn meal agar มีรูปร่างค่อนข้างกลม monilioid รวมตัวกันในอาหารเป็น microsclerotium และมีนิวเคลียสเป็น binucleate จากการจำแนกชนิดของราพบว่าราไมคอร์ไรซากล้วยไม้จัดอยู่ในสกุล *Rhizoctonia*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้รองเท้านารี 8 ชนิด จากจังหวัดกาญจนบุรี กระบี่ และกรุงเทพ ฯ ทำการแยกราไมคอร์ไรซาจาก peloton ในส่วนของคอร์เท็กซ์ภายในรากโดยวิธีปลอดเชื้อ บนอาหาร 1/6 NDY พบราไมคอร์ไรซากล้วยไม้ทั้งหมด 14 ไอโซเลท จำแนกราไมคอร์ไรซากล้วยไม้จัดอยู่ในสกุล *Rhizoctonia*

เอกสารอ้างอิง

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

ชีวินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 64 หน้า.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Manoch, L., P. Athipunyakom and M. Tanticharoen. 2000. *Rhizoctonia* – like fungi

associated terrestrial orchid in Thailand, pp. 63 *In* The 3rd International Symposium on *Rhizoctonia* (ISR 2000), National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan (ROC), 17-20 August.

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

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

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

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

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

ปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ที่เพิ่มการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด

Microorganisms Interaction with Increasing Mycelium Growth Mushroom

วรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

มีจุลินทรีย์ (microorganisms) ที่เป็นประโยชน์กับการเจริญเติบโตของเส้นใย (mycelium)เห็ด (mushroom)ซึ่งมีปฏิกิริยา (interaction) ต่างๆ กัน จากการทดลองที่ 1 ใช้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis*กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน PDA แสลนท์เปรียบเทียบกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบน PDA แสลนท์ การทดลองที่ 2 ใช้เชื้อรา*Aspergillus flavus*,*Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillus versicolor group* สีเขียวน้ำเงินอ่อนแต่ละชนิดกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน PDA แสลนท์เปรียบเทียบกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบน PDA แสลนท์ การทดลองที่3 แบ่งเป็น 3.1 ใช้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน MA แสลนท์ 3.2 ใช้เชื้อรา *Asperegillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน MA แสลนท์เปรียบเทียบกับ 3.3 ใช้เส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบน MA แสลนท์ และการทดลองที่ 4 จำแนก (classification) เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* โดยใช้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* เลี้ยงบน PDA แสลนท์และถ่ายรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์บนสไลด์คัลเจอร์ (slide culture) เปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงซึ่งทั้ง 4 การทดลองใช้จำนวน 3 ซ้ำ ในห้องปรับอากาศ 25± 3 ˚c มีแสงกลางวัน 5 ชั่วโมง นอกนั้นสภาพปกติระหว่างตุลาคม2549 – กันยายน 2550 ที่กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จตุจักร กทม.10900 ผลปรากฏว่า**การทดลองที่ 1** การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่นและเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และสร้างดอกเห็ดนางฟ้าเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวซึ่งเจริญเติบโตและสร้างดอกเห็ดปกติ **การทดลองที่ 2** 2.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่นและเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus flavus* และสร้างดอกเห็ด 2.2 การเจริญเติบโตของเชื้อรา*Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าซึ่งเส้นใยเห็ด

รหัสโครงการ 09-02-49-01

นางฟ้าเจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* และสร้างดอกเห็ด 2.3 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus versicolor group* สีเขียวน้ำเงินอ่อนกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันสร้างเส้นใยทับซ้อนเป็นรอยหนาแน่นและเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus versicolor group* สีเขียวน้ำเงินอ่อนและสร้างดอกเห็ดเปรียบเทียบกับ 2.4 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวซึ่งเจริญเติบโตและสร้างดอกเห็ดปกติ **การทดลองที่ 3** 3.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus*กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าซึ่งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่นและเชื้อรา*Aspergillus flavo-furcatis* เจริญเติบโตขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าเล็กน้อยส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้านั้นเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* 3.2 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Asperegillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าซึ่งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Asperegillus flavus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่นและเชื้อรา *Asperegillus flavus* เจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้านั้นเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* ต่อมาเชื้อรา *Asperegillus flavus* เจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* ด้วยเปรียบเทียบกับ 3.3 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวซึ่งเจริญเติบโตและสร้างดอกเห็ดปกติ และการทดลองที่ 4 จำแนกได้เชื้อรา*Aspergillus flavo-furcatis*

คำนำ

มีจุลินทรีย์(microorganisms)ที่เป็นประโยชน์กับการเจริญเติบโตของเส้นใย (mycelium) เห็ด (mushroom) ประเทศญี่ปุ่น Urayama (1960) ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus psilocybe* กระตุ้นเห็ด *Psilocybe panaeoliformis* บนอาหารวุ้น Park และ Agnihotri (1969) ใช้เชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ กระตุ้นดอกเห็ดฝรั่งในดิน casing Curto และ Favelli (1972) ฉีดสารแขวนลอยของเชื้อ *Bacillus megaterium* เชื้อยีสต์ ฯลฯ บนแปลงเพาะเห็ดปรากฏว่าทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่ง Grappelli และคณะ (1978) ได้ใช้แบคทีเรีย เมทาโบไลท์ (metabolite) ผสมในอาหารเหลวกระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดฝรั่งได้ Philip และ O'Donoghue (1991) รายงานว่า ผนังเซลล์ (cell wall) ของจุลินทรีย์ มี N(nitrogen), C(carbon), P(phosphorus), เกลือแร่ (mineral) ต่าง ๆ ตลอดจน ไวตามิน (vitamin), คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate), โปรตีน (protein), ฟีโนลิค (phenolic), ไลปิด (Lipid), นิวคลีอิคแอซิกส์ (nucleic acids), เปปทิโดไกลแคนส์ (peptidoglycans), กูลแคนส์ (glucans) จากผนังเซลล์เชื้อรา (fungi) และแบคทีเรีย (bacteria) ทั้งหมดนี้ จากเซลล์ที่ตายแล้วหรือยังมีชีวิตอยู่ผลิตสาร (mineral) ต่าง ๆ เช่น วิตามินบี ฯลฯ หรือสลายวัสดุ เช่น โปรตีเนส (proteinase), เซลลูเลส(cellulase) ฯลฯ สำหรับการเจริญเติบโตของเห็ด นอกจากนี้มีการใช้ *Aspergillus* medium เลี้ยงเชื้อราต่าง ๆ และทดสอบ interaction ระหว่างจุลินทรีย์ต่าง ๆ กัน (Varma *et al*., 2004) และมีอาหาร *Aspergillus flavus* and parasiticus agar (AFPA) (Pitt and Hocking, 1997) วรลักษณ์ (2544) ใช้ยีสต์สกัด 1 เปอร์เซ็นต์ ผสม WA และน้ำกลั่น 1 ลิตร เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางรมใช้เชื้อรา slime mold สีส้มผสมน้ำกลั่นต้มให้เดือด pH 7 ใช้ 2.5 มล. ผสม WA 5 มล. เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางรมภูฏานและใช้เชื้อรา*Aspergillus flavus* ผสมน้ำกลั่นต้มให้เดือด pH 8 ใช้ 1 มล. ผสม WA. 5 มล. หรือ*Curvularia* sp. สีดำผสมน้ำกลั่นต้มให้เดือด pH 8 ใช้ 1 มล. ผสม WA. 10 มล. เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้า วรลักษณ์ (2546) ใช้เชื้อรา *Geotrighum* sp. สีดำหรือ *Aspergillus flavo- furcatis* หรือ *Aspergillus flavus* หรือ slime mold สีขาวผสมน้ำประปาต้มให้เดือด pH 6-7 ใช้ 1 มล. ผสมWA 10 มล. (ใช้น้ำประปา)เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางรมภูฏาน นอกจากนี้ใช้เชื้อรา *Geotrighum* sp. สีดำหรือ *Aspergillus flavo- furcatis* หรือ *Aspercillus flavus* หรือ *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินหรือ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* ผสมน้ำประปาต้มให้เดือด pH 6-7 ใช้ 2 มล. ผสมขี้เลื่อย 0.5 กรัม เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางรมภูฏาน และวรลักษณ์ (2547) ใช้เชื้อยีสต์ผสมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ pH 6.05 จำนวน 5 มล. เลี้ยงออยเดียของเห็ดเป๋าฮื้อสีดำผสมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ pH 7.3 จำนวน 0.5 มล. และใช้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* หรือ *Aspergillus flavus* สามารถเพิ่มการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ 1. PDA แสนท์ (potato dextrose agar slant) และ MA แสลนท์ (malt extract agarslant)

2. ดอกเห็ดนางฟ้า (*Plurotus sajor-caju* (Fries) Singer)

3. อุปกรณ์การแยกเชื้อราและเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ด (tissue culter)

4. อุปกรณ์การทำสไลด์คัลเจอร์ (slide culture)

5. กล้องจุลทรรศน์ (light microscope) ยี่ห้อโอลิมปัส (olympus)

ระยะเวลาและสถานที่

ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 ที่กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

วิธีการ

<u>การทดลองที่ 1</u>

1. แยกเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* จากอากาศ และทำให้บริสุทธิ์ (isolation) ใช้ PDAเทใส่จานเลี้ยงเชื้อแล้ววางเปิดฝาจานในห้องเขี่ยเชื้อ จนกระทั่งพบเชื้อราเจริญบน PDA จึงใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเชื้อราเลี้ยงบน PDA แสลนท์ และเมื่อเส้นใยเจริญ เห็นปลายเส้นใยเจริญชัดเจนจึงตัดปลายเส้นใยอีกครั้งเลี้ยงบน PDA แสลนท์ อีก 1 หลอด ได้ 1 ไอโซเลท และนำมาเลี้ยงต่อบน PDA แสลนท์ ให้เจริญเติบโตอีก 3 หลอด ทั้งหมดด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) เป็นเวลา 4 วัน

2. เตรียมเส้นใยเห็ดนางฟ้า

2.1การคัดเลือกดอกเห็ดนางฟ้าโดยคัดเลือกดอกเห็ดลักษณะสมบูรณ์ตามต้องการและไม่มีศัตรูเห็ดด้วย

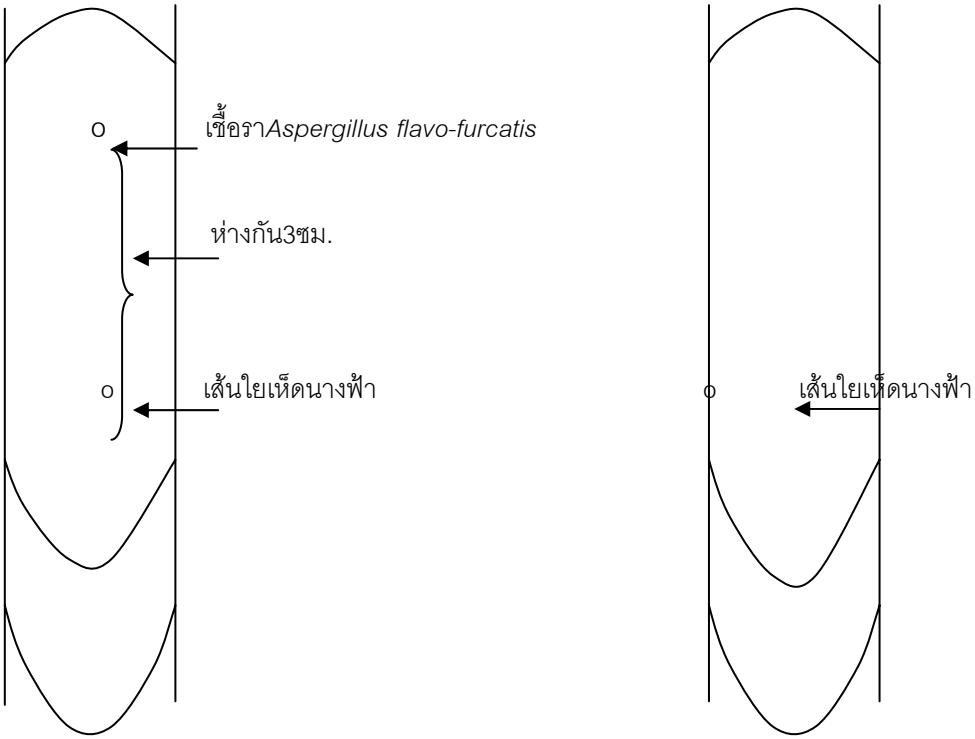
2.2 การแยกเนื้อเยื่อเห็ดด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) โดยฉีกหมวกเห็ด (cap) ลงมาตามก้านดอกเห็ด (stalk) แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วตัดเนื้อเยื่อตรงรอยต่อของหมวกเห็ดและก้านดอกเห็ดเลี้ยงบน PDA แสลนท์ ประมาณ 2 - 3 วัน เส้นใยเห็ดจะเจริญออกมาจากเนื้อเยื่อและจะเจริญเต็มผิวหน้าอาหารแล้วตัดปลายเส้นใยเห็ดเลี้ยงลงบน PDA แสลนท์ อีก 1 หลอด เป็นเวลา5 วัน (tissue culture)

3.ศึกษาปฏิกิริยาการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน PDA แสลนท์ โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus*

flavo-furcatis ในข้อ1 เลี้ยงบนด้านบนของ PDA แสลนท์ และเส้นใยเห็ดนางฟ้าในข้อ 2 เลี้ยงบนด้านล่างของ PDA แสลนท์ห่างกัน 3 ซม. เปรียบเทียบกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบนด้านล่างของ PDA แสลนท์อีก 1หลอด ดังภาพที่ 1

4. วางแผนการทดลองใช้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน PDA แสลนท์ จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ) เปรียบเทียบกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบน PDA แสลนท์จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ)

5. บันทึกผลการทดลองโดยสังเกตและถ่ายภาพการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน PDA แสลนท์ ทุกซ้ำและทุกวัน



ภาพที่ 1แสดงการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับการเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน PDA แสลนท์

<u>การทดลองที่ 2</u>

1. แยกเชื้อรา *Aspergillus flavus , Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อน จากอากาศ และทำให้บริสุทธิ์ (isolation) ใช้ PDA เทใส่จานเลี้ยงเชื้อแล้ววางเปิดฝาจานในห้องเขี่ยเชื้อ จนกระทั่งพบเชื้อราแต่ละชนิดเจริญบน PDA จึงใช้เข็ม

เขี่ยเชื้อตัดปลายเชื้อราแต่ละชนิดเลี้ยงบน PDA แสลนท์ และเมื่อเส้นใยเจริญ เห็นปลายเส้นใยเจริญชัดเจนจึงตัดปลายเส้นใยอีกครั้งเลี้ยงบน PDA แสลนท์ อีก 1 หลอด ได้หลอดละ 1 ชนิด และนำมาเลี้ยงต่อบนPDA แสลนท์ ให้เจริญเติบโตอีกชนิดละ 3 หลอด ทั้งหมดด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) เป็นเวลา 4 วัน

2. เตรียมเส้นใยเห็ดนางฟ้า

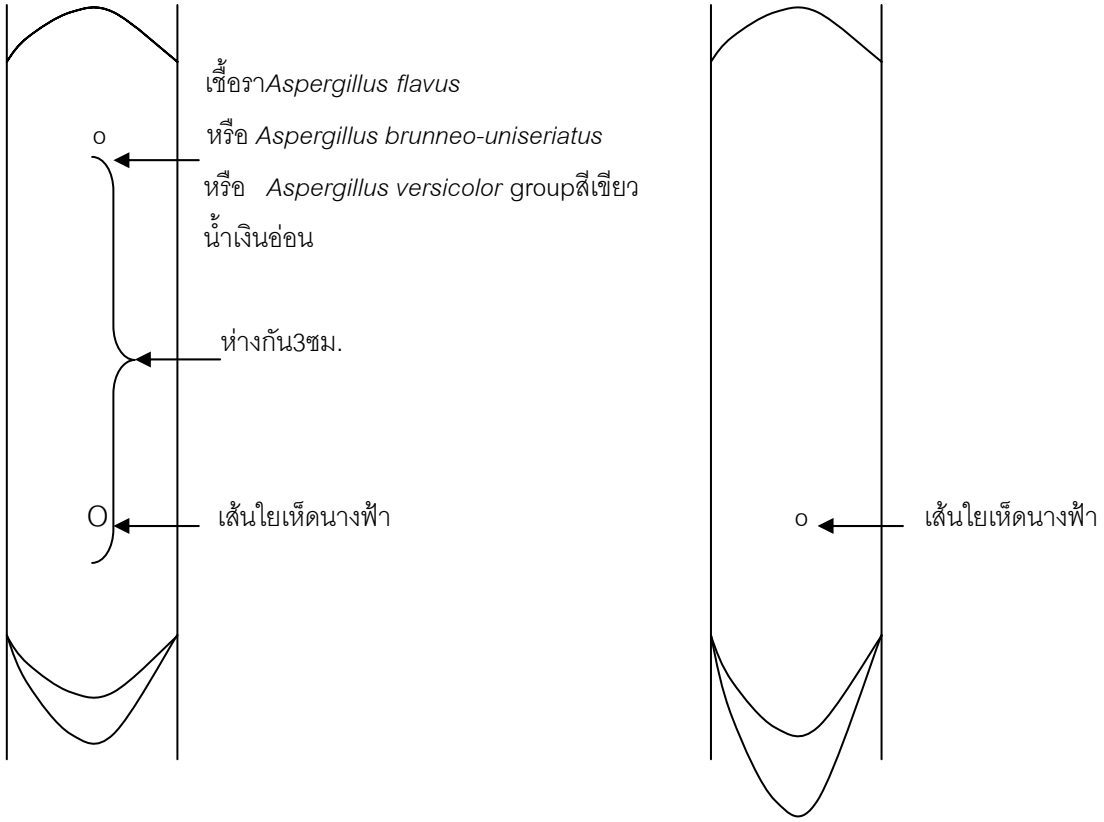
2.1การคัดเลือกดอกเห็ดนางฟ้าโดยคัดเลือกดอกเห็ดลักษณะสมบูรณ์ตามต้องการและไม่มีศัตรูเห็ดด้วย

2.2 การแยกเนื้อเยื่อเห็ดด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) โดยฉีกหมวกเห็ด (cap) ลงมาตามก้านดอกเห็ด (stalk) แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วตัดเนื้อเยื่อตรงรอยต่อของหมวกเห็ดและก้านดอกเห็ดเลี้ยงบน PDA แสลนท์ ประมาณ 2 – 3 วัน เส้นใยเห็ดจะเจริญออกมาจากเนื้อเยื่อและจะเจริญเต็มผิวหน้าอาหารแล้วตัดปลายเส้นใยเห็ดเลี้ยงลงบน PDA แสลนท์ อีก 1 หลอด เป็นเวลา 5 วัน (tissue culture)

3. ศึกษาปฏิกิริยาการเจริญเติบโตของของเชื้อรา *Aspergillus flavus,Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillua versicolor* group สีเขียวน้ำเงินแต่ละชนิดกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบนPDA แสลนท์ โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus flavus, Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนแต่ละชนิดในข้อ 1 เลี้ยงด้านบนของ PDA แสลนท์ และตัดปลายเส้นใยของเห็ดนางฟ้าในข้อ 2 เลี้ยงด้านล่างของ PDA แสลนท์ห่างกัน 3 ซม. เปรียบเทียบกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงด้านล่างของ PDA แสลนท์ อีก 1 หลอด ดังภาพที่ 2

4. วางแผนการทดลองใช้เชื้อรา *Aspergillus flavus, Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ*Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนแต่ละชนิดกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน PDAแสลนท์ จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ) เปรียบเทียบกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบน PDA แสลนท์จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ)

5. บันทึกผลการทดลองโดยสังเกตและถ่ายภาพการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus, Aspergillus brunno-uniseriatus* และ *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนแต่ละชนิดกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน PDA แสลนท์ ทุกซ้ำและทุกวัน



ภาพที่ 2 แสดงการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis*, *Aspergillus brunneo-Uniseriatus* และ *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนแต่ละชนิดกับการเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน PDA แสลนท์

การทดลองที่ 3

1. แยกเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis*, *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* จากอากาศ และทำให้บริสุทธิ์ (isolation) ใช้ PDA เทใส่จานเลี้ยงเชื้อแล้ววางเปิดฝาจานในห้องเขี่ยเชื้อ จนกระทั่งพบเชื้อราแต่ละชนิดเจริญบน PDA จึงใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเชื้อราแต่ละชนิดเลี้ยงบน PDA แสลนท์ และเมื่อเส้นใยเจริญ เห็นปลายเส้นใยเจริญชัดเจนจึงตัดปลายเส้นใยอีกครั้งเลี้ยงบน PDA แสลนท์ อีก 1 หลอด ได้หลอดละ 1 ชนิด และนำมาเลี้ยงต่อบน PDA แสลนท์ ให้เจริญเติบโตอีกชนิดละ3หลอด ทั้งหมดด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) เป็นเวลา 4 วัน

2. เตรียมเส้นใยเห็ดนางฟ้า

2.1การคัดเลือกดอกเห็ดนางฟ้าโดยคัดเลือกดอกเห็ดลักษณะสมบูรณ์ตามต้องการและไม่มีศัตรูเห็ดด้วย

2.2 การแยกเนื้อเยื่อเห็ดด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) โดยฉีกหมวกเห็ด (cap) ลงมาตามก้านดอกเห็ด (stalk) แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วตัดเนื้อเยื่อตรงรอยต่อของหมวกเห็ดและก้านดอกเห็ดเลี้ยงบน PDA แสลนท์ ประมาณ 2 – 3 วันเ ส้นใยเห็ดจะเจริญออกมาจากเนื้อเยื่อและจะเจริญเต็มผิวหน้าอาหารแล้วตัดปลายเส้นใยเห็ดเลี้ยงลงบน PDA แสลนท์ อีก 1 หลอดเป็นเวลา5 วัน (tissue culture)

3. ศึกษาปฏิกิริยาการเจริญเติบโตของ

3.1 เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน MA แสลนท์

3.2 เชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน MA แสลนท์ เปรียบเทียบกับ

3.3 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน MA แสลนท์ โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเส้นใยเชื้อราในข้อ 1 เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* เลี้ยงบนด้านบนของ MA แสลนท์และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* เลี้ยงบนด้านล่างของ MA แสลนท์ และใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเส้นใยเห็ดนางฟ้าในข้อ 2 เลี้ยงบนกลางของ MA แสลนท์ ห่างจากเชื้อรา 2 ชนิด เป็นระยะทาง 2 ซม. สำหรับอีกหลอดใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเส้นใยเชื้อราในข้อ 1 เชื้อรา *Aspergillus flavus* เลี้ยงบนด้านบนของ MA แสลนท์ และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* เลี้ยงบนด้านล่างของ MAแสลนท์ และใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเส้นใยเห็ดนางฟ้าในข้อ 2 เลี้ยงบนกลางของ MA แสลนท์ ห่างจากเชื้อรา 2 ชนิด เป็นระยะทาง 2 ซม. เปรียบเทียบกับอีกหลอดใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเส้นใยเห็ดนางฟ้าในข้อ 2 เลี้ยงบนกลางของ MA แสลนท์ ตามภาพที่ 3

4. วางแผนการทดลอง ใช้

4.1 เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน MA แสลนท์ จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ)

4.2 เชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน MA แสลนท์ จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ) เปรียบเทียบกับ

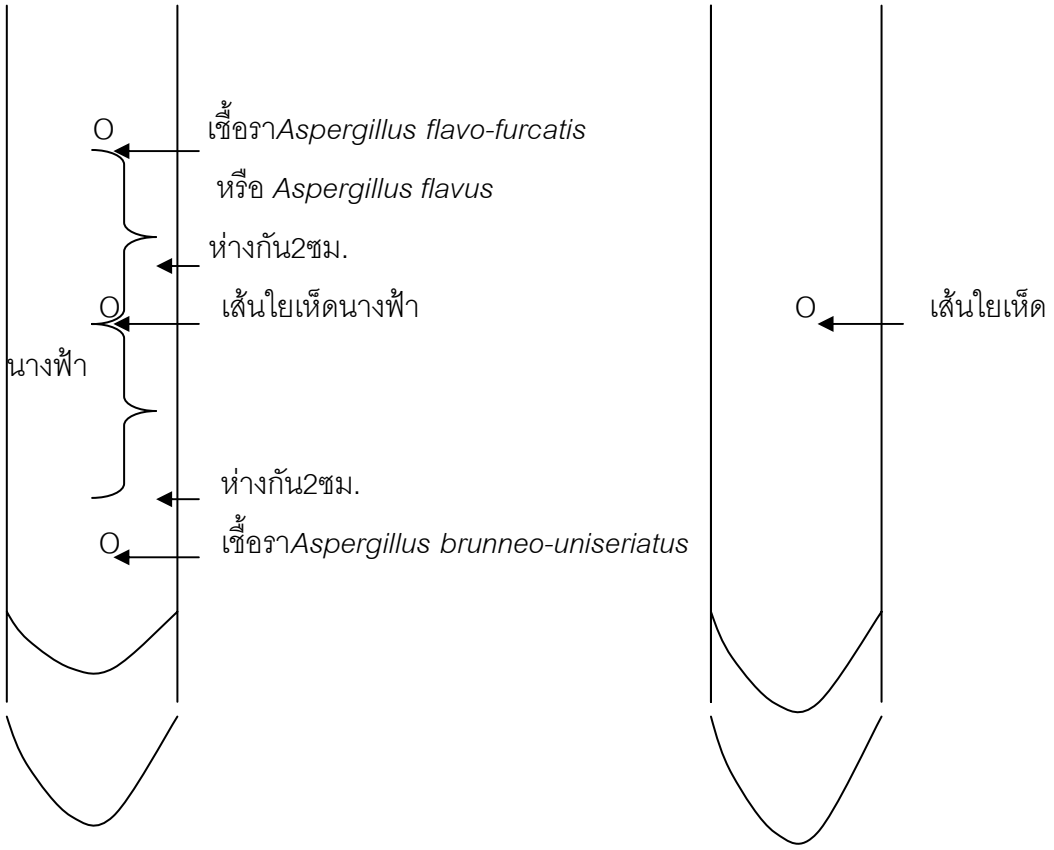
4.3 เส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบน MA แสลนท์ จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ)

5. บันทึกผลการทดลองโดยสังเกตและถ่ายภาพ

5.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน MA แสลนท์

5.2 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน MA แสลนท์ เปรียบเทียบกับ

5.3 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน MA แสลนท์ ทั้งหมดทุกซ้ำและทุกวัน



ภาพที่ 3 แสดงการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillusflavo-furcatis*,*Aspergillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน MA แสลนท์ เปรียบเทียบกับเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน MA แสลนท์

การทดลองที่ 4

1. แยกเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* จากอากาศ และทำให้บริสุทธิ์ (isolation) ใช้ PDAเทใส่จานเลี้ยงเชื้อแล้ววางเปิดฝาจานในห้องเขี่ยเชื้อจนกระทั่งพบเชื้อราเจริญบน PDA จึงใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดปลายเชื้อราเลี้ยงบน PDA แสลนท์ และเมื่อเส้นใยเจริญ เห็นปลายเส้นใยเจริญชัดเจนจึงตัดปลายเส้นใยอีกครั้งเลี้ยงบน PDA แสลนท์ อีก 1 หลอด ได้ 1 ไอโซเลท และนำมาเลี้ยงต่อบน PDA แสลนท์ ให้เจริญเติบโตอีก 3 หลอด ทั้งหมดด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) เป็นเวลา 4 วัน

2. การจำแนก (classification) เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* ด้วยกล้องจุลทรรศน์ดังนี้

2.1 เตรียมสไลด์คัลเจอร์ (slide culture) โดยใช้คอร์กบอเรอร์ (cork borer) เจาะ PDA ในจานเลี้ยงเชื้อนำมาวางบนกลางแผ่นสไลด์ (slide) และใช้เข็มเขี่ยเชื้อสุ่มตัดเชื้อราจากข้อ 1 แตะขอบรอบ PDA แล้วปิดทับด้วยคอพเวอร์กลาส (clover glass) จากนั้นนำไปวางทับขวางบนแผ่นสไลด์อีก 1 แผ่น ที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้อซึ่งมีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้ความชื้นตลอดเวลาทั้งหมด 3 สไลด์ ด้วยวิธีปลอดเชื้อและบ่มเชื้อที่ห้องปรับอากาศอุณหภูมิ 25±3 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมง มีแสงกลางวันในเวลาราชการนอกนั้นสภาพปกติเป็นเวลา 14 และ 60 วัน จึงสุ่มนำแผ่นคอพเวอร์กลาสออกวางบนแผ่นสไลด์อีกแผ่นหนึ่งที่จุดหยดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วปิดทับเบาๆ ไม่ให้มีฟองอากาศส่วนที่แผ่นสไลด์ใช้เลี้ยงเชื้อราให้หยดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วปิดทับด้วยแผ่นคอพเวอร์กลาสใหม่เบาๆ ไม่ให้มีฟองอากาศจะได้สไลด์ของเชื้อรา 2 แผ่น ตามภาพที่ 4

2.2 ใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดูจากสไลด์คัลเจอร์ในข้อ 2.1 ด้วยกำลังขยาย 100X2.2และถ่ายรูปโคนิเดีย (conidia) อายุ 14 วัน สุ่มจำนวน 3 ภาพ ส่วนกำลังขยาย 40X2.2 ถ่ายรูปโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) และโคนิเดียลเฮด (conidial head) อายุ 14 วัน สุ่มจำนวน 3 ภาพ และกำลังขยาย20X2.2 ถ่ายรูปคลัสเตอร์ (cluster) อายุ 60 วัน สุ่มจำนวน 3 ภาพ

2.3 ทั้งหมดใช้เปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงของ Barnett and Hunter (1972), Christensen (1981) และ Raper and Fennell (1965)

3. การวางแผนการทดลอง

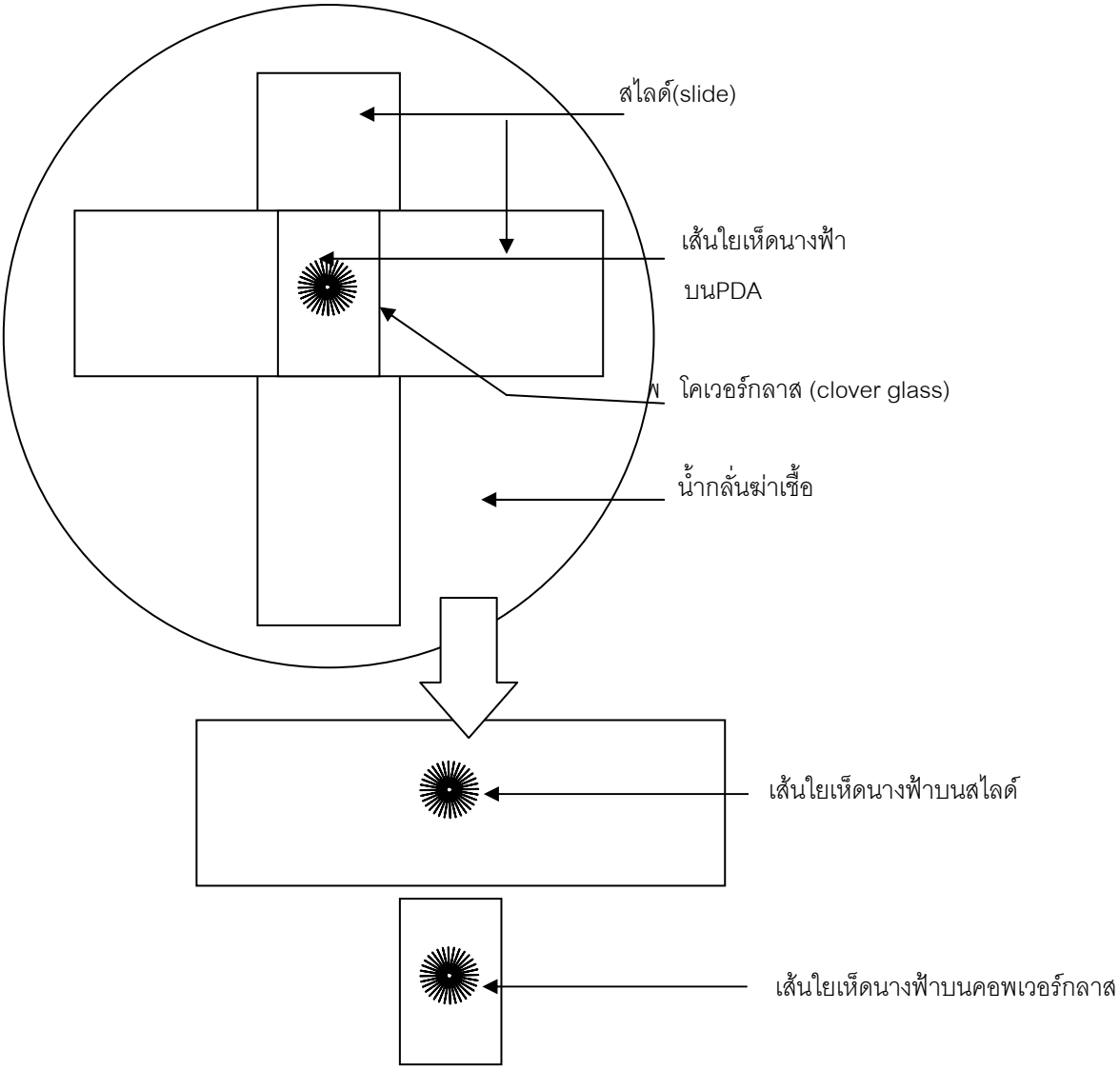
3.1 ใช้เชื้อราเลี้ยงบน PDA แสลนท์ จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ)

3.2 ทำสไลด์คัลเจอร์ 3 แผ่น (ซ้ำ)

3.3 ใช้ภาพที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตโคโลนี (colony) สีน้ำตาลของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* อายุ 60 วัน บน PDA แสลนท์ จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ) ภาพที่ 2 แสดงลักษณะโคนิเดีย (conidia) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* อายุ 14 วัน บน PDA แสลนท์ จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ที่กำลังขยาย100X2.2 ภาพที่ 3 แสดงลักษณะโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore)

และโคนิเดียลเฮด (conidial head) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* อายุ 14 วันบน PDA แสลนท์จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ที่กำลังขยาย 40X2.2 และภาพที่ 4 แสดงลักษณะคลัสเตอร์ (cluster) ของเชื้อรา*Aspergillus flavo-furcatis* สีน้ำตาลอายุ 60 วัน บน PDA แสลนท์ จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ที่กำลังขยาย20X2.2 เปรียบเทียบกับการรายงานจากเอกสารอ้างอิงของ Barnett and Hunter(1972), Christensen (1981) และ Raper and Fennell (1965)

4. การบันทึกผลการทดลอง สังเกตการณ์เจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis*และถ่ายภาพภาพที่1การเจริญเติบโตโคโลนี (colony) สีน้ำตาลของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis*อายุ 60 วัน บน PDA แสลนท์ จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ภาพที่ 2 แสดงลักษณะโคนิเดีย (conidia) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* อายุ 14 วัน บน PDA แสลนท์ จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ที่กำลังขยาย100X2.2 ภาพที่ 3 แสดงลักษณะโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) และโคนิเดียลเฮด (conidial head) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* อายุ 14 วันบน PDA แสลนท์ จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ที่กำลังขยาย40X2.2 และภาพที่ 4 แสดงลักษณะคลัสเตอร์ (cluster) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* สีน้ำตาลอายุ 60 วัน บน PDA แสลนท์ จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ที่กำลังขยาย 20X2.2 เปรียบเทียบกับการรายงานจากเอกสารอ้างอิงของ Barnett and Hunter (1972), Christensen (1981) และ Raper and Fennell (1965)



ภาพที่ 4 แสดงลักษณะการทำสไลด์คัลเจอร์ (slide culture)

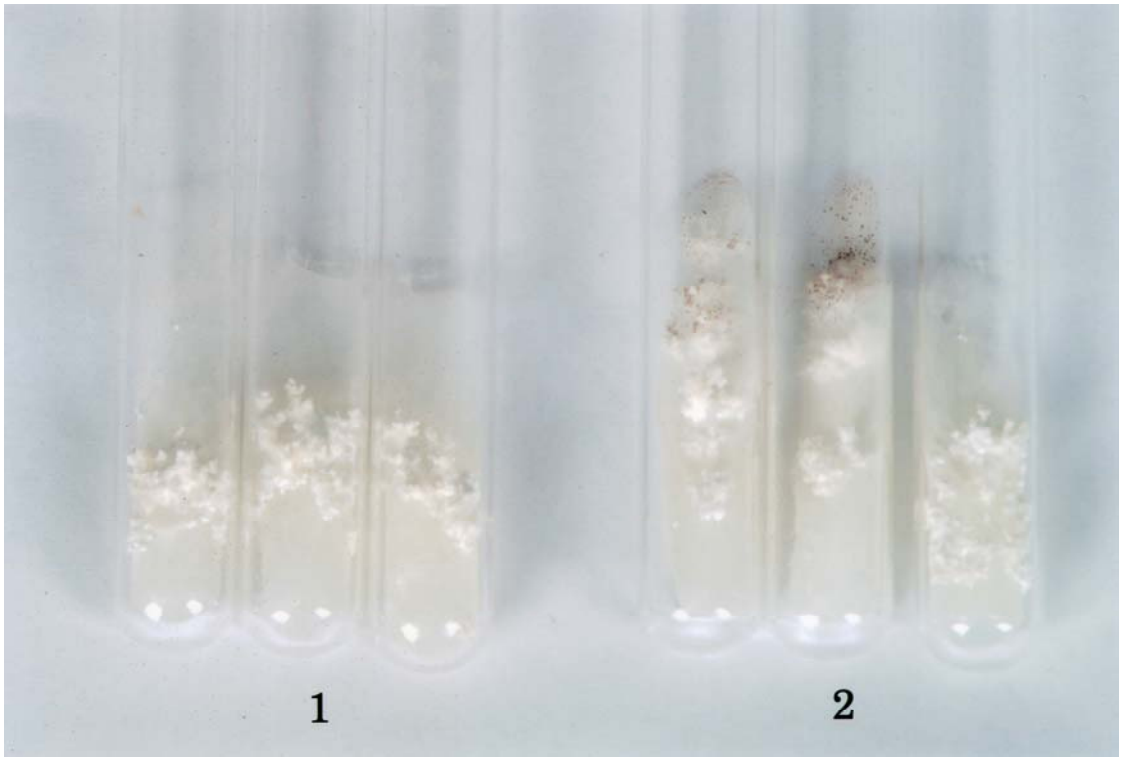
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

ใช้เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับใช้เส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบน PDA แสลนท์ ผลปรากฏตามตารางที่ 1 และภาพที่ 5 คือการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนPDA แสลนท์ พบว่าเส้นใยเห็ดเริ่มเจริญในวันที่ 2 และสร้างตุ่มเห็ดในวันที่ 7 พร้อมกับเจริญมาชนกับการเจริญของเชื้อราเกิดรอยหนาแน่นในซ้ำที่ 1 และ 2 ส่วนในซ้ำที่ 3 เชื้อราไม่เจริญน่าจะเป็นเพราะว่าเข็มเขี่ยเชื้อร้อนเกินไปทำให้เชื้อราตาย จากนั้นในวันที่ 14 เส้นใยเห็ดเจริญขึ้นบนเชื้อราและสร้างตุ่มเห็ดบนรอยหนาแน่น ต่อมาในวันที่ 17 สร้างตุ่มเห็ดบนเชื้อราในวันที่ 21 เส้นใยเห็ดเจริญขึ้นคลุมเชื้อราทั้งหมด และวันที่ 50 เส้นใยเห็ดสร้างดอกเห็ดบนโคโลนี (colony) เส้นใยเห็ดและบนเชื้อราเปรียบเทียบกับการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวพบว่าเส้นใยเห็ดเริ่มเจริญใน 2 วัน และสร้างตุ่มเห็ดใน 7วัน ต่อมาในวันที่ 50 ซ้ำที่ 1 สร้างดอกเห็ด ส่วนซ้ำที่ 2 และ 3 ยังไม่มีการสร้างดอกเห็ด

ตารางที่ 1.การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน PDA แสลนท์ (3ซ้ำ) ที่ห้องปรับอากาศ 25±3 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมง มีแสงกลางวันในเวลาราชการ นอกนั้นสภาพปกติ

กรรมวิธี	การเจริญของเชื้อรา	เกิดรอยหนาแน่น	เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา	เชื้อราเจริญขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้า	สร้างตุ่มเห็ด (primordia)	สร้างดอกเห็ด (fruiting - body)
1 เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้า	2 วัน เชื้อราเจริญ	7 วัน ซ้ำที่ 1และ 2 เชื้อรากับเส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่น ส่วนซ้ำที่ 3 เชื้อราตาย น่าจะเป็นเพราะว่าเข็มเขี่ยเชื้อร้อนเกินไป	14 วัน ซ้ำที่1 และ 2 เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา วันที่21 ในซ้ำที่ 1 และ 2เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา	-	14 วัน ซ้ำที่ 1 และ 2 เส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มเห็ดบนรอยหนาแน่น วันที่ 17 สร้างตุ่มเห็ดบนเชื้อรา ส่วนซ้ำที่ 3 ไม่สร้าง	50 วัน ในซ้ำที่ 1 และ 2 เส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างสร้างดอกเห็ดสีขาวบนรอยหนาแน่นและบนเชื้อรา ส่วนซ้ำที่ 3 ไม่สร้างดอกเห็ด
2.เส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียว	-	-	-	-	7 วัน สร้างตุ่มเห็ดและต่อมาหนาแน่นมาก	50 วัน ในซ้ำที่ 1 สร้างดอกเห็ดซ้ำที่ 2 และ 3ไม่สร้าง



ภาพที่ 5 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo- furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน PDA แสลนท์ (3 ซ้ำ) ที่ห้องปรับอากาศ 25± 3 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมงมีแสงกลางวันในเวลาราชการนอกนั้นสภาพปกติ

การทดลองที่ 2

ใช้เชื้อรา *Aspergillus flavus,Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนแต่ละชนิดกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบน PDA แสลนท์ ตามตารางที่ 2 และภาพที่ 6 คือการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDAแสลนท์ พบว่าเชื้อรา *Aspergillus flavus* เจริญเติบโตและเส้นใยเห็ดนางฟ้าเริ่มเจริญในวันที่ 2 และสร้างตุ่มเห็ดในวันที่ 4 พร้อมกับการเจริญมาชนกันกับการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และเกิดรอยหนาแน่น จากนั้นซ้ำที่ 2 และ 3 เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา *Aspergillus flavus* ใน 25 วัน ส่วนซ้ำที่ 1 เชื้อรา *Aspergillus flavus* เจริญขึ้นทำลายเส้นใยเห็ดนางฟ้าน่าจะเป็นเพราะว่าเปลี่ยนมาวางตั้งของหลอดทดลองทำให้สปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่มีจำนวนมากมายปลิวลงมาบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าที่มีจำนวนน้อยกว่าจึงสามารถเจริญขึ้น

ทำลายเส้นใยเห็ดนางฟ้า ต่อมาวันที่32 ในซ้ำที่ 2 และ 3 เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus flavus* และสร้างตุ่มเห็ดบนเชื้อราในวันที่ 35 จากนั้นวันที่ 40 สร้างดอกเห็ด

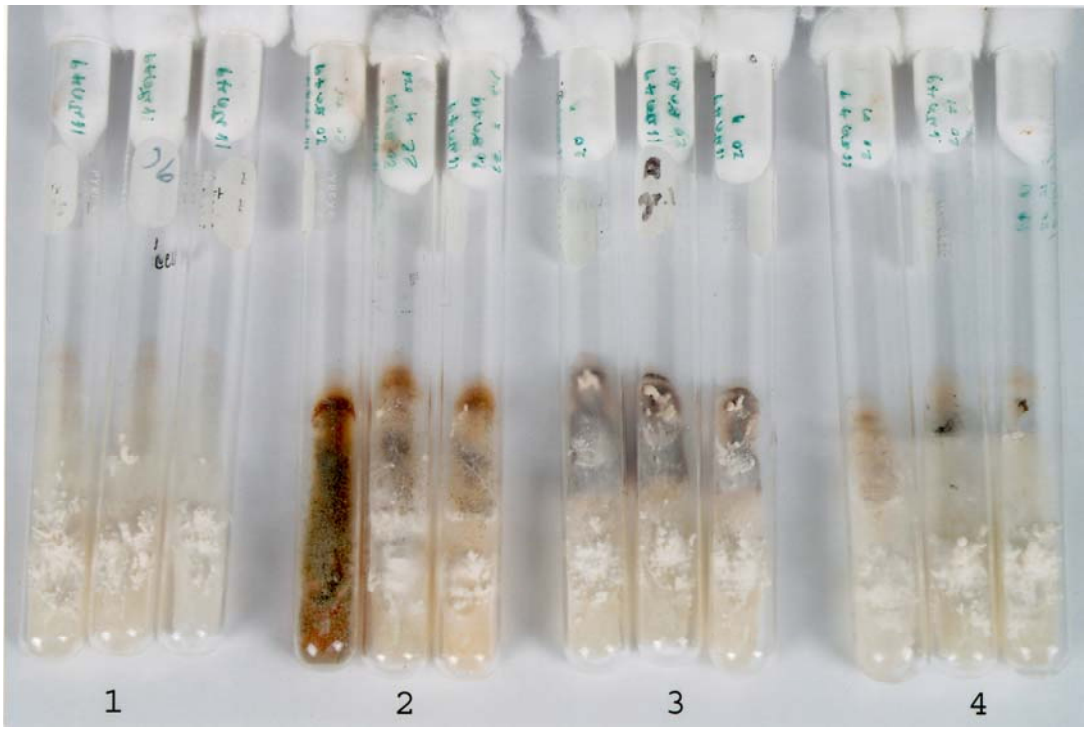
ส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ พบว่าเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* เจริญเติบโตและเส้นใยเห็ดนางฟ้าเริ่มเจริญในวันที่ 2 ต่อมาวันที่ 8 เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* และวันที่ 12 เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* จากนั้นสร้างดอกเห็ดบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* ในวันที่ 25 และพัฒนาเป็นดอกเห็ดขนาดเล็กเห็นครีบดอกได้ในวันที่ 32 บนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus*ทั้ง 3 ซ้ำ พร้อมกับสร้างดอกเห็ดเล็กๆ บนกลางโคโลนีเส้นใยเห็ดนางฟ้าในซ้ำที่ 2 ส่วนซ้ำที่ 1 และ 3 ยังไม่สร้างดอกเห็ด

สำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ พบว่าเชื้อรา *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนเจริญเติบโตและเส้นใยเห็ดนางฟ้าเริ่มเจริญในวันที่ 2 และใน 4 วัน เจริญมาชนกันกับการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนเกิดรอยหนาแน่นต่อมา12 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนและ 25วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนและสร้างตุ่มเห็ดในวันที่ 35 จากนั้นวันที่ 41 สร้างดอกเห็ดบนกลางโคโลนีของเส้นใยเห็ดนางฟ้า ต่อมาวันที่46 สร้างดอกเห็ดบนเชื้อรา *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนในซ้ำที่ 3 ส่วนซ้ำที่ 1 และ 2 ยังไม่สร้างดอกเห็ดทั้งหมดเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบนPDA แสลนท์ พบว่าเส้นใยเห็ดนางฟ้าเริ่มเจริญใน 2 วัน ต่อมาสร้างตุ่มเห็ดใน 4 วันและสร้างดอกเห็ดใน 32 วัน

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus, Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนแต่ละชนิดกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน PDA แสลนท์ (3 ซ้ำ) ที่ห้องปรับอากาศ 25± 3 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมงมีแสงกลางวันในเวลาราชการ นอกนั้นสภาพปกติ

กรรมวิธี	การเจริญของเชื้อรา	เกิดรอยหนาแน่น	เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา	เชื้อราเจริญขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้า	สร้างตุ่มเห็ด (primordia)	สร้างดอกเห็ด (fruiting - body)
1. เชื้อรา *Aspergillus flavus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้า	2 วัน เชื้อราเจริญ	4 วัน เชื้อรากับเส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่น	25 วัน ในซ้ำที่ 2 และ3 เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อราวันที่32 เจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา	4 วัน ซ้ำที่ 1 เชื้อราเจริญขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าและขึ้นทำลายเห็ด	4 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มเห็ดวันที่ 35 ในซ้ำที่ 2 และ 3 เส้นใยเห็ดนางฟ้าบนเชื้อราสร้างตุ่มเห็ด	40 วัน ในซ้ำที่ 2 และ3 เส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างดอกเห็ด
2. เชื้อรา ,*Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้า	2 วัน เชื้อราเจริญ	-	4 วัน เชื้อรากับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญมาพบกันวันที่ 8เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อราวันที่12 เจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา	-	25 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าบนเชื้อราสร้างตุ่มเห็ด	วันที่ 32 ซ้ำที่ 2 ของเส้นใยเห็ดนางฟ้าและใน 3 ซ้ำของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนเชื้อราสร้างดอกเห็ด

กรรมวิธี	การเจริญของเชื้อรา	เกิดรอยหนาแน่น	เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา	เชื้อราเจริญขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้า	สร้างตุ่มเห็ด (primordia)	สร้างดอกเห็ด (fruiting - body)
3. เชื้อรา *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนกับเส้นใยเห็ดนางฟ้า	2 วัน เชื้อราเจริญ	4 วัน เชื้อรากับเส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่น	12 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อราวันที่25 เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา	-	35 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าบนเชื้อราสร้างตุ่มเห็ด	41 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างดอกเห็ดวันที่ 46 ซ้ำที่ 3 เส้นใยเห็ดนางฟ้าบนเชื้อราสร้างดอกเห็ด
4. เส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียว	-	-	-	-	4 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มเห็ด	32 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างดอกเห็ด



ภาพที่ 6 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus,Aspergillus brunneo-Uniseriatus* และ *Aspergillus versicolor* group สีเขียวน้ำเงินอ่อนแต่ละชนิดกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน PDA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน PDA แสลนท์ (3 ซ้ำ) ที่ห้องปรับอากาศ25± 3 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมง มีแสงกลางวันในเวลาราชการนอกนั้นสภาพปกติ

การทดลองที่ 3

ใช้ 3.1 เชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillus flavo- furcatis* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน MA แสลนท์ 3.2 เชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillus flavus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลี้ยงบน MA แสลนท์ ใยเปรียบเทียบกับ 3.3 เส้นเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวเลี้ยงบน MA แสลนท์ ตามตารางที่ 3 และภาพที่ 7 ผลปรากฏดังนี้คือ 3.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา*Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillus flavo- furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน MA แสลนท์ พบว่าใน 9 วัน เชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ,*Aspergillus flavo- furcatis* เจริญเติบโตมาชนกันกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าและ 10วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าเริ่มเจริญเติบโตขึ้นบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* แล้วสร้างตุ่มเห็ด (primordia) ในซ้ำที่ 1 ส่วนซ้ำที่ 2 และ 3 เริ่มสร้างตุ่มเห็ดต่อมาวันที่ 29 ซ้ำที่ 3 สร้างตุ่มเห็ดมากมายและวันที่ 51 ซ้ำที่ 2 สร้างตุ่มเห็ดบนเชื้อรา *Aspergillus*

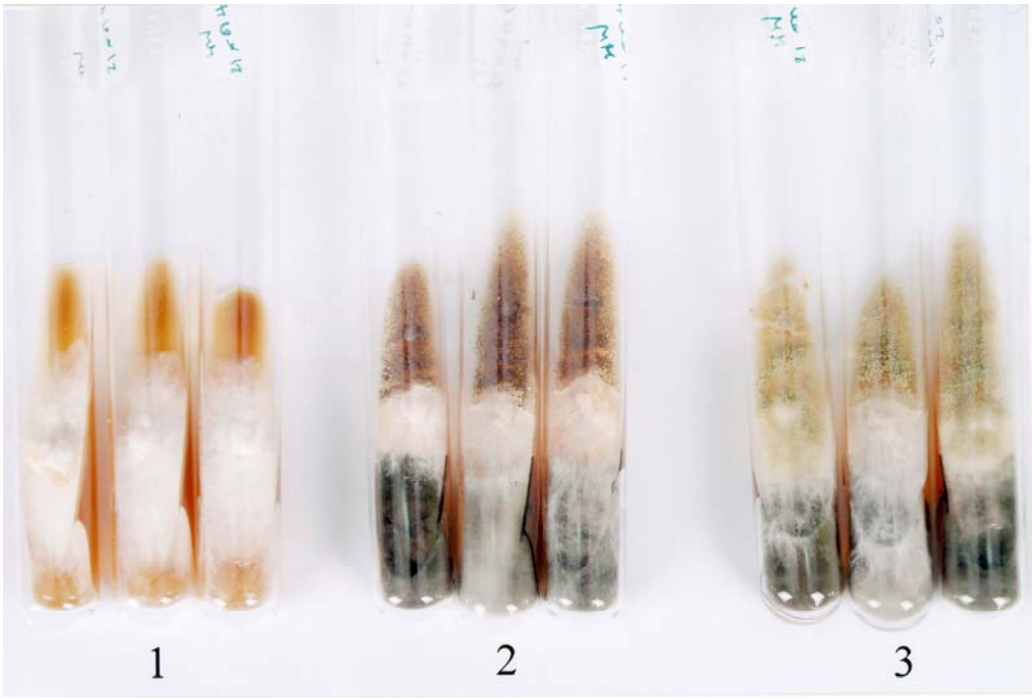
brunneo-uniseriatus หลังจากนั้นเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* เจริญเติบโตฟูขึ้นอีก แล้วเส้นใยเห็ดนางฟ้าเริ่มเจริญเติบโตขึ้นบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* อีก

สำหรับเชื้อรา *Aspergillus flavo- furcatis* ใน 15 วัน เจริญเติบโตมาชนกันกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าและสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่น ต่อมาวันที่ 35 ในซ้ำที่ 1 และ 2 เชื้อรา *Aspergillus flavo- furcatis* เริ่มเจริญเติบโตขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้า และวันที่ 51 เชื้อรา *Aspergillus flavo- furcatis* เจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าทั้ง 3 ซ้ำ 3.2 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ *Aspergillus flavus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน MA แสลนท์ พบว่าใน 9 วัน เชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ*Aspergillus flavus* เจริญเติบโตมาชนกันกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้า ต่อมาวันที่ 11 เส้นใยเห็ดนางฟ้าเริ่มเจริญเติบโตขึ้นบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* ทั้ง 3 ซ้ำ แล้ววันที่ 14เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* ทั้งหมดและสร้างตุ่มเห็ดในวันที่ 25 สำหรับเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในวันที่ 11 เจริญเติบโตมาชนกันกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าและสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่นในซ้ำที่ 1 ต่อมาวันที่ 15ในซ้ำที่ 1 และ 2 เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตขึ้นคลุมบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าเลยคลุมมาบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าที่เจริญเติบโตบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* ในวันที่ 22 ของซ้ำที่ 3 เปรียบเทียบกับ 3.3 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน MA แสลนท์ ใน 9 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตปกติและสร้างตุ่มเห็ดใน 25 วัน

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo- furcatis, Aspergillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน MAแสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน MAแสลนท์ (3 ซ้ำ) ที่ห้องปรับอากาศ 25± 3 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมง มีแสงกลางวันในเวลาราชการนอกนั้นสภาพปกติ

กรรมวิธี	การเจริญของเชื้อรา	เกิดรอยหนาแน่น	เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา	เชื้อราเจริญขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้า	สร้างตุ่มเห็ด (primordia)	สร้างดอกเห็ด (fruiting - body)
1. เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้า	9 วัน เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญมาพบกัน	15 วัน เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่น	10 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* ต่อมาเจริญขึ้นคลุมเชื้อรา	35 วัน ซ้ำที่ 1 และ 2 เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* เจริญขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าเล็กน้อย ต่อมาวันที่ 51 เชื้อราเจริญขึ้นคลุมเส้นใยเห็ด	25 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* สร้างตุ่มเห็ดวันที่ 29 ซ้ำที่ 3 สร้างตุ่มเห็ดหนาแน่น และวันที่ 51 ซ้ำที่ 2 เส้นใยเห็ด เจริญทับซ้อนเชื้อราที่ฟูขึ้นอีก	35 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* สร้างดอกเห็ด

กรรมวิธี	การเจริญของเชื้อรา	เกิดรอยหนาแน่น	เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา	เชื้อราเจริญขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้า	สร้างตุ่มเห็ด (primordia)	สร้างดอกเห็ด (fruiting-body)
2. เชื้อรา *Aspergillus flavus*และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้า	9 วัน เชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญ	11 วัน เชื้อรา *Aspergillus flavus* กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างเส้นใยทับซ้อนกันเป็นรอยหนาแน่น	10 วัน เส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* และ 14 วัน เจริญคลุมเชื้อราทั้งหมด	15 วัน ในซ้ำที่ 1 และ 2เชื้อรา *Aspergillus flavus* เจริญบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าวันที่ 22 ของซ้ำที่ 3 เจริญบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus*	-	-
3. เส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียว	-	-	-	-	25 วัน สร้างตุ่มเห็ด	

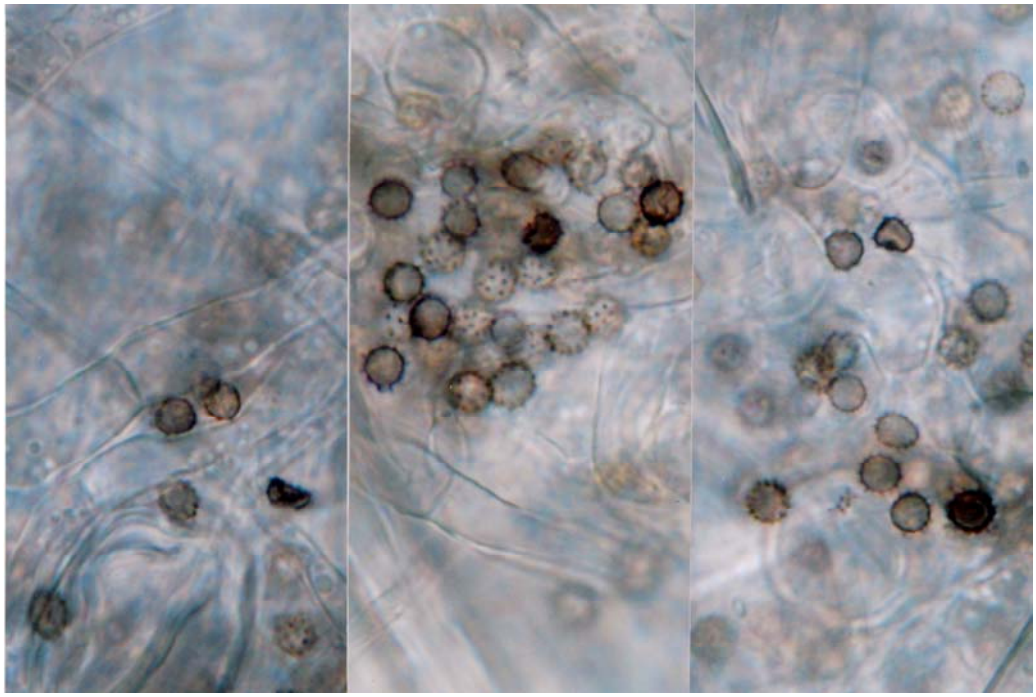


ภาพที่ 7 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus brunneo uniseriatus*,*Aspergillus flavo- furcatis* และ *Aspergillus flavus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบน MA แสลนท์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวบน MA แสลนท์ (3 ซ้ำ) ที่ห้องปรับอากาศ 25± 3องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมง มีแสงกลางวันในเวลาราชการนอกนั้นสภาพปกติ

<u>การทดลองที่ 4</u>

จำแนกเชื้อรา *Aspergillus flavo- furcatis* 1. จากการแยกเชื้อราและทำให้บริสุทธิ์ได้เชื้อรา1 ไอโซเลท เลี้ยงบน PDA แสลนท์ พบว่าเส้นใยเชื้อราเริ่มเจริญและสร้างสปอร์เต็มผิวหน้าอาหาร มีสีน้ำตาลตลอด ดังภาพที่ 8 และจากการจำแนกเชื้อราด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้ศึกษาสัณฐานวิทยาจากสไลด์คัลเจอร์ได้ภาพที่ 9, 10 และ 11 ดังนี้

ภาพที่ 8 แสดงการเจริญเติบโตโคโลนี (colony) สีน้ำตาลตลอดของเชื้อรา *Aspergillus flavo-Furcatis* อายุ 60 วัน บน PD A แสลนท์ จำนวน 3 หลอด (ซ้ำ)



ภาพที่ 9 แสดงลักษณะโคนิเดีย (conidia) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* อายุ 14 วันบน PDA แสลนท์ จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ที่กำลังขยาย 100X2.2

การคำนวณขนาดโคนีเดียของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* จากภาพถ่ายกำลังขยาย 100X2.2เท่า ดังนี้

โคนีเดีย	ขนาด กว้างXยาว (ซม.)
1.	0.5X0.5
2	0.6X0.5
3.	0.6X0.6
4.	0.5X0.5
5.	0.6X0.4
6.	0.5X0.6
7.	0.5X0.6
8.	0.5X0.5
9.	0.6X0.7
10.	0.6X0.6
รวม	0.55X0.55
เฉลี่ย	(0.55X0.55) ÷ 10 = 0.55X0.55

ใช้กำลังขยาย100X2.2เท่ามีขนาดเท่ากับโคนีเดียจากภาพถ่าย = 0.55X0.55 ซม.

ถ้า 1 เท่ามีขนาด = (0.55X0.55) ÷ (100X2.2) ซม.

= (0.55X0.55) ÷ (100X2.2) ซม.

= 0.0025 X 0.0025 ซม.

100 ซม. = 1 ม.

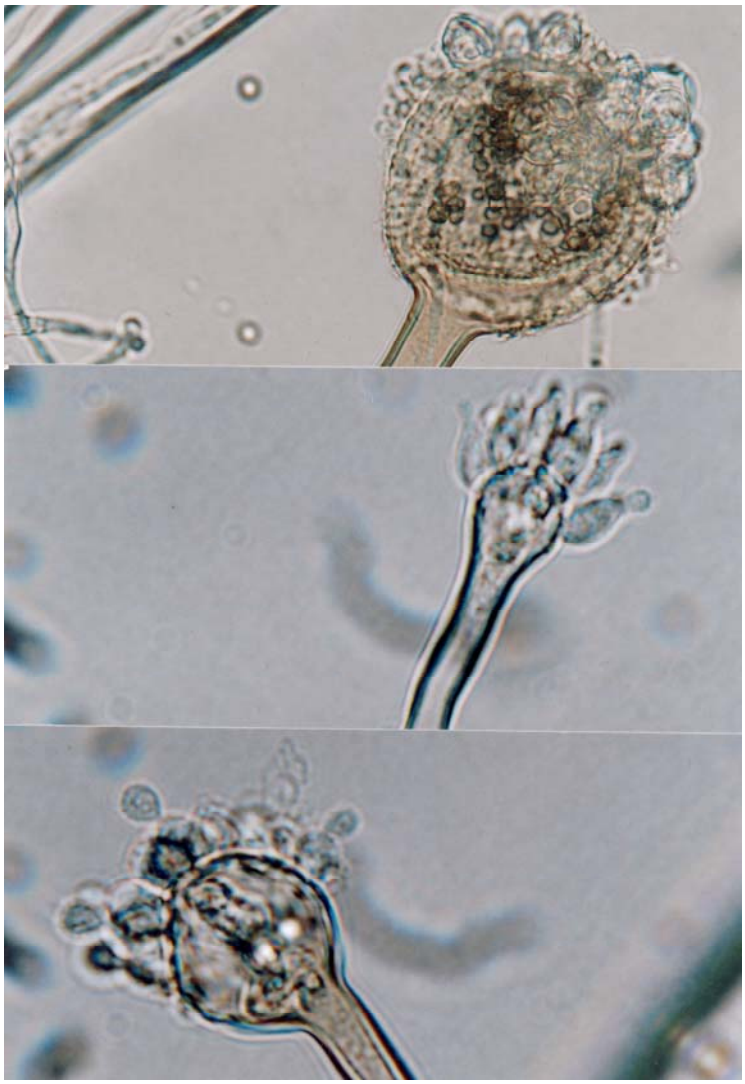
ถ้า 0.0025 X 0.0025 ซม. = 1 X (0.0025 X 0.0025) ÷ 100 ม.

= 0.000025 X 0.000025 ม.

1 ม. = 1000 µm

ถ้า 0.000025 X 0.000025 ม. = 1000 X (0.000025 X 0.000025) µm

ดังนั้นขนาดโคนีเดีย = 0.025 X 0.025 µm



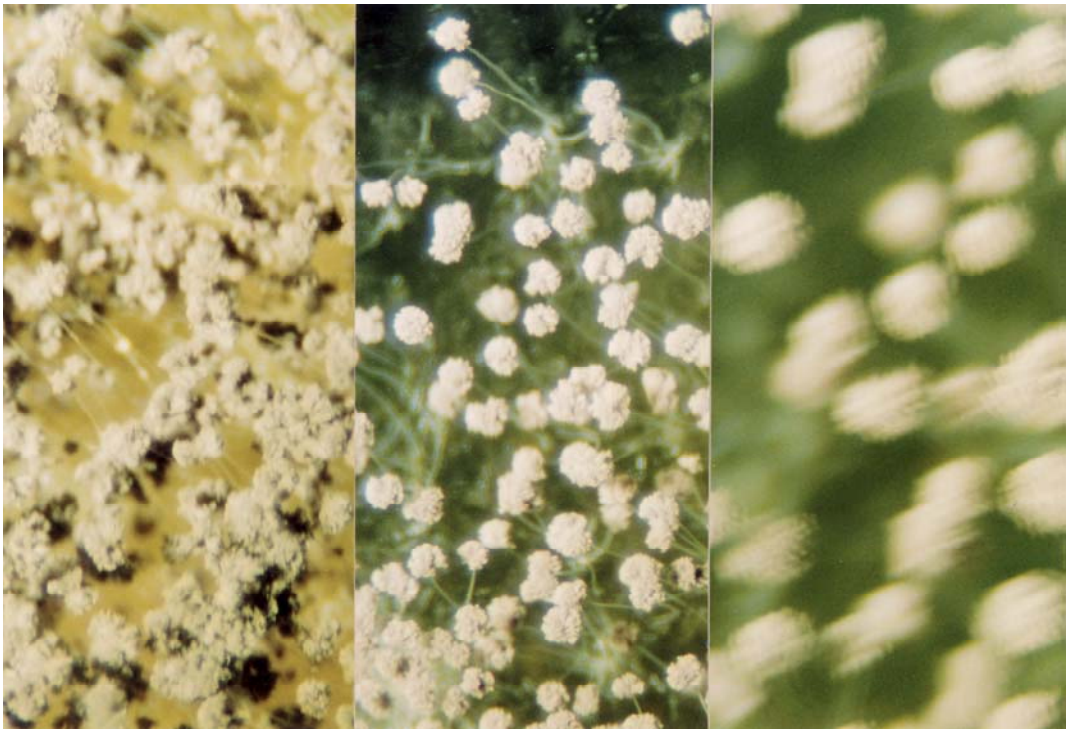
ภาพที่ 10 แสดงลักษณะโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) และโคนิเดียลเฮด (conidial head) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* อายุ 14 วัน บน PDA แสลนท์ จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ที่กำลังขยาย 40 X2.2

การคำนวณขนาดเวสิเคิล (vesicle) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* จากภาพถ่ายกำลังขยาย40X2.2 เท่า ดังนี้

เวสิเคิล	ขนาด กว้างXยาว (ซม.)
1.	3.6X3.6
2.	1.1 X1.3
3.	2.2 X2.3
เฉลี่ย	(6.9 X7.2) ÷ 3 = 2.3 X2.4

ใช้กำลังขยาย40X2.2เท่ามีขนาดเท่ากับเวสิเคิลจากภาพถ่าย

	40X2.2 เท่ามีขนาดเท่ากับ	= 2.3 X2.4		ซม
ถ้า	1 เท่ามีขนาดเท่ากับ	= (2.3 X2.4)÷ 40X2.2		ซม
		= 0.026 X0.027		ซม
	100 ซม	= 1		ม.
ถ้า	0.026 X0.027 ซม	= 1 X (0.026 X0.027)	÷100	ม.
		= 0.00026 X 0.00027		ม.
	1 ม.	= 1000		µm
ถ้า	0.00033 X 0.00023ม	= 1000 X(0.00026 X 0.00027)		µm
ดังนั้นเวสิเคิลมีขนาด		= 0.26 X0.27		µm



ภาพที่ 11 แสดงลักษณะคลัสเตอร์ (cluster) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* สีน้ำตาลอายุ 60 วัน บน PDA แสลนท์ จำนวน 3 ภาพ (ซ้ำ) ที่กำลังขยาย 20X2.2

การคำนวณขนาดคลัสเตอร์ (cluster) ของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* จากภาพถ่าย กำลังขยาย0.67X2.2 เท่า ดังนี้

คลัสเตอร์	ขนาด กว้างXยาว (ซม.)
1.	0.5 X0.5
2.	0.4 X0.6
3.	0.4X0.5
4.	0.4X0.4
5.	0.6X0.6
6.	0.6X0.6
7.	0.4X0.4
8.	0.4X0.4
9.	0.6X0.7
10.	0.5X0.4
เฉลี่ย	(4.8 X5.1) ÷ 3 = 1.6 X1.7

ใช้กำลังขยาย 0.67X2.2 เท่า มีขนาดเท่ากับคลัสเตอร์ จากภาพถ่าย

0.67X2.2เท่ามีขนาดเท่ากับ		= 1.6 X1.7		ซม
ถ้า 1	เท่ามีขนาดเท่ากับ	= (1.6X1.7) ÷ 0.67X2.2		ซม
		= (1.6X1.7) ÷ 1.474		ซม
		= 1.085 X 1.153		ซม
100	ซม	= 1		ม.
ถ้า 1.085 X1.153	ซม	= 1 X (1.085 X1.153)	÷100	ม.
		= 0.011 X 0.012		ม.
1 ม.		= 1000		µm
ถ้า	0.011 X 0.012 ม	= 1000 X(0.011 X 0.012)		µm
ดังนั้นคลัสเตอร์ มีขนาด		= 11 X12		µm

และเปรียบเทียบกับรายงานเอกสารอ้างอิงได้ผลดังนี้

1. การจำแนกแบบ The Saccardo System of Classification

สำหรับ Imperfect fungi ใช้ Morphology ของ sporulating structures และสีของ conidia มี mycelium แบบมี septate

Moniliales…… 62

Conidia สร้างโดยตรงจาก mycelium หรือบนการแยกออกของ sporogenous cells หรือ conidiophore ซึ่ง แยกออกเป็น clusters หรือเป็น groups ที่ถูก packed อย่างแน่น Moniliaceae and Dematiaceae……. 62

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

42a phialides แบบ heads อยู่บน simple conidiophores …… 43

43 conidiaแห้งปรากฏไม่มี slime…… *Aspergillus* 90

2. การจำแนกแบบ The Hughes-Tubaki-Barron System of Classification

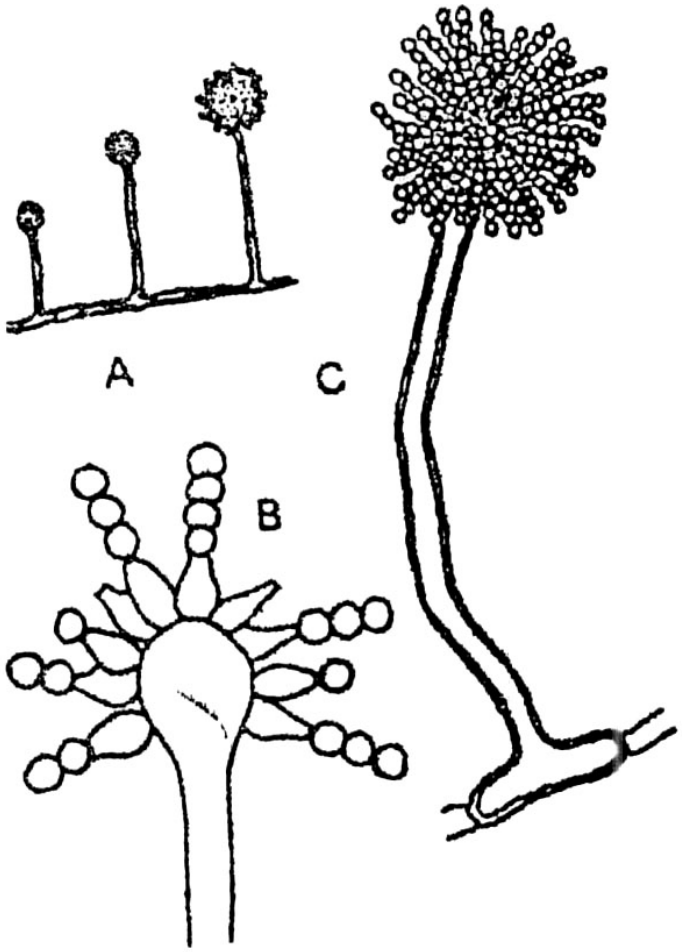
ใช้จำแนกตามลักษณะการสร้าง รูปร่าง สี และ septate ของ conidia บน conidiophore

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

161a ส่วนยอดของ conidiophore มีขนาดใหญ่ปกคลุมด้วยphialidesที่มีรูปแบบ flask conidia เป็นchains แห้ง..... Aspergillus 90



ASPERGILLUS

ASPERGILLUS Link. Conidiophore ตั้งตรงแบบธรรมดาตอนปลายเป็นแบบ globose หรือ clavate มี phialides บ้างที่ apex หรือผิวทั้งหมด conidia)phialospores(มี 1 เซลล์ แบบ globose บ่อยๆ มีสีจำนวนมากมายเป็น chains มีฐานแห้งจากภาพ *Aspergillus* spp.)A(เค้าโครงร่าง)B, C(conidiophores กับ conidial heads ใน class Deuteromycetes order Moniliales family Phialosporae genus Aspergillus ทั้งหมดนี้ในรายงานของ Barnett and Hunter (1972)

เชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* มีโคนิดิโอฟอร์ตั้งตรงแบบโกลโบส (globose) หรือคลาเวท(clavate) มีไฟอะไลด์ (phialide) ที่ตอนปลายโคนิเดียแบบไฟอะโลสปอร์ (phialospore) มี 1 เซลล์แบบโกลโบสอยู่ใน class Deuteromycetes order Moniliales family Moniliaceae genus Aspergillus (Barnett and Hunter,1972) โคโลนีสีน้ำตาล โคนีเดียกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5µm กลางเซลล์ของโคนีเดียสีน้ำตาลใสขอบสีน้ำตาลเข้ม Christensen (1981) และ Raper and Fennell (1965) รายงานว่า *Aspergillus flavo-furcatis* Bartista Maia (WB4911) โคโลนีเจริญอย่างรวดเร็วบน Czapeks agar เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.2 - 6 ซม. ใน 8 - 10 วัน สร้างสปอร์อย่างรวดเร็วสีอัมเบอร์โทน (umber tones), เดรสเดนบราวน์ (Dresden brown), มัมมีบราวน์ (mummy brown),บรัสเซลบราวน์ (brussel brown) และคลโคพบราวน์ (clove brown) แล้วเปลี่ยนเป็นไม่มีสีที่ 37 องศาเซลเซียส เส้นผ่าศูนย์กลาง 3.0 ซม. และหลังจากนั้น 5 วัน สร้างสปอร์ส่วนโคนิเดียลเฮดแบบราดิเอท (radiate) เส้นผ่าศูนย์กลาง 800 µm เมื่ออายุมากแยกเป็นโคลัมน์ (columns) ส่วนโคนิดิโอฟอร์ยาว 900 - 2,200 µm ขอบหนาไม่มีสีผนังแบบอีชินูเลท (echinulate) และเวสิเคิล (vesicle) แบบโกลโบสและสับโกลโบส (subglobose) เส้นผ่าศูนย์กลาง 62 µm ผนังหนา 2 - 2.2 µm โคนิเดียมแบบไบซีริเอท (biseriate) และยูนิซีริเอท (uniseriate) บนเวสซิเคิลมีเส้นผ่าศูนย์กลาง .32 µm โคนิเดียแบบโกลโบสและสับโกลโบสมีทับเบอร์คูเลท (tuberculate) หยาบๆ สีเหลืองน้ำตาล (yellow-brown) เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 - 8.5 µm ส่วนมาก 7 µm ไม่พบสเคอร์โลเตีย (sclerotia) เป็นเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis*

สรุปผลการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u>

การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันเส้นใยทับซ้อนกันเกิดรอยหนาแน่นและเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และสร้างดอกเห็ดเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวซึ่งปกติ

การทดลองที่ 2

2.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันเส้นใยทับซ้อนกันเกิดรอยหนาแน่นและเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus flavus* และสร้างดอกเห็ด

2.2 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าซึ่งเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* และสร้างดอกเห็ด

2.3 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus versicolor* group กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันเส้นใยทับซ้อนกันเกิดรอยหนาแน่นและเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา*Aspergillus versicolor* group และสร้างดอกเห็ดเปรียบเทียบกับ

2.4 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวซึ่งปกติ

การทดลองที่ 3

3.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าซึ่งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันเส้นใยทับซ้อนกันเกิดรอยหนาแน่นและเชื้อรา *Aspergillus flavo-furcatis* เจริญขึ้นบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อรา*Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้านั้นเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus*

3.2 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Asperegillus flavus* และ *Aspergillus brunneo-uniseriatus*กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าซึ่งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Asperegillus flavus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้ามาชนกันเส้นใยทับซ้อนกันเกิดรอยหนาแน่นและเชื้อรา *Asperegillus flavus* เจริญขึ้นคลุมบนเส้นใยเห็ดนางฟ้าส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* กับการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้านั้นเส้นใยเห็ดนางฟ้าเจริญขึ้นคลุมบนเชื้อรา *Aspergillus brunneo-uniseriatus* เปรียบเทียบกับ

3.3 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าอย่างเดียวซึ่งปกติ

และการทดลองที่ 4 จำแนกเชื้อราได้เป็น *Aspergillus flavo-furcatis*

เอกสารอ้างอิง

วรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ. 2544. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเพิ่มการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดสกุลนางรม หน้า 6 – 17 *ใน* ผลงานฉบับเต็มของวรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ. เรื่อง ขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิชาการโรคพืช 8ว. ตำแหน่งเลขที่ 1015 กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร 47หน้า.

วรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ. 2546. การคัดเลือกเชื้อราที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมภูฏาน. หน้า 18 – 31 *ใน* ผลงานฉบับเต็มของวรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ. เรื่อง ขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิชาการโรคพืช 8ว. ตำแหน่งเลขที่ 1015 กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร 47หน้า.

วรลักษณ์ พฤฒิภิญโญ. 2547. การคัดเลือกเชื้อราที่มีประโยชน์กับการเจริญเติบโตของเห็ดสกุลนางรม หน้า 101 - 115. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม เล่มที่ 1. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์การเกษตร 600 หน้า.

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

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

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

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

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

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

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

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

สำรวจ รวบรวม และจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืชสกุล *Alternaria*

Surveying collection and identification Plant fungal diseases genus *Alternaria*

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชชนิดต่างๆในแปลงปลูก ที่แสดงอาการใบจุดและอาการอื่นที่คาดว่าเกิดจากเชื้อราสกุล *Alternaria* ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึง กันยายน 2550 จำนวน 27ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืชสกุล *Alternaria* ได้ 4 ชนิด 13 ไอโซเลท ได้แก่ *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. , *Alternaria brassicola* (Schw.) Wiltshire, *Alternaria porri* (Ellis) Cif. และ *Alternaria solani*

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ประเทศไทยมีการปลูกพืชหลายชนิดทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งมีผลถึงจุลินทรีย์ต่างๆ ด้วย อันเนื่องมาจากปัจจัยต่างๆ มีความเปลี่ยนแปลง จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชก็มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนไป

งานด้านอนุกรมวิธานเชื้อจุลินทรีย์โรคพืช ปัจจุบันได้มีผู้ให้ความสำคัญเพิ่มมากขึ้น อันเป็นผลจากการที่ประเทศต่างๆ ในโลกมีการประสานความสัมพันธ์กันในด้านต่างๆ ทั้งทางการศึกษาและการค้าที่มีต่อกัน การที่พันธุกรรมจุลินทรีย์โรคพืชเปลี่ยนแปลงไป อาจทำให้เกิดชนิดหรือ สายพันธุ์ใหม่ๆ ในอดีตที่ผ่านมาได้มีการศึกษารายละเอียดข้อมูลประจำสายพันธุ์ และเก็บรักษาสายพันธุ์ แต่หากมีการศึกษาและเก็บรักษาได้มาตรฐานสากล จะสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในงานวิจัยทางด้านอื่นอีกหลายด้าน บางสายพันธุ์อาจให้สารที่มีประโยชน์ และสร้างมูลค่าเพิ่มได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อให้ได้แหล่งของสายพันธุ์ และข้อมูลจุลินทรีย์โรคพืช เพื่อเข้าเก็บรวบรวมในหน่วยเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์โรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช เพื่อใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อย่างยั่งยืน ต่อไป

ราในสกุล *Alternaria* จัดเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น โรคใบจุดสีม่วงในพืชตระกูลหอมกระเทียม โรคใบจุดในผักกะหล่ำ เป็นต้น พัฒนา และคณะ (2526) รายงานว่าเชื้อรา *Alternaria brassicae, Alternaria brasicicola* ทำให้เกิดโรคใบจุดกับพืชในตระกูลกะหล่ำ คือ ผักตะน้าจีน ผักกาดขาวปลี ผักกาดเขียวกวางตุ้ง กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม บร๊อกโคลี่ *Alternaria porri* ทำให้เกิดโรคใบจุดม่วงหรือใบไหม้กับพืชพวกหอมแบ่ง หอมใหญ่ นิตยา (2545) รายงานว่าโรคใบจุดสีม่วงหรือโรคแผลสีม่วง เป็นโรคที่สำคัญที่แพร่ระบาดและสร้างความเสียหายรุนแรงกับพืชในสกุลหอมกระเทียมมากที่สุดโรคหนึ่ง โดยมีรายงานพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1879 ที่ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยพบโรคใบจุดสีม่วงเกิดกับกระเทียมต้นหรือ leekและระบาดกับหอมหัวใหญ่ทำความเสียหายอย่างรุนแรงในอินเดีย ในประเทศไทยพบระบาดในฤดูหนาว เนื่องจากเป็นช่วงที่มีอากาศหนาวเย็นและมีน้ำค้างลงจัดเวลากลางคืนเหมะกับการแพร่ระบาดของโรค หอมและกระเทียมที่ปลูกในฤดูหนาวพบเป็นโรคดังกล่าวรุนแรงเสมอ เกิดจากเชื้อ *Alternaria porri* นุชนารถ (2546) ได้รายงานโรคใบจุดออลเทอ (Alternaria leaf spot) มีพืชอาศัยได้แก่ ผักกาดหอมห่อ กะหล่ำปม กะหล่ำดาว ผักกาดฮ่องเต้ คะน้ายอด ผักกาดขาวปลี ผักกาดหางหงษ์ หอมญี่ปุ่น เบบี้แครอท มะเขือเทศ พริกหวาน

การศึกษาราสาเหตุโรคพืชสกุล *Alternaria* ที่ผ่านมามีพอสมควร แต่เมื่อสภาพแวดล้อมและการปลูกพืชของเกษตรกรเปลี่ยนแปลงไป โดยในปัจจุบันการปลูกพืชมีการ

เปลี่ยนแปลงสถานที่และชนิดพืช มีการนำพืชจากต่างประเทศเข้ามาปลูก อาจทำให้พบราสาเหตุโรคพืชสกุล *Alternaria* ในพื้นที่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน 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. สำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคพืชในแปลงปลูกชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการใบจุด ใบไหม้ และอาการที่คาดว่าเกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคพืชสกุล *Alternaria*

2.2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ของเชื้อสาเหตุโรคพืช

2.3. จัดจำแนกชนิด ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

2.4. จัดเก็บตัวอย่างอาการของโรคในพิพิธภัณฑ์

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง
    3.1. เก็บตัวอย่างพืชในแปลงปลูกชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการที่คาดว่าน่าจะเกิดจากเชื้อราสกุล *Alternaria* นำตัวอย่างที่ได้แบ่งส่วนหนึ่งมาทำการอัดตัวอย่างแห้งด้วยการจัดเรียงชิ้นส่วนใบพืชที่แสดงอาการของโรคบนกระดาษฟางและปิดทับด้วยกระดาษฟางอีกชั้นหนึ่ง นำไปอัดเก็บไว้ด้วยแผงอัดตัวอย่าง ตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งเก็บห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วเก็บลงถุงพลาสติกมัดปากถุง นำไปเก็บในถังเก็บความเย็นเพื่อนำไปแยกเชื้อศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป
    3.2. นำมาแยกเชื้อโดยนำชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการดังกล่าวมาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereoscopic microscope ทำการเขี่ยเชื้อจากแผลบนใบพืชดังกล่าวนั้นมาทำสไลด์
    3.3. นำสไลด์ที่ได้มาทำการส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound microscope ศึกษาลักษณะของเชื้อราดังกล่าว เพื่อการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสกุล *Alternaria* เปรียบเทียบกับเอกสารวิชาการในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราในสกุลดังกล่าว
    3.4. เชื้อราสาเหตุโรคพืชสกุล *Alternaria* ที่สามารถจำแนกชนิดได้แล้ว นำไปทำการแยกเชื้อโดยวิธีการทำ Single spore isolation เพื่อให้ได้เชื้อที่บริสุทธิ์นำไปเก็บในศูนย์เก็บเชื้อราสาเหตุโรคพืช
    3.5. เมื่อทำการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุได้แล้ว นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคและอัดเก็บเป็นตัวอย่างแห้ง เก็บเข้าสู่พิพิธภัณฑ์โรคพืช เพื่อเป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิชาการ
4. การบันทึกข้อมูล
    4.1. บันทึกข้อมูลตัวอย่างพืชที่เป็นโรคที่ได้เก็บตัวอย่างมา เช่น สถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่ ชื่อพืช อาการ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เป็นต้น
    4.2. บันทึกข้อมูลชนิดเชื้อราสนิมสาเหตุโรคพืชของพืชชนิดต่างๆ ตามหลักการจัดเก็บด้านโรคพืชหลังจากทำการจัดจำแนกแล้ว

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่ ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2550 ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืชในพื้นที่ปลูกพืชของเกษตรกร และทำการจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคพืชสกุล *Alternaria* ที่กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่าง และบันทึกข้อมูลโรคพืช ระหว่าง ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 โดยทำการเก็บตัวอย่างโรคพืชชนิดต่างๆ ที่แสดงอาการ จำนวน 20 ตัวอย่าง นำมาทำการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพืชสกุล *Alternaria* สามารถจัดจำแนกเชื้อราสกุล *Alternaria* ได้ 4 ชนิด 13 ไอโซเลท ได้แก่

ตารางที่ 1 แสดงชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืช สกุล *Alternaria* ที่จำแนกได้

ไอโซเลท	ชื่อพืช	ส่วนที่เกิดโรค	ชื่อเชื้อสาเหตุ	สถานที่เก็บ
1.	กะหล่ำดอก	ใบ	*Alternaria brassicicola*	อ. สันทราย จ. เชียงใหม่
2.	กะหล่ำดอก	ใบ	*Alternaria brassicicola*	อ. ปางมะผ้า จ. แม่ฮ่องสอน
3.	กวางตุ้ง	ใบ	*Alternaria brassicae*	อ. ปางมะผ้า จ. แม่ฮ่องสอน
4.	คะน้า	ใบ	*Alternaria brassicola*	อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี
5.	หอมหัวใหญ่	ใบ	*Alternaria porri*	อ. ไชยปราการ จ. เชียงใหม่
6.	หอมหัวใหญ่	ใบ	*Alternaria porri*	อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่
7.	หอมหัวใหญ่	ใบ	*Alternaria porri*	อ. แม่อาย จ. เชียงใหม่
8.	หอมหัวใหญ่	ใบ	*Alternaria porri*	อ. ฝาง จ. เชียงใหม่
9.	หอมหัวใหญ่	ใบ	*Alternaria porri*	อ. สันทราย จ. เชียงใหม่
10.	หอมหัวใหญ่	ใบ	*Alternaria porri*	อ. บ้านโฮ่ง จ. ลำพูน
11.	หอมหัวใหญ่	ใบ	*Alternaria porri*	อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี
12.	หอมแดง	ใบ	*Alternaria porri*	อ. บ้านโฮ่ง จ. ลำพูน
13.	มะเขือเทศ	ใบ	*Alternaria solani*	อ. ฮอด จ. เชียงใหม่

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสนิมชนิดต่าง ๆ

1. *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc.

โคโลนีเกิดทั้งสองด้านของใบ สีเขียวซีด Conidiophores เกิดเป็นกลุ่มตรงหรืออาจมีข้อหัก รูปทรงกระบอก บางครั้งแตกกิ่งก้าน เซลที่โคนโป่งพอง Conidia เกิดเดี่ยวๆ หรือต่อเนื่องเป็นโซ่สั้นๆ รูปร่างกระบอง ขนาดค่อยๆ เรียวไปทางปลาย ผนังเรียบและคอดตรงผนังกั้น สีเขียวอ่อน ปลายสีใส ผนังกั้นแนวนอน 7-14 ผนังกั้นแนวตั้ง 0-5

พืชอาศัย

พืชตระกูลกะหล่ำ

2. *Alternaria brassicola* (Schw.) Wiltshire

โคโลนีเกิดทั้งสองด้านของใบ สีน้ำตาลอมเขียวมะกอก Conidiophores เกิดเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มตรงหรืออาจมีข้อหักรูปทรงกระบอก บางครั้งแตกกิ่งก้าน ทรงกระบอก สีน้ำตาลอมเขียว Conidia เกิดต่อเนื่องเป็นโซ่ยาว รูปร่างทรงกระบอกถึงกระบอง ลักษณะตรง ผนังเรียบและคอดตรงผนังกั้น เมื่อแก่ผนังขรุขระ ด้านล่างโค้งมน สีอ่อนจนถึงน้ำตาลอมเขียว ผนังกั้นแนวนอน 1-17 ผนังกั้นแนวตั้ง 0-1

พืชอาศัย

พืชตระกูลกะหล่ำ

3. *Alternaria porri* (Ellis) Cif.

โคโลนีสีเทาเข้ม Conidiophores เกิดเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มตรงหรืออาจมีข้อหักรูปทรงกระบอก สีน้ำตาลอ่อน Conidia เกิดเดี่ยว รูปร่างทรงกระบอง ค่อยๆเรียวไปทางปลาย ลักษณะตรงหรือโค้ง ผนังเรียบและหนา สีน้ำตาลปนเหลือง ผนังกั้นแนวนอน 8-14 ผนังกั้นแนวตั้ง 0-3

พืชอาศัย

พืชตระกูลหอมกระเทียม

4. *Alternaria solani*

Conidiophores เกิดเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มตรงหรืออาจมีข้อหักรูปทรงกระบอก บางครั้งแตกกิ่งก้าน ทรงกระบอก สีน้ำตาลอ่อน Conidia เกิดเดี่ยว ตรงถึงโค้งเล็กน้อย รูปร่างทรงกระบอง กลางป่องเล็กน้อย เรียวไปทางปลาย สีอ่อนจนถึงน้ำตาลอมเขียว ผนังกั้นแนวนอน 8-12 ผนังกั้นแนวตั้ง 1-3

พืชอาศัย

พืชวงศ์ Solanaceae

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างพืช ที่แสดงอาการโรค ที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Alternaria* จำนวน 27 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดเชื้อราสกุล *Alternaria* ได้ 4 ชนิด 13 ไอโซเลท ได้แก่ *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. , *Alternaria brassicola* (Schw.) Wiltshire, *Alternaria porri* (Ellis) Cif. และ *Alternaria solani*

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง. 2545. โรคสำคัญของพืชสกุลหอมและกระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 96 หน้า

นุชนารถ จงเลขา. 2546. คู่มือการควบคุมโรคและศัตรูต่างๆของพืชผักแบบผสมผสาน. สำหรับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมผักบนที่สูง. ศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง 163 หน้า.

พัฒนา สนธิรัตน วิรัช ชูบำรุง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน และปิยะ เกียรติก้อง. 2526. เชื้อรา *Alternaria* ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชผักบางชนิด. วารสารโรคพืช ปีที่ 3 เล่มที่ 4. ต.ค.-ธ.ค. 2526. น. 154-167.

สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา *Phomopsis* spp. สาเหตุโรคพืช

Surveying Collecting and Identification of Plant Pathogenic *Phomopsis spp.*

สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึง กันยายน 2550 ได้ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อราสกุล Phomopsis จากแปลงปลูกพืชของเกษตรกร ทั้งหมดจำนวน 52 ตัวอย่าง บนพืช 12 ชนิด จากพื้นที่ 13 จังหวัด ได้แก่ สุพรรณบุรี ราชบุรี นครปฐม เพชรบุรี กาญจนบุรี นครราชสีมา ชุมพร สุราษฎร์ธานี พังงา นครสวรรค์ ลำปาง ลำพูน และเชียงราย ได้ตัวอย่างโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ผลการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak โรคก้นผลเน่าของฝรั่ง 3 ตัวอย่าง จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis psidii* Nag Raj & Ponnappa โรคผลเน่าของมะเขือยาว 1 ตัวอย่าง จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis vexans* (Sacc. & Sydow) Harter และ อาการใบจุดของลำใย จำนวน 2 ตัวอย่าง จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis* spp. และได้ตัวอย่างอาการแผลจุด ไหม้ บนใบ ก้าน ลำต้น และผล หรือผลเน่า ซึ่งคาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Phomopsis* sp. ของมะเฟือง ทับทิม ลิ้นจี่ ฝรั่ง มะเขือยาว มะพร้าว ปาล์ม มะลิ ผักหวาน พืชตระกูลเฮลิโคเนีย และข่า รวม 26 ตัวอย่าง หลังจากนำมาศึกษาเพื่อ จำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุพบว่าไม่ได้เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis* spp. และได้เก็บตัวอย่างแห้งโรคพืช พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เพื่อส่งพิพิธภัณฑ์โรคพืช รวมจำนวน 26 ตัวอย่าง

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราสกุล Phomopsis อยู่ในClass Ascomycetes, Order Sphaeropsidales เป็น Imperfect state ของ รา Diaporthe อยู่ใน Class Coelomycetes ส่วนใหญ่ราสกุลนี้เจริญอยู่บนใบพืชทำให้เกิดโรคใบจุด กิ่งก้าน หรือลำต้นแห้งแห้ง รวมถึงผลเน่า เป็นสาเหตุโรคของพืชยืนต้น ไม้ผล ไม้ประดับ และพืชผัก โดยราสร้าง pycnidia สีน้ำตาลเข้ม ถึงดำรูปร่างค่อนข้างกลม (nearly globose) มีช่องเปิด ฝังในเนื้อเยื่อพืช (ostiolate, immersed, erumpent) conidiophore ไม่ซับซ้อน conidia เซลเดียว ไม่มีสี มี 2 ชนิด คือ alpha conidia รูปไข่ (ovoid ถึง fusoid) และ beta conidia รูปร่างยาว (filiform) ส่วนใหญ่พบปลายด้านใดด้านหนึ่งโค้ง (Barnett and Hunter, 1998)

รา Phomopsis เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด ทั้งโรคก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ โรคกิ่งและใบจุด (Phomopsis cane and leaf spot) ขององุ่นสาเหตุเกิดจาก *Phomopsis viticola* โรคยอดไหม้ (Tip blight) ของ Junipers สาเหตุเกิดจาก *P. juniperovora* โรคแคงเคอร์ (Phomopsis canker) ของพีช สาเหตุเกิดจาก *P. amygdali (Del.)* Tuset and Portilla โรคใบไหม้ (Phomopsis leaf blight) ของสตรอเบอรี่ เกิดจาก *P. obsacurans* Ellis & Everh โรคลำต้นเน่า (Phomopsis stem rot) ของแคนตาลูป เกิดจาก *P. cucurbitae* โรคใบไหม้ (Phomopsis blight) และ ผลเน่า (Phomopsis rot) ของมะเขือ เกิดจาก *P. vexan*s โรคใบจุดของขนุน เกิดจาก *P. artocarpina* ส่วนผลเน่า เกิดจาก *Phomopsis* sp. โรคใบจุดและผลเน่าของมะเฟือง เกิดจาก *Phomopsis* sp. เป็นโรคที่สำคัญ โดยเฉพาะหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้เกิดความเสียหายในช่วงการเก็บและเคลื่อนย้ายสู่ตลาด โรคนี้พบมากใน ออสเตรเลีย ฟลอริดา อินเดีย และมาเลเซีย โรคใบจุดของทุเรียน เกิดจาก *P. durionis* ถ้าเกิดโรคระยะกล้า ทำให้ใบร่วง และยังเป็นสาเหตุโรคผลเน่าหลังการเก็บเกี่ยวด้วย โรคแคงเคอร์ของมะเดื่อ เกิดจาก *P. cinerascens* โรคใบจุดและยอดแห้ง ของลิ้นจี่ และเงาะ เกิดจาก *Phomopsis* sp. มีรายงานใน ฟลอริดา โรคเน่า (Phomopsis rot and stem-end rot) ของเสาวรส (passion fruit) เป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยว เกิดจาก *P. tersa*

สำหรับโรคที่มีรายงานพบในประเทศไทย ได้แก่ โรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง เกิดจาก *Phomopsis asparagi*i เป็นโรคที่พบเสมอในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง โรคใบไหม้ของ สตรอเบอรี่ เกิดจาก *P. obsacurans* Ellis & Everh พบระบาดทั่วไปในแปลงปลูก ถ้าระบาดรุนแรงจะทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตมาก โรคผลเน่าของมังคุด เป็นโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่พบทั่วไปในประเทศไทย เกิดจากเชื้อ *Phomopsis* sp. (Sangchote and Pongpisuta, 1995) โรคขั้วเน่าของส้ม เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis citri* โรคใบไหม้แห้งมะเขือยาว เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis vexan*s โรคก้นผลเน่าของฝรั่ง *Phomopsis psidii* (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช,2546) โรคใบจุดของลำไย

และลิ้นจี่ เกิดจาก *Phomopsis* spp. และโรคกิ่งชำเน่าของยูคาลิปตัส และใบจุดของประดู่ป่า เกิดจาก *Phomopsis* sp.เป็นต้น

ประเทศไทยมีการศึกษางานด้านอนุกรมวิธานราสกุล Phomopsis น้อยมาก จึงขาดข้อมูลอีกมาก และไม่มีการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งของโรคเข้าสู่พิพิธภัณฑ์ รวมทั้งการเก็บข้อมูลตัวอย่างแห้งยังไม่เป็นระบบสากล ดังนั้นจึงควรที่จะต้องทำการศึกษาด้านอนุกรมวิธานของราสกุล Phomopsis เพื่อให้ได้ข้อมูลของเชื้อได้แก่ ชนิดของเชื้อ(species) ลักษณะประจำสายพันธุ์ และเขตแพร่ระบาด รวมทั้งเก็บเชื้อ และ ตัวอย่างแห้งของโรคพืชชนิดต่างๆ เข้ารวบรวมในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช การศึกษาข้อมูลอนุกรมวิธาน และความหลากหลายทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญที่เป็นประโยชน์ในการวิจัยเพื่อแก้ไขปัญหาโรคพืชของประเทศไทยต่อไป และจะเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช เพื่อการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ในขบวนการนำเข้า ส่งออกพืชผลเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Phomopsis* spp.

2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษฟาง กล่องเก็บความเย็น

3. กรอบไม้อัดตัวอย่างโรคพืช กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์

4.วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

5. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar

6. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

วิธีการ

1. สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคในแปลงปลูก

สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากรา *Phomopsis* spp.ในแปลงปลูกของเกษตรกร ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึง กันยายน 2550 เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ ส่วนของ ใบ ดอก ผล กิ่ง และลำต้น ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช ซึ่งมีรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ บรรจุลงในกล่อง

เก็บความเย็น นำมาวินิจัย และจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช และแบ่งตัวอย่างโรคพืชส่วนหนึ่งมาอัดทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การแยกเชื้อ เก็บเชื้อบริสุทธิ์ และจำแนกชนิดรา *Phomopsis* spp.

แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant โดยนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-7 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ และเลี้ยงบนอาหาร PDA

จำแนกชนิดราโดย

- ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราสร้าง fruiting body ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนสไลด์ ตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ถ่ายรูปลักษณะเชื้อและบันทึกลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อ

- ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ โดยนำราที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar บ่มที่อุณหภูมิ 32±2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ตรวจดูลักษณะ ขนาด สี ของเส้นใย สปอร์ และ fruiting body ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

3. ความสามารถในการเกิดโรค

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงขยายบนอาหาร PDA จนกระทั่งราอายุ 7 วัน และนำไปปลูกเชื้อบนส่วนของพืช ได้แก่ ใบ กิ่ง ลำต้น หรือผล เป็นต้น สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกเชื้อด้วยอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุ นำส่วนที่เป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุตามวิธีการ Koch's postulate

4. เก็บรักษาสายพันธุ์รา

เชื้อราที่แยกได้นั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

5. การจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

โดยเลือกส่วนของพืชที่เป็นโรค วางบนกระดาษฟาง พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช และปิดทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ อัดตัวอย่างโรคด้วยกรอบไม้ วางผึ่งลม ไม่ให้ถูกแดด เปลี่ยนกระดาษทุกวัน จนตัวอย่างแห้ง จึงนำมาเก็บในถุงเก็บตัวอย่างแห้ง ลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง

ตามระบบสากล เช่น ชนิดพืช ลักษณะอาการ ชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืช วันที่ ผู้เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง ผู้จัดจำแนกชนิดเชื้อรา เป็นต้น แล้วส่งตัวอย่างแห้งโรคราสนิมของพืช เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2549 **สิ้นสุด** กันยายน 2550

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคในแปลงปลูก

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึง กันยายน 2550 ได้ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อราสกุล Phomopsis จากแปลงปลูกพืชของเกษตรกร ทั้งหมดจำนวน 52 ตัวอย่าง บนพืช 12 ชนิด จากพื้นที่ 13 จังหวัด ได้แก่ สุพรรณบุรี ราชบุรี นครปฐม เพชรบุรี กาญจนบุรี นครราชสีมา ชุมพร สุราษฎร์ธานี พังงา นครสวรรค์ ลำปาง ลำพูน และเชียงราย ได้ตัวอย่างโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ผลการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak โรคก้นผลเน่าของฝรั่ง 3 ตัวอย่าง จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis psidii* Nag Raj & Ponnappa โรคผลเน่าของมะเขือยาว 1 ตัวอย่าง จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis vexans* (Sacc. & Sydow) Harter และ อาการที่ใบจุดของลำใย จำนวน 2 ตัวอย่าง จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่าเกิดจากรา *Phomopsis* sp. (ตารางที่1) และได้ตัวอย่างอาการแผลจุด ไหม้ บนใบ ก้าน ลำต้น และผล หรือผลเน่า ซึ่งคาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Phomopsis* spp. ของมะเฟือง ทับทิม ลิ้นจี่ ฝรั่ง มะเขือยาว มะพร้าว ปาล์ม มะลิ ผักหวาน พืชตระกูลเฮลิโคเนีย และข่า รวม 26 ตัวอย่าง หลังจากนำมาศึกษาเพื่อ จำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุพบว่าไม่ได้เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis* spp.

ตารางที่ 1 โรคพืช เชื้อสาเหตุ และแหล่งที่พบ จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อราสกุล Phomopsis ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึง กันยายน 2550

โรคพืช	เชื้อสาเหตุ	แหล่งที่พบ
ลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง	*Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak	อ.บ้านโป่ง และอ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี อ.ท่ายาง และอ.ชะอำ จ.เพชรบุรี อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม อ.อู่ทอง และอ.สองพี่น้อง จ.สุพรรณบุรี อ.เมือง อ.ท่าม่วง และ อ.พนมทวน จ. กาญจนบุรี
ก้นผลเน่า ของฝรั่ง	*Phomopsis psidii* Nag Raj & Ponnappa	อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี จ.เพชรบุรี และจ.พังงา
ผลเน่าของมะเขือยาว	*Phomopsis vexans* (Sacc. & Sydow) Harter	อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี
ใบจุดของลำไย	*Phomopsis* sp.	จ.ลำปาง และลำพูน

2. การแยกเชื้อ เก็บเชื้อบริสุทธิ์ และการจำแนกชนิดรา *Phomopsis* spp.ในห้องปฏิบัติการ

หลังจากแยกเชื้อ ได้เชื้อรา *Phomopsis* spp.บริสุทธิ์ จึงนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การจัดจำแนกชนิดรา โดยศึกษาลักษณะของเชื้อบนชิ้นส่วนพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA และ ลักษณะ ขนาด สี ของเส้นใย สปอร์ และ fruiting body ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้ผลดังนี้

<u>โรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง</u>

ราสร้าง pycnidia สีน้ำตาลเข้ม ถึงดำรูปร่างค่อนข้างกลม (nearly globose) มีช่องเปิด ฝังในเนื้อเยื่อพืช conidiophore ไม่ซับซ้อน conidia เซลเดียว ไม่มีสี alpha conidia รูปไข่ (ovoid ถึง fusoid) ขนาด 7-8.5 x 2-2.5 ไมครอน และ beta conidia รูปร่างยาว (filiform)ปลายโค้ง ขนาด 18-30 x 0.5 ไมครอน ลักษณะโคโลนีบนอาหารPDA เส้นใยหยาบสีขาว

ผลการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak

<u>โรคก้นผลเน่าของฝรั่ง</u>

ราสร้าง pycnidia สีน้ำตาลเข้ม ถึงดำรูปร่างค่อนข้างกลม (nearly globose) มีช่องเปิด ฝังในเนื้อเยื่อพืช conidiophore ไม่ซับซ้อน conidia เซลเดียว ไม่มีสี alpha conidia รูปไข่ (ovoid ถึง

fusoid) ขนาด 7 x 2 ไมครอน และ beta conidia รูปร่างยาว (filiform)ปลายโค้ง ขนาด 24 x 1.5 ไมครอน ลักษณะโคโลนีบนอาหารPDA เส้นใยหยาบสีขาว

ผลการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis psidii* Nag Raj&Ponnappa

<u>โรคผลเน่าของมะเขือยาว</u>

ราสร้าง pycnidia สีน้ำตาลเข้ม ถึงดำรูปร่างค่อนข้างกลม (nearly globose) มีช่องเปิด ฝังในเนื้อเยื่อพืช conidiophore ไม่ซับซ้อน conidia เซลเดียว ไม่มีสี alpha conidia รูปไข่ (ovoid ถึง fusoid) ขนาด 5-9 x 2.5 ไมครอน และ beta conidia รูปร่างยาว (filiform)ปลายโค้ง ขนาด 20-30 x 0.5-1 ไมครอน ลักษณะโคโลนีบนอาหารPDA เส้นใยหยาบสีขาว

ผลการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis vexans* (Sacc. & Sydow) Harter

<u>ใบจุดของลำไย</u>

ราสร้าง pycnidia สีน้ำตาลเข้ม ถึงดำรูปร่างค่อนข้างกลม (nearly globose) มีช่องเปิด ฝังในเนื้อเยื่อพืช conidiophore ไม่ซับซ้อน conidia เซลเดียว ไม่มีสี alpha conidia รูปไข่ (ovoid ถึง fusoid) และ beta conidia รูปร่างยาว (filiform)ปลายโค้ง ลักษณะโคโลนีบนอาหารPDA เส้นใยหยาบสีขาว

ผลการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ พบว่า เกิดจากรา *Phomopsis* sp.

3. ความสามารถในการเกิดโรค

นำเชื้อ *Phomopsis* spp.บริสุทธิ์ที่แยกได้จากพืชแต่ละชนิด มาเลี้ยงขยายบนอาหาร PDA และนำไปปลูกเชื้อบนต้นหน่อไม้ฝรั่ง ผลฝรั่ง และ ผลมะเขือยาว สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกเชื้อด้วยอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุ พบว่าพืชแสดงอาการโรค และเมื่อนำส่วนที่เป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุตามวิธีการ Koch's postulate พบว่าเป็นเชื้อ *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak *Phomopsis psidii* Nag Raj & Ponnappa และ *Phomopsis vexans* (Sacc. & Sydow)

4. เก็บรักษาสายพันธุ์รา

เชื้อรา *Phomopsis* spp.ที่แยกได้จำนวน 26 ไอโซเลทนั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยเก็บรักษาไว้ใน Culture Collection กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

5. การจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ได้จัดทำตัวอย่างแห้งของโรคพืชที่เกิดจากรา *Phomopsis* spp. ที่ได้จากการสำรวจและเก็บตัวอย่าง ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึง กันยายน 2550 โดยลงรายละเอียดข้อมูล ตัวอย่างตามระบบสากล เช่น ชนิดพืช ลักษณะอาการ ชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคพืช วันที่ ผู้เก็บ สถานที่เก็บตัวอย่าง ผู้จัดจำแนกชนิดเชื้อรา เพื่อส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช จำนวน 26 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในแปลงปลูกพืชของเกษตรกร ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึง กันยายน 2550 ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราสกุล Phomopsis ทั้งหมดจำนวน 26 ตัวอย่าง บนพืช 4 ชนิด และจัดจำแนกชนิดของราได้ 3 ชนิด คือ *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง *Phomopsis psidii* Nag Raj & Ponnappa สาเหตุโรคก้นผลเน่าของฝรั่ง และ *Phomopsis vexans* (Sacc. & Sydow) Harter สาเหตุโรคผลเน่าของมะเขือยาว ส่วนอาการใบจุดของลำใย จำแนกชนิดเบื้องต้นว่าเกิดจากรา *Phomopsis* spp. และได้เก็บตัวอย่างแห้งโรคพืช พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เพื่อส่งพิพิธภัณฑ์โรคพืช รวมจำนวน 26 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 2546. ศัตรูโรคฝรั่ง.*ใน* เอกสารวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร.กรุงเทพฯ. 42 หน้า

Barnett, H.L. and B. B. Hunter. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition., The American Phytopathological Society,.Minnesota. 218 p.

Holliday, P.1998. A Dictionary of Plant Pathology. Second Edition. Cambridge University Press, United Kingdom. 536p.

Sangchote, S. and Pongpisuta, R. 1995. Fruit Rots of Mangosteen and Their Control. ACIAR. Project No.9313, Annual Report 1995, Department of Plant Pathology, Kasetsart University, Bangkok.

รวบรวม จำแนกและเก็บรักษาราสาเหตุโรคพืชสกุล *Pestalotiopsis*

Collection Identification and Preservation of Plant Pathogenic Fungi, *Pestalotiopsis*

ธารทิพย ภาสบุตร ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี อภิรัชต์ สมฤทธิ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการใบจุดและผลเน่า ทั้งพืชปลูกและพืชที่ขึ้นตามธรรมชาติในท้องที่จังหวัด กาญจนบุรี เพชรบุรี เชียงใหม่ นครราชสีมา ชุมพร นครศรีธรรมราช และสุราษฎร์ธานี ในระหว่างระหว่างเดือน ตุลาคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2550 ได้ตัวอย่างพืชจำนวน 48 ตัวอย่าง เมื่อศึกษาลักษณะอาการของโรค แยกราสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชได้ราสกุล *Pestalotiopsis* จำนวน 28 ไอโซเลท และผลการจำแนกชนิด (species) ของราสกุล *Pestalotiopsis* โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำแนกได้ 4 ชนิด คือ *Pestalotiopsis psidii* แยกได้จากฝรั่งที่แสดงอาการผลเน่าแห้ง *Pestalotiopsis palmarum* แยกได้จากมะพร้าว สละ และกล้วยที่แสดงอาการใบจุด *Pestalotiopsis theae* แยกได้จากชาที่แสดงอาการใบไหม้ *Pestaltiopsis flagisetula* แยกได้จากมังคุดที่แสดงอาการใบจุด ส่วนผลการเก็บรักษาราสกุล *Pestalotiopsis* ไอโซเลทต่างๆด้วยวิธีการ เก็บในสภาพแห้งสุญญากาศ (Freeze-dry) และเก็บในสภาพเย็นยิ่งยวด (cryopreservation) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส พบว่าหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือนเมื่อทำการตรวจความมีชีวิตและความบริสุทธิ์ของรา รายังสามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้ โดยไม่พบการปนเปื้อนและสร้างโคนิเดีย ได้ดี

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราสกุล *Pestalotiopsis* จัดอยู่ใน subdivision Deuteromycotina form–class Coelomycetes form–order Melanconiales form-family Melanconiaceae (Ainsworth, 1973) ลักษณะโดยทั่วไป สร้างเส้นใยฝังอยู่ในผิวพืช โคนิเดียม (conidium) สร้างในโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า อเซอวูลัส (acervulus) ที่มีรูปร่างแบบ cushion-shape เกิดบนพืชโดยสร้างอยู่ใต้ชั้น cuticle หรือ epidermis โคนิเดียเกิดบนก้าน (conidiophore) ซึ่งมีกำเนิดจาก stromatic cell ของอเซอวูลัส เมื่อแก่จะดันผิวพืชให้แตกออก เมื่อนำรามาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ราจะสร้างโคนิเดียกระจายเป็นกลุ่มๆบน stromatic cell คล้าย sporodochium มีลักษณะเป็นเมือก (slimy) สีดำ โคนิเดียเดี่ยวๆรูปร่าง fusiform ตรง มีผนังกั้น(septa) 4 เส้น แบ่งเซลล์ เป็น 5 เซลล์ มีสีเข้ม ยกเว้นเซลล์หัวท้าย ไม่มีสี เซลล์ฐานมี basal appendage 1 เส้น เซลล์ปลายมี apical appendage 2-5 เส้น ลักษณะเป็นเส้นยาว ไม่มีสี

Pestalotiopsis spp. เป็นราที่พบได้ทั่วไปมีหลายชนิดที่เป็นสาเหตุโรคของพืชเช่น *Pestalotiopsis mangiferae* เป็นสาเหตุโรคใบจุดสีเทาของมะม่วง *Pestalotiopsis versicolor* เป็นสาเหตุโรคใบจุดของสบู่ดำ *Pestalotiopsis flagisetula* เป็นสาเหตุโรคแผลแตกยางไหลของกิ่งและผลเน่าหลังเก็บเกี่ยวของมังคุด Holliday (1980) รายงานว่า *Pestalotiopsis* spp. เป็นราที่มักพบในประเทศแถบมรสุม เป็นสาเหตุของโรคใบจุด ทำให้เกิดโรคใบจุดกับพืชตระกูลปาล์มและโรคใบไหม้สีเทาของชา ราชนิดนี้ไม่มีความเฉพาะเจาะจงต่อพืชอาศัยชนิดใดชนิดหนึ่ง มักพบราชนิดนี้เข้าทำลายพืชซ้ำเติมหลังจากมีการติดเชื้ออื่นแล้วเสมอๆ ในประเทศไทยมีรายงานว่า *Pestalotiopsis* spp. สามารถก่อให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิดเช่น ลิ้นกระบือ เข็มป่า ยางพารา กล้วย ชา ชมพู่ สาลี่ (พัฒนาและคณะ, 2537) ดังนั้นการเก็บรวบรวมตัวอย่างและศึกษาให้ได้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Pestalotiopsis* สาเหตุโรคพืช เพื่อจำแนกชนิด (species) ในแต่ละปีจึงเป็นสิ่งจำเป็น ทั้งนี้เพื่อให้ทราบการเกิดโรค การระบาดของโรค แหล่งแพร่กระจาย ความผันแปร (variation) ของราที่อาจจะเกิดขึ้น และได้ culture ของราไอโซเลทต่างๆ ที่จัดจำแนกชื่อชนิดแล้ว พร้อมข้อมูลเก็บรักษาไว้ใน culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาและวิจัยอื่นๆเช่น การศึกษาทางด้านอณูชีววิทยา เปรียบเทียบการจัดจำแนกทาง DNA กับการจำแนกทางสัณฐานวิทยาเพื่อยืนยันชื่อที่ถูกต้องของราบางชนิด หรือศึกษาการสร้างสารพิษ การมีประโยชน์อื่นๆ รวมถึงการเป็นข้อมูลสำหรับจัดทำรายชื่อศัตรูพืช (pest list) เป็นต้น

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในประเทศไทย
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Water Agar (WA), Potato Dextrose Agar (PDA)
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง ตู้เขี่ยเชื้อ กล้องถ่ายภาพและอุปกรณ์ต่างๆในห้องปฏิบัติการ
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส เครื่อง Freeze Dryer ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างและการเก็บรักษาตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

สำรวจรวบรวมตัวอย่างพืชที่แสดงอาการใบจุดและผลเน่า ทั้งพืชปลูกและพืชที่ขึ้นตามธรรมชาติจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย บันทึกข้อมูลสถานที่ ลักษณะอาการ เลือกเก็บใบและส่วนต่างๆของพืชที่แสดงอาการของโรคมาทำ herbarium ซึ่งใช้กระดาษหนังสือพิมพ์วางบนแผงไม้ ผึ่งลมไม่ให้ถูกแสงแดด เปลี่ยนกระดาษทุกวัน เพื่อให้สีพืชคงอยู่และไม่มีราอื่นปนเนื่องจากความชื้น เมื่อตัวอย่างพืชแห้งจึงนำมาเก็บในถุงกระดาษเก็บตัวอย่างพร้อมบันทึกข้อมูลที่สำคัญส่งพิพิธภัณฑ์โรคพืช

2. การศึกษาจำแนกชนิดและการแยกราสาเหตุโรคออกจากพืชที่เป็นโรค

2.1 วิธีการเพาะเชื้อในที่ชื้น (Moist chamber method)

นำชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรควางบนกระดาษกรองที่ชุ่มน้ำในจานเลี้ยงเชื้อ นำไปไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เมื่อพบการสร้างกลุ่มโคนิเดียแล้ว

- เขี่ยกลุ่มโคนิเดียจากชิ้นส่วนพืชนำไปเลี้ยงให้บริสุทธิ์โดยการทำสปอร์เดี่ยว
- เขี่ยกลุ่มโคนิเดียจากชิ้นส่วนพืชลงบนสไลด์แล้วหยด mounting medium ปิด cover slip เพื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2.2 วิธีการตัดเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Tissue transplanting method)

ตัดชิ้นส่วนพืชระหว่างส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติให้มี ขนาด 3 x 3 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อบริเวณผิวของชิ้นส่วนพืชด้วยคลอรอกซ์ (clorox) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที วางชิ้นส่วนพืชลงบนอาหาร WA ในจานเลี้ยงเชื้อ นำไปไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เมื่อเส้นใยเจริญออกมาตัดปลายเส้นใยย้ายไปเลี้ยงในจานอาหาร

PDA แล้วนำไปไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ และแสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียสเช่นเดียวกัน เป็นเวลา 7 วันหรือจนกระทั่งราสร้างกลุ่มโคนิเดีย จากนั้นเขี่ยกลุ่มโคนิเดียออกจากอาหารเพื่อนำไปเลี้ยงให้บริสุทธิ์อีกครั้งโดยการทำสปอร์เดี่ยวและเขี่ยกลุ่มโคนิเดียออกจากอาหารลงบนสไลด์แล้วหยด mounting medium ปิด cover slip เพื่อตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การเลี้ยงรา *Pestalotiopsis* spp.ให้บริสุทธิ์โดยการทำสปอร์เดี่ยว (Single spore technique)

เขี่ยกลุ่มโคนิเดียของราลงในหลอดแก้วที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้โคนิเดียกระจายตัวในน้ำ ตรวจสอบความหนาแน่นของสปอร์ที่เหมาะสมโดยใช้ห่วงลวด (loop) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะโคนิเดียแขวนลอยมาวางบนแผ่นแก้วสไลด์ ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (X100) ให้มีจำนวนโคนิเดียประมาณ 10 โคนิเดียต่อพื้นที่การมองเห็น (10 conidia / low-power (X100) microscope field) หลังจากนั้นใช้ห่วงลวดที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในโคนิเดียแขวนลอย แล้วลากเส้นลงบนผิวหน้าอาหาร WA บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ตรวจการงอกของโคนิเดียภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำโดยตรวจดูจากด้านใต้จานอาหาร เมื่อพบว่าโคนิเดียมีเส้นใยงอกออกมาและอยู่ห่างจากโคนิเดียอื่นๆ จึงใช้ปากกาเขียนแก้วทำจุดเครื่องหมายไว้ที่จานอาหาร จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเล็กที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเจาะชิ้นวุ้นตรงตำแหน่งที่ทำเครื่องหมายไว้ ใช้เข็มเขี่ยที่ฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยย้ายชิ้นวุ้นไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ
25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จึงนำเชื้อที่ได้ไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4. การเก็บรักษารา *Pestalotiopsis* spp.บริสุทธิ์ที่จำแนกชนิดแล้ว

4.1 การเก็บในการเก็บในสภาพเย็นยิ่งยวด (cryopreservation) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

เตรียมกลีเซอรีน 10 เปอร์เซ็นต์ ใส่ขวดแก้วขวดละ 4 มิลลิลิตร ปิดฝา แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยปลายเส้นใยของราบริสุทธิ์ อายุ 7 วันที่เจริญอยู่บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ วางลงในหลอดอาหารเอียง PCA จากนั้นวางหลอดไว้ใต้แสงหลอด NUV 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน จนพบว่าเชื้อราสร้าง conidial mass จากนั้นนำกลีเซอรีน 10 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมไว้ มาเทใส่หลอดอาหารเอียงที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ขูดสปอร์ของเชื้อราให้ออกมาอยู่ในกลีเซอรีน แล้วจึงดูดสารแขวนลอยสปอร์ใส่ลงในหลอด cryotube หลอดละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด นำไปเก็บรักษาไว้ในตู้ – 80 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการมีชีวิตหลังการเก็บรักษาทุก 6 เดือน

4.2 การเก็บในสภาพแห้งสุญญากาศ (freeze-dry)

การเตรียมหลอด (ampoule) สำหรับเก็บเชื้อ

นำหลอดใหม่มาแช่กรด HCL 2 เปอร์เซ็นต์หนึ่งคืน แล้วล้างด้วยน้ำ 3 ครั้ง จากนั้นแช่หลอดด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ 1 คืน นำหลอดขึ้นมาผึ่งให้แห้ง แล้วอบด้วย hot air oven จากนั้นเตรียมแผ่นป้ายกระดาษเขียนข้อมูลของเชื้อราใส่ลงในหลอด ปิดจุกสำลี นำหลอดที่ได้ห่อด้วยกระดาษฟอยล์นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

การเตรียม Suspending medium

Suspending medium หมายถึง ของเหลวที่ใช้ผสมกับเซลล์หรือโคนิเดียของจุลินทรีย์ก่อนนำไปเข้ากระบวนการ lyophilization โดยมีคุณสมบัติที่ช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์หรือโคนิเดียแตกสลาย และของเหลวนั้นสามารถละลายกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ง่าย ในการศึกษานี้ใช้ skim milk 10 เปอร์เซ็นต์ นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เสร็จแล้วนำมาใส่ในน้ำเย็นทันที วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อซ้ำอีกครั้ง

ขั้นตอนการเก็บรักษา

เลี้ยงราในหลอดอาหารเอียง PCA ภายใต้แสงหลอด NUV 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน จนพบว่าเชื้อราสร้าง conidial mass ใช้ skim milk 10 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมไว้ผสมกับเชื้อราที่เลี้ยงไว้ในหลอดอาหารเอียง ทำให้สปอร์หลุดกระจายออกมาอยู่ใน skim milk อย่างสม่ำเสมอ ย้ายสารแขวนลอยสปอร์ที่ได้ใส่ในหลอด ampoule ที่เตรียมไว้ หลอดละ 0.2 มิลลิลิตรโดยประมาณ โดยไม่ให้นมเปื้อนที่ข้างหลอดและไม่ให้มีฟองอากาศ นำหลอด ampoule ไปเข้าเครื่อง Ffreeze dryer ในระยะ primary dryเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาอุดจุกสำลี แล้วนำหลอด ampoule มาทำ constriction แล้วนำเข้าเครื่อง Freeze dryer ในระยะ secondary dry เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาใช้ไฟลนปิดหลอด ขณะอยู่ในสภาพสุญญากาศ นำampoule เชื้อที่ได้มาทดสอบสภาพสุญญากาศโดยใช้ vacuum test จากนั้นจึงนำหลอดที่เป็นสุญญากาศไปเก็บรักษาไว้ในตู้มืดที่ควบคุมอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการมีชีวิตหลังการเก็บรักษาทุก 6 เดือน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้น ตุลาคม 2549
	สิ้นสุด กันยายน 2550
สถานที่ทำการทดลอง	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	แหล่งปลูกพืชต่างๆในประเทศไทย

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการสำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการใบจุดและผลเน่า ในท้องที่จังหวัด กาญจนบุรี เพชรบุรี เชียงใหม่ นครราชสีมา ชุมพร และสุราษฎร์ธานี ในระหว่างระหว่างเดือน ตุลาคม 2549 ถึง เดือนกันยายน 2550 ได้ตัวอย่างพืชจำนวน 48 ตัวอย่าง ศึกษาลักษณะอาการของโรคและแยกราสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืช ได้ราสกุล *Pestalotiopsis* จำนวน 28 ไอโซเลท จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้วจำแนกชนิด (species) ราสกุล *Pestalotiopsis* พบว่าจำแนกได้ 4 ชนิด คือ *Pestaltiopsis flagisetula* แยกได้จากมังคุดที่แสดงอาการใบจุด *Pestalotiopsis palmarum* แยกได้จากมะพร้าว สละ และกล้วยที่แสดงอาการใบจุด *Pestalotiopsis psidii* แยกได้จากฝรั่งที่แสดงอาการแคงเกอร์ *Pestalotiopsis theae* แยกได้จากชาที่แสดงอาการใบไหม้ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. โรคใบจุดมังคุด

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างมังคุด (*Garcinia mangostana*) ที่แสดงอาการใบจุดจากจังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช มาแยกเชื้อสาเหตุโรคได้เป็นรา *Pestalotiopsis* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท

ลักษณะอาการที่พบ ใบเป็นแผลสีน้ำตาล หรือน้ำตาลปนเทา ขอบแผลมีสีม่วงเข้ม ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับความรุนแรงของอาการ แผลเก่าบริเวณกลางแผลเนื้อเยื่อพืชเปลี่ยนเป็นสีเทา อาจจะเห็นผงหรือเม็ดเล็กๆสีดำกระจายอยู่ ซึ่งผงดำๆเหล่านี้คือโครงสร้างสืบพันธุ์ที่เรียกว่า acervulus

การจำแนกชนิดราสาเหตุ ลักษณะทางสัณฐานของรา โครงสร้างสืบพันธุ์แบบปากเปิด (acervulus) เกิดฝังอยู่ใต้ผิวบนแผลด้านบนใบ รูปร่างค่อนข้างกลม สีดำ ขนาด 78.0 -152.0 ไมครอน มีช่องเปิดอยู่ที่ผิวใบและมีโคนิเดีย (conidia) เกิดเป็นกลุ่มในสารเมือกสีดำเกาะอยู่ ก้านชูสปอร์ (conidiophore) ก้านชูสปอร์รูปร่างทรงกระบอก ไม่มีสีไม่แตกแขนง โคนิเดียรูปร่างคล้ายกระสวย ตรงหรือโค้งเล็กน้อย มี 5 เซลล์ มีผนังกั้น 4 อัน ขนาด 5.18 - 7.77 x 18.13 - 23.31 ไมครอน เซลล์หัว ท้ายไม่มีสี เซลล์ที่อยู่ตรงกลางสีน้ำตาลหรือน้ำตาลเข้ม เซลล์ที่ฐานมีระยางค์ (appendage) 1 เส้น ไม่แตกแขนง ความยาว 1.0 - 5.0 ไมครอน เซลล์ปลายสุดมีระยางค์ 2 - 5 เส้น ส่วนใหญ่มี 3 เส้น ไม่แตกแขนง ความยาว 11.0 - 20.0 ไมครอน บนอาหาร PDA ราเจริญค่อนข้างรวดเร็ว เส้นใยสีขาวและแน่นทึบ มีกลุ่ม โคนิเดียลักษณะเป็นเมือกสีดำกระจายทั่วโคโลนี จากการศึกษาและใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Guba (1961) จำแนกชนิดได้เป็น *Pestaltiopsis flagisetula* (Guba) Stay ชื่อพ้อง *Pestalotia flagisetula Guba*

โรคนี้ถ้าเกิดความรุนแรงบนใบจะทำให้ใบสูญเสียเนื้อที่ในการ สังเคราะห์แสง มีผลกระทบกับการเจริญเติบโตบ้างแต่ถ้าการระบาดรุนแรงมากอาจจะทำให้ใบเป็นโรคร่วง โรคนี้พบได้ทั่วไปใน

แหล่งปลูกมังคุดของประเทศไทย ไม่มีรายงานความเสียหายที่เกิดจากโรคนี้ มีแต่เพียงรายงานการพบโรค (www.doa.go.th/pl_data/MANSTEEN/)

2. โรคใบจุดมะพร้าว สละ กล้วย

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างมะพร้าว สละ และกล้วยที่แสดงอาการใบจุดจากจังหวัดชุมพร และสุราษฎร์ธานี แยกเชื้อสาเหตุโรคได้เป็นรา *Pestalotiopsis* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท

ลักษณะอาการที่พบ ใบกล้วย (*Musa sapientum* Linn.) แผลมีลักษณะกลมรีสีน้ำตาลเหลือง ขอบแผลสีน้ำตาลเข้มและมีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลเก่าขนาดจะขยายใหญ่เนื้อเยื่อตรงกลางแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนถึงสีเทา มี acervulus สีดำมากมายลักษณะเป็น zonate ขึ้นที่ด้านบนใบโดยเริ่มปรากฏจากตรงกลางแผล

ลักษณะอาการที่พบ ใบมะพร้าว (*Cocos nucifera* L. var. *nucifera*) และใบสละ (*Zalacca edulis*) แผลมีลักษณะเป็นวงรีสีน้ำตาลเหลือง ขอบแผลสีน้ำตาลเข้มและมีวงสีเหลืองล้อมรอบ เมื่อแผลขยายใหญ่เนื้อเยื่อตรงกลางแผลจะแห้งและเปลี่ยนสีเป็นสีเทา มี acervulus สีดำลักษณะเป็น zonate ขึ้นที่ด้านบนใบ

การจำแนกชนิดราสาเหตุ ลักษณะทางสัณฐานของรา acervulus รูปร่างกลมรีและนูนคล้ายเลนส์ มีช่องเปิดภายในมีโคนิเดียและจะถูกปล่อยออกมากลุ่มลักษณะเป็นเมือกสีดำทางรอยแยกของ epidermis ก้านชูสปอร์ เกิดจากผนังของ acervuli รูปร่างแบบทรงกระบอก ถึงรูปไข่คว่ำ ไม่มีสี อาจมีการแตกแขนงสั้นๆ 1 - 2 แขนง โคนิเดียหัวท้ายเรียว ตรงกลางป่อง คล้ายกระสวยหรือรูปวงรี ตรงหรือโค้งเล็กน้อย ขนาด 4.5 - 7.5 x 17.00 - 25.00 ไมครอน มี 5 เซลล์ ผนังกั้น (septum) ระหว่างเซลล์มีรอยคอด 3 เซลล์กลางยาว 11.5 - 16.5 ไมครอน 2 เซลล์ด้านบนมีสีเข้มกว่า 1 เซลล์ด้านล่าง และมีผนังกั้นสีเข้มที่สุดกั้นแบ่งระหว่างเซลล์ เซลล์ปลายสุด 2 ด้านใส apical appendage มี 2 - 4 เส้น แต่ส่วนใหญ่จะมี 3 เส้น ไม่มีสี รูปร่างทรงกระบอก ส่วนปลายมน ยาว 5 - 12 ไมครอน ฐานของโคนิเดียมี basal appendage 1 เส้น ลักษณะตรงไม่มีสี ยาว 2 - 6 ไมครอน โคโลนีของราเมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA มีสีขาวเทา เจริญเป็นวง (clear diurnal zonation) ตามการเจริญของเส้นใยและการสร้าง acervuli เส้นใยละเอียดหนาแน่น เมื่อเจริญเต็มที่จะสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็นของเหลวข้นสีดำ จากการศึกษาและใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Guba (1961) และ Mordue (1971) จำแนกชนิดได้เป็น *Pestalotiopsis palmarum* (Cooke) Stey. ชื่อพ้อง *Pestalotia palmarum* Cooke *Pestalotia palmicola* Sacc. & Syd.

3. โรคผลเน่าแห้งหรือแคงเกอร์ของฝรั่ง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างผลฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.) ที่แสดงอาการผลเน่าแห้งหรือแคงเกอร์จากจังหวัดนครราชสีมา กาญจนบุรี และเพชรบุรี มาแยกเชื้อสาเหตุโรคได้เป็นรา *Pestalotiopsis* spp. จำนวน 3 ไอโซเลท

ลักษณะอาการที่พบ พบการเข้าทำลายผลฝรั่งตั้งแต่ผลอ่อนโดยเริ่มแรกเกิดแผลจุดฉ่ำน้ำบนผลฝรั่งเนื่องจากแมลงเจาะดูดกินน้ำเลี้ยงในผล เกิดเป็นแผลสีดำ เมื่อรา *P. psidii* เข้าทำลายโดยทางแผลเป็น secondary infection แผลจะขยายใหญ่ขึ้น สีน้ำตาลดำ ขอบแผลนูนขึ้น ตรงกลางบุ๋มเป็นแอ่งเล็กน้อย ผิวบริเวณกลางแผลแตกเปิดออกและแห้งเป็นสะเก็ด

การจำแนกชนิดราสาเหตุ ลักษณะทางสัณฐานของรา โคนิเดียรูปร่างคล้ายกระสวย ตรง ขนาด 7.35 - 9.66 x 20.49 - 25.10 ไมครอน มี 5 เซลล์ ผนังกั้นระหว่างเซลล์มีรอยคอด (constrict) 3 เซลล์กลางยาว 13 - 17 ไมครอน สีน้ำตาลหรือน้ำตาลเข้ม 2 เซลล์ด้านบนมีสีเข้มกว่า 1 เซลล์ด้านล่าง เซลล์ปลายสุด 2 ด้านใสไม่มีสี บริเวณเซลล์ใสด้านบนจะมี apical appendage 3 เส้น บางครั้งพบ 2 หรือ 4 เส้น ยาว 8 - 16 ไมครอน เซลล์ใสด้านล่างมี basal appendage 1 เส้น ลักษณะตรงไม่มีสี ยาว 2 - 6 ไมครอน โคโลนีของราบนอาหาร PDA มีสีขาวเทา เส้นใยหนาแน่น ก้านชูสปอร์สร้างอยู่ใน acervulus ซึ่งเป็นกลุ่มของเส้นใยที่อัดตัวกันแน่น เมื่อเส้นใยเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะสร้างกลุ่มสปอร์สีดำ มีลักษณะเป็นของเหลวข้น กระจายทั่วโคโลนี จากการศึกษาและใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Guba (1961) จำแนกชนิดได้เป็น *Pestalotiopsis psidii* (Pat) Mordue ชื่อพ้อง *Pestalotia disseminata* Thuem *Pestalotia eucalypti* Thuem *Pestalotia molleriana* Thuem *Pestalotia psidii* Pat *Pestalotiopsis psidii* (Pat) Mordue

กรรณิการ์และคณะ(2538) รายงานว่าพบรา *Pestalotiopsis psidii* จากการเก็บตัวอย่างฝรั่งที่เป็นโรคกิ่งแห้งและโรคผลเน่าแห้งมาแยกเชื้อศึกษาราสาเหตุโรค

4. โรคใบไหม้สีเทา (grey blight) ของชา

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างใบชา (*Camellia sinensis*) ที่แสดงอาการใบจุดและใบไหม้จากจังหวัดเชียงใหม่ มาแยกเชื้อสาเหตุโรคได้เป็นรา *Pestalotiopsis* spp. จำนวน 3 ไอโซเลท

ลักษณะอาการที่พบ เกิดแผลสีเทาบนใบแก่ แผลมีรูปร่างค่อนข้างกลม ส่วนแผลที่เกิดที่ขอบใบมีรูปร่างไม่แน่นอน มี acervulus เป็นจุดเล็กๆเกิดบนแผลลักษณะเป็น zonate

การจำแนกชนิดราสาเหตุ ลักษณะทางสัณฐานของราโครงสร้างสืบพันธุ์แบบปากเปิด acervulus เกิดบนแผลทั้ง 2 ด้านของใบ แต่จะพบด้านบนใบมากกว่าด้านใต้ใบ รูปร่างกลม ถึง lenticular มีช่องเปิดอยู่ที่ผิวใบ และจะมีกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็นของเหลวข้นสีดำเกาะอยู่ ก้านชูสปอร์รูปร่างทรงกระบอก เกิดจากผนังของ acervuli ไม่มีสี โคนิเดียตรง หัวท้ายเรียว ตรงกลางป่อง รูปร่างคล้ายกระสวยขนาด 6.3 - 9.4 x 23.0 - 33.4 ไมครอน มี 5 เซลล์ ผนังกั้นระหว่างเซลล์มีรอยคอด 3 เซลล์กลางมีสีเข้มเท่ากันทั้ง 3 เซลล์ pยาว 4 – 6 ไครอน เซลล์ปลายสุด 2 ด้านใส ด้านบนของโคนิเดียมี apical appendage 2 - 4 เส้น แต่ส่วนใหญ่จะมี 3 เส้น ไม่มีสี รูปร่างทรงกระบอก ส่วนปลายของ appendage มีขนาดโตและกลมมน ยาว 18.8 - 54.3 ไมครอน ที่ฐานของ โคนิเดีย

มี basal appendage 1 เส้น ลักษณะตรงไม่มีสี ยาว 2.1 - 6.3 ไมครอน โคโลนีของราเมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA มีสีขาวเทา เจริญเป็นวง (clear diurnal zonation) ตามการเจริญของเส้นใยและการสร้าง acervuli เส้นใยละเอียดหนาแน่น เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่จะสร้างกลุ่มโคนิเดียลักษณะเป็นของเหลวข้นสีดำเกาะอยู่บน acervuli จากการศึกษาและใช้เอกสารประกอบการจำแนกชนิดของ Guba (1961) Mordue (1971) และวิรัช และคณะ (2529) จำแนกชนิดได้เป็น *Pestalotiopsis theae* (Sawada) Stey. ชื่อพ้อง *Pestalotia theae* Sawada

มีรายงานว่า *P.guepini* (Desm.) Stey. เป็นราอีกชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุโรคกิ่งแห้ง โรค grey leaf spot โรค stem canker และโรค petal rot ของชา (Mordue, 1971) แต่มีขนาดเล็กและ appendage สั้นกว่า *P. theae* .ในประเทศไทยวิรัช และคณะ (2529) รายงานว่าราที่เป็นสาเหตุโรคไหม้สีเทา (grey blight) ของชา คือ *Pestalotiopsis theae* (Sawada) Steyaert และราที่เป็นสาเหตุโรค blister blight ของชาคือ *Exobasidium vexans*

การเก็บรักษารา *Pestalotiopsis*

การเก็บรักษารา *Pestaltiopsis flagisetula Pestalotiopsis palmarum Pestalotiopsis psidii Pestalotiopsis theae* บริสุทธิ์ ด้วยวิธีการเก็บในสภาพแห้งสุญญากาศ (Freeze-dry) และเก็บในสภาพเย็นยิ่งยวด (cryopreservation) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส แล้วทำการตรวจความมีชีวิตและความบริสุทธิ์ของราหลังการเก็บรักษาพบว่าการเก็บรักษาทั้ง 2 วิธี รายังสามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้โดยไม่พบการปนเปื้อนและสร้างโคนิเดียได้ดีไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนีและสปอร์

สรุปผลการทดลอง

จากการรวบรวมและจำแนกชนิดโดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราสกุล *Pestalotiopsis* สาเหตุโรคชนิดต่างๆ ของพืชในประเทศไทยจำนวน 28 ไอโซเลท ระหว่างเดือนตุลาคม 2549-กันยายน 2550 สามารถจำแนกรา *Pestalotiopsis* ที่พบได้ 4 ชนิด (species) ได้แก่ *Pestaltiopsis flagisetula Pestalotiopsis palmarum Pestalotiopsis psidii* และ*Pestalotiopsis theae* การเก็บรักษาราสกุล *Pestalotiopsis* พบว่า ในระยะเวลา 6 เดือน วิธีการเก็บในสภาพแห้งสุญญากาศ (Freeze-dry) และเก็บในสภาพเย็นยิ่งยวด (cryopreservation) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสเป็นวิธีการเก็บรักษาที่ทำให้รายังสามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้โดยไม่พบการปนเปื้อนและสร้างโคนิเดียได้ดี

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์และคณะ. 2538. ศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคกิ่งแห้งของฝรั่ง. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2538. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

พัฒนา สนธิรัตน, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 285 หน้า.

วิรัชและคณะ. 2529. การจำแนกชนิดเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคชา. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2529. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Ainsworth, G. C. 1973. Introduction and keys to higher taxa, pp.1-7. *In* The fungi Vol.IV B. Eds., G.C. Ainsworth, F.K. Sparrow, and A.S. Sussman. Academic Press, New York.

Guba, E.F. (1961). *Monograph of Monochaetia and Pestalotia*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.

Holliday, P. 1980. Fungus Diseases of Tropical Crops. Commonwealth Mycological Institute, Kew. 607 p.

Mordue, J.E.M. 1971. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 315,318,319, 320.

www.doa.go.th/pl_data/MANSTEEN

สำรวจ รวบรวมและจำแนกราเขม่าดำ

Survey, Collection and Identification of Smut Fungi

พรพิมล อธิปัญญาคม
ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช พีระวรรณ พัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจ รวบรวมราเขม่าดำ ได้ราเขม่าดำทั้งหมดจำนวน 91 ตัวอย่าง จากจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550 จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกชนิดได้ราเขม่าดำได้ 13 genera 52 species ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และจากการสำรวจรวบรวมราเขม่าดำครั้งนี้พบราเขม่าดำชนิดใหม่ที่จำนวนทั้งหมด 10 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 chiangmaiensis* บน *Arundinella bengalensis* ที่อำเภอพร้าว 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, *Tilletia setariae-parviforae* บน *Setaria parviflora* ที่อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร, *Tilletia thailandica* บน *Eragrostis amabilis* ที่อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย และ *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 แม้ว่าราเขม่าดำจะพบเป็น 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. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราเขม่าดำจากแหล่งต่าง 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 ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – เดือนกันยายน 2550 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** 2553

สถานที่ - แหล่งพืชธรรมชาติ
- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจรวบรวมราเขม่าดำจากแหล่งต่าง ๆ

สำรวจ รวบรวมราเขม่าดำจากภาคต่าง ๆ ในประเทศไทยทั้งหมด 26 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกระบี่ กาญจนบุรี กาฬสินธุ์ กรุงเทพ ฯ ขอนแก่น จันทบุรี ชัยภูมิ ชลบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ชุมพร นครสวรรค์ บุรีรัมย์ ประจวบคีรีขันธ์ พังงา พิษณุโลก เพชรบุรี เลย ศรีสะเกศ สกลนคร สระแก้ว สระบุรี สมุทรสงคราม สุรินทร์ อุตรดิตถ์ และอุบลราชธานี ได้ราเขม่าดำจำนวนทั้งหมด 91 ตัวอย่าง ตัวอย่างแห้งราเขม่าดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

2. การศึกษาราเขม่าดำ

ผลการศึกษาจากตัวอย่างราเขม่าดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound และศึกษาลักษณะผิวของสปอร์โดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด จัดจำแนกราเขม่าดำได้ 13 genera 52 species ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และจากการสำรวจรวบรวมราเขม่าดำครั้งนี้พบราเขม่าดำชนิดใหม่ที่จำนวนทั้งหมด 10 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 chiangmaiensis* บน *Arundinella bengalensis* ที่อำเภอพร้าว 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, *Tilletia setariae-parviforae* บน *Setaria parviflora* ที่อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร, *Tilletia thailandica* บน *Eragrostis amabilis* ที่อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย และ *Yelsemia droserae* บน *Drosera burmanni* เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ที่อำเภอโนนคูณ จังหวัด

อุบลราชธานี ตัวอย่างแห้งของราเขม่าดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

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) รายงานไว้ พบบน *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)

Sori เกิดอยู่ในรังไข่ของ รูปร่าง ovoid หรือ มีขนาด 1.5-3 x 2.5-5(-10) มิลลิเมตร สีเทาน้ำตาลอมเขียว สปอร์รูปร่าง globose, subglobose ถึง broadly ellipsoidal มีขนาด 12-16 x 13-17 ไมครอน สีเหลืองอมน้ำตาล ถึงสีน้ำตาลดำ ผนังเรียบและverrucose มีหนามยาว 1-2 ไมครอน

Sterile cells รูปร่าง globose, subglobose, ellipsoidal สีค่อนข้างใส ถึงเหลืองอ่อน มีขนาด 13.5-20 x 14.5-21.5 ไมครอน ผนังบาง ขนาด 1.5-2 ไมครอน

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 และพบบนข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor*)

Sporisorium dichanthicola (Mundkur & Thirum.) Vánky, *Fungal Diversity* 15: 229 (2004)

พบบน *Dichanthium caricosum* เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ และ

อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1) ราชนิดนี้พบครั้งแรกและมีรายงานพบเฉพาะในประเทศอินเดียเท่านั้น

Sporisorium doidgeae (Zundel) Langdon & Fullerton, *Mycotaxon* 6: 452 (1978)

พบบน *Bothriochloa bladhii* อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sporisorium aff. **f*lagellatum*** (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 และ อำเภอแม่สาย 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 sorghi C.G. Ehrenberg ex H.F. Link, 1825

พบบนข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor*) ที่จังหวัดนครสวรรค์ (ตารางที่ 1)

สปอร์รูปร่าง globose, subglobose, ovoid ถึงรูปร่างไม่แน่นอน มีขนาด 5.3-7 x 5.5-8 ไมครอน สีเขียวอมน้ำตาล ผนังสปอร์คอนข้างเรียบเมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และมีผนังขรุขระมีหนามเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

Sporisorium trispicatae R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 111 (2006)

พบบน *Eulalia trispicata* (Schult.) เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1) ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

***Sporisorium* sp. 1**

พบบนหญ้า unidentified ที่จังหวัดจันทบุรี (ตารางที่ 1)

***Sporisorium* sp. 2**

พบบนหญ้า unidentified ที่อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

***Sporisorium* sp. 3**

พบบนหญ้า unidentified ที่อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

***Sporisorium* sp. 4**

พบบนหญ้า unidentified ที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

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 และ อำเภอพร้าว 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 91 ตัวอย่าง จากจังหวัดต่าง ๆ จำนวน 26 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550 จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกชนิดได้ราเขม่าดำได้ 13 genera 52 species ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และจากการสำรวจรวบรวมราเขม่าดำครั้งนี้พบราเขม่าดำชนิดใหม่ที่จำนวนทั้งหมด 10 ชนิด ตัวอย่างแห้งของราเขม่าดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

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.

Shivas R., P. Athipunyakom, S. Likhitekaraj, W. Butranu, T. Bhasabutra, A. Somrith, K. Vánky and C. Vánky. 2007. An annotated checklist of smut fungi (Ustilaginomycetes) from Thailand. Australasian Plant Pathology, 36: 1-7.

Thaung MM (2005) Rusts, smuts and their allies in Burma. *Australasian Mycologist* 24, 29-46.

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.

Vánky K, R. Shivas and P. Athipunyakom. 2006. New smut fungi (Ustilaginomycetes) from Thailand. Mycologia. Balcanica. 3: 107-118.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 รายชื่อราเขม่าดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างปี 2548-2550

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) *Bothriochloa pertusa* (หญ้าหอม)	อ. หางดง จ.เชียงใหม่ อ. เชียงแสน จ. เชียงราย อ. เวียงป่าเป้า จ. เชียงราย

ราเขม่าดำ	พืชอาศัย	แหล่งที่เก็บ
Macalpinomyces siamensis	*Coelorachis striata* (หญ้าขน)	อ. พร้าว จ.เชียงใหม่
Microbotryum tenuisporum	*Polygonum* aff. *Barbatum*	อ. เมือง จ. กาญจนบุรี
Moeziomycea bullatus	*Leersia hexandras* (หญ้าไทร)	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี
		อ. ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่
	Polytrias amaura (หญ้านวลจันทร์)	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
	Sorghum bicolor	จ. นครสวรรค์
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
Sporisorium paspali-thunbergii	*Paspalum orbiculare* (หญ้านมหนอน)	อ. โนนคูณ จ. ศรีสะเกษ
Sporisorium pseudosorghi	*Pseudosorghum fasciculare*	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ .

ราเขม่าดำ	พืชอาศัย	แหล่งที่เก็บ
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 .
Sporisorium sp. 1	unidentified host	จ. จันทบุรี
Sporisorium sp. 2	unidentified host	อ.เมือง จ.เชียงราย
Sporisorium sp. 3	unidentified host	อ.เมือง จ.เชียงราย
Sporisorium sp. 4	unidentified host	อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย
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 (หญ้าคมบาง)	อ. ท่าแซะ จ.ชุมพร
		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 สระน้ำบริเวณกลุ่มวิจัยกักกันพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ บ้านท่าลาน อ.บ้านหมอ จ.สระบุรี
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 4 ชนิด คือ ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว หมาก และยางพารา ผลจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Ganoderma* sp. ที่ จ.นครปฐม นครนายก ปราจีนบุรี ชลบุรี จันทบุรี สมุทรสงคราม ลำปาง ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช ตรัง สงขลา และนำตัวอย่างมาจำแนกชนิดที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ในระหว่าง เดือนตุลาคม 2548 – ตุลาคม 2550 ได้ตัวอย่างจากปาล์มน้ำมัน 3 isolate (GO-1, GO-2 และ GO-3) มะพร้าว 2 isolate (GC-1 และ GC-2) หมาก 2 isolate (GB-1 และ GB-2) หางนกยูง (GP-1) พุทรา (GJ-1) มะขาม (GT-1) มะม่วง (GM-1) เงาะ (GR-1) ทุเรียน (GD-1) หมากเหลือง (G-1) และส้มเขียวหวาน (GTa-1) ในเบื้องต้นพบว่าดอกเห็ดที่รวบรวมมาจากปาล์มน้ำมัน หมาก มะพร้าว หางนกยูงและพุทราทุก isolate มีลักษณะเช่นเดียวกับเชื้อเห็ด *Ganoderma* sp. และสามารถจำแนกชนิดราบนมะพร้าวและหมากได้เป็นรา *Ganoderma lucidum*

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) จากการสำรวจพืชตระกูลถั่วในแปลงปลูกปาล์มน้ำมันที่มีอายุมากพบเส้นใยของ 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. กล้องจุลทัศน์ Light microscope และ Stereo microscope
7. อุปกรณ์แยกเชื้อ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฯลฯ
8. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น กระดาษบันทึกข้อมูล GPS ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯลฯ

วิธีการ

1. การสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจเก็บตัวอย่างโรครากเน่าของพืชตระกูลปาล์มตามแหล่งปลูก บันทึกข้อมูลลักษณะอาการ วันที่เก็บ ผู้เก็บและแหล่งเก็บตัวอย่างพร้อมกับบันทึกภาพตัวอย่างโรคพืช

2. การจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ

การศึกษาภายใต้กล้องจุลทัศน์

ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้อง stereomicroscope และเตรียมสไลด์ของเชื้อสาเหตุ ตรวจดูภายใต้กล้อง microscpe ศึกษาการเจริญบนพืชด้วยการตัด section บริเวณที่แสดงอาการ และตรวจดูภายใต้กล้องจุลทัศน์ 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

3. การทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

วางตัวอย่างดอกเห็ดของเชื้อ Ganoderma ที่รวบรวมได้จากต้นปาล์มที่เป็นโรครากเน่าวางที่อุณภูมิห้องที่มีอากาศถ่ายเทสะดวก เป็นเวลา 1 เดือน

นำตัวอย่างแห้งที่ได้ใส่ในตู้ –20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เพื่อฆ่าไข่แมลง และแมลงเสร็จแล้วนำไปเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์

4. 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 2548
สิ้นสุด กันยายน 2550

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การตรวจเอกสาร

จากการค้นเอกสารที่มีรายงานในประเทศไทยพบรา *Ganoderma* ทำให้เกิดโรคบนพืชเศรษฐกิจ 4 ชนิด คือ ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว หมาก ยางพารา เป็นการสำรวจพบแต่ไม่มีรายงานการศึกษารายละอียด ได้แก่บนมะม่วง ส้มเขียว มะขาม พิกุล ฯลฯ

2. การสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืช

ปาล์มน้ำมัน

ผลการสำรวจเก็บตัวอย่างดอกเห็ดที่พบบนต้นปาล์มน้ำมันได้ 3 isolate (ตารางที่ 1) คือ จากแปลงปาล์มน้ำมัน อ.ปลายพระยา จ.กระบี่ (GO-1) พบดอกเห็ดที่โคนต้นปาล์มน้ำมันอายุ 15 ปี ต้นปาล์มแสดงอาการในล่างหักพับลงรอบ ๆ ต้น แต่ยังไม่พบการระบาดไปต้นข้างเคียง ดอกเห็ดที่ได้จากต้นปาล์มน้ำมันอายุ 20-25 ปี ที่ อ.พระแสง จ.สุราษฎร์ธานี (GO-2) ต้นปาล์มน้ำมันที่เป็นโรคแสดงอาการต้นโทรมเหลือทางใบบนต้นเพียงเล็กน้อย การระบาดเป็นบริเวณกว้าง ส่วน isolate ที่ได้จาก อ.เขาพนม จ.กระบี่ (GO-3) จากต้นปาล์มน้ำมันอายุ 20-25 ปี ลักษณะอาการและการระบาดของโรคใกล้เคียงกับที่ อ.พระแสง จ.สุราษฎร์ธานี

มะพร้าว

เก็บตัวอย่างดอกเห็ดบนมะพร้าวเป็นโรครากเน่า ได้ 2 isolate (GC1 และ GC 2) ที่ อ.สามพราน จ.นครปฐม เชื้อสาเหตุรากเน่าจะสร้างดอกเห็ดบริเวณรากที่โผล่เหนือดิน พบดอกเห็ดบนต้นที่ยังมีชีวิตและตอมะพร้าวที่ทิ้งไว้ในแปลง ต้นมะพร้าวที่มีชีวิตและพบดอกเห็ดที่รากแต่ต้นมะพร้าวไม่แสดงอาการทรุดโทรมยังคงเจริญปกติแต่ผลผลิตที่ได้ลดลงหรือไม่ให้ผลผลิตเลย ในแปลงที่สำรวจพบโรคเป็นแปลงที่ปลูกมะพร้าวบริเวณขอบแปลง และปลูกหมากบนแปลงยกร่อง

หมาก

การสำรวจรวบรวมตัวอย่างที่ จ.นครปฐม ได้ตัวอย่างดอกเห็ดจากต้นหมากที่เป็นโรครากเน่า โดยหมากแสดงอาการทางใบล่างทิ้งตัวลงรอบ ๆ เหลือทางใบบนต้นเพียง 2-3 ทาง ทางใบมีลักษณะสั้นกว่าปกติและมีสีเหลืองซีดพบว่าที่โคนต้นมีดอกเห็ดสีน้ำตาล เมื่อดอกเห็ดอ่อนมีขอบสี

ขาวดอกเห็ดแก่ขอบสีขาวจะหายไป เก็บดอกเห็ดจากโคนต้นหมาก 2 isolate คือ GB-1 และ GB-2 จาก อ.สามพราน จ.นครปฐม ซึ่งเป็นแปลงที่พบมะพร้าวเป็นโรครากเน่า (ตารางที่ 1)

หางนกยูง พุทธา เงาะ ทุเรียน ส้มเขียวหวาน

เก็บดอกเห็ดที่ตอต้นหางนกยูง พุทรา เงาะ ทุเรียน ส้มเขียวหวาน ได้ ตัวอย่างดอกเห็ด GP-1, GJ-1, GR-1, GD-1 และ GTa-1 (ตารางที่ 1) ดอกเห็ดที่เก็บบนตอหางนกยูงมีลักษณะใกล้เคียงดอกเห็ดที่บนในปาล์มน้ำมัน เนื่องจากบริเวณนี้เคยปลูกปาล์มมาก่อน ดอกเห็ดที่ได้จากตอพืช พุทรา เงาะ ทุเรียน และส้มเขียวหวาน มีลักษณะแห้งไม่มีสปอร์ไม่สามารถจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุได้

มะม่วง มะขาม หมากเหลือง

ดอกเห็ดที่เก็บจากต้นมะม่วง (GM-1) และมะขาม (GT-1) เป็นต้นที่มีการตัดแต่งกิ่ง พบว่ามีดอกเห็ดขึ้นบริเวณกิ่งที่ถูกตัด ส่วนบนหมากเหลือง (G-1) พบดอกเห็นขึ้นที่โคนต้นหรือที่ผิวดินในระหว่างกอของหมากเหลือง

3. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

เมื่อนำตัวอย่างดอกเห็ดที่รวบรวมจากแปลง นำมาศึกษาลักษณะของดอกเห็ดและตรวจลักษณะของสปอร์ที่ดอกเห็ดสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในเบื้องต้นพบว่าดอกเห็ดที่รวบรวมมาจากปาล์มน้ำมัน หมาก มะพร้าว หางนกยูงและพุทราทุก isolate มีลักษณะเช่นเดียวกับเชื้อเห็ด *Ganoderma* sp.

สปอร์ของเชื้อสาเหตุที่พบบนมะพร้าวและหมากมีลักษณะเหมือนกัน คือมีรูปร่างแบบ oviform ที่ปลายสปอร์มีรอยตัด (truncate) สร้างผนัง 2 ชั้น ผนังด้านในมีสีน้ำตาลอ่อนใส ซึ่งมีลักษณะเดียวกับรา *Ganoderma lucidum* (Xingliang, 1997)

4. การทำตัวอย่างแห้ง

นำดอกเห็ดที่ได้วางผึ่งในที่ระบายอากาศเพื่อให้ดอกเห็ดแห้งก่อนนำไปเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียสเพื่อฆ่าแมลงและไข่แมลง เก็บตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่กลุ่มวิจัยโรคพืช

สรุปผลการทดลองและคำนะนำ

ผลจากการค้นเอกสารที่มีรายงานในประเทศไทยพบรา *Ganoderma* ทำให้เกิดโรคบนพืชเศรษฐกิจ 4 ชนิด คือ ปาล์มน้ำมัน มะพร้าว หมาก และยางพารา ผลจากการสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Ganoderma* sp. ที่ จ.นครปฐม นครนายก ปราจีนบุรี ชลบุรี จันทบุรี สมุทรสงคราม

ลำปาง ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช ตรัง สงขลา และนำตัวอย่างมาจำแนกชนิดที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ได้ตัวอย่างจากปาล์มน้ำมัน 3 isolate (GO-1, GO-2 และ GO-3) มะพร้าว 2 isolate (GC-1 และ GC-2) หมาก 2 isolate (GB-1 และ GB-2) หางนกยูง (GP-1) พุทรา (GJ-1) มะขาม (GT-1) มะม่วง (GM-1) เงาะ (GR-1) ทุเรียน (GD-1) หมากเหลือง (G-1) และส้มเขียวหวาน (GTa-1) ในเบื้องต้นพบว่าดอกเห็ดที่รวบรวมมาจากปาล์มน้ำมัน หมาก มะพร้าว หางนกยูงและพุทราทุก isolate มีลักษณะเช่นเดียวกับเชื้อเห็ด *Ganoderma* sp. และสามารถจำแนกชนิดราบนมะพร้าวและหมากได้เป็นรา *Ganoderma lucidum*

เอกสารอ้างอิง

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2536. โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในประเทศไทย หน้า 205-209 *ใน* : การอบรมสัมมนาเชิงปฏิบัติการการพัฒนาเพื่อเพิ่มเทคโนโลยีการวิจัยและการผลิตมะพร้าวโกโก้ ปาล์น้ำมัน ประจำปี 2536. ณ โรงแรมแมนฮัตตันพาเลซ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา .

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2538. โรคพืชที่เกิดจากเห็ดหลินจือ เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมสัมนาประจำปี 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. โรครากเน่าของมะพร้าวและหมาก 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.

Xingliang W., Zang Mu and Xia Tongheng. 1997. Colored Illustrations of the Ganodermataceae and Other Fungi. Guizhou Science and Technology Publishing House.

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	ปาล์มน้ำมัน : Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.)	มีชีวิต	อ.พระแสง จ.สุราษฎ์ธานี	GO-3
4	มะพร้าว : Coconut (*Cocos nucifera* Linn.)	มีชีวิต	ต.ทรงคะนอง อ.สามพราน จ.นครปฐม	GC-1
5	มะพร้าว : Coconut (*Cocos nucifera* Linn.)	มีชีวิต	อ.สามพราน นครปฐม	GC-2
6	หมาก : Betelnut palm (*Areca catechu* Linn.)	มีชีวิต	ต.ทรงคะนอง อ.สามพราน จ.นครปฐม	GB-1
7	หมาก : Betelnut palm (*Areca catechu* Linn.)	มีชีวิต	อ.สามพราน นครปฐม	GB-2
8	หางนกยูง : Peacock'screst (*Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw.)	ตาย	อ.เขาพนม จ.กระบี่	GP-1
9	พุทรา : Jujube (*Zizphus mauritiana* Lamk.)	ตาย	อ.ปากช่อง นครราชสีมา	GJ-1
10	มะขาม : Tamaride	มีชีวิต	อ.วังเหนือ จ.ลำปาง	GT-1
11	มะม่วง : Mango	มีชีวิต	อ.ขลุง จ.จันทบุรี	GM-1
12	เงาะ : rambutan	ตาย	อ.กระทิง จ.จันทบุรี	GR-1

ตัวอย่างที่	พืช : ชื่อวิทยาศาสตร์	สถานะพืชอาศัย	สถานที่เก็บ	isolate
13	ทุเรียน : durian	ตาย	อ.กระทิง จ.จันทบุรี	GD-1
14	หมากเหลือง :	มีชีวิต	กรุงเทพฯ	G
15	ส้มเขียวหวาน : Tangerine	ตาย	อ.บางคนที จ.สมุทรสงคราม	GTa-1