รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๐
เล่มที่ ๓

ลำดับเลขที่ 3/2551 ISBN : 978-974-436-668-9

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

สำรวจ รวบรวมและจำแนกราดำ

Survey, Collection and Identification of the Sooty Moulds

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการสำรวจ รวบรวมราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ และราปรสิตของราดำ จากจังหวัดต่าง ๆ 20 จังหวัดในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550 โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound เพื่อจำแนกชนิดราดำและราปรสิตของราดำ พบราดำจำนวน 19 genera 43 species ได้แก่ รา *Aithaloderma clavatisporum*, *A. setosum, Aithaloderma* spp. (3 ชนิด), *Annellophragmia* sp., *Asteridiella erythrococcae, Asterina* sp., *Cladosporium* spp (5 ชนิด), *Leptoxyphium* sp., *Meliola alstoniae, M. butleri, M. citricola, M. dimorcarpii, M. jasmine, M. tamarindi, Meliola* sp., *Micropeltis* sp., *Phragmocapnias betle, Polychaeton* spp. (4 ชนิด), *Scorias* sp., *Tetraploa aristata, Tetraploa* sp. *Torula herbatum, Torula* sp., *Trichomerium grandisporium*, *Tripospermum* spp. (4 ชนิด), *Triposporiopsis spinigera,* และพบราที่เป็นปรสิตของราดำ 4 ชนิด ได้แก่ รา *Spiropes capensis* พบบนรา *M. butleri*, *S. japonicas บน M. jasmine*, *Trichothyrium asterophorum* พบบนรา *M. butleri* ตัวอย่างแห้งของราดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราดำ (Sooty Moulds) สร้างเส้นใยสีดำปกคลุมอยู่บนส่วนของพืชที่มีชีวิต เช่น ใบ กิ่ง ดอก ผล เป็นต้น โดยไม่ได้ดูดกินอาหารจากพืช (saprophyte) หรือบางครั้งเป็นปรสิต (parasite) ที่เจริญอยู่บนราดำด้วยกัน ราดำที่เป็นปรสิตกับพืช จะสร้างเส้นใยปกคลุมบนผิวพืชแล้ว ยังสามารถส่วนของเส้นใยแบบต่าง ๆ และผนังชั้นนอกของเส้นใยจะเป็นเมือกเหนียว ทำหน้าที่เป็นตัวยึดเกาะกับส่วนของพืช และทำหน้าที่ดูดน้ำเลี้ยงจากพืช (Hughes, 1976; Agrios, 2004) ราดำที่เป็น saprophyte มักมีความสัมพันธ์กับแมลงจำพวก เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยจักจั่น โดยแมลงเหล่านี้จะขับน้ำหวาน (honey dew) ออกมา และราดำได้รับอาหารจากน้ำหวานที่แมลงขับออกมา

ราดำมีพืชอาศัยกว้างมาก ส่วนมากพบบนไม้ผล เช่น พืชตระกูลส้ม มะม่วง ลำไย ลองกอง ฝรั่ง น้อยหน่า พุทรา เป็นต้น และยังพบบนวัชพืชหลายชนิด สำหรับราดำบนมะม่วงอาจพบรานี้เข้าทำลายช่อดอก ทำให้ช่อดอกไม่ติดผล ราดำปกคลุมใบ และราเจริญอยู่ที่ขั้วผลหนาแน่น การเจริญของราดำบนใบ หรือกิ่งอ่อน มักเกิดหนาแน่น ประกอบด้วยเส้นใยที่มาสานกันเป็นกลุ่มสีดำ ปกคลุมอยู่บนผิวใบ ราดำนี้จะพบมากในฤดูฝน โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น (Thite และ Kulkarani, 1973)

ราดำส่วนใหญ่จัดอยู่ใน Subdivision Ascomycotina เป็นกลุ่มที่สร้าง bitunicate asci ใน Order Dothiodeales รวมทั้ง Meliolaceae ซึ่งแต่เดิมจัดอยู่ใน Order Meliolales นอกจากนี้ยังเป็นราในกลุ่มของ Class Hyphomycetes และ Coelomycetes ราดำมีหลายชนิดแต่ที่พบรามีลักษณะสีดำปกคลุมบนส่วนของพืช

นอกจากนั้นยังพบราที่เป็นปรสิตของราดำ (Hyperparasite of sooty moulds) ส่วนใหญ่มักพบเจริญอยู่บนราใน Order Meliolales เป็นราในกลุ่ม Dematiaceous Hyphomycetes, Coelomycetes และ Ascomycetes (Sivanesan, 1984)

การที่พืชหรือไม้ผลมีราดำปกคลุม มีผลทำให้พืชชนิดนั้นมีราคาตกลง หรือไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค แต่ส่วนใหญ่มักพบราเข้าทำลายที่ใบ และช่อดอกมากกว่าส่วนอื่น ทำให้ไม่ติดผล ผลผลิตลดน้อยลง ทำให้ผลผลิตมีคุณภาพต่ำ ซึ่งทำให้เกิดปัญหากับการส่งออก โดยเฉพาะลองกองจะพบว่ามีราดำติดอยู่ที่ผลมาก ปัจจุบันในประเทศไทยมีการศึกษาอนุกรมวิธานราดำน้อย และยังไม่มีรายงานถึงความเสียหายทางเศรษฐกิจจากราดำ ดังนั้นการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของราดำและความหลากหลายของราในกลุ่มนี้จะทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในด้านการจำแนกชนิดของเชื้อราและยังเป็นข้อมูลอ้างอิงในการจัดทำบัญชีรายชื่อ เพื่อประโยชน์ในการนำเข้าและส่งออก

สินค้า ตลอดจนเป็นพื้นฐานในการศึกษาจำแนกอนุกรมวิธานราดำของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทย เพื่อหาวิธีการควบคุมราดำบนพืชเศรษฐกิจต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราดำจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย

2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระดาษ ถุงพลาสติค ปากกาเคมี ดินสอ กรรไกรตัดกิ่ง และ GPS

3. อุปกรณ์จัดเก็บตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผ่นไม้อัดทับตัวอย่าง กระดาษ

4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ slide cover slip ปากคีบ เข็มเขี่ยปลายแหลม ใบมีดโกน ตะเกียง ยาทาเล็บ

5. สารเคมีสำหรับ mount slide ได้แก่ lactophenol , lactic acid, shear's sulution

6. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพราจากกล้องจุลทรรศน์

7. คอมพิวเตอร์สำหรับเก็บข้อมูล

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่าง

สำรวจ และเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นราดำทั้งพืชเศรษฐกิจ วัชพืช และพืชป่า จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย โดยเก็บเฉพาะส่วนที่เป็นโรค เช่น ใบ ช่อดอก กิ่ง และผล และเก็บตัวอย่างพืชมาให้ครบทุกส่วนเพื่อประโยชน์ต่อการจำแนกชนิดของพืชนั้น ๆ และห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษ ใส่ในถุงพลาสติค และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และข้อมูลพิกัดทางภูมิศาสตร์

2. จัดเก็บตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

แบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดให้แห้ง ด้วยแผงอัดตัวอย่างแห้ง (herbarium) และจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

3. การศึกษาและจำแนกชนิดของราดำ

3.1 การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของราดำ โดยบันทึกลักษณะของราที่เจริญอยู่บนส่วนของพืช

3.2 ตรวจลักษณะของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo โดยแยกราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืช บันทึกลักษณะต่าง ๆ ของราบนผิวพืช ใช้เข็มเขี่ย เขี่ยส่วนของราหรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ มาวางบนแผ่นสไลด์ ที่มีหยดน้ำ หรือ mouting solution เช่น lactophenol,

lactic acid, shear's sulution, และตรวจดูลักษณะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพด้วย camera lucida และบันทึdภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ และถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning Electron Microscope)

3.3 เปรียบเทียบและจำแนกชนิดของรากับเอกสารต่าง ๆ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจรวบรวมราดำ

สำรวจ รวบรวมราดำ จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย จำนวน 20 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกระบี่ กาญจนบุรี จันทบุรี เชียงราย เชียงใหม่ ชุมพร นครนายก นครราชสีมา ปทุมธานี ปราจีนบุรี พังงา เพชรบูรณ์ เพชรบุรี แพร่ ราชบุรี ลำปาง สระบุรี สงขลา สุราษฎร์ธานี และอุบลราชธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550 ตัวอย่างแห้งของราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ จำนวน 64 ตัวอย่างและเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การศึกษาราดำ

จากราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ที่เก็บได้จำนวนทั้งหมด 64 ตัวอย่าง ได้นำมาจำแนกชนิดราดำโดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบราดำจำนวน 19 genera 43 species ได้แก่ รา *Aithaloderma clavatisporum* บนใบฝรั่ง จังหวัดอุบลราชธานี กาญจนบุรี และเชียงใหม่, *A. setosum* บนใบมะม่วง จังหวัดนครราชสีมา, *Aithaloderma* sp. 1 บนใบส้มโอ จังหวัดนครนายก และปราจีนบุรี, *Aithaloderma* sp. 2 บนใบลำไย จังหวัดเพชรบูรณ์, *Aithaloderma* sp. 3 บนใบพุทราจังหวัดสระบุรีและราชบุรี, *Annellophragmia* sp. บนใบมะนาว จังหวัดชุมพร, *Asteridiella erythrococcae* บนใบผักหวานบ้า จังหวัดสุราษฎร์ธานี, *Asterina* sp. บนใบปาล์มน้ำมัน จังหวัดกระบี่, *Cladosporium* sp. 1 บนใบพริกยักษ์ จังหวัดเชียงใหม่, *Cladosporium* sp. 2 บนใบพริก จังหวัดเพชรบูรณ์, *Cladosporium* sp. 3 บนใบขาไก่ จังหวัดเพชรบุรี, *Cladosporium* sp. 4 บนใบมะกอกน้ำ จังหวัดเพชรบุรี, *Cladosporium* sp. 5 บนผลพุทรา จังหวัดเชียงราย, *Leptoxyphium* sp 1 บนใบละมุด จังหวัด นครราชสีมา, *Leptoxyphium* sp 2 บนใบละมุด จังหวัดเชียงใหม่ *Meliola alstoniae* บนใบพญาสัตบรรณ จังหวัดกระบี่, *M. butleri* บนใบส้มเขียวหวาน จังหวัดแพร่และเชียงราย บนใบส้มโชกุน จังหวัดชุมพร บนใบมะกรูด จังหวัดปทุมธานีและเชียงใหม่ บนใบมะนาว จังหวัดเพชรบุรีและเชียงใหม่, *M. citricola* บนใบส้มโอ จังหวัดนครนายก ปราจีนบุรีและสงขลา, *M. dimorcarpii* บนใบลำไย จังหวัดเพชรบูรณ์ จันทบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ลำปางและชุมพร, *M. jasmine* บนใบมะลิ จังหวัดจันทบุรี, *M.*

tamarindi บนใบมะขาม จังหวัดเพชรบูรณ์, *Meliola* sp. บนใบกระถินณรงค์ จังหวัดเชียงราย, *Micropeltis* sp. บนใบลำไย จังหวัดเพชรบูรณ์, *Phragmocapnias betle* บนใบกาแฟอาราบิก้า จังหวัดเชียงใหม่ และบนใบ *Cyperus compactus* จังหวัดกระบี่และพังงา, *Polychaeton* sp. 1 บนใบกาแฟอาราบิก้า จังหวัดเชียงใหม่, *Polychaeton* sp. 2 บนใบละมุด จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย และนครราชสีมา, *Polychaeton* sp. 3 บนผลพุทรา จังหวัดเชียงราย, *Polychaeton* sp. 4 บนใบฝรั่ง จังหวัดกาญจนบุรี อุบลราชธานี เชียงรายและเชียงใหม่ *Scorias* sp. บนผลพุทรา จังหวัดเชียงราย, *Tetraploa aristata* บนใบมะพร้าว จังหวัดราชบุรี, *Tetraploa* sp. บนใบละมุด จังหวัด เชียงใหม่และนครราชสีมา, *Torula herbatum* บนใบมะพร้าว จังหวัดราชบุรี, *Torula* sp. บนใบละมุด จังหวัด เชียงใหม่และนครราชสีมา, *Trichomerium grandisporium* บนใบพุด จังหวัด เชียงใหม่ บนใบชมพู่ จังหวัดนครปฐม, *Tripospermum* sp.1 . บนใบละมุด จังหวัดเชียงใหม่, *Tripospermum* sp.2 บนใบส้มเขียวหวาน จังหวัดแพร่, *Tripospermum* sp.3 บนใบฝรั่ง จังหวัด เชียงใหม่, *Tripospermum* sp.4 บนใบมะนาว จังหวัดชุมพร, *Triposporiopsis spinigera* บนใบ เต่าร้าง จังหวัดกระบี่ (ตารางที่ 1) และพบราที่เป็นปรสิตของราดำ 4 ชนิด ได้แก่ รา *Dimerium minutum* บนรา *M. citricola* บนใบส้มโอ จังหวัดสงขลา, บนรา *M. dimorcarpii* บนใบลำไย จังหวัดจันทบุรี, บนรา *M. tamarindi* บนใบมะขาม จังหวัดเพชรบูรณ์, *Spiropes capensis* พบบน รา *M. butleri* บนใบส้มเขียวหวาน จังหวัดแพร่, *S. japonicas บน M. jasmine* บนใบมะลิ จังหวัดจันทบุรี, *Trichothyrium asterophorum* พบบนรา *M. butleri* บนใบส้มโชกุน จังหวัดชุมพร ตัวอย่างแห้งของราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ เก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและจำแนกราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ จากจังหวัดต่าง ๆ จำนวน 20 จังหวัดในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2550 พบราดำจำนวน 19 genera 43 species และเป็นราปรสิตของราดำจำนวน 3 genera 4 species ตัวอย่างแห้งของราดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. จัดพิมพ์โดยจามจุรีโปรดักท์ กรุงเทพฯ. 351 หน้า.

Agrios, G. 2004. Plant Pathology, Fifth Ed. Elsevier Academic Press, 922 pp.

Huge, S.L. 1976. Sooty moulds. Mycologia 68: 639-820.

Sivanesan, A.1984. The Bitunicate Ascomycetes and their anamorphs. J. Cramer. 700pp.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 รายชื่อราดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

ราดำ	พืชอาศัย		แหล่งที่เก็บ
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	
Aithaloderma clavatisporum	ฝรั่ง	*Psidium guajava*	ต.ท่าช้าง กิ่ง อ.สว่างวีรวงศ์ จ.อุบลราชธานี
			อ.เมือง จ.กาญจนบุรี
			อ.สันทราย จ.เชียงใหม่
Aithaloderma setosum	มะม่วง	*Mangifera indica*	อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา
Aithaloderma sp. 1	ส้มโอ	*Citrus maxima*	อ. สาลิกา จ. นครนายก
			อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
Aithaloderma sp. 2	ลำไย	*Dimocarpus longan*	เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Aithaloderma sp. 3	พุทรา	*Ziziphus jujuba*	อ.บ้านหมอ จ.สระบุรี
			บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
Annellophragmia sp.	มะนาว	*Citrus aurantifolia*	อ.ปะทิว จ.เชียงใหม่
Asteridiella erythrococcae	ผักหวานบ้าน	*Sauropus androgynus*	สุราษฎร์ธานี
Asterina sp.	ปาล์มน้ำมัน	*Elaeis guineensis*	อ.อ่าวลึก จ.กระบี่
Cladosporium sp. 1	พริกยักษ์	*Capsicum annuum* var. *grossum*	เชียงใหม่
Cladosporium sp. 2	พริก	*Capsicum annuum* var. *annuum*	เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Cladosporium sp. 3	ขาไก่	*Sericocalyx schomburgkii*	อ.ท่าทราย จ.เพชรบุรี
Cladosporium sp. 4	มะกอกน้ำ	*Elaeocarpus hygropsilus*	อ.ท่าทราย จ.เพชรบุรี
Cladosporium sp. 5	พุทรา	*Ziziphus jujuba*	อ.แม่สรวย จ.เชียงราย
Leptoxyphium sp. 1	ละมุด	*Manilkara kauki*	บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
Leptoxyphium sp. 2	พญาสัตบรรณ	*Alstonia scholaris*	อ.เมือง จ.กระบี่
Meliola alstoniae	พญาสัตบรรณ	*Alstonia scholaris*	อ.เมือง จ.กระบี่

ราดำ	พืชอาศัย		แหล่งที่เก็บ
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	
Meliola butleri	ส้มเขียวหวาน	*Citrus reticulata*	อ.ลอง จ. แพร่
			อ.เมือง จ.เชียงราย
			อ.เมือง จ.เชียงราย
	ส้มโชกุน	*Citrus reticulata*	อ. ปะทิว จ. ชุมพร
	มะกรูด	*Citrus hystrix*	จ.เชียงใหม่
			จ.ปทุมธานี
	มะนาว	*Citrus aurantifolia*	อ.ปะทิว จ.เชียงใหม่
			อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี
Meliola citricola	ส้มโอ	*Citrus maxima*	อ. สาลิกา จ. นครนายก
			อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
			ต.เขาพระ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา
Meliola dimorcarpii	ลำไย	*Dimocarpus longan*	อ. เมือง จ.จันทบุรี
			อ. เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
			อ.เมือง อ.แม่สรวย จ.เชียงราย
			อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง
			อ.แม่แตง อ.พร้าว จ.เชียงใหม่
			อ.พะโต๊ะ จ.ชุมพร
Meliola jasmini	มะลิ	*Jasminum sambac*	ต.คมบาง อ.เมือง จ.จันทบุรี
Meliola tamarindi	**มะขาม**	*Tamarindus indica*	อ.หล่มสัก อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Meliola sp.	**กระถินณรงค์**	*Acacia auriculaeformis*	อ.เมือง จ.ลำปาง
Micropeltis sp.	ลำไย	*Dimocarpus longan*	อ. เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Phragmocapnias betle	กาแฟ พันธุ์อาราบิก้า	*Coffea arabica*	อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่
	หญ้าคมบาง	*Cyperus compactus*	อ.เขาพนม จ.กระบี่
			อ.เมือง จ.พังงา
	พญาสัตบรรณ	*Alstonia scholaris*	อ.เมือง จ.กระบี่

ราดำ	พืชอาศัย		แหล่งที่เก็บ
	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	
Polychaeton sp.	กาแฟ พันธุ์อาราบิก้า	*Coffea arabica*	อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่
	ละมุด	*Manilkara kauki*	อ.สันทราย จ. เชียงใหม่
			บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
	พุทรา	*Ziziphus jujuba*	อ. แม่สรวย จ. เชียงราย
	ฝรั่ง	*Psidium guajava*	ต.ท่าช้าง กิ่ง อ.สว่างวีรวงศ์ จ.อุบลราชธานี
			อ.เมือง จ.กาญจนบุรี
			อ.สันทราย จ.เชียงใหม่
Scorias sp.	พุทรา		อ.แม่สรวย จ. เชียงราย
Tetraploa aristata	มะพร้าว	*Cocos nucifera* L.var. *nucifera*	บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
Tetraploa	ละมุด	*Manilkara kauki*	บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา
			อ.สันทราย จ. เชียงใหม่
Torula herbatum	มะพร้าว	*Cocos nucifera* L.var. *nucifera*	บ้านโพหัก อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
Torula	ละมุด	*Manilkara kauki*	บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา
Trichomerium grandisporium	ดอกพุด	*Gardinia augusta*	อ.แม่ริม จ.ชียงใหม่
	ชมพู่	*Eugenia javanica*	อ.สามพราน จ. นครปฐม
Tripospermum sp.1	ละมุด	*Manilkara kauki*	บ้านกลางดง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา
Tripospermum sp.2	ส้มเขียวหวาน	*Citrus reticulata*	อ. ลอง จ. แพร่
Tripospermum sp.3	ฝรั่ง	*Psidium guajava*	อ. สันทราย จ.เชียงใหม่
Tripospermum sp.4	มะนาว	*Citrus aurantifolia*	อ.ปะทิว จ.ชุมพร
Triposporiopsis spinigera	เต่าร้าง	*Caryota mitis*	อ.อ่าวลึก จ.กระบี่

ตารางที่ 2 รายชื่อปรสิตของราราดำในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

ราปรสิต	ราดำ	พืชอาศัย	แหล่งที่เก็บ
Dimerium minutum	*Meliola citricola*	ส้มโอ	ต.เขาพระ อ.รัตภูมิ จ.สงขลา
	Meliola dimorcarpii	ลำไย	อ. เมือง จ.จันทบุรี
	Meliola tamarindi	มะขาม	อ.หล่มสัก อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
Spiropes capensis	*Meliola butleri*	ส้มเขียวหวาน	อ.ลอง จ. แพร่
Spiropes japonicas	*Meliola jasmini*	มะลิ	ต.คมบาง อ.เมือง จ.จันทบุรี
Trichothyrium asterophorum	*Meliola butleri*	ส้มโชกุน	อ. ปะทิว จ. ชุมพร

ราน้ำค้างโรคของพืชสำคัญบางชนิดในประเทศไทย

Downy mildew diseases of some important crops in Thailand.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์
ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัตน์ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจ เก็บข้อมูลและตัวอย่างพืชที่มีอาการโรคราน้ำค้างในแหล่งปลูกผัก ไม้ผล และพืชไร่ ที่สำคัญในประเทศไทย ในระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือน กรกฎาคม 2550 ตรวจดูและบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค และเก็บตัวอย่างแห้งพืชที่เป็นโรค ส่งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ผลการสำรวจและจำแนกเชื้อสาเหตุพบโรคราน้ำค้างข้าวโพดเกิดจากเชื้อรา *Peronosclerospora sorghi* โรคราน้ำค้างถั่วเหลือง เกิดจากเชื้อรา *Peronospora manshurica* ราน้ำค้างองุ่นเกิดจากเชื้อรา *Plasmopara viticola* โรคราน้ำค้างคะน้า โรคราน้ำค้างผักกาดเขียวปลี โรคราน้ำค้างผักกาดเขียวกวางตุ้ง โรคราน้ำค้างผักกาดขาว โรคราน้ำค้างผักขมจีน โรคราน้ำค้างกะหล่ำใบ โรคราน้ำค้างกะหล่ำดอก โรคราน้ำค้างบร๊อคโคลี่ โรคราน้ำค้างผักกาดหัว เกิดจากเชื้อรา *Peronospora parasitica* โรคราน้ำค้างแตงร้าน โรคราน้ำค้างแตงกวา โรคราน้ำค้างฟักแม้ว และโรคราน้ำค้างบวบเกิดจากเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างจัดอยู่ใน class Oomycetes วงศ์ (Family) Peronosporaceae ลักษณะประจำวงศ์ คือ ก้านชูสปอร์ (sporangiophore) ต่างจากเส้นใย (somatic hyphae) อย่างเห็นได้ชัด สปอร์แรงเจีย (sporangia) อาจเกิดเดี่ยว หรือเป็นกระจุกที่ปลาย ลักษณะการเจริญของเส้นใยในพืช เป็นทั้งการเจริญเข้าไปในเซลล์ (intarcellular parasite) หรืออยู่ระหว่างเซลล์ (intercellular parasite) โดยสร้างเส้นใยพิเศษทำหน้าที่ดูดซับอาหารและน้ำ (haustoria) จากเซลล์ของพืช (cell host) การแยกออกเป็นชนิด (genera) ต่างๆ นั้น อาศัยลักษณะการแตกกิ่งก้านของก้านชูสปอร์เป็นหลัก ราใน วงศ์ นี้มีการวิวัฒนาการมากกว่าพวกอื่นๆ ใน Oomycetes เพราะ ทุกสกุล (genus) อาศัยอยู่บนบก เป็นราที่อาศัยเจริญเติบโตบนสิ่งที่มีชีวิตเท่านั้น (obligate parasite) ราสร้างเส้นใยที่เจริญแตกกิ่งก้านสาขาออกไปมากมาย ผนังเส้นใยมีส่วนประกอบ เป็น cellulose และ β-glucan ไม่มีผนังกั้นเซลล์ สปอแรนเจียม (sporangium) เมื่อแก่จะหลุดออกจากก้านชูสปอร์ได้ง่าย เป็นพวกเกิดในอากาศ การแยกออกเป็น genera ต่างๆ นั้น ได้อาศัยลักษณะการแตกกิ่งก้านของ sporangiophores เป็นหลัก สาเหตุที่เรียกราพวกนี้ว่าเป็น โรคราน้ำค้าง อาจเป็นเพราะการเกิดของ สปอแรนเจียม และ ก้านชูสปอร์เกิดด้านนอกของผิวของพืช ทำให้มีลักษณะโผล่หรือยื่นออกมาคล้ายๆ กำมะหยี่เป็นกลุ่มก้อนของสปอร์ มีสีขาว สีเทา ปรากฏบนผิวใบตัดสีเขียวของพืช ราพวกนี้แบ่งออกเป็น สกุล ต่างๆ ได้ง่ายโดยอาศัยลักษณะรูปร่างของก้านสปอร์เป็นสำคัญ เช่น *Plasmopara, Peronospora* ก้านสปอร์มีลักษณะใสไม่มีสี ชัดเจน แตกกิ่งก้านสาขาต่างกันออกไปแต่ละ สกุล ก้านสปอร์เกิดในปากใบของพืชที่มันทำลาย ก้านสปอร์จะแห้งตาย หลังจากที่สปอร์หลุดออกไปแล้ว จะไม่มีการสร้างสปอร์ใหม่อีก (ทวี, 2549)

โรคราน้ำค้างพบทั่วไปบนกะหล่ำ คะน้าและผักกาด พืชมักแสดงอาการรุนแรง ในระยะกล้าใบเลี้ยงเกิดเป็นจุดช้ำ แผลขยายลุกลามรวดเร็ว ลำต้นเน่ายุบ ทำให้พืชตายหรือแคระแกร็นไม่เจริญเติบโต ในระยะต้นโตใบพืชที่เป็นโรคมักเกิดจุดสีเหลืองซีดเป็นหย่อมๆขึ้นที่ใบ ขยายออกเป็นหย่อมแผลสีน้ำตาลในเนื้อใบ เมื่ออากาศชื้นจัดในช่วงเช้าตรู่ หรือหลังฝนตกใหม่ๆ มักพบเส้นใยและสปอร์ของราสาเหตุโรคเจริญปกคลุมบริเวณที่เหลืองซีดนั้น ลักษณะเป็นขุยสีขาว หรือสีเทาอ่อน เห็นได้ชัดด้านใต้ใบ แต่ถ้าอากาศแห้งจะพบแต่อาการเหลืองซีดเท่านั้น ในกะหล่ำดอกและบร๊อคโคลี่ ถ้าเชื้อราเข้าทำลายในระยะสร้างดอกจะเกิดเป็นจุดดำเล็กๆ บนช่อดอก อาการรุนแรงดอกอาจยืด หรือบิดเบี้ยวเสียรูปทรง ในกะหล่ำปลีเกิดเป็นจุดเล็กๆ บนใบไม่ค่อยขยายขนาด (*ศศิธร*, 2545)

บนใบพืชตระกูลแตงจะเป็นปื้นสีเหลืองสดใสตามผิวใบด้านบน ปื้นสีเหลืองนี้ต่อไปจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจากกลางแผลออกไป ส่วนด้านใต้ใบเป็นจุดที่ปกคลุมด้วยกลุ่มสปอร์สีเทาดำ

จุดดังกล่าวคือเนื้อเยื่อตาย จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบแตงที่เป็นโรคแสดงลักษณะอาการเป็นจุดเหลี่ยมอยู่ในขอบเขตของเส้นใบ ใบที่เป็นโรคค่อยๆ แห้งลง แต่ไม่หลุดร่วงจากเถา ถ้าโรคระบาดในระยะที่แตงยังเล็กอยู่ อาจทำให้เถาแตงแห้งตาย หรือถ้าเป็นโรคในระยะที่ผลยังอ่อน จะทำให้ผลมีขนาดลีบเล็กลง บิดเบี้ยว แคระแกร็นและคุณภาพต่ำ เกิดความเสียหายอย่างมาก ในแคนตาลูปและแตงโม โรคนี้ทำให้ความหวานลดลง (จุมพล และคณะ, 2540)

โรคราน้ำค้างบนพืชตระกูลหญ้า ได้แก่โรคราน้ำค้างข้าวโพดที่พบระบาดในประเทศไทย ข้าวโพดที่เป็นโรคในระยะต้นกล้าจะพบจุดเล็กๆสีขาวหรือสีเหลืองอ่อนบนใบเลี้ยงและใบจริงสองสามใบแรก(Local symptom) ต่อมาจุดนี้จะขยายเป็นทางยาวสีเหลืองหรือสีเขียวอ่อนสลับกับเขียวแก่ลามไปยังโคนใบ ข้าวโพดพันธุ์อ่อนแอถ้าเป็นโรคนี้ในระยะต้นกล้าต้นจะแคระแกร็นและแห้งตายไป(สมเกียรติ และคณะ, 2524) ข้าวโพดหวานและข้าวโพดเทียนส่วนใหญ่อ่อนแอต่อโรคนี้มาก (ดิลก, 2541, พีระวรรณและคณะ, 2541) โรคราน้ำค้างของอ้อยพบใบมีลักษณะเป็นทางสีขาวเหลือง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในที่สุดจะแห้งและแตกเป็นฝอย(สมเกียรติ และคณะ, 2521)

นอกจากนี้โรคราน้ำค้างยังทำความเสียหายให้แก่ ถั่วเหลือง ยาสูบ ทานตะวัน กุหลาบ และองุ่น (พัฒนาและคณะ, 2542)

การเกิดโรคของพืชที่มีรายงานไว้แต่เดิมอาจเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือจากการเขตกรรม เนื่องจากเกษตรกรมีการดูแลรักษาที่ดีขึ้นกว่าเดิม หรืออาจเป็นเพราะความต้านทานของพืชเอง ที่ทำให้เชื้อลดความรุนแรงลงหรือหมดไป ในทางตรงข้ามความรุนแรงของโรคอาจมีมากขึ้น หรือมีการแพร่ระบาดของโรคเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการสำรวจ รวบรวมเชื้อราโรคราน้ำค้างอย่างสม่ำเสมอ จึงมีความจำเป็น ให้ทราบถึงการแพร่ระบาดของโรค เพื่อให้มีการป้องกันกำจัดโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์
2. กรอบไม้อัดตัวอย่างแห้งโรคพืช
3. สไลด์ กระจกปิดสไลด์
4. กล้องจุลทรรศน์
5. lactophenol

วิธีการ

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผัก ไม้ผล และพืชไร่ จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผักไม้ผล และพืชไร่ จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ได้แก่ แหล่งปลูกในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตกและภาคใต้ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง กรกฎาคม 2550 ตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก ถ่ายภาพตัวอย่างโรค แล้วนำตัวอย่างโรคพืชเหล่านั้นมาจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคราน้ำค้างบนพืชต่าง ๆ

ศึกษาลักษณะอาการบนพืชไม้ผล พืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด พืชผักตระกูลแตง และพืชไร่ในสภาพธรรมชาติ ถ่ายภาพลักษณะอาการต่างๆ เหล่านั้น และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืช ไว้ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างบนไม้ผล พืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด และบนพืชผักตระกูลแตง โดยจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยสาเหตุโรค แล้วถ่ายภาพเชื้อราสาเหตุโรคใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (sporangiophores) และ สปอร์แรงเจีย (sporangia)

4. การจำแนกชนิด เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (sporangiophores) และสปอแรนเจีย (sporangia) ของราสาเหตุโรคราน้ำค้าง กับคู่มือการจำแนกเชื้อรา class Oomycetes ของ Alexopoulos *et al*., (1996)

เวลาและสถานที่

กันยายน 2548 – กรกฎาคม 2550

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผักและไม้ผล จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ

ผลการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผัก ไม้ผล และพืชไร่ จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ได้ตัวอย่างโรคราน้ำค้างพืชผักไม้ผล และพืชไร่ ดังนี้ (ตารางที่ 1)

1.1 แหล่งปลูกภาคเหนือ

จังหวัดเชียงใหม่ พบโรคราน้ำค้าง จำนวน 10 ตัวอย่าง คือ โรคราน้ำค้างบวบ บร็อคโคลี่ ข้าวโพด ถั่วเหลือง

จังหวัดเชียงราย พบโรคราน้ำค้างผักกวางตุ้งจำนวน 1 ตัวอย่าง

จังหวัดลำพูน พบโรคราน้ำค้างผักกวางตุ้ง คะน้า จำนวน 3 ตัวอย่าง

จังหวัดพิจิตร พบโรคราน้ำค้างถั่วเหลือง จำนวน 1 ตัวอย่าง

จังหวัดสุโขทัย พบโรคราน้ำค้างข้าวโพด จำนวน 2 ตัวอย่าง

จังหวัดกำแพงเพชร พบโรคราน้ำค้างข้าวโพด จำนวน 1 ตัวอย่าง

จังหวัดเพชรบูรณ์ พบโรคราน้ำค้างผักกาดหัว โรคราน้ำค้างฟักแม้วจำนวน 2 ตัวอย่าง

1.2 แหล่งปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

จังหวัดเลย พบโรคราน้ำค้างแตงกวา จำนวน 1 ตัวอย่าง

จังหวัดนครราชสีมา พบโรคราน้ำค้างข้าวโพด จำนวน 1 ตัวอย่าง

1.3 แหล่งปลูกภาคกลาง

จังหวัดนนทบุรี พบโรคราน้ำค้างผักขมจีน จำนวน 1 ตัวอย่าง

จังหวัดราชบุรี พบโรคราน้ำค้างแตงกวา จำนวน 1 ตัวอย่าง

จังหวัดลพบุรี พบโรคราน้ำค้างข้าวโพด จำนวน 1 ตัวอย่าง

1.4 แหล่งปลูกภาคตะวันตก

จังหวัดกาญจนบุรี พบโรคราน้ำค้างแตงร้าน แตงกวา คะน้า ผักกาดขาวปลี ผักกาดขาวห่อ จำนวน 6 ตัวอย่าง

1.5 แหล่งปลูกในภาคใต้

จังหวัดเพชรบุรี พบโรคราน้ำค้างแตงร้าน แตงกวา จำนวน 2 ตัวอย่าง รวมได้สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างทั้งหมด 34 ตัวอย่าง ตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก ถ่ายภาพตัวอย่างโรค เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคอัดแห้ง ส่งเข้าจัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช และนำตัวอย่างโรคราน้ำค้างอีกส่วนหนึ่งไปศึกษาสาเหตุของโรค โดยการทำ permanent slide

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคราน้ำค้างบนพืชต่าง ๆ

ศึกษาลักษณะอาการบนพืชไม้ผล พืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด พืชผักตระกูลแตง และพืชไร่ในสภาพธรรมชาติ ดังนี้

2.1 ลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนไม้ผล

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนพืชไม้ผล พบว่า ลักษณะอาการเริ่มแรกของโรคซึ่งปรากฏที่ด้านบนของใบอ่อนที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเป็นจุดสีเหลือง หรือสีเขียวอ่อน ต่อมาเมื่ออาการรุนแรงขึ้นเชื้อขยายลามทำให้แผลขยายใหญ่เป็นปื้นสีเหลือง เมื่อเป็นนานๆ แผลจะกลายเป็นสีน้ำตาล ทำให้ใบแห้งกรอบ ส่วนบริเวณด้านใต้ใบ จะพบเชื้อราสาเหตุโรคเป็นขุยสีขาวปกคลุมบริเวณที่เหลืองซีด เห็นได้ชัดเจน

2.2 อาการโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลกะหล่ำ ผักกาด และถั่วเหลือง

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด พบว่า ลักษณะอาการเริ่มแรกเกิดแผลสีเหลืองซีดขึ้นที่ใบ ขยายออกเป็นแผลสีเหลืองคล้ำๆ เป็นหย่อมๆ จะพบเชื้อราสาเหตุโรคลักษณะเป็นขุยสีขาวอมเทาอ่อน ปกคลุมอยู่ในบริเวณแผล เห็นได้ชัดเจนทางด้านใต้ใบ บนถั่วเหลืองพบว่าใบของถั่วเหลืองด้านบนใบมีสีเหลืองอ่อนขนาดของแผลไม่แน่นอนเมื่อพลิกดูด้านใต้ใบพบผงสีเทาอ่อน หรือเทาอมม่วง ถั่วเหลืองที่มีอาการโรคนี้รุนแรงเนื้อเยื่อพืชตรงบริเวณแผลจะตายแห้งและโหว่

2.3 อาการโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลแตง

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลแตง พบว่า ลักษณะอาการบนใบเป็นจุดสีเหลืองสดใสตามผิวใบด้านบน ส่วนด้านใต้ใบเป็นจุดที่ปกคลุมด้วยกลุ่มสปอร์สีเทา จุดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบแตงที่เป็นโรคแสดงลักษณะอาการเป็นจุดเหลี่ยมอยู่ในขอบเขตของเส้นใบ ใบที่เป็นโรคค่อยๆ แห้งลง แต่ไม่หลุดร่วงจากเถาว์

2.4 อาการโรคราน้ำค้างบนข้าวโพด

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคราน้ำค้างบนพบว่าใบข้าวโพดมีลักษณะสีเขียวอ่อนสลับสีเขียวแก่ใบอ่อนที่ยอดมีสีเขียวอ่อนเมื่อพลิกดูใต้ใบพบผงสีขาวของเชื้อรา ข้าวโพดที่อายุมากรอยสีเขียวอ่อนหรือสีเหลืองก็จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลักษณะคล้ายใบไหม้และแห้งตายในที่สุด ลักษณะอาการอื่นที่พบได้แก่ ต้นแคระแกรน เตี้ย ข้อถี่ ไม่มีฝักหรือมีฝักขนาดเล็ก ก้านฝักมีความยาวมากหรือมีจำนวนฝักมากกว่าปกติ

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างบนไม้ผล พืชผักตระกูลกะหล่ำ ผักกาดและถั่วเหลือง บนพืชผักตระกูลแตง และข้าวโพด ดังนี้

3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างไม้ผล

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างไม้ผล ได้แก่ โรคราน้ำค้างองุ่น พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง การแตกกิ่งก้านและแตกกิ่งย่อยออกไปของ sporangiophore ทำมุมฉากต่อกัน สร้าง sporangium ใส เซลล์เดียว เป็นรูปไข่

3.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชตระกูลกะหล่ำผักกาด และถั่วเหลือง

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชตระกูลผักกาด ได้แก่ คะน้า กวางตุ้ง ผักขมจีน ผักกาดหัว ผักกาดขาวปลี และถั่วเหลืองพบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง มี sporangiophore ที่เรียวยาว แตกกิ่งเป็นมุมแหลม ส่วนปลายเรียวยาวและโค้งเล็กน้อย คล้ายเขากวาง ชูออกมาจากปากใบ สร้าง sporangium รูปกลม หรือรูปไข่

3.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชตระกูลแตง

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชตระกูลแตง ได้แก่ แตงร้าน แตงกวา ฟักแม้วและบวบ พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง สร้าง sporangium รูปไข่ บน sporangiophore ที่เรียวยาว แตกกิ่งเป็นมุมป้าน ปลายมน

3.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างข้าวโพด

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างข้าวโพดมีก้านชูสปอร์ตรง แผ่ขยายออกที่ปลาย สีใส มักจะแตกแขนงแบบสองแฉกเสมอ จากใต้ใบและด้านบนของใบ สปอร์ใสรูปไข่หรือรียาว ติดอยู่บนก้านชูเรียว

4. การจำแนกชนิด เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้าง

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการแตกแขนงของก้านสปอร์ (sporangiophores) และสปอแรนเจีย (sporangia) ของราสาเหตุโรคราน้ำค้าง กับคู่มือการจำแนกเชื้อรา class Oomycetes ของ Alexopoulos *et al.*, (1996) พบว่า

4.1 เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างองุ่น คือ รา *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt.) Berl. & de Toni ซึ่งตรงกับการรายงาน เมื่อ 40 ปีที่แล้วของ นิรนาม ที่รายงานโรคราน้ำค้างที่พบในประเทศไทย ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2505 (นิรนาม, 2505) และ ทนง ที่ได้สำรวจโรคองุ่นในบางท้องที่ของประเทศไทย และใน ปี พ.ศ. 2508 (ทนง, 2508)

4.2 เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด คือ รา *Peronospora parasitica* (Pers. ex. Fr.) Tul. ซึ่งตรงกับการรายงานการเกิดโรคกับพืชผักในประเทศไทย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2505 ของ Puckdeedindan (1966) ที่รายงานการแพร่ระบาดของโรคราน้ำค้างบนผักคะน้าจีนและผักกาดขาวปลี (ผักกาดหางหงส์ หรือผักกาดฮ่องเต้) และ ศุภลักษณ์ (2527) ที่รายงานการเกิดโรคราน้ำค้างกวางตุ้ง และมีรายงานการเกิดโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลนี้อีกหลายชนิดในประเทศไทย คือ ผักกาดเขียวปลี ผักกาดหัว กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กะหล่ำปม และบร๊อคโคลี่ (พัฒนาและคณะ, 2537) เช่นเดียวกับการรายงานโรคกับ ผักกาด คะน้า กะหล่ำดอก และบร๊อคโคลี่ ของ ศศิธร (2545) ถั่วเหลืองคือ รา *Peronospora manshurica* (Naum.) Syd. ex Gaum. ตรงกับรายงานของมณฑา (2548)

4.3 เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างพืชผักตระกูลแตง คือ รา *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. & Curt.) Rost. ซึ่งตรงกับการรายงานของประไพศรีและคณะ (2525) และสมศิริ (2532) และมีรายงานการเกิดโรคราน้ำค้างบนพืชผักตระกูลนี้อีกหลายชนิดในประเทศไทย คือ ฟัก ฟักเขียว และแฟงแตงโม แตงไทย แตงเทศ แตงฝรั่ง และมะระจีน (พัฒนาและคณะ, 2537)

4.4 เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างข้าวโพด คือ รา *Peronosclerospora sorghi* (Weston &Uppal) C.G. Shaw เช่นเดียวกับรายงานของสมเกียรติ ฐิตะฐาน และคณะ (2524) ที่พบเชื้อ *Peronosclerospora sorghi* เป็นสาเหตุโรคราน้ำค้างข้าวโพด

Table 1 Survey Collect and Identification of Downy Mildew diseases in Orchard, Vegetable and Field Crops.

พืช	เชื้อสาเหตุ	แหล่งที่พบ	ว/ด/ป
ข้าวโพด	*Peronosclerospora sorghi*	โครงการหลวงปางดะ จ. เชียงใหม่	26 ม.ค. 49
บวบ	*Pseudoperonospora cubensis*	สถานีวิจัยเกษตรเขตชล ประทานมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ.เมือง จ. เชียงใหม่	14 ม.ค. 49
ถั่วเหลือง	*Peronospora manshurica*	ต. สันโป่ง อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	14 ม.ค. 49
ถั่วเหลือง	*Peronospora manshurica*	บ้านแม่มูต ต. แม่วิง อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่	15 ม.ค. 49
ถั่วเหลือง	*Peronospora manshurica*	ต. ทุ่งสะโตก อ. สันกำแพง จ. เชียงใหม่	15 ม.ค. 49
ถั่วเหลือง	*Peronospora manshurica*	บ้านต่อเรือ ต. ช่างเคิ่ง อ. แม่แจ่ม จ. เชียงใหม่	15 ม.ค. 49
ถั่วเหลือง	*Peronospora manshurica*	บ้านป่าแดด ต. ท่าผา อ. แม่แจ่ม จ. เชียงใหม่	16 ม.ค. 49
ถั่วเหลือง	*Peronospora manshurica*	ต. ข่วงเปา อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่	16 ม.ค. 49
ถั่วเหลือง	*Peronospora manshurica*	ต. แม่นะ อ. เชียงดาว จ. เชียงใหม่	29 มี.ค. 49
ข้าวโพด	*Peronosclerospora sorghi*	ต. เขาแก้วสมบูรณ์ อ. ทุ่งเสลี่ยม จ. สุโขทัย	3 ส.ค. 49
ข้าวโพด	*Peronosclerospora sorghi*	ต. วังใหญ่ อ. ศรีสำโรง จ. สุโขทัย	3 ส.ค. 49
ข้าวโพด	*Peronosclerospora sorghi*	บ้านสระทานา อ. ขานุวรลักษณ์ จ. กำแพงเพชร	4 ส.ค. 49
ถั่วเหลือง	*Peronospora manshurica*	บ้านบึงตะโก ต. ท่าหลวง อ. เมือง จ. พิจิตร	18 ส.ค. 49

Table 1 (continue)

พืช	เชื้อสาเหตุ	แหล่งที่พบ	ว/ด/ป
ข้าวโพด	*Peronosclerospora sorghi*	สถานีทดลองพืชไร่พระพุทธบาท ต.โคกตูม อ. เมือง จ. ลพบุรี	13 ก.ย. 49
ข้าวโพด	*Peronosclerospora sorghi*	ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ต. ปางอโศก อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา	13 ก.ย. 49
องุ่น	*Plasmopara viticola*	บ้านซับน้อย ต. ปากช่อง จ. นครราชสีมา	14 ก.ย. 49
แตงกวา	*Pseudoperonospora cubensis*	ไร่ทีเอสเอ อ.ภูเรือ จ. เลย	27 ก.ย. 49
องุ่น	*Plasmopara viticola*	ต. รางหวาย อ. พนมทวน จ. กาญจนบุรี	5 ต.ค. 49
บร๊อคโคลี่	*Peronospora parasitica*	ต. แม่เหี๊ยะ อ.เมือง จ. เชียงใหม่	15 พ.ย. 49
กวางตุ้ง	*Peronospora parasitica*	ต. ต้นธง อ.เมือง จ. ลำพูน	15 พ.ย. 49
คะน้า	*Peronospora parasitica*	บ้านหลุก ต. เหมืองง่า อ. เมือง จ. ลำพูน	15 พ.ย. 49
กวางตุ้ง	*Peronospora parasitica*	บ้านหลุก ต. เหมืองง่า อ. เมือง จ. ลำพูน	15 พ.ย. 49
กวางตุ้ง	*Peronospora parasitica*	สถานีทดลองพืชสวนเชียงราย จ. เชียงราย	27 ธ.ค. 49
แตงร้าน	*Pseudoperonospora cubensis*	ต. รางหวาย อ. พนมทวน จ. กาญจนบุรี	17 ม.ค. 50
คะน้า	*Peronospora parasitica*	ต. รางหวาย อ. พนมทวน จ. กาญจนบุรี	17 ม.ค. 50
ผักกาดเขียวปลี	*Peronospora parasitica*	ต. รางหวาย อ. พนมทวน จ. กาญจนบุรี	17 ม.ค. 50

Table 1 (continue)

พืช	เชื้อสาเหตุ	แหล่งที่พบ	ว/ด/ป
ถั่วเหลือง	*Peronospora manshurica*	บ้านบึงตะโก ต. ท่าหลวง อ. เมือง จ. พิจิตร	18 ส.ค. 49
คะน้า	*Peronospora parasitica*	ต. ทุ่งทอง อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี	17 ม.ค. 50
แตงกวา	*Pseudoperonospora cubensis*	ต. ทุ่งทอง อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี	19 ม.ค. 50
ผักกาดขาวห่อ	*Peronospora parasitica*	ต. รางหวาย อ. พนมทวน จ. กาญจนบุรี	19 ม.ค. 50
แตงกวา	*Pseudoperonospora cubensis*	บางป่า อ. เมือง จ. ราชบุรี	26 มิ.ย. 50
แตงร้าน	*Pseudoperonospora cubensis*	บ้านหนองชุมแสง ต. ท่าไม้รวก อ. ท่ายาง จ. เพชรบุรี	26 มิ.ย. 50
แตงร้าน	*Pseudoperonospora cubensis*	บ้านนาขึงหนัง ต. มาบปลาเค้า อ. ท่ายาง จ. เพชรบุรี	26 มิ.ย. 50
ผักขมจีน	*Peronospora parasitica*	อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี	26 มิ.ย. 50
ผักกาดหัว	*Peronospora parasitica*	บ้านสนสวย ต. หนองแม่นา อ. เขาค้อ จ. เพชรบูรณ์	17 ก.ค. 50
ฟักแมว	*Pseudoperonospora cubensis*	บ้านเสลี่ยงแห้ง อ. เขาค้อ จ. เพชรบูรณ์	17 ก.ค. 50

สรุปผลการทดลอง

การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างของพืชผักไม้ผล และพืชไร่ จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ครั้งนี้ได้รวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างทั้งหมด 34 ตัวอย่าง และจากการศึกษาและจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคราน้ำค้าง พบโรคราน้ำค้างองุ่น มีสาเหตุจาก รา *Plasmopara viticola* ราน้ำค้างกับพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด มีสาเหตุจาก *Peronospora parasitica* ราน้ำค้างถั่วเหลืองมีสาเหตุจาก รา *Peronospora manshurica* โรคราน้ำค้างบนพืชตระกูลแตง มีสาเหตุจาก รา *Pseudoperonospora cubensis* โรคราน้ำค้างข้าวโพดมีสาเหตุจาก รา *Peronosclerospora sorghi* แม้จะมีการรายงานการพบโรคราน้ำค้างในประเทศไทยมานานกว่า 50 ปี แต่ในการสำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างครั้งนี้ ยังคงพบการระบาดของโรคในแปลงปลูกพืชทั่วไป ทำให้น่าสนใจว่า การควบคุมโรคนี้ในประเทศไทยไม่ได้ผลหรืออย่างไร ดังนั้นการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคราน้ำค้างต่อเนื่องเป็นประจำ อย่างสม่ำเสมอทั่วประเทศ จึงมีความจำเป็น เพื่อประโยชน์ในการหาทางป้องกันกำจัดโรคราน้ำค้างอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จุมพล สาระนาค อรพรรณ วิเศษสังข์. และจักรพงษ์ เจิมศิริ. 2540. คู่มือนักวิชาการภาคสนาม “โรคผัก”. เอกสารวิชาการ ฝ่ายวิเคราะห์และบริการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 6 กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ครั้งที่ 3 (2544). หน้า 66-67 และหน้า 104-105.

ดิลก อัญชลิสังกาศ.2541.ปัญหาโรคข้าวโพดเทียนในเขตปลูกจังหวัดอุทัยธานี.ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 8(1):15-17.

ทนง พงษ์พานิช. 2508. การสำรวจโรคองุ่นขั้นต้นในบางท้องที่ของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 61 หน้า.

ทวี เก่าศิริ. 2549. หน่วยที่ 9 สาเหตุโรคพืช ตอนที่ 9.1 รา เรื่องที่ 9.1.1 ลักษณะทั่วไปของราสาเหตุโรคพืชและหน่วยที่ 10 ชนิดของโรคพืช ตอนที่ 10.1 โรคพืชที่เกิดจากรา เรื่องที่ 10.1.1 ราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ. *ใน* เอกสารการสอนชุดวิชา ศัตรูพืชเบื้องต้น หน่วยที่ 8-15 มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์. หน้า 9-5 – 9-26 และหน้า 10-8 - 10-33.

นิรนาม. 2505. รายชื่อโรคที่ตรวจพบ. หน้า 207-215. *ใน* รายงานประจำปี แผนกโรควิทยา. กองพืชพันธุ์. กรมกสิกรรม.

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน วิรัช ชูบำรุง ปิยะ เกียรติก้องและอภิชัย อยู่เอี่ยม. 2525. โรคราน้ำค้างของพืชตระกูลแตงบางชนิด. ไม่มีเลขที่หน้า. *ใน* รายงานผลการทดลอง พ.ศ. 2525 เล่มที่ 1 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ดิลก อัญชลิสังกาศ และเตือนใจ บุญ-หลง. 2541. โรคของข้าวโพดหวานในประเทศไทย.ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 8(1):18-19.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุงและอุบล คือประโคน. 2542. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. (ปรับปรุงครั้งที่ 3). 285 หน้า.

มณฑา นันทพันธ์. 2548. เอกสารวิชาการโรคถั่วเหลืองและการป้องกันจำกัด ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 จ. เชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 57 หน้า.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค.เอกสารวิชาการ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 173 หน้า.

ศุภลักษณ์ ฮอกะวัต. 2527. โรคพืชผัก. อกสารประกอบการสอนวิชา 111 / 413. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 99 หน้า.

สมเกียรติ ฐิตะฐาน ดิลก อัญชลิสังกาศ นิยม จิ้วจิ้น และฤกษ์ ศยามานนท์. 2521. เอกสารทางวิชาการเรื่องโรคราน้ำค้างของอ้อยในประเทศไทย. สาขาโรคพืชไร่ กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 14 หน้า.

สมเกียรติ ฐิตะฐาน ดิลก อัญชลิสังกาศ วีระ แจ่มกระจ่าง และนิยม จิ้วจิ้น. 2524. เอกสารทางวิชาการเรื่องโรคข้าวโพด สาขาโรคพืชไร่ กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 22 หน้า.

สมศิริ แสงโชติ. 2532.โรคพืชเศรษฐกิจ : พืชผัก. บริษัทประชาชน จำกัด. 74 หน้า.

Alexopoulos, C. J. and C. W. Mims and M. Blackwell. 1996. Introductory Mycology. 4th Edition. John Wily & Son, Inc., New York, U. S. A. 868 pp.

Puckdeedindan, P. 1966. A supplementary host list of plant disease in Thailand. Tech. Bull. No. 7, Dept. of Agr., Bangkok. 24 p.

สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา *Pythium* สาเหตุโรคพืช

Surveying , Collection and identification of *Pythium*

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พีระวรรณ วัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ดำนินการทดลอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2550 โดยทำการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรค กล้าเน่าหรือเน่าคอดิน ที่ เกิดจาก รา *Pythium* spp จากแหล่งปลูก ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ ได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า หรือเน่าคอดินจำนวน 9 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* บริสุทธิ์ จำนวน 9 ไอโซเลท ศึกษา รา *Pythium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ตรวจไม่พบ รา *Pythium* ทุกชนิดพืช และศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช โดยเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก ได้ตัวอย่างดิน 8 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง ได้รา *Pythium* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท รวม ได้ รา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ทั้งหมดจำนวน 17 ไอโซเลท ซึ่งอยู่ในขั้นตอนการจำแนกชนิดเชื้อ

คำนำ

รา *Pythium* spp. อยู่ในชั้น (Class) Oomycetes ลำดับ (Order) Peronosporales วงศ์ (Family) Pythiaceae เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดิน หรือเน่าระดับดิน (damping-off) ของต้นกล้าพืชสำคัญหลายชนิด เข้าทำลายต้นกล้าพืช หรือเมล็ดพันธุ์ในดินก่อนงอก พบราพวกนี้เข้าทำลายต้นกล้าพืชในประเทศเขตร้อนต่างๆ เช่น ไทย อินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย ออสเตรเลีย ศรีลังกา ไนจีเรียและเขตกึ่งร้อน เช่น อิลราเอล อาฟริกาใต้ บางรัฐของสหรัฐอเมริกา ลิเบีย เป็นต้น ราทำลายต้นกล้าพืชในเรือนเพาะชำ แปลงตกกล้าพืชมากมายหลายชนิดทั้งใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ เช่น มะละกอ ถั่วลิสง ผ้าย แตงโม มะม่วง กล้วยไม้ หญ้าชนิดต่างๆ ข้าว ถั่ว ขิง ยาสูบ มะเขือเทศ พริก ราเข้าทำลายเมล็ดก่อนเมล็ดพืชงอก เมล็ดมีลักษณะอาการเน่าทั้งที่ยังไม่งอก หรืองอกอยู่ในดิน ซึ่งทำให้สังเกตได้ยาก แต่หากเมล็ดงอกโผล่จากดิน แล้วเจริญเป็นต้นกล้าพืช ราเข้าทำลายที่ระดับดิน โคนต้นกล้าเกิดอาการฉ่ำน้ำ ทำต้นกล้าล้มพับอยู่เหนือดิน ใบเลี้ยงยังคงเขียว ไม่มีอาการเหี่ยว

รหัสโครงการ 09-02-49-01

หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเจริญของรา ความชื้นสูง ทำให้ต้นกล้าเน่าเป็นหย่อมๆ ในแปลงกล้า หรือในกระบะเพาะกล้า

รา *Pythium* เป็นพวกเกิดและอาศัยอยู่ในดิน (soil borne) มีความสามารถที่อยู่รอดด้วยการเป็นพวกซาโพไฟท์ (saprophyte) พวกนี้เป็นปรสิต (parasite) กับพืชเกือบทุกชนิด ไม่เฉพาะเจาะจง มีความสำคัญต่อการเกษตร ทำให้เกิดโรคพืชหลายชนิดที่เป็นพืชเศรษฐกิจ เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดินของกล้าพืชและบางครั้งทำให้เกิดโรคโคนเน่ารากเน่าของพืชที่เจริญเติบโต โดยทำลายเนื้อเยื่อที่บอบบาง เข้าทำลายต้นกล้าพืชได้ทั้งก่อนและหลังการงอกของเมล็ดพืชในดิน การระบาดทำลายต้นกล้าได้รวดเร็ว ขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพแวดล้อม แต่พืชบางชนิดอาจถูกราตัวนี้เข้าทำลายเมื่อตอนอายุมากๆ ได้ เช่น พืชตระกูลแตงที่ปลูกในที่ระบายน้ำไม่ดี ความไม่สมดุลเหมาะสมกับการใส่ปุ๋ยให้กับพืช หรือพืชที่ปลูกไร้ดิน เช่นผักกระเฉด เป็นต้น

ในการศึกษาครั้งนี้ได้สำรวจ รวบรวมและศึกษารายละเอียดต่าง ๆ ของรา *Pythium* spp. แล้วจำแนกชนิด เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลการแพร่กระจายของโรคเน่าคอดิน หรือโรคกล้าเน่า หรือโรคพืชที่เกิดจากรา *Pythium* spp สาเหตุโรคพืชในประเทศไทย และเพื่อให้ได้เชื้อรา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ที่มีรายละเอียดข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยา นอกจากนี้ จากการตรวจเอกสารพบการรายงานโรคพืชสำคัญหลายชนิด ที่มีสาเหตุจากรา *Pythium* spp. โดยไม่ได้จำแนกชนิดเชื้อ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงเพื่อการจัดจำแนกชนิดรา *Pythium* spp เก็บไว้ใน culture collection และเพื่อความถูกต้องในการจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืชในประเทศไทย อีกประการหนึ่งด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. **สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อบริสุทธิ์**

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2550

1.1 **ศึกษาลักษณะอาการโรค การเกิดโรคกล้าเน่าหรือโรคเน่าคอดิน** (damping off)

สำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคกล้าเน่าหรือเน่าคอดิน ที่ เกิดจาก รา *Pythium* spp จากแหล่งปลูก ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ ศึกษาและบันทึกรายละเอียดลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก ถ่ายรูปตัวอย่างโรค ศึกษาและบันทึกสภาพแวดล้อมของการเกิดโรคและการปฏิบัติดูแลของเกษตรกร

นำตัวอย่างโรคพืชมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อวินิจฉัยสาเหตุโรค โดยวิธี tissue transplanting ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มม. ตัวอย่างละ 15-20

ชิ้น เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 ± 2^{0}ซ.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่าง เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP อีกครั้ง เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นเชื้อ เลี้ยงบนอาหาร CA (Carrot agar) แล้วแยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง เพื่อศึกษารายละเอียดของเชื้อที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

1.2 ศึกษา รา *Pythium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช

เก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จากแหล่งปลูก และตลาดขายเมล็ดพันธุ์ทั่วประเทศ เพื่อศึกษา รา *Pythium* spp ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยวางบนอาหาร PDA + BRNAP จานละ 10 เมล็ด เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 ± 2^{0}ซ.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง แล้วปฏิบัติเช่นเดียวกับ ข้อ 1

1.3 ศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูกทั่วประเทศ นำตัวอย่างดินมาละลายน้ำ แล้วใช้เมล็ดแตงกวาแขวนลอยในสารละลายดินดังกล่าว นาน 36-48 ชั่วโมง นำเมล็ดแตงกว่านั้น มาแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยวางบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 ± 2^{0}ซ.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ปฏิบัติเช่นเดียวกับ ข้อ 1

2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium*

นำเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทมาศึกษารายละเอียดลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาดังนี้

2.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (โคโลนี) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงราสาเหตุโรค ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ CA จำนวน 15 มิลลิลิตร เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของราซึ่งเลี้ยงบนอาหาร CA นาน 3 วัน วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ นำไปไว้ในตู้บ่มมืดที่มีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อ ศึกษาบันทึกลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าอาหารและความหนาแน่นของเส้นใย

2.2 ศึกษา ลักษณะ รูปร่างและขนาดสปอร์

เลี้ยงราสาเหตุโรค ในจานขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ CA จำนวน 15 มิลลิลิตร ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบ โคโลนีของราซึ่งเลี้ยงบนอาหาร CA นาน 3 วัน ลอยในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

นำไปไว้ภายใต้แสง (ไฟฟ้า) ที่เหมาะสม (GE Cool White F 40 D 40-watt) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้สร้างสปอแรนเจีย (sporangia) ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้านชูสปอร์ (sporangiophores) วัดขนาด หรือบันทึกลักษณะของสปอร์แรงเจีย วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) ศึกษาและบันทึกการสร้าง sexual structure ของเชื้อ วัดขนาด (ความกว้างและความยาว) ของ โอโอโกเนีย (oogonia), โอโอ สปอร์ (oospores) และ แอนธิริเดีย (antheridia) ศึกษาตำแหน่งของ antheridia บนผิวของ oogonium และลักษณะของ oospore ที่อยู่ภายในแต่ละ oogonium ศึกษาสปอร์ ชนิดต่าง ๆ ชนิดละ 50 สปอร์

3. **จำแนกชนิดรา** *Pythium* spp.

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการเจริญเส้นใย ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ชนิดต่างๆ (sporangium, chlamydospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของรา *Pythium* สาเหตุโรคกล้าเน่า ราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ และราในดิน กับคู่มือการจำแนกชนิด *Pythium* ของ PLAATS-NITERINK (1981)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

1.1 การศึกษาลักษณะอาการโรค การเกิดโรคกล้าเน่าหรือโรคเน่าคอดิน (damping off)

ผลการสำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรค ในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ (ตารางที่ 1) พบ โรคลำต้นหรือกล้าเน่าแตงกวา ต้นกล้าแสดงอาการเน่าในกระบะเพาะจากจังหวัดเลย 1 ตัวอย่าง โรคเน่าคอดินหรือกล้าเน่ามะเขือเทศ ในกระถางเรือนทดลอง กรุงเทพฯ 1 ตัวอย่าง และโรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง จากจังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่าง นอกจากนี้ พบโรคโคนเน่ารากเน่าของพืชที่เจริญเติบโตแล้ว โดยทำลายเนื้อเยื่อที่บอบบาง ได้แก่ โรคโคนเน่ารากเน่าสตรอแบรี่ จากจังหวัดเชียงใหม่ 2 ตัวอย่าง แสดงอาการลำต้นเน่าและใบไหม้ โรคต้นเน่าผักกาดหอมจากกรุงเทพฯ 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่ารากเน่าผักสลัดแก้ว จากเชียงใหม่ 1 ตัวอย่าง โรคต้นเน่าจากผักกระเฉดที่ปลูกไร้ดิน (ผักไฮโดรโปรนิค) จากกรุงเทพฯ 1 ตัวอย่าง และจังหวัดสมุทรปราการ 1 ตัวอย่าง ผักกระเฉดแสดงอาการต้นเน่า เละ แต่ไม่มีกลิ่น รวมได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งหมด 9 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช ทั้งหมดจำนวน 9 ไอโซเลท

ตารางที่ 1 รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืชจากพื้นที่เพาะปลูกของประเทศไทย (ปีพ.ศ. 2549-2550)

พืช	ส่วนของพืช	ส่วนของพืช	แหล่งปลูก
แตงกวา Cu = Cucumber	ลำต้น/กล้าเน่า	ลำต้น/กล้าเน่า	ไร่ TSA ผลิตเมล็ดพันธุ์ อ.ภูเรือ จ.เลย (Lo = Loei)
มะเขือเทศ To=Tomato	กล้าเน่า	กล้าเน่า	เรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ. กรุงเทพ (BK=Bangkok)
กะหล่ำปลีสีม่วง	กล้าเน่า	กล้าเน่า	นายสมศักดิ์ – นางกาญจนา สิทธิหาญ 29-1 หมู่ 2 บ้านโป่งแยงนอก ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ (CM = Chiang Mai)
สตรอแบรี่	ต้นเน่า ใบไหม้	ต้นเน่า/ใบไหม้	ต.ม่อนปิ่น อ.ฝาง จ.เชียงใหม่
St = Strawberry	ต้นเน่า ใบไหม้	ต้นเน่า/ใบไหม้	สถานีทดลองเกษตรหลวงปางดะ อ.สะเมิง จ. เชียงใหม่
ผักกาดหอม	ต้นเน่า	ต้นเน่า	คลินิกพืช กรุงเทพฯ
ผักสลัดแก้ว	โคน - รากเน่า	โคนเน่า/รากเน่า	ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่
ผักกะเฉด	ลำต้น - ใบเน่า ลำต้น - ใบเน่า	ลำต้นเน่า/ใบเน่า ลำต้นเน่า/ใบเน่า	กรุงเทพ นายสมศักดิ์ สะเสือ 16/2 ม.3 ต.หนองปรือ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ (SP= Samut PraGan)

หมายเหตุ

[1] 49	=	จำนวนเลขสองตัวแรก	คือ	ปี พ.ศ.ที่เก็บตัวอย่าง (49 = พ.ศ.2549)
[2] Py	=	ตัวอักษรสองตัวแรก	คือ	รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคต้นเน่า กล้าเน่า
[3] Cu	=	ตัวอักษรสองตัวที่สอง	คือ	พืชอาศัยที่แยกเชื้อสาเหตุได้
[4] Lo	=	ตัวอักษรสองตัวที่สาม	คือ	จังหวัดที่เก็บตัวอย่างโรคกล้าเน่า
[5] 1	=	จำนวนเลขหนึ่งตัว	คือ	ลำดับไอโซเลทของเชื้อสาเหตุที่แยกได้จากพืช
[6] S	=	ตัวอักษรหนึ่งตัวหลัง	คือ	ส่วนของพืชที่แยกราสาเหตุได้

49-Py-Cu-Lo 1 S = รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคที่แยกได้จากตัวอย่างโรคโคนเน่าแตงกวา จังหวัดเลย

ไอโซเลทที่ 1 เก็บตัวอย่างในปี พ.ศ.2549

พืช	ส่วนของพืช	จังหวัด
Cu = Cucumber แตงกวา	S = Stem ลำต้น	Lo = Loei เลย
To = Tomato มะเขือเทศ	R = Root ราก	BK = Bangkok กรุงเทพ ฯ
St = Strawberry สตรอแบรี่		CM = Chiang Mai เชียงใหม่
		SP = Samut PraGan สมุทรปราการ

รา *Pythium* spp. เข้าทำลายต้นกล้าพืชที่ระดับดิน โคนต้นกล้าเกิดอาการฉ่ำน้ำ ทำให้ต้นกล้าล้มพับอยู่เหนือดิน ใบเลี้ยงยังคงเขียว ไม่มีอาการเหี่ยว หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเจริญของรา ความชื้นสูง ทำให้ต้นกล้าเน่าเป็นหย่อมๆ ในแปลงกล้า หรือในกระบะเพาะกล้าในเรือนเพาะชำ การศึกษาครั้งนี้พบต้นกล้ามะเขือเทศในเรือนเพาะชำเน่า ซึ่งตรงกับการรายงานของจุมพลและอรพรรณ (ไม่ระบุปีที่ตีพิมพ์) เรียบเรียงโรคพืชผัก ในคู่มือนักวิชาการภาคสนาม และตรงกับรายงานของพัฒนาและคณะ (2542) ว่า โรคกล้าเน่าตาย หรือโรคเน่าคอดิน (damping off) ของมะเขือเทศ เกิดจาก รา *Pythium* sp. ในการศึกษาครั้งนี้พบกล้าเน่าของกะหล่ำปลีสีม่วงจากเชียงใหม่ ซึ่งพัฒนาและคณะ (2542) ได้รายงานการเกิดโรคโคนเน่าในกระหล่ำดอก และกระหล่ำปลี และโรคเน่าคอดินในกระหล่ำดอกอิตาเลียน (บร๊อคโคลี่) อีกด้วย สำหรับโรคกล้าเน่าแตงกวา พบการรายงานการเกิดบนแตงกวาและแตงร้าน คือ โรคโคนเน่า (Foot rot) จาก รา *P. aphanidermatum* โรครากเน่า (Root rot) จากรา *P. debaryanum* โรคผลเน่า (Fruit rot) จากรา *Pythium* sp. (พัฒนาและคณะ, 2542) แต่ไม่พบการรายงานการเกิดโรคนี้บนผักกาดหอม ผักสลัดแก้ว ผักกะเฉด และสตรอเบรี่

นอกจากนี้ตรวจเอกสารพบการรายงานการศึกษาสาเหตุโรคพืช ในระยะต้นโตที่มีสาเหตุจากรา *Pythium* spp. ในประเทศไทย คือ สุชาติ (2541) รายงานโรคโคนต้นเน่าและลำต้นเน่า โรครากเน่าและโคนเน่าของมะละกอ ว่าเกิดจากรา *Pythium aphanidermatum* พิศาล (2542) รายงานโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เกิดโรคโคนเน่า (stem rot) ของมะละกอจากรา *Pythium aphanidermatum* ทำให้โคนต้นเน่าสีน้ำตาลดำและบางครั้งมีเส้นใยสีขาวเกิดขึ้น และรายงานโรคยอดเน่า (heart rot) ของสับปะรด มีสาเหตุจากรา *Pythium* sp.นิยมรัฐ (2542) รายงานโรคผลเน่า (Fruit rot) ของมะเขือเทศ มีลักษณะช้ำเหมือนน้ำร้อนลวก แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำ มีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp.นิตยา (2545) รายงานโรคที่เกิดกับส่วนที่อยู่ใต้ดินของพืชสกุลหอมกระเทียม คือโรค Pythium seed rot and Damping – off มีสาเหตุจากรา *Pythium* sp.ทำให้ต้นกล้ามีปลายใบแห้งและยุบตายเป็นหย่อม ที่โคนต้นบริเวณคอดินมีรอยช้ำเป็นสีน้ำตาล มณฑา (2548) รายงานโรครากเน่าและโคนเน่า (root rot and basal stem rot) ของ

ถั่วเหลือง ที่แสดงอาการเหี่ยวเฉา ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและฉ่ำน้ำ ขอบใบม้วนขึ้น ว่ามีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp. ซึ่งจะเห็นเส้นใยสีขาวหนาตรงส่วนต่อของรากกับโคนต้น นอกจากนี้ อมรรัตน์ และคณะ (2522) รายงานโรคต้นเน่าป่านศรนารายณ์ ทำให้เกิดอาการเน่าเละเป็นสีน้ำตาล อาการเริ่มที่โคนใบ แล้วเน่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แล้วใบหักพับลง ลุกลามไปยังโคนใบอื่นๆ กลางลำต้นเน่าเละ และต้นล้มไปในที่สุด มีสาเหตุจาก รา *Pythium aphanidermatum*

1.2 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช

ผลการเก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จากไร่ TSA ผลิตเมล็ดพันธุ์ อ.ภูเรือ จ.เลย ได้เมล็ดพันธุ์มะเขือพวง คะน้า ผักกาดหอม บวบงู แตงกวา ผักขี้หูด ผักชีฝรั่ง เทียนญี่ปุ่น เทียนซ้อน ซัลเกีย โหระพา รวมจำนวน 11 ชนิดพืช และเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ถั่วเขียว จากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ 2 ชนิดพืช ตรวจไม่พบ รา *Pythium* ทุกชนิดพืช

เมล็ดพันธุ์ที่ได้จากไร่ TSA ผลิตเมล็ดพันธุ์ อ.ภูเรือ จ.เลย เป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูง สะอาด และเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ถั่วเขียว จากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ นั้นมีการตากแดด และเก็บอย่างดีจึงไม่พบ รา *Pythium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช ซึ่งตรงกับคำแนะนำในการควบคุมรานี้ คือ การใช้เมล็ดพันธุ์พืชที่คลุกเมล็ดด้วยสารเคมีเมทาแลกซิล ควบคุมราที่อาจติดมากับเมล็ดและป้องกันการเข้าทำลายจากราที่อยู่ในดิน และใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงและเพาะปลูกในสภาพที่เหมาะสมต่อการงอกและการเจริญของกล้าพืช (ทวี, 2549)

1.3 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

ผลการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก (ตารางที่ 2) ได้ตัวอย่างดินคะน้า จากจังหวัดปทุมธานี 2 ตัวอย่าง จังหวัดสุพรรณบุรี เชียงราย และเชียงใหม่ จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างดินปลูกกวางตุ้งจากจังหวัดเชียงราย และเชียงใหม่ จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง และดินปลูกสตรอเบอรี่จากจังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่าง รวมได้ตัวอย่างดิน 8 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง ได้ รา *Pythium* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท

ตารางที่ 2 รา *Pythium* spp. แยกจากดินปลูกพืชของประเทศไทย (ปีพ.ศ. 2550-2551)

จังหวัด	ดินปลูกพืช	ไอโซเลท	แหล่งปลูก
สุพรรณบุรี	คะน้า	50-Py-สพ.-ดินคะน้า-1	ม.4 ต.คันคต อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี
ปทุมธานี	คะน้า	50-Py-ปธ.-ดินคะน้า-1	คุณสมพงษ์ 63/1 ม.2 ต.บางเดื่อ อ.เมือง
	คะน้า	50-Py-ปธ.-ดินคะน้า-2	เฮียแว่น 22 ม. 3 ต.บ้านใหม่ อ.เมือง
เชียงราย	คะน้า	50-Py-ชร.-ดินคะน้า-1	บ.บางขอน ต.แม่เจดีย์ อ.เวียงป่าเป้า
	กวางตุ้ง	50-Py-ชร.-ดินกวางตุ้ง-1	บ.บางขอน ต.แม่เจดีย์ อ.เวียงป่าเป้า
เชียงใหม่	คะน้า	50-Py-ชม.-ดินคะน้า-1	บ.ทุ่งแดง อ.พร้าว
	กวางตุ้ง	50-Py-ชม.-ดินกวางตุ้ง-1	ต.โหล่ขวด อ.พร้าว
	สตรอแบรี่	50-Py-ชม.-ดินสตรอแบรี่-1	ต.สะเมิงใต้ อ.สะเมิง

รา *Pythium* เป็นพวก water mold หรือ ราน้ำ อาศัยบนเศษซากพืช อินทรีย์วัตถุในดิน เกิดและอาศัยอยู่ในดิน (soil borne) ราเข้าทำลายเมล็ดก่อนเมล็ดพืชงอก เมล็ดมีลักษณะอาการเน่าทั้งที่ยังไม่งอก หรืองอกอยู่ในดิน (ทวี, 2549) จากตัวอย่างดินในแปลงปลูกคะน้า กวางตุ้ง และสตรอแบรี่ในการศึกษาครั้งนี้ แยกได้รา *Pythium* spp.บริสุทธิ์ทุกตัวอย่าง ดังนั้นการปลูกพืชในดินจึงควรใช้เมล็ดพันธุ์พืชที่คลุกเมล็ดด้วยสารเคมีเมทาแลกซิล ควบคุมราที่อาจติดมากับเมล็ดและป้องกันการเข้าทำลายจากราที่อยู่ในดิน (ทวี, 2549)

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium*

2.1 การศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (โคโลนี) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อนาน 3 วัน พบว่าราสร้างเส้นใยบนอาหาร CA มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปสม่ำเสมอ ค่อนข้างเป็นระเบียบ ไม่ฟูมาก ลักษณะเส้นใยใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้น ผิวผนังเรียบ ราเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 2 – 3 วันและพบการเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เกิดลักษณะ

รูปแบบของโคโลนี (culture pattern หรือ colony pattern) คล้ายปุยฝ้าย หรือปุยสำลี หรือ เส้นไยแมงมุม (arachnoid) ทุกไอโซเลท

2.2 การศึกษา ลักษณะ รูปร่างและขนาดสปอร์

รา *Pythium* มีเส้นใยที่ไม่มีผนังกั้น สร้างสปอร์ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ทางเพศ (sexual spores) มีผนังหนาและสปอร์ที่เกิดแบบไม่ผสมพันธุ์ทางเพศ (asexual spores) เป็นสปอร์รูปร่างต่างๆ กัน อาจมีรูปร่างกลม หรือเป็นเส้นยาว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด (species) สปอร์งอกเส้นใย 1-2 วัน หรืออาจสร้างสปอร์มีหางว่ายน้ำได้ ภายในถุงที่แยกออกมาจากสปอร์ (vesicle) ราพวกนี้ส่วนมากผสมทางเพศด้วยตัวของมันเอง (homothallic fungi) เกิด oospores อยู่ภายในเนื้อเยื่อของพืชที่มันเข้าทำลาย หรือบนอาหารสังเคราะห์เลี้ยงเชื้อบางชนิด บางครั้งพบสปอร์ผนังหนา รูปร่างกลม ซึ่งขณะนี้อยู่ระหว่างการดำเนินการศึกษา พบความแตกต่างของรา *Pythium* อย่างน้อย 3 ชนิด

3. จำแนกชนิดรา *Pythium* spp.

ขณะนี้อยู่ระหว่างการดำเนินการศึกษา พบรา *Pythium* อย่างน้อย 3 ชนิด

สรุปผลการทดลอง

ผลการสำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรคพืช ในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ พบ โรคลำต้นหรือกล้าเน่าแตงกวา โรคเน่าคอดินหรือกล้าเน่ามะเขือเทศ โรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง โรคโคนเน่ารากเน่าสตรอแบรี่ โรคต้นเน่าผักกาดหอม โรคโคนเน่ารากเน่าผักสลัดแก้ว และโรคต้นเน่าจากผักกระเฉดที่ปลูกไร้ดิน (ผักไฮโดรโปรนิค) รวมได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งหมด 9 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืชทั้งหมดจำนวน 9 ไอโซเลท

ผลการเก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ตรวจไม่พบ รา *Pythium* ทุกชนิดพืช

ผลการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก ได้ตัวอย่างดินคะน้า ดินปลูกกวางตุ้งและดินปลูกสตรอแบรี่ รวมได้ตัวอย่างดิน 8 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง ได้รา *Pythium* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท รวม ได้ รา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ทั้งหมดจำนวน 17 ไอโซเลท ซึ่งต้องจำแนกชนิดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จุมพล สาระนาคและอรพรรณ วิเศษสังข์. (ไม่ระบุปีที่ตีพิมพ์) คู่มือนักวิชาการภาคสนาม โรคพืชผัก. เกสารวิชาการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 กรมวิชาการเกษตร พิมพ์ครั้งที่ 1 จำนวน 1,000 เล่ม. 113 หน้า.

ทวี เก่าศิริ. 2549. หน่วยที่ 10 ตอนที่ 10.1.1 ราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ. เอกสารประกอบการเรียนการสอนชุดวิชา ศัตรูพืชเบื้องต้น (Introduction to Crop Pests) 93257 หน่วยที่ 8-15.หน้า 10-8 – 10-22.

นิตยา กันหลง. 2545. โรคสำคัญของพืชสกุลหอม กระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 96 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2542. การป้องกันกำจัดโรคพืชในการผลิตผัก. หน้า 65-92 *ใน* โรคพืชที่สำคัญในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ ความรู้พื้นฐานด้านโรคพืช จัดโดยสมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย พ.ศ.2542.

พิศาล ศิริธร. 2542. โรคพืชสวน : โรคไม้ผล. หน้า 52-64 *ใน* โรคพืชที่สำคัญในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ ความรู้พื้นฐานด้านโรคพืช จัดโดยสมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย พ.ศ.2542.

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

มณฑา นันทพันธ์. 2548. โรคถั่วเหลืองและการป้องกันกำจัด. ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 จ.เชียงใหม่ ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่. 57 หน้า.

สุชาติ วิจิตรานนท์. 2541. โรคไม้ผลและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตรกร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 101 หน้า.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ เสียงแจ่ว พิริยพฤนต์ นงลักษณ์ ศรินทุและสมภาค สิทธิพงศ์. 2522. การศึกษาสาเหตุโรคต้นเน่าของป่านศรนารายณ์. หน้า 441-445. *ใน* รายงานประจำปี 2522. กองวิจัยโรคพืช. กรมวิชาการเกษตร.

PLAATS-NITERINK, A. J. VAN DER, 1981. Monograph of the genus *Pythium*. Studies in Mycology. No. 21. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Nethelands. 135 pp. http://www.cbs.knaw.nl/simonline/sim_021/content.htm

สำรวจ รวบรวมและจำแนก เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล นงรัตน์ นิลพานิชย์[1/] รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์[1/]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้งของข้าวจากแปลงปลูกข้าวในเขตจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี อุดรธานี และหนองคาย จำนวน 40 ตัวอย่าง และเขตภาคเหนือ ได้แก่ เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ พิษณุโลก แพร่ จำนวน 20 ตัวอย่างรวมตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหาร Potato synthetic agar ได้แบคทีเรียโคโลนีกลม สีเหลืองนวล ขอบเรียบเป็นมัน จำนวน 50 ไอโซเลท นำไปทดสอบการเป็นโรคบนต้นกล้าข้าวพันธุ์ NT 1 พบเสามารถทำให้ต้นข้าวแสดงอาการของโรคขอบใบแห้ง จำนวน 45 ไอโซเลท เมื่อนำมาจำแนกตามคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าเชื้อทั้ง 45 ไอโซเลทมีคุณสมบัติเหมือนกับเชื้อ *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*

รหัสโครงการ 09-02-49-01

1/ กลุ่มวิชาการข้าว สำนักวิจัยพัฒนาข้าว

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้ง (Bacterial Blight disease) ของข้าว เป็นเชื้อที่แพร่ระบาดทำความเสียหายให้กับแหล่งปลูกข้าวทั่วโลก โดยเฉพาะในแถบเอเชีย (Mew, 1987) เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางกักกันพืช ในกลุ่มสหภาพยุโรปจัดให้อยู่ในกลุ่ม EPPO A1 เชื้อนี้มีรายงานว่าสามารถติดไปกับเมล็ด (seed borne) ทำให้ทีโอกาสถ่ายทอดโรคทางเมล็ดได้ (seed transmission) (Singh *et.al*., 1983) และเชื้อนี้สามารถอยู่ในเมล็ดได้นาน 7-8 เดือน (Reddy, 1972)

เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* เป็นเชื้อที่มีความผันแปรในแง่ของความรุนแรงสูง มีการจัดกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อ (race) ตามปฏิกิริยาระหว่างสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงกับพันธุ์ข้าวมาตรฐาน (differential varieties) ที่มียีนต้านทาน (Mew, 1987) ประเทศไทยมีการศึกษาการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* (race) ที่พบในประเทศไทยออกเป็น 3 กลุ่มตามความรุนแรงบนพันธุ์ข้าวมาตรฐาน (Eamchit and Mew, 1982; นงรัตน์ และคณะ ,2530) สายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* ในแต่ละพื้นที่มีความรุนแรงต่อพันธุ์ข้าวมาตรฐานแตกต่างกัน สายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* ของประเทศไทยแตกต่างจากสายพันธุ์เชื้อจากประเทศอื่น เช่น สายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* จากประเทศญี่ปุ่น จำแนกตามความรุนแรงบนพันธุ์ข้าวมาตรฐานได้ 7 กลุ่ม ในขณะที่สายพันธุ์จากฟิลิปปินส์ จำแนกได้ 6 กลุ่ม อินโดนีเซีย ได้ 9 กลุ่มเป็นต้น(Mew, 1987)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ ตู้เย็น (Freezer) –20 ^{O} C
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter, Shaker, Spectrophotometer
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และเตรียมอาหารคุณสมบัติทางชีวเคมี
5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย เมล็ดพันธุ์ข้าว
6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคพืช ได้แก่ ใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และราก จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ห่อด้วยกระดาษ ใส่ในถุงพลาสติค และบันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และแบ่งตัวอย่างโรคพืชมาอัดทับตัวอย่างแห้ง จัดเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กรมวิชาการเกษตร

2 การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

แยกจากส่วนของพืชที่มีอาการของโรค ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 4 ตร.มม. ระหว่างรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แต่ละชิ้นตัวอย่างนำมาล้างด้วยแอลกอฮอล์ 70% 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งแล้ว 3 ครั้ง หลังจาก surface sterilize แล้วนำมาบดในน้ำกลั่น ใช้ loop จุ่มในพืชที่บด นำมา streak บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PSA(Potato semisynthetic agar) หลังจากนั้นเก็บจานเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 28^0 ซ. นาน 72 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนี ทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี streak plate หลาย ๆ ครั้ง เก็บ single colony เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

3. ทดสอบการเกิดโรคกับพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ (Pathogenicity test)

ทดสอบการเกิดโรคกับพืชอาศัยชนิดต่างๆ (Pathogenicity test)เพื่อพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's patulation)

4. จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์

ศึกษาข้อมูลพื้นฐานของเชื้อ ศึกษาคุณสมบัติต่างๆทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย โดยศึกษาตามวิธีการของ Bergey (1986) และ Schaad *et al*., 2001

เวลาและสถานที่

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

ผลการทดลอง

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้งของข้าวจากแปลงปลูกข้าวในเขตจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดอุบลราชธานี อุดรธานี และหนองคาย จำนวน 40 ตัวอย่าง และเขตภาคเหนือ ได้แก่ เชียงราย พะเยา เชียงใหม่ พิษณุโลก แพร่ จำนวน 20 ตัวอย่างรวมตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่าง

2. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

นำมาแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการโดยใช้อาหาร Potato synthetic agar ได้แบคทีเรียโคโลนีกลม สีเหลืองนวล ขอบเรียบเป็นมัน จำนวน 50 ไอโซเลท

3. ทดสอบการเกิดโรคกับพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ (Pathogenicity test)

นำไปทดสอบการเป็นโรคบนต้นกล้าข้าวพันธุ์ NT 1 พบเสามารถทำให้ต้นข้าวแสดงอาการของโรคขอบใบแห้ง จำนวน 45 ไอโซเลท

4. จำแนกลักษณะสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชตามคุณสมบัติทางชีวเคมีและฟิสิกส์

เมื่อนำมาจำแนกตามคุณสมบัติต่างๆทางชีวเคมีและฟิสิกส์ของเชื้อแบคทีเรีย ตามวิธีการของ Bergey (1986) และ Schaad *et al*., 2001 พบว่าเชื้อทั้ง 45 ไอโซเลทมีคุณสมบัติเหมือนกับเชื้อ *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*

ในปี 2550 เป็นการดำเนินการ สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคจากแหล่งปลูกในเขตภาคใต้และภาคกลาง และจัดจำแนกเชื้อตามลักษณะทางพันธุกรรมต่อไป

การประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* จากการสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (EPS)

Evaluation of Vilulence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by Extracellular polysaccharides Producing

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* จากการสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (EPS) โดยได้ศึกษาความสัมพันธ์ของการสร้างสาร Extracellular polysaccharides (EPS) ของแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*.) จำนวน 20 ไอโซเลท ได้แก่ TB0019 0096 8901 8205 8209 0051-7 TB0105 TB 0062 8208 TB0013 TB0113 8211 TB0052-4 TB0117 TB9002 0001 8214 0015 TB0003 และ TB0092 กับลักษณะทางสรีรวิทยาของเชื้อ ได้แก่ ขนาดของโคโลนี ความเมือกเยิ้มของโคโลนี และสีของโคโลนี ที่เจริญบนอาหารแข็ง PSA และความสามารถในการก่อให้เกิดโรคบนข้าว และศึกษาผลของสาร EPS ในการเสริมความรุนแรงของโรคบนข้าว พบว่า ปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรีย *Xoo*.ทั้ง 20 ไอโซเลท ไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดของโคโลนี ลักษณะสีของโคโลนี และความสามารถในก่อให้เกิดโรคใบไหม้ในข้าว แต่สาร EPS เป็นปัจจัยหนึ่งในการเสริมความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้ ซึ่งจากการทดสอบการเสริมความรุนแรงของการเกิดโรคบนข้าว ของสาร EPS โดยการเติมสาร EPS ลงใน cell suspension ของ *Xoo*.ก่อนปลูกเชื้อ อัตรา 0.5 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การเติมสาร EPS 1 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป จะเสริมความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่เติมสาร EPS

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ในขบวนการชักนำให้เกิดโรคบนพืชของเชื้อแบคทีเรียนั้น สารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ (Extracellular polysaccharide; EPS) จัดเป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับขบวนการก่อให้เกิดโรคและความรุนแรงของโรคที่เชื้อแบคทีเรียสร้างขึ้น นอกเหนือจากเอ็นไซม์ (enzyme) สารพิษ (toxin) ไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharides;LPS) และฮอร์โมน (hormone) พบว่าสาร EPS มีบทบาทสำคัญในขบวนการก่อให้เกิดโรคและการเพิ่มความรุนแรงของโรคเนื่องจากสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* สร้างขึ้นจัดเป็นสารประกอบโมเลกุลใหญ่ เช่น *X.phaseoli* สร้างสาร heteropolysacccharide ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 19,500,000 สามารถขัดขวางระบบการลำเลียงน้ำในท่อน้ำทำให้เกิดอาการเหี่ยว (Leach และคณะ,1957) โดยที่เชื้อ *X.phaseoli* ต่าง strain จะมีความสามารถสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ต่างกันและปริมาณสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่สร้างขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในการก่อให้เกิดโรคต่างกัน (Corey และ Starr,1957) ทั้งนี้ Rudolph และคณะ (1989) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์กับความรุนแรงของเชื้อ *Psuedomonas syringae* pv. *phaseolicola*สาเหตุโรค halo blight ในถั่ว พบว่า race-2 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงจะสร้างสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ในปริมาณสูงสุด และHokawat และ Rudolp (1988) ได้รายงานไว้ว่าเมื่อเติมสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์บริสุทธิ์ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย *X.campestris pv. glycines*สาเหตุโรคใบจุดนูนถั่วเหลืองลงใน cell suspension ของเชื้อสาเหตุแล้วทำการปลูกเชื้อลงบนถั่วเหลืองพบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนถั่วเหลืองพันธุ์อ่อนแอ (สจ.5) และพันธุ์ต้านทาน (Clark 63) โดยแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทหรือต่างสายพันธุ์กันจะมีการสร้างสาร EPS ที่ต่างกันโดยสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงจะมีการสร้างสาร EPS ในปริมาณสูง เนื่องจากสาร EPS เป็นส่วนที่สร้างอยู่ที่ภายนอกผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ที่เรียกว่าแคปซูล ซึ่งจะหลุดลอกง่าย ทำให้โคโลนีของแบคทีเรียมีลักษณะเมือกเยิ้มเมื่อเจริญบนอาหารแข็ง

นอกจากนี้ บุษราคัม (2543) ได้ศึกษาบทบาทของสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *X.oryzae* pathovarต่างๆในการก่อให้เกิดโรคพบว่า EPS สามารถก่อให้เกิดอาการโรคแบบเฉพาะแห่งบนถั่วเหลือง คะน้า ส้ม มะเขือเทศ ข้าวและฝ้าย โดยมีลักษณะอาการคล้ายคลึงกับอาการที่เกิดจากการปลูกด้วยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ

ดังนั้นจึงควรที่จะมีการศึกษาการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* แต่ละไอโซเลทเพื่อประเมินความรุนแรงของการก่อให้เกิดโรคขอบใบแห้งของข้าว โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการสร้างสาร EPS กับความสามารถในการก่อให้เกิดความ

รุนแรงของโรคแต่ละไอโซเลท เนื่องจากการสกัดสาร EPS ทำได้ง่ายกรรมวิธีไม่ยุ่งยาก จึงน่าที่จะเป็นวิธีหนึ่งในการประเมินคุณลักษณะความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ PSA (Potato sucrose agar)

PSB (Potato sucrose broth)

2. แบคทีเรีย *X.oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท ได้แก่ TB0019 0096 8901 8205 8209 0051-7 TB0105 TB 0062 8208 TB0013 TB0113 8211 TB0052-4 TB0117 TB9002 0001 8214 0015 TB0003 และ TB0092

3. ข้าวพันธุ์ไทยชุน

4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ เครื่องหมุนเหวี่ยง เครื่องเขย่า ฯลฯ

5. ดินปลูก

6. กระบะปลูก

วิธีการ

1. ศึกษาปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลทต่าง ๆ วิธีปฏิบัติดังนี้

1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรีย *Xoo*. 20 ไอโซเลท มาเลี้ยงบนอาหารแข็ง PSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. การเตรียมหัวเชื้อ

ถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่มีอายุ 48 ชั่วโมงจำนวน 1 loopมาตรฐานลงในอาหารเหลว PSB ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงในสภาพเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

3. การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเพื่อผลิตสาร EPS

ถ่ายหัวเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ลงในอาหารเหลวชนิดเดิม จำนวน 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุในฟาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้หัวเชื้อ 10เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4. การสกัดและตกตะกอนสาร EPS

นำอาหารที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 72 ชั่วโมงที่ได้จากข้อ 3. มาแยกเซลล์แบคทีเรียออกโดยเติมน้ำกลั่นลงไปในอัตราอาหารเลี้ยงเชื้อ : น้ำเท่ากับ 1: 1 โดยปริมาตร นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง

หมุนเหวี่ยง โดยใช้ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำเอาส่วนใสมาเติมด้วยสารโพแตสเซียมคลอไรด์ ปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไปสกัดสาร EPSออกจากอาหารเหลว โดยเติมเอทธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วนอาหารเหลว : เอทธิลแอลกอฮอล์ 1:3 โดยปริมาตร คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนสาร EPS ตกตะกอน นำมากรองด้วยกระดาษกรอง จะได้สารสาร EPSมีลักษณะเหนียวจับตัวเป็นก้อน

5. การหาน้ำหนักของสาร EPS

นำตะกอนสาร EPSที่ได้ ไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง

6. การบันทึกข้อมูล

บันทึกน้ำหนักแห้งของสารEPS ที่สร้างโดยแบคทีเรีย *X.oo*. ใน แต่ละไอโซเลท

2. ศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาของโคโลนีของแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* บนอาหารแข็ง

วิธีปฏิบัติดังนี้

1. เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Xoo*. 20 ไอโซเลทบนอาหาร PSA โดยวิธี serial dilution plate เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. บันทึกผลโดย วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี ลักษณะความเมือกเยิ้ม และสีของโคโลนี ของแบคทีเรียทั้ง 20 ไอโซเลท

3. ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลท ต่างๆ ในการ

ก่อให้เกิดโรคใบไหม้

วิธีปฏิบัติดังนี้

1. ปลูกข้าวพันธุ์ไทยชุนลงในกระบะปลูก ให้มีอายุ 45 วัน

2. ปลูกเชื้อแบคทีเรีย *Xoo*. ไอโซเลทต่างๆลงบนข้าวพันธุ์ไทยชุน โดยการฉีดพ่นด้วย cell suspension ที่ความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

3. บันทึกผล โดยให้คะแนนเป็นระดับความรุนแรงของการก่อให้เกิดโรคใบไหม้

4. ศึกษาผลของสาร EPS ในการเสริมความรุนแรงของการเกิดโรค

วิธีปฏิบัติดังนี้

1. ปลูกข้าวพันธุ์ไทยชุนลงในกระบะปลูก ให้มีอายุ 45 วัน

2. เตรียม cell suspension ของแบคทีเรียโดยการเลี้ยงแบคทีเรีย *Xoo*. ไอโซเลท 8211 บนอาหารแข็ง ให้มีอายุ 48 ชั่วโมง จากเติมน้ำนึ่งลงไปประมาณ 10 มิลลิลิตร ขูดเอาเชื้อแบคทีเรีย ปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ประมาณ 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

3. นำ cell suspension ที่ได้มาผสมกับสาร EPS อัตรา 0.5 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร คนให้เข้ากัน

4. นำส่วนผสมของ cell suspension และ EPS ที่เตรียมไว้มาปลูกเชื้อลงบนใบข้าว โดยวิธีใช้กรรไกรจุ่ม suspension แล้วตัดที่ใบข้าว

5. ตรวจผล โดยการคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคบนพื้นที่ใบเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อด้วย cell suspension ที่ไม่ผสมสาร EPS (Control +) และ กรรมวิธีที่ใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (Control -)

5. เปรียบเทียบลักษณะอาการบนใบข้าวที่เกิดจากเซลแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* กับสาร EPS

วิธีปฏิบัติดังนี้

1. ปลูกข้าวพันธุ์ไทยชุนลงในกระบะปลูก ให้มีอายุ 45 วัน จากนั้นนำใบที่ 3 (นับจากโคนต้น) มาตัดเป็นท่อนความยาว 15 เซนติเมตร หุ้มที่ปลายทั้งสองข้างด้วยสำลีชุบน้ำ นำไปบ่มไว้ในกล่องพลาสติกใสที่บุด้วยกระดาษฟางชุ่มน้ำ เพื่อให้ความชุ่มชื้น 6 ใบต่อ 1 กล่อง
2. ปลูกเชื้อโดยวิธีไมโครปิเปต เทคนิค โดยใช้ไมโครปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูด cell suspension แบคทีเรีย *Xoo.* 20 ไอโซเลท ที่มีความเข้มข้น 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร อัตรา 0.1 มิลลิลิตร ใช้ปลายtip กดเบาๆ เพื่อทำแผลที่ผิวใบข้าว ปล่อยสารละลายให้เป็นหยดน้ำลงบนแผลที่ทำไว้ ที่ปลายด้านหนึ่งของใบข้าว ส่วนที่ปลายใบข้าวที่เหลือปลูกเชื้อด้วยสาร EPS 1 เปอร์เซ็นต์ ที่สกัดจากแบคทีเรีย *Xoo.* ทั้ง 20 ไอโซเลท
3. ตรวจผลโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล และจดบันทึกลักษณะจุดแผลที่ปรากฏ

เวลาและสถานที่ **เริ่มต้น** ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2549
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลทต่าง ๆ

ผลการทดลอง พบว่า แบคทีเรีย *Xoo.* ไอโซเลท 0001 สร้างสาร EPS ในอาหารเหลว 100 มิลลิลิตร คิดเป็นน้ำหนักแห้งสูงสุด เท่ากับ 1.04 กรัม และมีน้ำหนักสดเท่ากับ 3.13 กรัม รองลงมาได้แก่ TB 0092 และ TB 0013 มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.92 และ 0.85 กรัม และมีน้ำหนักสด เท่ากับ 2.60 และ 2.65 กรัม ตามลำดับ โดยไอโซเลท 0051-7 สร้างสาร EPS ได้น้อยสุดคือมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.07 กรัมและน้ำหนักสดเท่ากับ 0.60 กรัมตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการทดลอง พบว่า ปริมาณน้ำหนักแห้งไม่แปรตามปริมาณน้ำหนักสด ทั้งนี้เนื่องจากขึ้นกับลักษณะของสาร EPS ที่แต่ละไอโซเลทสร้างขึ้น ตัวอย่างเช่น ไอโซเลท 8205 สร้างสารEPS ที่มีลักษณะเป็นเส้นสายเหนียว อุ้มน้ำ ทำให้เมื่อกรองเก็บสารEPS จึงมีน้ำหนักสดมากกว่าไอโซเลท TB0003 ซึ่งเส้นใยเป็นฝอย ไม่อุ้มน้ำ และเมื่อไปอบแห้งจึงทำให้น้ำหนักแห้งของ TB0003 จึงมากกว่าของไอโซเลท 8205 เป็นต้น ดังนั้นในการ นำค่าสาร EPS ไปเปรียบเทียบความสัมพันธ์กับปัจจัยอื่น จึงใช้ค่าของน้ำหนักแห้งเป็นหลัก

2. ศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาของโคโลนีของแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* บนอาหารแข็ง

จากการทดลองพบว่า แบคทีเรีย *Xoo*. ไอโซเลท 8205 มีขนาดโคโลนีที่เจริญบนอาหารใหญ่สุด คือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.41 เซ็นติเมตร และมีความเมือกเยิ้มสูงสุด รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 0051-7 และ TB 0105 โดยมีขนาดโคโลนีเท่ากับ 0.33 และ 0.29 เซ็นติเมตรตามลำดับ โดยที่ไอโซเลท TB 0003 มีขนาดโคโลนีเล็กสุด โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 0.06 เซ็นติเมตร

ผลการตรวจสอบความเข้มของสีเหลืองของโคโลนี พบว่า ไอโซเลท 0015 TB 0113 และ 0001 โคโลนีมีความเข้มของสีเหลืองสูงที่สุด (ตารางที่ 2)

3. ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลทต่าง ๆ ในการก่อให้เกิดโรคใบไหม้

ผลการทดสอบการก่อให้เกิดโรค และการก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคของแบคทีเรีย *Xoo*. ทั้ง 20 ไอโซเลท บนข้าวพันธุ์อ่อนแอ (ไทยชุน) พบว่า ไอโซเลท 0096 TB 0117 TB 9002 และ TB 0003 สามารถก่อให้เกิดโรคบนข้าวทดสอบได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ไอโซเลท 8209 สามารถก่อให้เกิดความรุนแรงบนข้าวทดสอบสูงสุด คือ 30 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบและต้น โดยทั้ง 20 ไอโซเลท สามารถก่อให้เกิดโรคบนข้าวทดสอบได้ทุกไอโซเลท โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคประมาณ 70-100 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์สูง แต่เมื่อเปรียบเทียบกับการก่อให้เกิดความรุนแรงบนต้นข้าว พบว่า ข้าวทดสอบไม่เป็นโรครุนแรง กล่าวคือ พบว่าเป็นโรครุนแรงสูงสุดเพียง 30เปอร์เซ็นต์ โดยเกิดจากไอโซเลท 8209 (ตารางที่ 3)

ผลการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรียกับขนาดโคโลนี และ การก่อให้เกิดโรคใบไหม้บนข้าวทดสอบของแบคทีเรีย *Xoo*. 20 ไอโซเลท พบว่า ปริมาณการสร้างสาร EPS ไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดของโคโลนี ลักษณะสีของโคโลนี ความเมือกเยิ้ม และความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของแบคทีเรีย (ตารางที่ 4)

4. ศึกษาผลของสาร EPS ในการเสริมความรุนแรงของการเกิดโรค

ผลการทดลอง พบว่า เมื่อเติมสาร EPS อัตรา 1 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป จะช่วยส่งเสริมการเกิดโรคใบไหม้ของข้าว อาการของโรคจะรุนแรงขึ้นเมื่อเติมสาร EPS อัตราสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อด้วยเซลแบคทีเรียอย่างเดียว โดยหลังการปลูกเชื้อ 3 วัน กรรมวิธีที่ผสมสาร EPS 5 เปอร์เซ็นต์ ใบข้าวจะเริ่มปรากฏอาการของโรค ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบ (ปลูกเชื้อด้วยเซลแบคทีเรียอย่างเดียว) ยังไม่แสดงอาการของโรค หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อแบคทีเรียที่ผสมสาร EPS ทุกอัตรา ข้าวแสดงอาการของโรคสูงกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ โดยกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อแบคทีเรียที่ผสมสาร EPS 5เปอร์เซ็นต์ ข้าวแสดงอาการของโรคถึง 89.23 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบ ข้าวแสดงอาการของโรคเพียง 21.03 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

5. เปรียบเทียบลักษณะอาการบนใบข้าวที่เกิดจากเซลแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* กับสาร EPS

ผลการทดลอง หลังการทดสอบ 48 ชั่วโมงจุดแผลที่เกิดจากการปลูกเชื้อด้วยเซลแบคทีเรียกับที่ปลูกเชื้อด้วยสาร EPS มีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ หลังการทดสอบ 24 ชั่วโมง อาการเริ่มแรกบนใบข้าวทดสอบจะปรากฏจุดแผลเล็ก ๆ สีเหลืองซีด ต่อจากนั้น จุดแผลจะขยายใหญ่เป็นสีน้ำตาลอ่อนขอบแผลสีเหลือง ภายใน 48 ชั่วโมง เมื่อครบ 72 ชั่วโมง ไม่สามารถตรวจผลได้อีก เนื่องจากใบข้าวทดสอบปรากฏอาการเหี่ยวเหลืองทั้งใบ ทำให้จุดแผลไม่ชัดเจน ดังนั้นขนาดของจุดแผลที่วัดได้ (ตารางที่ 6) จึงยังสรุปผลไม่ได้ เนื่องจากการเกิดจุดแผลยังไม่คงที่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองนี้ สรุปได้ว่า ปริมาณการสร้างสาร EPS ของแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* 20 ไอโซเลทที่นำมาทดสอบ ไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดของโคโลนี ลักษณะสีของโคโลนี ความเมือกเยิ้มของโคโลนี และความสามารถในการก่อให้เกิดโรคใบไหม้ในข้าว แต่สาร EPS เป็นปัจจัยหนึ่งในการเสริมความรุนแรงของการเกิดโรคใบไหม้บนข้าว เนื่องจากเมื่อเติมสาร EPS ลงไปใน cell suspension ของแบคทีเรีย เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไหม้ของข้าวจะเพิ่มสูงขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว ที่ให้ความอนุเคราะห์แบคทีเรียและพันธุ์ข้าวทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

บุษราคัม อุดมศักดิ์ .2543.บทบาทของสารเอ็กซ์ตร้าเซลลูลาร์โพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *X.campestris* pathovarต่างๆในการก่อให้เกิดโรค.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

Corey,R.R. and M.P.Starr.1957.The chemistry of polysaccharide and glycopeptide phytotoxins,pp.127-735. *In* R.K.S Wood,A.Ballis and A.GrantiZZ (eds.).Phytotoxins inPlnt Diseases. The Utrecht.State University Press,The Netherlands.

Hokawat,S. and K.Rudolph.1988.Effect of extracellular polysaccharides of Xanthomonas campestris pv. Glycines on multiplication and survival of the Pathogen,pp.23-30. In Proceedings of the 26th Science Conference,Plant Division,3-5 February 1988.Kasetsart University,Bangkok Thailand.

Leach,J.G.,V.G.Lilll,H.A.Wilson and M.R.Purvis.1957.Bacterial Polysaccharides:The nature and function of the exudates produced by Xanthomonas phaseoli.Phytopathology 47:113-120.

Rudolph,K. W.E.,M.Gross and M.Neugebauer.1989.Extracellular polysaccharides as determinants of Leaf spot disease caused by pseudomonads and xanthomonads,pp.177-218. In A.Graniti,R.D.Durbin and A.Ballio (eds.).Phytotoxins and Plant Pathogenesis,NATO ASI Series,Vol.27,Springer Verlag,Berlin,Germany.

ตารางที่ 1 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของสาร extracellular polysaccharides (EPS) ที่แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท สร้างขึ้น

ไอโซเลทแบคทีเรีย *Xoo*.	ปริมาณสาร EPS (กรัม) ต่ออาหารเหลว 100 มิลลิลิตร	
	น้ำหนักสด	**น้ำหนักแห้ง**
TB 0019	2.19	0.31
0096	1.71	0.24
8901	2.41	0.26
8205	3.10	0.61
8209	2.42	0.44
0051-7	0.60	0.07
TB 0105	2.36	0.39
TB 0062	2.10	0.42
8208	0.72	0.25
TB 0013	2.65	0.85
TB 0113	1.39	0.31
8211	2.80	0.43
TB 0052-4	2.85	0.36
TB 0117	1.13	0.19
TB 9002	2.14	0.33
0001	3.13	1.04
8214	1.20	0.40
0015	2.06	0.43
TB 0003	2.53	0.75
TB 0092	2.60	0.92

ตารางที่ 2 เส้นผ่าศูนย์กลาง ความเมือกเยิ้ม และความเข้มของสีเหลืองของโคโลนี ของแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* (*Xoo*.) 20 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหาร Potato sucrose agar (PSA)

ไอโซเลทแบคทีเรีย *Xoo*.	ลักษณะทางสรีรวิทยาของแบคทีเรีย *Xoo*.		
	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซ็นติเมตร)	**ความเมือกเยิ้ม**[1/]	**ความเข้มสีเหลือง**[2/]
TB 0019	0.18	++	+++
0096	0.06	+	+
8901	0.10	+	++
8205	0.41	+++	+++
8209	0.25	++	+++
0051-7	0.33	+++	+++
TB 0105	0.29	++	+++
TB 0062	0.23	++	+++
8208	0.14	++	+
TB 0013	0.25	+	+++
TB 0113	0.26	++	++++
8211	0.17	+	+++
TB 0052-4	0.23	++	+
TB 0117	0.15	+	+
TB 9002	0.14	++	+++
0001	0.10	+	++++
8214	0.24	++	+++
0015	0.28	++	++++
TB 0003	0.06	++	+++
TB 0092	0.15	++	+

[1/] ความเยิ้มของโคโลนี , + = ความเยิ้มน้อย , ++ = ความเยิ้มปานกลาง, +++ = ความเยิ้มมาก

[2/] สีของโคโลนีของแบคทีเรีย, + = สีครีมปนเหลืองเล็กน้อย, ++ = สีเหลืองอ่อน, +++=สีเหลือง, ++++= สีเหลืองเข้ม

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค และความรุนแรงของโรคใบไหม้ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* (*Xoo*.) 20 ไอโซเลท บนข้าวพันธุ์ไทยชุน

ไอโซเลทแบคทีเรีย *Xoo*.	การเกิดโรคใบไหม้บนข้าวทดสอบ	
	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค	**เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค**
0096	100	20
TB 0117	100	20
TB 9002	100	20
TB 0003	100	20
0001	93.10	25
8209	92.30	30
8205	92.00	20
0051-7	91.30	15
8211	91.30	10
TB 0019	88.46	25
8208	88.46	20
TB 0013	88.00	15
8901	86.20	10
TB 0062	85.71	20
0015	82.14	15
TB 0105	81.48	20
8214	80.00	15
TB 0113	79.17	15
TB 0052-4	77.78	20
TB 0092	71.43	15
control	0	0

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณสาร extracellular polysaccharides (EPS) ที่สร้างโดยแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* (*Xoo*.) 20 ไอโซเลท กับลักษณะทางสรีรวิทยาของโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร Potato sucrose agar ได้แก่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ความเมือกเยิ้ม ความเข้มของสีเหลือง และเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคที่เกิดจากแบคทีเรียทั้ง 20 ไอโซเลท บนข้าวพันธุ์ไทยชุน

ไอโซเลทแบคทีเรีย *Xoo*.	น้ำหนักแห้ง EPS (กรัม)	ลักษณะทางสรีรวิทยาของแบคทีเรีย *Xoo*.			เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (30 DAI)
		เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซ็นติเมตร)	**ความเมือกเยิ้ม** [1/]	**ควมเข้มสีเหลือง**[2/]	
0001	1.04	0.10	+	++++	25
TB 0092	0.92	0.15	++	+	15
TB 0013	0.85	0.25	+	+++	15
TB 0003	0.75	0.06	++	+++	20
8205	0.61	0.41	+++	+++	20
8209	0.44	0.25	++	+++	30
8211	0.43	0.17	+	+++	10
0015	0.43	0.28	++	++++	15
TB 0062	0.42	0.23	++	+++	20
8214	0.40	0.24	++	+++	15
TB 0105	0.39	0.29	++	+++	20
TB 0052-4	0.36	0.23	++	+	20
TB 9002	0.33	0.14	++	+++	20
TB 0019	0.31	0.18	++	+++	25
TB 0113	0.31	0.26	+++	++++	15
8901	0.26	0.10	+	++	10
8208	0.25	0.14	++	+	20
0096	0.24	0.06	+	+	20
TB 0117	0.19	0.15	+	+	20
0051-7	0.07	0.33	+++	+++	15

[1/] ความเยิ้มของโคโลนี , + = ความเยิ้มน้อย , ++ = ความเยิ้มปานกลาง, +++ = ความเยิ้มมาก

[2/] สีของโคโลนีของแบคทีเรีย, + = สีครีมปนเหลืองเล็กน้อย, ++ = สีเหลืองอ่อน, +++ = สีเหลือง, ++++ = สีเหลืองเข้ม

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบไหม้ของข้าวพันธุ์ไทยซุน ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* ไอโซเลท 8211 ผสมสาร extracellular polysaccharides (EPS) อัตรา 0.5 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร

เปอร์เซ็นต์ EPS	**เปอร์เซ็นต์ ของการเกิดโรค**		
	3 วันหลังปลูกเชื้อ	**7 วันหลังปลูกเชื้อ**	**14 หลังปลูกเชื้อ**
Control +	0.00	6.82	21.03
Control -	0.00	0.00	0.00
0.5	0.00	7.57	38.00
1	0.00	9.68	39.98
3	0.00	10.38	74.54
5	5.31	10.87	89.23

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบขนาดจุดแผลที่เกิดจากการปลูกเชื้อด้วยแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv.*oryzae* 20 ไอโซเลท กับสาร extracellular polysaccharides (EPS) หลังการปลูกเชื้อ 48 ชั่วโมง

แบคทีเรีย *Xoo.*/ไอโซเลท	**ขนาดของจุดแผล (ตารางเซ็นติเมตร)**	
	แผลที่เกิดจาก *Xoo.*	**แผลที่เกิดจากสาร EPS**
8901	0.00	0.02
8208	0.00	0.01
0015	0.00	0.00
8214	0.00	0.01
TB0092	0.00	0.02
8209	0.00	0.00
TB9002	0.00	0.16
0051-7	0.00	0.00
TB0019	0.00	0.00
TB0013	0.02	0.01
TB0003	0.06	0.03
TB0096	0.06	0.03
0001	0.08	0.02
8205	0.14	0.00
TB0113	0.18	0.20
TB0052	0.22	0.20
8211	0.35	0.12
TB0105	0.40	0.28
TB0117	0.60	0.38
TB0062	1.32	1.10

สำรวจรวบรวม และจำแนกแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว (*Anthurium andreanum*)

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจการเกิดโรคใบไหม้หน้าวัว ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 ในพื้นที่ 20 จังหวัด 33 อำเภอ โดยพบการเกิดโรคในทุกแปลงปลูกของเกษตรกร อาการระบาดและรุนแรงมากในช่วงฤดูฝน อากาศร้อนชื้น อาการที่พบได้แก่ แผลจุดช้ำฉ่ำน้ำบริเวณขอบใบและกลางใบ อาการแผลไหม้ อาการไหม้ดำจากเส้นกลางใบและเส้นใบ ขอบแผลช้ำฉ่ำน้ำ และอาการใบเหลืองจากใบแก่สุดด้านล่าง ท่อลำเลียงเน่าช้ำเป็นสีน้ำตาลดำ และอาการต้นเหี่ยวตาย ซึ่งมีสาเหตุจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* ลักษณะของแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient glucose agar (NGA) และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) โคโลนี กลมนูนเยิ้ม สีเหลือง แบคทีเรียทำให้เกิดปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ จากการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมี พบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างเมือก ย่อยเจลาติน และแป้ง ผล catalase เป็นบวก สามารถใช้ acetate citrate succinate arabinose galactose และ trehalose เป็นแหล่งคาร์บอน สร้างกรดจากน้ำตาล maltose xylose ribose raffinose melezitose dextrin glycerol และ rhamnose พืชอาศัยที่สำรวจพบการเกิดโรคได้แก่ บอนสี จาก อำเภอเกาะสมุย จังหวัดสุราษฎร์ธานี และพืชอาศัยจากการปลูกเชื้อ ได้แก่ ฟิโล ทอง เงินไหลมา ออมนาค และสาวน้อยประแป้ง

คำนำ

โรคใบไหม้ของหน้าวัว เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* (McCulloch & Pirone 1939) Vauterin et al. 1995 ระบาดและเข้าทำลายพืชในตระกูล Araceae พบรายงานครั้งแรกในมลรัฐฮาวาย สหรัฐ อเมริกา โดย Hayward (1972) ทำความเสียหายกับบริษัทผู้ผลิตพืชสกุลหน้าวัว (anthurium) ในปี 1989 เป็นมูลค่ากว่า 600,000 บาทต่อเฮกเตอร์ และมูลค่ารวมความเสียหายนับ 100 ล้านบาท เป็นเชื้อที่เป็นข้อจำกัดในการผลิตพืชในสกุลหน้าวัว ของอเมริกาเหนือและใต้ นับเป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางกักกันพืชชนิดหนึ่ง จัดเป็น A1 quarantine

---

รหัสโครงการ 09-02-49-01

organism สำหรับ EPPO และ A2 สำหรับ CPPC ซึ่งมีความเสี่ยงสูงต่อการติดเข้ามาในประเทศกับส่วนขยายพันธุ์ของไม้ดอกไม้ประดับนำเข้า ประเทศไทยมีการปลูกเลี้ยงหน้าวัวตั้งแต่ปี พ.ศ. 2536 ปัจจุบันประเทศไทยมีการขยายพื้นที่ปลูกหน้าวัวเพื่อเป็นไม้ตัดดอก และไม้กระถางเป็นจำนวนมากในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคใต้ โดยผู้ปลูกเลี้ยงหน้าวัวในประเทศไทย นิยมปลูกเลี้ยงหน้าวัวพันธุ์นำเข้า จากบริษัทแอนทูร่า ประเทศเนเธอร์แลนด์ พันธุ์ใหม่ๆ จำนวนมากทุกๆ ปี ทำให้มีความเสี่ยงสูงในการติดมาของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคสายพันธุ์ใหม่ที่มีความรุนแรงในการเกิดโรค เนื่องจากนโยบายเปิดการค้าเสรีในปัจจุบันและการนำเข้าพืชในกลุ่มนี้ยังมีสถานะเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม จึงมีความเสี่ยงต่อการแพร่ระบาดของเชื้อสายพันธุ์ใหม่ๆ ทำความเสียหายกับธุรกิจไม้ดอกไม้ประดับในประเทศไทย ทั้งนี้ในประเทศไทยยังไม่มีฐานข้อมูลที่สมบูรณ์ของแบคทีเรียดังกล่าว การสำรวจรวบรวม จำแนก และการประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ที่มีการระบาดในประเทศไทยปัจจุบัน จะเป็นฐานข้อมูลในการวางแผนการควบคุมการแพร่ระบาด และการจัดการโรคที่มีประสิทธิภาพ และได้ข้อมูลสายพันธุ์เชื้อและแหล่งเชื้อที่มีความรุนแรง เพื่อการคัดพันธุ์ต้านทานโรค และมีฐานข้อมูลในการวิเคราะห์ความเสี่ยงการนำเข้าพันธุ์พืช เพื่อป้องกันเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ที่มีความรุนแรงในการเกิดโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจ รวมรวม และจำแนกอาการโรคใบไหม้ของหน้าวัว

สำรวจรวบรวมอาการโรคไหม้ของหน้าวัวในแหล่งปลูกของเกษตรกร บันทึกข้อมูลชื่อที่อยู่ของเกษตรกร พื้นที่ปลูก ปัญหาและการดูแลจัดการโรคในสวน บันทึกภาพอาการผิดปกติ โดยกล้องดิจิตอล บันทึกแหล่งสำรวจ จำแนกลักษณะอาการผิดปกติของพืช และพันธุ์ของหน้าวัวเก็บตัวอย่างอาการโรค ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ และเก็บใส่ในถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่ง นำตัวอย่างเข้าห้องปฏิบัติการเพื่อการแยกเชื้อต่อไป

2. การแยกเชื้อ และเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

แยกตัวอย่างอาการโรค บริเวณใบ (ใบจุด หรือใบไหม้) อาการท่อลำเลียงของก้านใบ หรือลำต้นช้ำเป็นสีน้ำตาล (อาการที่แสดงออก ใบเหี่ยวเนื้อใบเป็นสีเหลืองเส้นใบเขียว) อาการที่จานรองดอก เป็นจุดช้ำ และอาการไหม้

เลือกตัดชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการ โดยตัดบริเวณที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5x 0.5 มิลลิเมตร 1-2 ชิ้น จุ่มแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบ

ชิ้นส่วนพืชดังกล่าว วางบนหยดน้ำ 10-20 ไมโครลิตร ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 3-5 นาที แล้วใช้ลูปที่ฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำ นำมาลาก (streak) บน Nutrient glucose agar (NGA) และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) วางจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก คว่ำจานลง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) 1-2 วัน จากนั้นเลือกโคโลนีของเชื้อที่เจริญ มีลักษณะนูนเยิ้มสีเหลือง เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหารจนได้เชื้อบริสุทธิ์

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

3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีบางประการของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*

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

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

4. การศึกษาพืชอาศัยของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae*

เตรียมพืชทดสอบในกลุ่มไม้ใบประดับ ดังนี้

1. สกุลฟิโลเดนดรอน (Philodendron) ได้แก่ ฟิโลทอง และ พลูเขียว
2. สกุลอโกรนีมา (Aglaonema) ได้แก่ เขียวหมื่นปี และ คู่บัลลังค์
3. สกุลซินโกเนียม (Syngonium) ได้แก่ เงินไหลมา ออมเงิน และออมนาค
4. สกุลซินแดบซัส (Scindapsus) ได้แก่ พลูฉลุ และราชินีหินอ่อน
5. สกุลดิฟเฟนบาเกีย (Diffenbachia) ได้แก่ สาวน้อยประแป้ง

เตรียมแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* 2 ไอโซเลท ได้แก่ Xad. 016 และ Xad. 035 โดยเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารแข็ง YDC อายุ 36 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ

ด้วยน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นเชื้อที่ A600 = 0.1 O.D. ซึ่งจะมีเซลล์แบคทีเรียประมาณ 2x 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อบนพืชอาศัยข้างต้นด้วยวิธี การตัดใบ การพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อผสมผงคาร์บอแรนดัม และการฉีดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าใต้ใบ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ควบคุมความชื้นหลังการปลูกเชื้อ โดยเก็บต้นที่ปลูกเชื้อในถุงพลาสติกพ่นน้ำฝอย นาน 12 ชั่วโมง เปิดปากถุงพลาสติก และตรวจผลการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อนาน 7, 14, 21 และ 28 วัน

ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ รวมรวม และจำแนกอาการโรคใบไหม้ของหน้าวัว

จากการสำรวจโรคใบไหม้ของหน้าวัวในสวนเกษตรกรทุกภาคในประเทศไทย พบการเกิดโรคใบไหม้จากแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* ในทุกพื้นที่สำรวจ ในอำเภอและจังหวัดต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศไทย จำนวน 20 จังหวัด 33 อำเภอ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงพื้นที่สำรวจพบการเกิดโรคใบไหม้หน้าวัว ในประเทศไทย

ลำดับที่	จังหวัด	เขต/ อำเภอ
1	กรุงเทพมหานคร	หนองแขม มีนบุรี และบางกอกน้อย
2	นนทบุรี	ปากเกร็ด บางกรวย และบางบัวทอง
3	นครปฐม	พุทธมณฑล
4	ปทุมธานี	ลาดหลุมแก้ว สามโคก
5	ชลบุรี	เมือง บางละมุง
6	สมุทรสงคราม	บางคณฑี
7	นครราชสีมา	วังน้ำเขียว
8	เพชรบูรณ์	เขาค้อ
9	เลย	ภูเรือ
10	ตาก	แม่สอด
11	ลำปาง	ห้างฉัตร
12	เชียงใหม่	เมือง ปางดะ สะเมิง
13	เชียงราย	ดอยตุง
14	เพชรบุรี	ชะอำ

15	ชุมพร	เมือง สวี
16	สุราษฎร์ธานี	เมือง ดอนสัก เวียงสระ ทุ่งสง
17	นครศรีธรรมราช	เมือง พระพรหม
18	ตรัง	ย่านตาขาว
19	กระบี่	เมือง
20	ภูเก็ต	เมือง เกาะสมุย

พันธุ์หน้าวัวที่พบการเกิดโรค ได้แก่ทรอปิคอล แองเจิล ซิมบ้า ลินดา แฟนตาเซีย เมอแรง โรซ่า แมกซิมา ชอคโค และแชมเปญ โดยพันธุ์ทรอปิคอล อ่อนแอต่อการเกิดโรคมากกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ

สำหรับความรุนแรงในการเกิดโรคมีความแตกต่างกันไปในแต่ละสวน ขึ้นอยู่กับการดูแลจัดการโรคของเกษตรกร ทั้งนี้พบการระบาดของโรคมากในช่วงฤดูฝนที่มีฝนตกชุก อากาศร้อนชื้น สามารถจัดจำแนกอาการการเกิดโรค (ภาพที่ 1) ได้ดังนี้

-อาการที่ใบ (Leaf blight) ส่วนมากพบอาการจุดช้ำฉ่ำน้ำ จากการเข้าทำลายของแบคทีเรียบริเวณขอบใบ จากนั้นอาการจุดจะขยายลุกลาม ทำให้เกิดอาการใบไหม้ มีวงขอบสีเหลืองล้อมรอบ และหากสังเกตบริเวณขอบแผลจะพบอาการฉ่ำน้ำ จากการที่มีแบคทีเรียสาเหตุโรคเจริญอยู่ นอกจากนี้อาจพบอาการจุดช้ำ กระจายทั่วไปบนใบ สันนิษฐานว่าแบคทีเรียสาเหตุโรคแพร่ระบาด โดยติดไปกับน้ำที่รดต้นพืช นอกจากนี้หากแบคทีเรียเข้าทำลายใบอ่อนจะพบอาการใบไหม้เป็นสีน้ำตาลถึงดำอย่างรุนแรง นอกจากนี้ยังพบอาการที่ดอก หรือจานรองดอก มีอาการจุดช้ำฉ่ำน้ำกระจายจากขอบของจานรองดอก และลุกลามต่อแสดงอาการไหม้แห้ง ขอบแผลช้ำ

-อาการ Systemic เป็นอาการที่แบคทีเรียเข้าทำลายพืชทางราก หรือแบคทีเรียเจริญเข้าไปในท่อลำเลียงของพืช ส่วนมากสังเกตอาการได้เมื่อพืชถูกเชื้อเข้าทำลายมากแล้ว โดยใบแก่ด้านล่างแสดงอาการเนื้อใบเป็นสีเหลืองในขณะที่เส้นใบเขียว เมื่อหักก้านใบจากลำต้น จะพบอาการท่อลำเลียงของพืชเป็นสีน้ำตาลดำ บริเวณลำต้นเมื่อผ่าตัดขวางจะพบอาการท่อลำเลียงเป็นสีน้ำตาลดำ และมี ooze หรือกลุ่มเซลล์ของแบคทีเรียปุดขึ้นมาบริเวณท่อลำเลียงพืช ทั้งนี้การเข้าทำลายดังกล่าวจะทำให้พืชเหี่ยวและตายในที่สุด

ทั้งนี้เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* เป็นเชื้อที่เป็นข้อจำกัดในการผลิตพืชในสกุลหน้าวัว ของอเมริกาเหนือและใต้ พบการแพร่ระบาดทำความเสียหายกับพืชในสภาพอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส เข้าทำลายพืชทางบาดแผลและช่องเปิดธรรมชาติ นอกจากการเข้าทำลายพืชบนใบแล้ว (epiphytically) ยังสามารถเจริญแฝงอยู่ในท่อลำเลียงพืชได้ (latent infection) สามารถแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วไปในพื้นที่ปลูกใหม่ โดยติดไปกับส่วนขยายพันธุ์พืช และแพร่กระจายโดยการกระเด็นติดไปกับน้ำฝนหรือน้ำในระบบการปลูกพืช ปนเปื้อนไปกับ

เครื่องมือเครื่องใช้ทางการเกษตร ติดไปกับดิน และไส้เดือนฝอย ในขั้นตอนการตัดแต่งกิ่งหรือการเก็บเกี่ยวผลผลิต (Nishijima and Fujiyama, 1985)

การเก็บตัวอย่างอาการใบไหม้ในพืชกลุ่มไม้ใบประดับ เช่นเงินไหลมา ออมนาค หน้าวัวใบสาวน้อยประแป้ง ฟิโลเดนดรอน และบอนสี แยกหาแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* พบแบคทีเรียในกลุ่มไม้ใบประดับ สกุลคาลาเดียม 1 ชนิด ได้แก่บอนสี จาก อ. เกาะสมุย จ.สุราษฎร์ธานี

ภาพที่ 1 ลักษณะอาการโรคใบไหม้ (Bacterial leaf blight) ของหน้าวัว

(A) อาการไหม้ลามจากขอบใบมีล้อมด้วยวงสีเหลือง

(B) อาการไหม้ของใบอ่อน แผลไหม้ขยายใหญ่ลุกลามรวดเร็ว

(C) บริเวณด้านหลังใบ แสดงอาการจุดช้ำ ฉ่ำน้ำ บริเวณที่เชื้อเข้าทำลาย

(D) อาการที่จานรองดอก เป็นจุดช้ำฉ่ำน้ำ เช่นอาการที่ใบ

(E) อาการท่อลำเลียงถูกอุดตัน กลายเป็นสีน้ำตาล

(F) อาการต้นเหี่ยว จากการที่แบคทีเรียเข้าทำลายที่โคนต้น

ภาพที่ 2 ตัวอย่างพืชกลุ่มไม้ใบประดับแสดงอาการใบไหม้ ไม่พบเชื้อ *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* (Xad) A, เงินไหลมา B, ออมนาค C, ฟิโลเดนดรอน D, หน้าวัวใบ E, สาวน้อยประแป้ง และ F, บอนสี แสดงอาการใบไหม้จากแบคทีเรีย Xad.

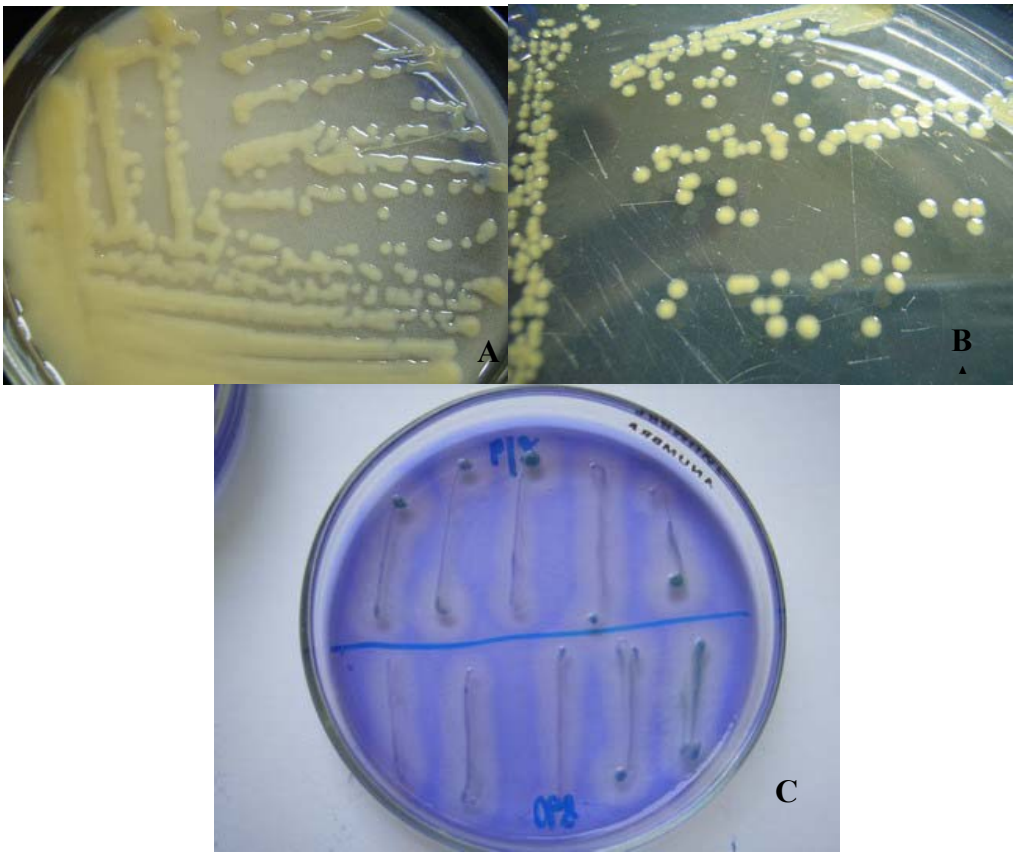
2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสาเหตุโรค

ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว บนอาหารที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของลักษณะโคโลนี ดังนี้

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

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

ศึกษาคุณสมบัติการย่อยแป้งของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* บนอาหาร SX พบว่าเชื้อทุกไอโซเลท สามารถย่อยแป้งได้ ทั้งนี้มีการจัดแบ่งเชื้อออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่สามารถย่อยแป้งได้ และกลุ่มที่ไม่ย่อยแป้ง จากการทดสอบสายพันธุ์ในประเทศไทยสามารถย่อยแป้งได้ทั้งหมด



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนี ของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae*

A เจริญบนอาหาร Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ อายุ 36 ชั่วโมง

B เจริญบนอาหาร NA อายุ 24 ชั่วโมง

C การทดสอบการย่อยแป้งบนอาหาร SX agar

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* เปรียบเทียบกับคุณสมบัติของแบคทีเรีย *X. axonopododis* pv.*vesicatoria*,

คุณสมบัติชีวเคมี	เชื้อ/ สายพันธุ์เชื้อ[a]					
	XC	Xcv7	Xcv691	Xav10	Xcc12	Xad14
Mucoid growth on nutrient agar + 5% glucose	+	+	+	+	+	+
Xanthomonadins produced	+	nd	nd	nd	nd	+
Hydrolysis of:						
Gelatin	d	+	+	+	+	+
Esculin	+	nd	nd	nd	nd	nd
Starch	D	+	+	-	-	+
Growth on nutrient agar:						
Good	+	+	+	+	+	+
Growth rate in culture:						
Moderate	+	+	+	+	+	+
Slow to very slow	-	-	-	-	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+
Nitrate reductase	-	-	-	-	-	-

Utilization of:						
Acetate	+	+	+	+	+	+
Citrate	+	+	+	+	+	+
Succinate	+	+	+	+	+	+
Benzoate	-	-	-	-	-	-
Arabinose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+
Acid production within 21 days on Dye's medium C from:						
Fructose	+	nd	nd	nd	nd	nd
Maltose	d	+	+	+	+	+
Xylose	d	+	+	+	+	+
Ribose	d	+	+	+	+	+
Raffinose	d	+	+	+	+	+
Melezitose	d	+	+	+	+	+
Dextrin	d	+	+	+	+	+
Glycerol	d	+	+	+	+	+
Mannitol	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	+	+	+	+	+

[a]สายพันธุ์เชื้อ XC= *Xanthomonas campestris* จาก Bergey's manual of systematic bacteriology (Krieg และ Holt, 1984), Xcv7 และ Xcv691 เป็นข้อมูลแทนเชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* จากมะเขือเทศ, Xcv10 เชื้อ *X. campestris* pv.*vesicatoria* สายพันธุ์จากพริก, Xcc12 เชื้อ *X. campestris* pv.*campestris* และ Xad14 เชื้อ *X. axonopodis*pv. *dieffenbachiae* จากหน้าวัว d= 11-89% ผลการทดสอบเป็นบวก, nd= ไม่ได้ทดสอบ

3. **การทดสอบพืชอาศัย**

ทดสอบการเกิดโรคบนพืชอาศัยกลุ่มไม้ใบประดับ พบว่า *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* 2 ไอโซเลท คือ Xad. 016 และ Xad. 035 ทำให้บริเวณที่ปลูกเชื้อ (ตัดใบ) แสดงอาการไหม้ขอบแผลเหลือง และบริเวณเส้นใบที่ต่อจากรอยตัดปลูกเชื้อ มีอาการช้ำฉ่ำน้ำ (ภาพที่ 3A) หลังปลูกเชื้อประมาณ 2 สัปดาห์ เมื่อตรวจผลหลังการปลูกเชื้อนาน 30 วัน ไม่พบอาการแผลไหม้ลุกลามต่อ และไม่ทำให้พืชใบไหม้หรือตาย สำหรับการปลูกเชื้อด้วยวิธีการพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อพบอาการแผลช้ำฉ่ำน้ำบนใบฟิโลทอง อาการใบไหม้บนใบเงินไหลมา และอาการแผลช้ำฉ่ำน้ำตามเส้นใบ บนใบสาวน้อยประแป้ง (ภาพที่ 3B) แต่จากรายงานการศึกษาพืชอาศัยของ เสมอใจ และคณะ (2548) พบพืชการเกิดโรคในกลุ่มของไม้ใบประดับ สกุลอโกรนีมา ได้แก่เขียวหมื่นปี เศรษฐีพูนทรัพย์ เงินเต็มบ้าน และคฑาทอง สกุลดิฟเฟนบาเกีย ได้แก่ ทรอปิคสโนว์ และดิฟเฟนสโนว์ดรอป สกุลฟิโลเดนดรอน ได้แก่ ซานาดู และฟิโลทอง สกุลซินโกเนียม ได้แก่ เงินไหลมา ออมเงิน ออมเพชร และออมนาค สกุลคาลาเดียม ได้แก่ ทับทิมสยาม ร9 มหามงกุฎ พริกกะเกลือ แดงจอมทัพ สกุลซินแดปซัส ได้แก่ พลูฉลุ ราชินีสีทอง และราชินีหินอ่อน ทั้งนี้ในการเกิดโรคและความรุนแรงขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้น ชนิดของพืช อายุของใบพืช หากใบพืชมีลักษณะหนาแข็ง การเข้าทำลายและการลุกลามของโรคเกิดได้น้อย ทั้งนี้ในฐานข้อมูลของ Crop Protection Compendium (2003) รายงานว่าเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคของพืชในตระกูล Araceae เช่น อะโกรนีมา คาลาเดียม ฟิโลเดนดรอน และซินโกเนียม จัดแบ่งกลุ่มของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ได้อย่างน้อย 3 กลุ่ม ตามการเข้าทำลายพืชอาศัย กลุ่มที่ 1 เป็นสายพันธุ์เชื้อที่เข้าทำลายพืชอย่างรุนแรงในกลุ่มหน้าวัว (anthurium) มีพืชอาศัยกว้าง กลุ่มที่ 2 เป็นสายพันธุ์ที่เข้าทำลาย syngonium และเข้าทำลายรุนแรงพืชในกลุ่มหน้าวัว และมีความสัมพันธุ์ทางเซรุ่มวิทยากับเชื้อในกลุ่มหน้าวัว มีพืชอาศัยแคบกว่ากลุ่มแรก กลุ่มที่ 3 เป็นสายพันธุ์จากพืชตระกูล Araceae อื่นๆ รวมถึงสายพันธุ์จาก syngonium อื่นๆ นอกจากกลุ่มข้างต้น

(A)

(B)

ภาพที่ 3 การทดสอบพืชอาศัยโดยการปลูกเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* (Xad.) ด้วยวิธีตัดใบ (A) หน้าวัว พลูเขียว ฟิโลเดนดรอน และ สาวน้อยประแป้ง อาการแผลช้ำจากการเข้าทำลายของเชื้อ Xad. ด้วยวิธีพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ (B) ได้แก่ ฟิโลทอง เงินไหลมา และสาวน้อยประแป้ง

สรุปผลการทดลอง

1. โรคใบไหม้ของหน้าวัว เกิดจากแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* พบระบาดในสวนหน้าวัวทั่วประเทศไทย โดยระบาดมากในสภาพอากาศร้อนฝนตกชุก

2. คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สามารถย่อยเจลาติน และย่อยแป้ง มีปฏิกิริยาคะตาเลสบวก ไม่รีดิวซ์ไนเตรท สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโตส ทรีฮาโลส ฟรุคโตส มอลโตส ไซโลส ไรโบส ราฟฟิโนส และแมนโนส โดยเชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอล และจัดอยู่ในกลุ่มที่สามารถย่อยแป้งได้

3. *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว สามารถเจริญและเข้าทำลายพืชในกลุ่มไม้ใบประดับ ได้แก่ ฟิโลทอง สาวน้อยประแป้ง พลูเขียว และเงินไหลมาได้แต่อาการไม่รุนแรง

เอกสารอ้างอิง

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพฯ 90 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ลักษณา วรรณภีร์ ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ สุเนตรา ภาวิจิตร และวันดี ใจนิ่ม. 2536. การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของหน้าวัวที่เกิดจากเชื้อบักเตรีโดยใช้สารเคมี, น. 75-83. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2536. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

นิยมรัฐ ไตรศรี ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ลักษณา วรรณภีร์ ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ สุเนตรา ภาวิจิตร และวันดี ใจนิ่ม. 2536. การศึกษาปฏิกิริยาของหน้าวัวพันธุ์ต่างๆ ต่อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv.*dieffenbachiae* เชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว, น.84-88. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2536. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

เสมอใจ ชื่นจิตต์. 2548. พืชอาศัยของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัวและพืชวงศ์ Araceae ในภาคใต้ของประเทศไทย. วารสารโรคพืช ปีที่ 19 เล่มที่ 1-2 หน้า 47-56.

CABI/EPPO, 1998. *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. Distribution Maps of Quarantine Pests for Europe No. 282. Wallingford, UK, CAB International.

Crop Protection Compendium. 2003. Data Sheet of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. 2003 edition. Wallingford, UK, CAB International.

Hayward AC, 1972. A bacterial disease of Anthurium in Hawaii. Plant Disease Reporter, 56:904-908.

McCulloch L, Pirone PP, 1939. Bacterial leaf spot of Dieffenbachia. Phytopathology, 29:956-962.

Nishijima WT, Fujiyama DK, 1985. Bacterial blight of Anthurium. Commodity Fact Sheet AN-4 (A). Hawaii, USA: Institute of Tropical Agriculture and Human Resources.

Vauterin L, Hoste B, Kersters K, Swings J, 1995. Reclassification of Xanthomonas. International Journal of Systematic Bacteriology, 45(3):472-489.

การประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว(*Anthurium andreanum*)

Assessment for severity strains of *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* on *Anthurium andreanum*

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว(*Anthurium andreanum*) ที่เก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกต่างๆ ทั่วประเทศ จำนวน 48 ไอโซเลท ในปี 2549 แบ่งกลุ่มตามเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคได้ 6 ระดับ คือระดับ 5 เกิดโรครุนแรงมาก (76-100 เปอร์เซ็นต์) 2 ไอโซเลท คือ 107 และ 110 ระดับ 4 เกิดโรครุนแรง (51-75 เปอร์เซ็นต์) 5 ไอโซเลท คือ 025, 065, 077, 078 และ 108 ระดับ 3 เกิดโรคปานกลาง (26-50 เปอร์เซ็นต์) 3 ไอโซเลท คือ 061, 069 และ 106 ระดับ 2 เกิดโรคน้อย (10-25 เปอร์เซ็นต์) 14 ไอโซเลท ระดับ 1 เกิดโรคเล็กน้อย (1-9 เปอร์เซ็นต์) 20 ไอโซเลท และระดับ 0 (ไม่แสดงอาการโรค) จำนวน 5 ไอโซเลท ทั้งนี้การเปรียบเทียบวิธีปลูกเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* บนต้นหน้าวัว 4 วิธีการ ได้แก่ การตัดใบ การพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ การฉีดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าใต้ใบ การทำแผลที่รากและราดเซลล์แขวนลอยเชื้อที่โคนต้น และการราดเซลล์แขวนลอยเชื้อที่โคนต้นแบบไม่ทำแผล พบว่าพืชเริ่มแสดงอาการหลังปลูกเชื้อประมาณ 2 สัปดาห์ วิธีการตัดใบ พืชแสดงอาการไหม้ลามจากบริเวณรอยตัด อาการไหม้ชัดเจนหลังปลูกเชื้อนาน 3 สัปดาห์ วิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ ด้านใต้ใบมีอาการแผลจุดช้ำฉ่ำน้ำกระจาย หลังปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ อาการแผลขยายขึ้นหลังปลูกเชื้อนาน 3 สัปดาห์ ต่อมาขอบใบมีอาการจุดช้ำฉ่ำน้ำ และวิธีการฉีดเชื้อเข้าใต้ใบ พืชแสดงอาการแผลช้ำฉ่ำน้ำบริเวณฉีดเชื้อเชื้อ และต่อมาแผลช้ำขยายลุกลามใหญ่ขึ้น ในขณะที่การปลูกเชื้อที่โคนต้นทั้งทำแผล และไม่ทำแผล พืชไม่แสดงอาการโรค และจากการประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์ในปี 2550 อีกจำนวน 12 ไอโซเลท แบ่งกลุ่มความรุนแรงของสายพันธุ์ระดับ 5 ได้แก่ ไอโซเลท 111, 141, 142 และ 145 ระดับ 4 ได้แก่ ไอโซเลท 114, 137, 138, 144 และ 146 ระดับ 3 ได้แก่ 139, 140 และ 143

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

แบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* (McCulloch & Pirone 1939) Vauterin et al. 1995 (Syn. *Xanthomonas campestris* pv. *diffenbachiae*) เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว และพืชในตระกูล Araceae เช่น อะโกรนีมา คาลาเดียม ฟิโลเดนดรอน และซินโกเนียม เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* พบรายงานครั้งแรกในมลรัฐฮาวาย สหรัฐอเมริกา โดย Hayward (1972) ทำความเสียหายกับบริษัทผู้ผลิตพืชสกุลหน้าวัว (anthurium) ในปี 1989 เป็นมูลค่ากว่า 600,000 บาทต่อเฮกเตอร์ และมูลค่ารวมความเสียหายนับ 100 ล้านบาท เป็นเชื้อที่เป็นข้อจำกัดในการผลิตพืชในสกุลหน้าวัว ของอเมริกาเหนือและใต้ พบการแพร่ระบาดทำความเสียหายกับพืชในสภาพอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส เข้าทำลายพืชทางบาดแผลและช่องเปิดธรรมชาติ นอกจากการเข้าทำลายพืชบนใบแล้ว (epiphytically) ยังสามารถเจริญแฝงอยู่ในท่อลำเลียงพืชได้ (latent infection) สามารถแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วไปในพื้นที่ปลูกใหม่ โดยติดไปกับส่วนขยายพันธุ์พืช และแพร่กระจายโดยการกระเด็นติดไปกับน้ำฝนหรือน้ำในระบบการปลูกพืช ปนเปื้อนไปกับเครื่องมือเครื่องใช้ทางการเกษตร ติดไปกับดิน และไส้เดือนฝอย ในขั้นตอนการตัดแต่งกิ่งหรือการเก็บเกี่ยวผลผลิต (Nishijima and Fujiyama, 1985) จัดแบ่งกลุ่มของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ได้อย่างน้อย 3 กลุ่ม ตามการเข้าทำลายพืชอาศัย กลุ่มที่ 1 เป็นสายพันธุ์เชื้อที่เข้าทำลายพืชอย่างรุนแรงในกลุ่มหน้าวัว (anthurium) มีพืชอาศัยกว้าง กลุ่มที่ 2 เป็นสายพันธุ์ที่เข้าทำลาย syngonium และเข้าทำลายรุนแรงพืชในกลุ่มหน้าวัว และมีความสัมพันธุ์ทางเซรุ่มวิทยากับเชื้อในกลุ่มหน้าวัว มีพืชอาศัยแคบกว่ากลุ่มแรก กลุ่มที่ 3 เป็นสายพันธุ์จากพืชตระกูล Araceae อื่นๆ รวมถึงสายพันธุ์จาก syngonium อื่นๆ นอกจากกลุ่มข้างต้น (CPC, 2003)

ในประเทศไทย พบการแพร่ระบาดของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ในโรงเรือนที่มีความชื้นสูง การระบายน้ำและการถ่ายเทอากาศไม่ดี (นิยมรัฐ, 2544) การศึกษาปฏิกิริยาของหน้าวัว ต่อแบคทีเรีย *X. campestris* pv.*dieffenbachiae* พบว่าทุกพันธุ์อ่อนแอต่อการเกิดโรค และสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค คือสารประกอบคอปเปอร์ (นิยมรัฐ และคณะ, 2536ab) การศึกษาประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ จะเป็นข้อมูลสำหรับการเลือกสายพันธุ์แบคทีเรีย เพื่อคัดพันธุ์พืชต้านทานโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อและการเก็บรักษาเชื้อ

แยกตัวอย่างอาการโรค บริเวณใบ (ใบจุด หรือใบไหม้) อาการท่อลำเลียงของก้านใบ หรือลำต้นช้ำเป็นสีน้ำตาล (อาการที่แสดงออก ใบเหี่ยวเนื้อใบเป็นสีเหลืองเส้นใบเขียว) อาการที่จานรองดอก เป็นจุดช้ำ และอาการไหม้

เลือกตัดชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการ โดยตัดบริเวณที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5x 0.5 มิลลิเมตร 1-2 ชิ้น จุ่มแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบชิ้นส่วนพืชดังกล่าว วางบนหยดน้ำ 10-20 ไมโครลิตร ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 3-5 นาที แล้วใช้ลูปที่ฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำ นำมาลาก (streak) บน Nutrient glucose agar (NGA) และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) วางจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก คว่ำจานลง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) 1-2 วัน จากนั้นเลือกโคโลนีของเชื้อที่เจริญ มีลักษณะนูนเยิ้มสีเหลือง เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหาร NGA หรือ YDC จนได้แบคทีเรียบริสุทธิ์

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

2. เปรียบเทียบเทคนิคการปลูกเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* บนต้นหน้าวัว

เตรียมแบคทีเรีย *X.axonopodis* pv. *diffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว จำนวน 48 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) เลี้ยงบนอาหาร NGA หรือ YDC บ่มที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) จากนั้นใช้ลูปฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยว มาลากบนอาหาร NGA เก็บจานเลี้ยงเชื้อในถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อด้วยน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยเชื้อทุกไอโซเลท ให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.2 OD ที่ความยาวคลื่น Absorbance 600 นาโนเมตร โดยมีปริมาณเชื้อโดยเฉลี่ย 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร

วางแผนการทดลองแบบ RCB 5 กรรมวิธี 3 ซ้ำ โดยใช้ต้นหน้าวัวพันธุ์ทรอปพิคอล (Tropical) อายุประมาณ 3 เดือน ปลูกในกระถางสีดำ วัสดุปลูกเป็นอิฐแดง

กรรมวิธีที่ 1 การตัดใบ โดยใช้กรรไกรผ่าตัด ลนไฟฆ่าเชื้อทิ้งไว้ให้เย็น จุ่มในเซลล์แขวนลอยเชื้อ แล้วตัดใบลึกประมาณ 2 นิ้ว 2 แผลต่อใบ

กรรมวิธีที่ 2 การพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ โดยใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อ 10 มิลลิลิตร ผสมผงซิลิคอน คาร์ไบ (คาร์บอแรนดัม) ขนาด 600 mesh บรรจุในกระบอกพลาสติกพ่นฝอย แล้วพ่นให้ทั่วต้นหน้าวัว

กรรมวิธีที่ 3 การฉีดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าใต้ใบ ใช้หลอดฉีดยาพลาสติก ไม่ใช้เข็ม ดูดเซลล์แขวนลอยเชื้อ 3 มิลลิลิตร ฉีดอัดเข้าด้านใต้ใบแผลละประมาณ 500 ไมโครลิตร โดยใช้เข็มฉีดยาเจาะรูทำแผลบริเวณที่ฉีด

กรรมวิธีวิธีการที่ 4 การราดเซลล์แขวนลอยเชื้อที่โคนต้น ร่วมกับการทำแผลที่ราก โดยใช้ใบมีดผ่าตัดลนไฟฆ่าเชื้อ ตัดผ่านรากที่โคนต้น 2 แผลต่อต้น แล้วราดด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อต้นละ 10 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 การราดเซลล์แขวนลอยเชื้อ ไม่ทำแผล แล้วราดด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อต้นละ 10 มิลลิลิตร

ในทุกกรรมวิธี ใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นการทดลองเปรียบเทียบ และหลังการปลูกเชื้อนำต้นหน้าวัว ใส่ในถุงพลาสติก ที่พ่นน้ำฝอยให้ความชื้น ปิดทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วเปิดปากถุงพลาสติก บันทึกการเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อ 5 วัน และทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 1 เดือน

3. **การทดสอบประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ** ***Xanthomonas axonopodis*** **pv.** ***diffenbachiae***

ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ โดยการเตรียมเชื้อเช่นเดียวกับในข้อ 2 และเลือกใช้วิธีการปลูกเชื้อแบบกรรมวิธีการพ่นเชื้อผสมผงคาร์บอแรนดัม บ่มในถุงพลาสติกฉีดน้ำ ให้มีความชื้น 100 เปอร์เซ็นต์ ทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วเปิดปากถุง บันทึกอาการการเกิดโรคที่ 5 วัน และทุก 7 วันเป็นเวลา 1 เดือน ให้คะแนนการเกิดโรค โดยประเมินความรุนแรงในการเกิดโรค ดังนี้

ระดับ 5 พืชแสดงอาการโรครุนแรงมาก 76-100 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 4 พืชแสดงอาการโรครุนแรง 51-75 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 พืชแสดงอาการโรคปานกลาง 26-50 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 2 พืชแสดงอาการโรคน้อย 10-25 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 1 พืชแสดงอาการโรค 1-9 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 0 พืชไม่แสดงอาการโรค

จากนั้นหาค่าเฉลี่ยความรุนแรงในการเกิดโรค 3 ต้น แล้วจัดกลุ่มระดับความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae*

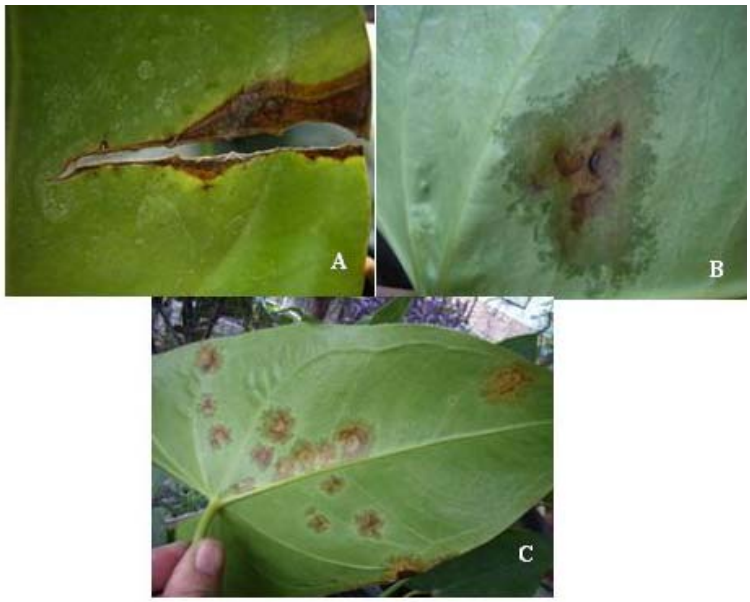
ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. **เปรียบเทียบวิธีการปลูกเชื้อ** *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae*

พบว่ากรรมวิธีการปลูกเชื้อ 3 กรรมวิธี ที่ทำให้พืชแสดงอาการโรค คือ การตัดใบ การพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ และการฉีดเชื้อเข้าใต้ใบ (ภาพที่ 1) วิธีการตัดใบ พืชแสดงอาการไหม้ลามจากบริเวณรอยตัด อาการโดยพืชเริ่มแสดงอาการไหม้ และมีจุดช้ำฉ่ำน้ำบริเวณขอบแผลหลังปลูกเชื้อประมาณ 14 วัน และมีอาการไหม้แห้งหลังปลูกเชื้อนาน 21 วัน วิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ ด้านใต้ใบมีอาการแผลจุดช้ำฉ่ำน้ำ กระจาย หลังปลูกเชื้อ 14 วัน อาการแผลขยายขึ้นหลังปลูกเชื้อนาน 21 วัน ต่อมาขอบใบมีอาการจุดช้ำฉ่ำน้ำ และวิธีการฉีดเชื้อเข้าใต้ใบ พืชแสดงอาการแผลช้ำฉ่ำน้ำบริเวณฉีดเชื้อ หลังการปลูกเชื้อ 5 วัน ต่อมาแผลช้ำขยายลุกลามใหญ่ขึ้น



ภาพที่ 1 แสดงอาการโรคใบไหม้หน้าวัวโดยการปลูกเชื้อต่างกรรมวิธี
A อาการแผลไหม้จากการปลูกเชื้อด้วยกรรมวิธีตัดใบ
B อาการแผลช้ำฉ่ำน้ำ จากการปลูกเชื้อโดยฉีดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าใต้ใบ
C อาการแผลจุดวงช้ำฉ่ำน้ำ จากการปลูกเชื้อด้วยวิธีการพ่นเชื้อ

2. การทดสอบประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae*

ประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* จำนวนทั้งสิ้น 48 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) จัดแบ่งกลุ่มตามเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรค 6 ระดับ (ภาพที่ 2) คือระดับ 5 เกิดโรครุนแรงมาก (76-100 เปอร์เซ็นต์) 2 ไอโซเลท คือ 107 และ 110 ระดับ 4 เกิดโรครุนแรง (51-75 เปอร์เซ็นต์) 5 ไอโซเลท คือ 025, 065, 077, 078 และ 108 ระดับ 3 เกิดโรคปานกลาง (26-50 เปอร์เซ็นต์) 3 ไอโซเลท คือ 061, 069 และ 106 ระดับ 2 เกิดโรคน้อย (10-25 เปอร์เซ็นต์) 14 ไอโซเลท ระดับ 1 เกิดโรคเล็กน้อย (1-9 เปอร์เซ็นต์) 20 ไอโซเลท และระดับ 0 (ไม่แสดงอาการโรค) จำนวน 4 ไอโซเลท (ตารางที่ 2) ทั้งนี้มีข้อสังเกตว่าสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรงมาก เป็นสายพันธุ์แบคทีเรียที่แยกได้ใหม่ในปี 2549 ทั้งสองสายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่ไม่แสดงอาการโรค เมื่อนำมาแยกแบคทีเรีย พบการเจริญแบบแฝง (latent infection) ซึ่งการเจริญแฝงโดยไม่แสดงอาการโรค ทำให้เป็นแหล่งแพร่ระบาดของแบคทีเรียได้มาก

ตารางที่ 1 สายพันธุ์และแหล่งที่มาของเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *diffenbachiae* ที่ใช้ในการศึกษา

สายพันธุ์	สถานที่ปลูก	เดือน/ปีที่เก็บ	แหล่งที่มา[1]
014	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	04-2547	การศึกษานี้
015	ศูนย์ส่งเสริมพืชสวน จ.กระบี่	09-2547	การศึกษานี้
016	สถาบันวิจัยยาง จ.ภูเก็ต	09-2547	การศึกษานี้
017	สวนสุลภัส จ.สุราษฎร์ธานี	09-2547	การศึกษานี้
019	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	07-2547	การศึกษานี้
024	บ.สตาร์ฟลอร่า จ.นครศรีธรรมราช	07-2547	การศึกษานี้
025	อ.เมือง จ.ชุมพร	09-2547	การศึกษานี้
026	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	09-2547	การศึกษานี้
027	เขตหนองแขม กทม.	09-2547	การศึกษานี้
028	อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม	09-2547	การศึกษานี้
030	มหาสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2547	การศึกษานี้
032	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	11-2547	การศึกษานี้
033	คุณพงษ์เศวต เขตมีนบุรี กทม.	09-2547	การศึกษานี้
035	อ.สวี จ.ชุมพร	11-2547	การศึกษานี้
052	อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง	02-2548	การศึกษานี้
055	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	06-2548	การศึกษานี้
058	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
059	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้

061	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
062	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
064	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
065	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
066	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
067	สวนที่ 1 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
068	สวนที่ 2 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
069	สวนที่ 2 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
071	สมิมันหน้าวัว อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	02-2549	การศึกษานี้
072	อ.ปางดะ จ.เชียงใหม่	02-2549	การศึกษานี้
074	อ.ปางดะ จ.เชียงใหม่	02-2549	การศึกษานี้
075	คุณสุชาดา อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
076	คุณสุชาดา อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
077	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
078	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
079	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
099	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
101	อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	06-2549	การศึกษานี้
104	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
105	อ.พบพระ จ.ตาก	07-2549	การศึกษานี้
106	คุณสมชาย อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
107	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
108	ไร่คลายกังวล อ.ภูเรือ จ.เลย	08-2549	การศึกษานี้
110	บ้านสวนละออ อ.แม่สอด จ.ตาก	08-2549	การศึกษานี้
1057	เขตบางกอกน้อย กทม.	01-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1058	เขตบางกอกน้อย กทม.	01-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1063	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1188	เขตบางกอกน้อย กทม.	10-2535	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1415	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2540	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
111	อ.ภูเรือ จ.เลย	09-2549	การศึกษานี้
113	อ.สะเมิง จ. เชียงใหม่	09-2549	การศึกษานี้
114	อ.สะเมิง จ. เชียงใหม่	09-2549	การศึกษานี้
125	ดอยมูเซอ อ.แม่สอด จ.ตาก	11-2549	การศึกษานี้
137	อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้
138	อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้

139	อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้
140	อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้
141	อ.สามโคก จ.ปทุมธานี	03-2550	การศึกษานี้
142	อ.สามโคก จ.ปทุมธานี	03-2550	การศึกษานี้
143	อ.สามโคก จ.ปทุมธานี	03-2550	การศึกษานี้
144	อ.ปากเกร็ด จ.นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้
145	อ.ปากเกร็ด จ.นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้
146	อ.ปากเกร็ด จ.นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้

ตารางที่ 2 แสดงระดับความรุนแรงในการเกิดโรคใบไหม้จากแบคทีเรีย บนต้นหน้าวัว พันธุ์ Tropical หลังการปลูกเชื้อ นาน 30 วัน

ระดับความรุนแรง	**สายพันธุ์เชื้อ** *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae*	**จำนวนไอโซเลทของเชื้อ** Xad.
5 (76-100 %)	107, 110, 111, 141, 142, 145	6
4(51-75 %)	025, 065, 077, 078, 108, 114, 137, 138, 144,146	10
3 (26-50 %)	061, 069, 106, 139,140,143	6
2 (10-25 %)	019, 030, 032, 055, 058, 062, 066, 072, 104, 105, 068, 079, 1057, 060	14
1 (1-9 %)	014, 015, 017, 024, 035, 052, 059, 064, 067, 091, 074, 076, 099, 101, 033, 075, 1063, 1188, 1415, 1058	20
0 (ไม่เกิดโรค)	016, 026, 027, 028	4

ภาพที่ 3 แสดงอาการใบไหม้ของหน้าวัวพันธุ์ Tropical จากการปลูกเชื้อประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์ ด้วยวิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อ A ไม่แสดงอาการโรค (0) B อาการโรคระดับ 1, C อาการโรคระดับ 2 D อาการโรคระดับ 3, E อาการโรคระดับ 4, F อาการโรคระดับ 5

สรุปผลการทดลอง

ได้แบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ที่แยกเก็บจากสวนหน้าวัวในจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศไทย มีความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคต่างกัน โดยสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการเกิดโรคมาก ระดับ 5 (76-100 เปอร์เซ็นต์) 6 สายพันธุ์ คือ ไอโซเลท Xad. 107, 110, 111, 141, 142 และ 145 สายพันธุ์ที่เกิดโรคในระดับรุนแรง ระดับ 4 เกิดโรค 51-75 เปอร์เซ็นต์ 10 ไอโซเลท ได้แก่ Xad. 025, 065, 077, 078, 108, 114, 137, 138, 144 และ 146

เอกสารอ้างอิง

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพฯ 90 หน้า.

นิยมรัฐ ไตรศรี ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ลักษณา วรรณภีร์ ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ สุเนตรา ภาวิจิตร และวันดี ใจนิ่ม. 2536. การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้ของหน้าวัวที่เกิดจากเชื้อบักเตรีโดยใช้สารเคมี, น. 75-83. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2536. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

นิยมรัฐ ไตรศรี ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ลักษณา วรรณภีร์ ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ สุเนตรา ภาวิจิตร และวันดี ใจนิ่ม. 2536. การศึกษาปฏิกิริยาของหน้าวัวพันธุ์ต่างๆ ต่อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv.*dieffenbachiae* เชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว, น.84-88. ใน รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2536. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

CABI/EPPO, 1998. *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. Distribution Maps of Quarantine Pests for Europe No. 282. Wallingford, UK, CAB International.

Crop Protection Compendium. 2003. Data Sheet of *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. 2003 edition. Wallingford, UK, CAB International.

Hayward AC, 1972. A bacterial disease of Anthurium in Hawaii. Plant Disease Reporter, 56:904-908.

McCulloch L, Pirone PP, 1939. Bacterial leaf spot of Dieffenbachia. Phytopathology, 29:956-962.

Nishijima WT, Fujiyama DK, 1985. Bacterial blight of Anthurium. Commodity Fact Sheet AN-4 (A). Hawaii, USA: Institute of Tropical Agriculture and Human Resources.

Vauterin L, Hoste B, Kersters K, Swings J, 1995. Reclassification of Xanthomonas. International Journal of Systematic Bacteriology, 45(3):472-489.

สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

Survey, Culture Collection and Identification of Entomopathogenic Nematodes

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่จังหวัดตาก กำแพงเพชร ลำปาง ลำพูน เชียงใหม่ นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี จำนวน 5 10 15 10 10 10 10 10 10 และ 10 ตัวอย่าง ตามลำดับ รวม 100 ตัวอย่าง สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae จากจังหวัดกำแพงเพชร กำหนดรหัสเป็น KPs No.2 code และแยกได้จากจังหวัดอุบลราชธานี กำหนดรหัสเป็น UBs No.2 code เมื่อนำมาจำแนกชนิดโดยใช้เทคนิคการผสมข้ามสายพันธุ์กับไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* ที่แยกได้จาก จ.กาญจนบุรี พบว่า รหัส KPs No.2 สามารถผสมพันธุ์และให้ลูกรุ่นใหม่ได้ ส่วนไส้เดือนฝอยรหัส UBs No.2 ไม่สามารถผสมไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. รหัส KPs No.2 มีศักยภาพในการฆ่าปลวก หนอนแก้ว ลูกน้ำยุงลาย หนอนด้วงกินเส้นใยเห็ด และเพลี้ยแป้ง ตาย 100 50 100 70 และ 10 % ตามลำดับ ที่เวลา 48 ชม. และฆ่าแมลงสาบตาย 50 % ภายในเวลา 96 ชม.

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ไส้เดือนฝอย (Nematode) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (invertebrate) มีลำตัวซีกซ้ายและซีกขวาเหมือนกัน (bilateria) เป็นพวกที่มีช่องลำตัวเทียม (pseudocoelomate) ลำตัวไม่เป็นข้อปล้อง (nonsegmented) มีผนังชั้นนอก (cuticle) เป็นรอยย่นยืดหยุ่นได้ (elastic cuticle) มีระบบต่างๆ ภายในลำตัวประกอบด้วยระบบขับถ่ายทางผิวหนัง (excretory system) ระบบประสาท (nervous system) ระบบทางเดินอาหาร (digestive system) ระบบสืบพันธุ์ (reproductive system) และระบบกล้ามเนื้อ (muscular system) ไม่พบระบบไหลเวียนโลหิต (circulatory system) และระบบหายใจ (respiratory system) ไส้เดือนฝอยมีรูปร่างลำตัวกลม ยาวคล้ายเส้นด้าย (thread) หรือมีรูปร่างเป็นทรงกระบอก (cylindrical) บางชนิดหัวแหลมท้ายแหลม (filiform) ไส้เดือนฝอยมีชื่อเรียกอื่นๆ อีก เช่น หนอนตัวกลม (roundworm) พยาธิตัวกลม (eelworm) หรือพยาธิเส้นด้าย (threadworm) แบ่งแยกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ตามลักษณะของการดำรงชีวิตและการกินอาหารออกเป็น 4 กลุ่ม คือ ไส้เดือนฝอยที่พบในน้ำเค็ม (marine nematode) ไส้เดือนฝอยหากินอิสระในดินและน้ำ (free-living nematode) ไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูพืช (plant parasitic nematode) และไส้เดือนฝอยที่เป็นศัตรูในคนและสัตว์ (animal parasitic nematode) ซึ่งในกลุ่มที่เป็นศัตรูคนและสัตว์นี้ แบ่งแยกย่อยเป็นไส้เดือนฝอยที่มีความสัมพันธ์กับแมลง พบมากกว่า 40 วงศ์ (family) เป็นพาราสิตภายในตัวแมลง (insect parasitic nematode) และมีไส้เดือนฝอยเพียง 2 วงศ์เท่านั้น ที่ทำให้เกิดโรคในแมลง (entomopathogenic nematode คือ family Steinernematidae และ Heterorhabditidae (นุชนารถ, 2544)

ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae เรียกชื่อสามัญ (common name) ว่า steinernematid ค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1923 โดย Steiner ในประเทศเยอรมัน ได้มีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็นเวลามากกว่า 80 ปี ซึ่งพบว่า ไส้เดือนฝอยมีแบคทีเรียแกรมลบในวงศ์ Enterobacterioceae สกุล *Xenorhabdus* sp. อยู่ร่วมกันในลักษณะพึ่งพาอาศัยหรือเรียกว่า symbiosis โดยเซลล์ของแบคทีเรียเหล่านี้อาศัยอยู่บริเวณลำไส้ส่วนหน้าของไส้เดือนฝอยระยะเข้าทำลาย (infective-stage juvenile) ไส้เดือนฝอยเป็นตัวพาแบคทีเรียเข้าสู่ตัวแมลง โดยผ่านทางช่องเปิดตามธรรมชาติของแมลง ได้แก่ ทางปาก ช่องขับถ่าย และรูหายใจทางผิวหนัง (spiracle) จากนั้นเข้าสู่ช่องว่างภายในตัวแมลง (haemocoel) ซึ่งมีน้ำเลือด (haemolymph) ไส้เดือนฝอยจะปลดปล่อยแบคทีเรียสู่กระแสเลือดแมลง และร่วมกันสร้างสารพิษ (toxin) ทำให้แมลงเกิดภาวะเลือดเป็นพิษ (septicemia) และตายอย่างรวดเร็วภายในเวลาไม่เกิน 48 ชม. เซลล์ของแบคทีเรียสามารถเพิ่มปริมาณในน้ำเลือดของแมลง และไส้เดือนฝอยจะเจริญเติบโตโดยใช้เซลล์ของแบคทีเรียในการขยายพันธุ์ ซึ่งเป็นแบบจับคู่ผสมพันธุ์ระหว่างเพศผู้และเพศเมีย เรียก

การผสมพันธุ์แบบนี้ว่า amphimictic ไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตอยู่ภายในแมลงที่ตายแล้วประมาณ 2-3 ชั่วอายุ (generation) ขึ้นอยู่กับขนาดของแมลง เมื่อแมลงเริ่มแห้งเป็นซาก (cadaver) ไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่สาม (third-stage juvenile) จะสะสมอาหารสำรอง (food reserve) ประเภทไขมันสะสม (lipid stroage) บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างผิวหนังกับกล้ามเนื้อช่องท้อง (hypodermal chord) และดูดกลืนเซลล์แบคทีเรียเก็บไว้ในช่อง lumen ของลำไส้ส่วนหน้า และเคลื่อนตัวออกจากซากของแมลง เพื่อรอแมลงเหยื่อตัวใหม่ต่อไป (Akhurst and Boemare, 1990)

ความสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างไส้เดือนฝอยและแบคทีเรีย (nematode-bacterium complex) ได้ รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์ที่จะพัฒนาศัตรูธรรมชาติของแมลงชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะใช้กำจัดแมลงระยะตัวหนอนที่เป็นศัตรูสำคัญในพืช จึงมีการศึกษาและพัฒนาไส้เดือนฝอยในกลุ่มนี้ตั้งแต่เริ่มค้นพบครั้งแรกจนถึงปัจจุบันมีการพัฒนาการเพาะเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม (artificial media) ได้สำเร็จตั้งแต่ปี ค.ศ. 1931 โดย Glaser ซึ่งเป็นวิธีการเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture ที่ไม่มีเซลล์ของ symbiotic bacteria ร่วมด้วย ต่อมามีการพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเป็นแบบ monoxenic culture ที่มี symbiotic bacteria ร่วมด้วย (Bedding, 1981) ซึ่งให้ผลผลิตไส้เดือนฝอยสูงกว่าแบบเดิม นอกจากนี้ ไส้เดือนฝอยยังได้รับการรับรองจาก The United States Environmental Protection Agency (EPA) ถึงความปลอดภัยต่อพืช สัตว์เลือดอุ่นและมนุษย์ รวมทั้งปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม (Gaugler and Kaya, 1990) ไส้เดือนฝอยจึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางทั่วโลก ที่จะพัฒนาให้นำมาใช้ประโยชน์เช่นเดียวกับแบคทีเรียบีที (*Bacillus thuringiensis*, Bt) และไวรัสเอ็นพีวี (nuclear polyhedrosis virus, NPV) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กำจัดแมลงศัตรูสำคัญต่างๆ โดยเฉพาะแมลงศัตรูพืชในพื้นที่ทำการเกษตร เป็นการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี (biological control agent) เพื่อช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตทุกชนิดและสภาพแวดล้อม

นอกจากนั้น นักวิจัยยังให้ความสำคัญในการค้นหาชนิดและสายพันธุ์ใหม่ในเขตต่างๆ ทั่วโลก ทั้งในยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย เอเชีย และบางประเทศในแอฟริกา เพื่อได้สายพันธุ์พื้นเมืองหลากหลายชนิด และศึกษาการกระจายตัวของไส้เดือนฝอยในธรรมชาติของถิ่นที่อยู่ จากรายงานการกระจายตัวของไส้เดือนฝอย steinernematid ในภูมิภาคต่างๆ พบว่าในยุโรปตอนเหนือเท่ากับ 37-49 % และพบในทุกประเทศที่มีการสำรวจในทวีปยุโรป ได้แก่ สาธารณรัฐเชคโกสโลวาเกีย 36.8 % สวีเดน 25 % ฟินแลนด์ 5.8 % สาธารณรัฐไอร์แลนด์ 10.4 % นอร์เวย์ 18.3 % และสวิสเซอร์แลนด์ 26.5 % ในทวีปอเมริกามีการศึกษาการกระจายตัวและรายงานใน 5 ประเทศของอเมริกาเหนือ-กลางคือ แคนาดา สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก คิวบา และเปอร์โตริโก และใน 3 ประเทศของอเมริกาใต้คือ บราซิล อุรุกวัย และอาร์เจนตินา นอกจากนั้นยังมีรายงานใน

ประเทศออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ ส่วนในทวีปเอเชียมีการสำรวจและศึกษาการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย รายงานใน 9 ประเทศ คือ ญี่ปุ่น จีน อินเดีย ศรีลังกา เกาหลี โอมาน มาเลเซีย เวียตนาม และไทย ในทวีปแอฟริกาได้รายงานการสำรวจค้นพบในประเทศเคนยา

ในปัจจุบันไส้เดือนฝอยมีบทบาทสำคัญในการนำมาใช้กำจัดแมลงหลายชนิด โดยเฉพาะแมลงศัตรูสำคัญในพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ กลุ่มหนอนผีเสื้อในอันดับ (order) Lepidoptera เช่น หนอนกระทู้ผัก (common leafworm, *Spodoptera litura*) หนอนกระทู้หอม (beet armyworm, *S. exigua*) และหนอน เจาะสมอฝ้าย (American bollworm, *Heliothis armigera*) กลุ่มหนอนด้วงในอันดับ Coleptera เช่น ด้วงหมัดกระโดด (flea betle, *Phyllotreta sinuata*) หนอนด้วง Japanese beetle และด้วงงวงองุ่น (vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus*) เป็นต้น ได้มีการคัดเลือกชนิดและสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย steinernematid นำมาผลิตเป็นการค้า 6 ชนิด คือ *S. carpocapsae, S. glaseri, S. feltiae, S. riobrave, S. scapterisci* และ *S. kushidai* ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์จำหน่ายทั่วโลกมากกว่า 40 บริษัท ทั้งในยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย และเอเชีย ได้แก่ บริษัท MicroBio ผลิตไส้เดือนฝอย *S. feltiae* ควบคุมหนอนแมลงวันทำลายเห็ด (mushroom sciarids) ในผลิตภัณฑ์ชื่อ Nemasys และไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ควบคุมด้วงงวงองุ่น (vine weevil) ในผลิตภัณฑ์ชื่อ Nemasys บริษัท Biosys ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ควบคุมหนอนด้วง Japanese beetle และบริษัท Ciba-Geigy ผลิตไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* (S25) และ *S. feltiae* (S27) ควบคุมด้วงงวงองุ่นสีดำ (black vine weevil)

ปัจจุบันไส้เดือนฝอยในสกุล *Steinernema* จำแนกได้ 37 ชนิดคือ ***S. kraussei*** Steiner, 1923 syn. *Aplectana kraussei* Steiner, 1923; ***S. arenarium*** (Artyukhovsky, 1967) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982; ***S. aciari*** Qiu, Yan, Zhou, Nguyen & Pang, 2005; ***S. akhursti*** Qiu, Hu, Zhou, Pang & Nguyen, 2005; ***S. apuliae*** Triggiani, Mracek & Reid, 2004; ***S. affine*** (Bovien, 1937) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982 syn. *Neoaplectana affinis* Bovien, 1937; ***S. bicornutum*** Tallosi, Peters & Ehlers, 1995; ***S. beddingi*** Qiu, Hu, Zhou, Pang & Nguyen, 2005; ***S. carpocapsae*** (Weiser, 1955) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding,1982 syn. *Neoaplectana carpoca*psae Weiser, 1955; ***S. caudatum*** Xu, Wang & Li, 1991; ***S. ceratophorum*** Jian, Reid & Hunt, 1997; ***S. cubanum*** Mracek, Hernandez & Boemare, 1994; ***S. diaprepesi*** Nguyen & Duncan 2002; ***S. feltiae*** (Filipjev, 1934) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982; ***S. glaseri*** (Steiner, 1929) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982 syn. *Neoaplectana glaseri* Steiner, 1929; ***S. guangdongense*** Qiu, Fang, Zhou, Pang & Nguyen, 2004; ***S. intermedium*** (Poinar, 1985) Mamiya, 1988 syn. *Neoaplectana intermedia* Poinar, 1985; ***S. karii*** Waturu, Hunt & Reid, 1997; ***S. kushidai***

Mamiya, 1988; ***S. longicaudum*** Shen & Wang, 1992; ***S. loci*** Phan, Nguyen & Moens, 2001; ***S. monticolum*** Stock, Choo & Kaya, 1997; ***S. neocurtillae*** Nguyen & Smart, 1992; ***S. oregonense*** Liu & Berry, 1996; ***S. pakistanense*** Shahina, Anis, Reid, Rowe & Maqbool. 2001; ***S. puertoricense*** Romin & Figueroa, 1994; ***S. rarum*** (de Doucet, 1986) Mamiya, 1988 syn. *Neoaplectana rara* de Doucet, 1986; ***S. riobrave*** Cabanillas, Poinar & Raulston, 1994; ***S. ritteri*** de Doucet & Doucet, 1990; ***S. scapterisci*** Nguyen & Smart, 1990 syn. *Neoaplectana carpocapsae* 'Uruguay strain' of Nguyen & Smart, 1988; ***S. saimkayai*** Stock, Somsook & Kaya, 1998; ***S. tami*** Luc, Nguyen, Reid & Spiridonov, 2000; ***S. thanhi*** Phan, Nguyen & Moens, 2001; ***S. thermophilum*** Gangula & Singh, 2000; ***S. websteri*** Cutler & Stock, 2003; ***S. weiseri*** Mracek, Sturhan & Reid, 2003; ***S. yirgalemense*** Nguyen, Tesfamariam, Gozel, Gaugler & Adams, 2004 (Nguyen, 1993)

ในสกุล *Heterorhabditis* จำแนกได้ 8 ชนิด คือ ***H. bacteriophora*** Poinar, 1976; ***H. brevicaudis*** Liu, 1994; ***H. downesi*** Stock, Griffin & Burnell, 2002; ***H. indica*** Poinar, Karunaka & David, 1992 syn. *H. hawaiiensis* Gardner, Stock & Kaya, 1994; ***H. marelatus*** Liu and Berry, 1996 syn. *H. hepialius* Stock, Strong & Gardner, 1996; ***H. megidis*** Poinar, Jackson & Klein 1987; ***H. mexicana*** Nguyen, Shapiro-Ilan, Stuart, James, McCoy & Adams, 2004; ***H. zealandica*** Poinar, 1990 (Nguyen, 1998) นอกจากนั้นในปี 1994 Nguyen & Smart ได้ค้นพบไส้เดือนฝอยสกุลใหม่ คือ *Neosteinernema* และจำแนกเป็น ***N. longicurvicauda*** Nguyen & Smart, 1994

การค้นหาจุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติที่มีประโยชน์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ เพื่อนำขึ้นมาพัฒนาและนำกลับไปใช้ควบคุมศัตรูพืช ได้เพิ่มความสำคัญและมีการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ด้าน โดย เฉพาะงานวิจัยขั้นพื้นฐาน ซึ่งดำเนินงานโดยนักวิจัยในแต่ละสาขาเพื่อค้นหาจุดสำคัญของการนำมาใช้ให้มีประสิทธิภาพสูงสุด จุลินทรีย์หรือศัตรูธรรมชาติแต่ละชนิดมีข้อจำกัดในการนำไปใช้แตกต่างกันไป เช่น ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในดินร่วนปนทราย ที่อุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส (Kaya, 1977) เป็นต้น ข้อจำกัดดังกล่าวจึงต้องมีการค้นคว้าวิจัยข้อมูลพื้นฐานทั้งด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา และพฤติกรรมการดำรงชีวิต ซึ่งข้อมูลทางวิชาการเหล่านี้มีความสำคัญยิ่งต่อการพัฒนา bio-agent ที่พบตามธรรมชาติให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริง การพยายามค้นหาสายพันธุ์ใหม่ในเขตต่างๆ ซึ่งมีความแตกต่างของสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ความชื้น ความเข้มของแสงอุลตราไวโอเลต แมลงอาศัย ชนิดและคุณสมบัติของดิน เพื่อนำสายพันธุ์พื้นเมืองมาใช้ควบคุมศัตรูพืชในท้องถิ่นที่มีสภาพแวดล้อมเดิมจึงเป็นงานวิจัยที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยได้เริ่มมีการสำรวจเก็บ

รวบรวมไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2539 สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงจำนวน 9 ไอโซเลท จัดอยู่ใน family Steinernematidae จำนวน 8 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสตามจังหวัดที่พบคือ จังหวัดกาญจนบุรี (KBs) พิจิตร (PCs) อยุธยา (AYs) กาฬสินธุ์ (KSs) มหาสารคาม (MKs) ขอนแก่น (KKs) หนองคาย (NKs) และสระแก้ว (SKs) และ family Heterorhabditidae จำนวน 1 ไอโซเลท คือ ร้อยเอ็ด (REh) นำมาเก็บรวบรวมเป็น culture collection ณ กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร (นุชนารถ และคณะ, 2543)

การสำรวจ เก็บรวบรวม และคัดเลือกไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลงศัตรูพืช จึงเป็นงานวิจัยที่สามารถนำไปสู่ผู้ใช้ประโยชน์จากผลงานได้อย่างเป็นรูปธรรม โดยไส้เดือนฝอยที่ค้นพบจากความหลากหลายทางชีวภาพในระบบนิเวศที่แตกต่างและกระจัดกระจายตามถิ่นที่อยู่อาศัย (Habitat) โดยเฉพาะในเขตพื้นที่ป่าของประเทศไทยที่ตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นและยังไม่เคยมีการสำรวจนั้น มีความแตกต่างของชนิดและสายพันธุ์ ทั้งทางชีววิทยา นิเวศวิทยา พฤติกรรมและศักยภาพในการกำจัดแมลงตามสภาพถิ่นที่อยู่อาศัย และการกระจายตัวทางภูมิศาสตร์ (Geographical distribution) ไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากเขตหนาว-อบอุ่น จะไม่ทนทานต่ออุณหภูมิสูง จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้กำจัดแมลงในเขตร้อน-ร้อนชื้น ในทางตรงข้ามไส้เดือนฝอยที่แยกจากเขตร้อน-ร้อนชื้น จะไม่ทนทานอุณหภูมิต่ำ การได้สายพันธุ์พื้นเมืองชนิดใหม่ในเขตร้อนชื้น จึงมีเป้าหมายสู่การนำไปใช้ประโยชน์อย่างเหมาะสม โดยเฉพาะนำกลับไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชในถิ่นที่อยู่เดิมอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งงานวิจัยมุ่งเน้นการเก็บรวบรวม นำมาแบ่งแยกสกุลและจำแนกชนิด พร้อมกำหนดรหัสไส้เดือนฝอย (nema code) เป็น culture collection ให้คงความมีชีวิต พร้อมทั้งประเมินศักยภาพเบื้องต้นในการเป็น Bio-agent เพื่อนำไปพัฒนาในด้านต่างๆ ให้เกิดเป็นมูลค่าทั้งในเชิงอนุรักษ์อย่างยั่งยืนและเชิงพาณิชย์ของการนำทรัพยากรธรรมชาติขึ้นมาใช้ประโยชน์อย่างแท้จริง ดังนั้น การสำรวจเพื่อค้นหาไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ไทยชนิดใหม่ในเขตพื้นที่ป่า ที่ประกอบด้วยป่าฝนกึ่งดิบ ป่าฝนภูเขา ป่าผลัดใบชื้น ซึ่งจัดเป็นเขตชีวภูมิศาสตร์ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง การสำรวจค้นหาไส้เดือนฝอยและนำมาเก็บรวบรวม แบ่งแยกสกุลและจำแนกชนิด พร้อมกำหนดรหัสไส้เดือนฝอยเป็น culture collection เพื่อใช้ศึกษาและพัฒนาไปใช้ประโยชน์ในอนาคต จึงเป็นประเด็นสำคัญของการวิจัย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจเก็บรวบรวมไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศ จำนวนตัวอย่างดินไม่น้อยกว่าปีละ 100-150 จุดเก็บ นำมาเก็บรวบรวม จัดจำแนก และอนุรักษ์ให้คงความมีชีวิต อย่างน้อยปีละ 1 ไอโซเลท และนำมาคัดเลือกโดยประเมินศักยภาพในการเป็น bio-agent เพื่อนำไปพัฒนาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร อย่างน้อย 1 สายพันธุ์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน ได้แก่ พลั่วมือ ถุงพลาสติกใส่ดิน ภาชนะเก็บดิน เครื่องวัดอุณหภูมิดิน

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope และ Compound microscope เครื่องแก้ว เครื่องชั่ง เครื่องวัด pH โถแก้ว desiccator ตู้ควบคุมอุณหภูมิ และกระดาษกรอง Whatman#2 เป็นต้น

3. สารเคมีและอาหารที่มีโปรตีนและไขมัน ได้แก่ Hyamine แอลกอฮอล์ ไข่ไก่ ไตหมู โปรตีนเกษตร ไส้ไก่ และน้ำมันหมู เป็นต้น

4. อาหารเพาะเลี้ยงหนอนกินรังผึ้ง ได้แก่ แป้งข้าวจ้าว นมถั่วเหลือง น้ำผึ้ง ฟอร์มาลีน วิตามิน กลีเซอรีน และไขผึ้ง เป็นต้น

5. แมลงทดสอบชนิดต่างๆ ได้แก่ หนอนกระทู้ผัก หนอนกินรังผึ้ง หนอนเจาะสมอฝ้าย ปลวก และแมลงนูนหลวง

วิธีการ

1. การสำรวจและการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1.1 การสำรวจเก็บตัวอย่างดิน

1.1.1 สุ่มเก็บดินในระดับความลึก 10-15 ซม. จำนวน 5 จุดๆ ละประมาณ 300-500 กรัม นำมา คลุกเคล้ารวมกัน ใส่ถุงพลาสติกน้ำหนักประมาณ 1 กก. เท่ากับ 1 ตัวอย่างดิน ในแต่ละตัวอย่าง ครอบคลุมพื้นที่ 10 ตร.ม. ตัวอย่างดินเก็บในถังรักษาความเย็น (20-24°ซ) ขณะนำกลับห้องปฏิบัติการ และนำไปเก็บที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าจะนำมาแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินต่อไป

1.1.2 การวัดอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดิน ทำการวัดอุณหภูมิดินที่จุดเก็บ 2 ระดับ คือระดับผิวดินและระดับความลึก 10-15 ซม. และนำดินในแต่ละตัวอย่างน้ำหนัก 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น วัดค่า pH บันทึกข้อมูล

1.1.3 การแยกไส้เดือนฝอยออกจากดิน นำดินแต่ละตัวอย่างใส่กล่องพลาสติกประมาณ 300 กรัม วางหนอนกินรังผึ้งและหนอนนกเป็นเหยื่อล่อ (Bedding and Akhurst, 1975) บนผิวดินจำนวน 10-15 ตัว ปิดฝาและคว่ำกล่องพลาสติก วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 $\pm$ 5°ซ เป็นเวลา 7 วัน ในดินที่มีไส้เดือนฝอย steinernematid และ heterorhabditid ไส้เดือนฝอยจะเข้า

ทำลายหนอนเหยื่อล่อ หนอนจะตาย จากนั้นนำหนอนที่ตายมาผ่าเพื่อตรวจหาไส้เดือนฝอยในตัวแมลงภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ

1.1.4 ทำ Koch' s postulates เพื่อยืนยันการเป็นไส้เดือนฝอยในกลุ่มที่ทำให้เกิดโรคในแมลง โดยนำหนอนที่ตายวางบนกระดาษกรองชุ่มน้ำ (White trap) ให้ได้ตัวอ่อนไส้เดือนฝอยระยะ infective-stage juvenile (IJ) ซึ่งจะเคลื่อนที่ออกมาจากซากหนอน นำ IJ มา infect กับหนอนชุดใหม่ ทิ้งไว้ประมาณ 5-7 วัน นำหนอนทดสอบมาผ่าพิสูจน์ยืนยันการเป็นศัตรูแมลงของไส้เดือนฝอยที่แยกได้จากดินในแต่ละตัวอย่าง ในส่วนของตัวอย่างดินอื่นๆ ถ้าหนอนเหยื่อไม่ตายภายในเวลา 10 วัน ตัวอย่างดินนั้นจะถูกคัดทิ้งไป

1.1.5 การแบ่งแยกไส้เดือนฝอยในระดับ family และ genus เตรียมไส้เดือนฝอยเพื่อการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยนำไส้เดือนฝอยระยะ IJ ในแต่ละรหัสไส้เดือนฝอยปลูกเชื้อในหนอนกินรังผึ้ง หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน บันทึกสีผิวของหนอนที่ตายในแต่ละรหัส และนำหนอนมาผ่าเพื่อได้ไส้เดือนฝอยระยะตัวเต็มวัยเพศผู้เพศเมีย และหลังปลูกเชื้อ 10 วัน ได้ไส้เดือนฝอยระยะ IJ นำไส้เดือนฝอยทั้งหมดฆ่าที่น้ำอุ่นอุณหภูมิ 60 ˚ซ เป็นเวลา 30 วินาที วางไส้เดือนฝอยลงบนสไลด์แก้ว เขี่ยใยแก้ววางหนุนและปิดทับด้วย cover glass ซิลด้วยน้ำยาซิลสไลด์ นำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope เปรียบเทียบกับ key มาตรฐานของ Kaya and Stock (1988)

บันทึกผล ทำการ mapping พื้นที่เก็บทุกจังหวัด และกำหนดจุดที่มีการค้นพบไส้เดือนฝอยใน family Steinernematidae และ Heterorhabditidae บันทึกชนิดดิน ระดับ pH อุณหภูมิผิวดินและอุณหภูมิที่ ระดับลึก 10-15 ซม. บันทึกรหัสไส้เดือนฝอยและวันที่เก็บลงบน culture flask นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25±2˚ซ ไส้เดือนฝอยแต่ละรหัสทำการ reculture ทุก 3 เดือน กับหนอนกินรังผึ้งตามวิธีการเดิม

2. การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงโดยใช้เทคนิคการผสมข้ามสายพันธุ์ (cross breeding Technique)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

เตรียมน้ำเลือด (haemolymph) ของหนอนกินรังผึ้ง โดยนำตัวหนอนฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 75 % ล้างผ่านน้ำกลั่น 3 ครั้ง ใช้กรรไกรตัดขาคู่ที่สองของหนอนและบีบน้ำเลือดเก็บไว้ในหลอดทดสอบขนาด 1.5 มล. เก็บที่อุณหภูมิ 4˚ซ ก่อนใช้ในการทดลอง จากนั้นเตรียมไส้เดือนฝอยระยะ IJ ของไส้เดือนฝอยที่แยกได้ และ *S. siamkayai* ที่แยกได้จาก จ.กาญจนบุรี นำแต่ละรหัส ใส่ลงไปในหยดน้ำเลือดของหนอนบนสไลด์หลุม นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. ที่มีกระดาษกรองชุ่มน้ำ ปิดฝาจาน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25±2˚ซ ตรวจสอบ

การเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด LM (Light microscope) ทุก 12 ชม. จนถึงระยะ young male (YM) และ young female (YF) เขี่ยไส้เดือนฝอยผสมสลับระหว่าง YM และ YF จำนวนอย่างละ 10 ตัว ของแต่ละชนิด ที่ใช้ทดสอบลงในหยดน้ำเลือดของหนอนบนสไลด์หลุม นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองชุ่มน้ำ โดยมีไส้เดือนฝอยชนิดเดียวกันผสมกันเองเป็นตัวเปรียบเทียบ (control) ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิ 25±2°ซ เป็นเวลา 10 วัน

บันทึกผลการตรวจสอบการผสมพันธุ์และให้ลูกในแต่ละชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด LM งานทดลองปฏิบัติซ้ำ 3 ครั้ง

3. การคัดเลือกและทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเพื่อการใช้ประโยชน์

วิธีปฏิบัติการทดลอง

ทำการทดสอบใน Petri dish ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 และ 9 ซม. ตามขนาดของแมลงทดสอบ วางด้วยกระดาษกรอง Whatman # 2 ใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลท จำนวน 1,000 และ 2,000 ตัวในน้ำ 0.5 และ 1.0 มล. ตาม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ Petri dish 5 และ 9 ซม. ตามลำดับ นำแมลงแต่ละชนิดใส่ 3-10 ตัวต่อ Petri dish (ขึ้นกับขนาดของแมลง) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจนับการตายของแมลงแต่ละชนิดที่เวลา 24 และ 48 ชม. นำไปวิเคราะห์ผลเปอร์เซ็นต์การตาย (% mortality) ของแมลงโดยใช้ Abbott's formula (1925)

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2550

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการสำรวจและเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ จังหวัดตาก กำแพงเพชร ลำปาง ลำพูน เชียงใหม่ นครราชสีมา บุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี จำนวน 5 10 15 10 10 10 10 10 10 และ 10 ตัวอย่าง ตามลำดับ นำมาแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินตามวิธีของ Bedding and Akhurst (1975) สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอยจากพื้นที่ จ.กำแพงเพชร และ

อุบลราชธานี รวม 2 ไอโซเลท กำหนดรหัสเป็น KPs No.2 และ UBs No.2 ตามลำดับ โดยทั้ง 2 ไอโซเลท จัดอยู่ใน ใน family Steinernematidae อยู่ใน genus *Steinernema*

แหล่งอาศัยของไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

Steinernema sp. KPs No.2 แยกได้จากดินข้างทางหลวง ห่างจากถนนประมาณ 20 เมตร ของเขตอำเภอบ่อทอง จังหวัดกำแพงเพชร ลักษณะของเนื้อดินสีน้ำตาลดำ ดินร่วนปนทราย pH 6.7 ความชื้น 19%

Steinernema sp. UBs No.2 แยกได้จากดินข้างทางหลวง ห่างจากถนนประมาณ 20 เมตร ของเขตอำเภอม่วงสามสิบ จังหวัดอุบลราชธานี ลักษณะของเนื้อดินสีน้ำตาลดำ ดินร่วนปนทราย pH 7.2 ความชื้น 20%

2. ผลการจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง

การจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยสกุล *Steinernema* sp. KPs No.2 และ UB No.2 โดยวิธี cross mating กับ *S. siamkayai* แยกจากจังหวัดกาญจนบุรี พบว่า KPs No.2 สามารถผสมพันธุ์และเพิ่มปริมาณได้กับ *S. siamkayai* จึงจำแนกเป็นชนิด (species) เดียวกัน แต่ไส้เดือนฝอย UB No.2 ไม่สามารถผสมพันธุ์ได้กับ *S. siamkayai* แสดงว่าไม่ใช่ชนิดเดียวกัน

3. ผลการทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยในการกำจัดแมลง

ผลการทดสอบศักยภาพการเป็นสารชีวภัณฑ์ (bio-pesticide) ของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 ที่แยกได้จากพื้นที่ จ.กำแพงเพชร ในการกำจัดแมลงชนิดต่างๆ พบว่ามีศักยภาพในการฆ่าปลวก หนอนแก้ว ลูกน้ำยุงลาย หนอนด้วงกินเส้นใยเห็ด และเพลี้ยแป้ง ตาย 100 50 100 70 และ 10 % ตามลำดับ ที่เวลา 48 ชม. และฆ่าแมลงสาบตาย 50 % ภายในเวลา 96 ชม. ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยคำนวณ % การตายของแมลงตามวิธีของ Abbott's formula (1925) ดังตารางที่ 1

<u>ตารางที่ 1</u> เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงชนิดต่างๆ ที่ถูกไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 เข้าทำลาย เป็นเวลา 48 ชม. และแมลงสาบที่ 96 ชม. ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ไส้เดือนฝอยและชนิดของแมลง	ใส่ไส้เดือนฝอย			ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย			% การตาย [1/]
	แมลงทดสอบ (n)	แมลงตาย (n)	แมลงมีชีวิต (n)	แมลงทดสอบ (n)	แมลงตาย (n)	แมลงมีชีวิต (n)	
1. ปลวก	100	100	0	100	7	93	100
2. หนอนแก้ว	10	5	5	10	0	10	50
3. ลูกน้ำยุงลาย	30	30	0	30	0	30	100
4. หนอนด้วงกินเส้นใยเห็ด	10	7	3	10	0	10	70
5. เพลี้ยแป้ง	10	1	9	10	0	10	10
6. แมลงสาบ	10	5	5	10	0	10	50

[1/]% การตาย = $\frac{\text{(แมลงมีชีวิตในกรรมวิธีไม่ใส่ไส้เดือนฝอย - แมลงมีชีวิตในกรรมวิธีใส่ไส้เดือนฝอย)} \times 100}{\text{แมลงมีชีวิตในกรรมวิธีไม่ใส่ไส้เดือนฝอย}}$

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจไส้เดือนฝอยในกลุ่มกำจัดแมลงจากพื้นที่ต่างๆ ในประเทศไทย สามารถแยกได้ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 isolate จากจังหวัดกำแพงเพชร และจากจังหวัดอุบลราชธานี และ KPs No.2 isolate เป็นชนิดเดียวกับไส้เดือนฝอย *S. siamkayai* จากจังหวัดกาญจนบุรี แต่ไส้เดือนฝอย UBs No.2 ไม่ mating กับ *S. siamkayai* เมื่อนำไปทดสอบศักยภาพในการฆ่าแมลงในระดับห้องปฏิบัติการพบว่า สามารถฆ่าปลวก หนอนแก้ว ลูกน้ำยุงลาย หนอนด้วงกินเส้นใยเห็ด และเพลี้ยแป้ง ตาย 100 50 100 70 และ 10 % ตามลำดับ ที่เวลา 48 ชม. และฆ่าแมลงสาบตาย 50 % ภายในเวลา 96 ชม. ในระดับห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2543. ไส้เดือนฝอยที่มีประโยชน์ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช, น. 223-246. *ใน* พัฒนาการเกษตรไทยยุคเทคโนโลยีชีวภาพ, สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2544. อนุกรมวิธานไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง STEINERNEMATID. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 63 หน้า.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18 : 165-267.

Akhurst, R.J. and N.E. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. Pages 75-90. *In* : Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

Bedding, R.A. 1981. Low cost *in vitro* mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. Nematologica 27 : 109-114.

Bedding, R.A. and R.J. Akhurst. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. Nematologica 21 : 109-110.

Dunphy, G.B. and J.M. Webster. 1989. The monoxenic culture of *Neoaplectana carpocapsae* DD 136 and *Heterorhabditis heliothidis.* Revue de Nematologie 12 : 113-123.

Glaser, R.W. 1931. The cultivation of a nematode parasite of an insect. *Science* 614.

Gaugler, R. and H.K. Kaya. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc. Florida. 365 p.

Kaya, H.K. and S.P. Stock. 1988. Techniques in Insect Nematology. Department of Nematology, Univ. of California, Davis, California. 100 p.

Nguyen, K.B. 1993. Identification to Entomopathogenic Nematode Species of the Genus Steinernema.

Nguyen, K.B. and G.C. Smart. 1991. Mode of entry and sites of development of *Steinernema scapterisci* in mole crickets. J. Nematol. 23(2) : 267-268.

Steiner, G. 1923. *Aplectana kraussei* n.sp. der Blattwespe *Lyda* sp. parasitierende Nematoden-form, nebst Bemerkungen uber das Steitenorgan der parasitischen Nematoden. Page 24. In : Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช
2.ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ

Study on Potential of *Bacillus* Genus for Controlling Fungi Causaul agent of Economic Plant Disease

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม*Bacillus*ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ได้แก่ เชื้อรา*Colletrotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของแตงกวา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ และ*Phytopthora capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริกโดยทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 วิธีการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ ใช้วิธี dual plate technique โดยนำแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ที่แยกได้จากดิน ปลูก ปุ๋ยคอก และวัสดุปลูกจากแหล่งต่างๆ มาทดสอบสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ผลการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า มี *Bacillus spp.* 18 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก 17 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* 28 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราเชื้อรา *F. solani* 14 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ และ 11 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *P. capsici* การทดสอบการควบคุมโรคบนผลพริก พบว่า มี 13 ไอโซเลท ได้แก่ 17G18 20W33 2G7 20W16 20W1 20W8 20W5 1G8 2G23 22W8 19W36 22W10 และ 20W3 ที่สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้ โดยไอโซเลท 20W16 22W8 และ 1G8 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคสูงสุด โดยมีขนาดพื้นที่แผลเฉลี่ยเท่ากับ 0.034 0.090 และ 0.179 ตารางเซ็นติเมตร ตามลำดับ การทดสอบในระดับโรงเรือน

รหัสโครงการ 09-02-49-01

ทดลอง พบว่า ไอโซเลท 22W10 และ 20W8 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหอมเลื้อยได้สูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลท 2G4 22W10 20W12 17G18 และ 20W4 สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวมะเขือเทศได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของแตงกวาได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลท 20W16 สามารถควบคุมโรคไหม้พริกสูงสุดได้ 79.17 เปอร์เซ็นต์ โดย พบว่า ไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมโรคพืชที่ทดสอบในระดับโรงเรือนได้ทุกโรค โดยสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวในแตงกวาและมะเขือเทศ ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ และโรคไหม้พริก ได้ 99.46 90.50 และ 56.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

คำนำ

การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี เป็นวิธีหนึ่ง ที่มีความปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม วิธีการโดยการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพ ซึ่งมีอยู่มากมายในธรรมชาติ มาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคพืช เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* จัดเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด ซึ่งปัจจุบันทั้งต่างประเทศและในประเทศไทยก็มีการผลิตเป็นการค้าแล้ว เช่น แบคทีเรีย *B. subtilis* ซึ่งในการป้องกันกำจัดโรคข้าว ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้ เป็นกลุ่มที่มักพบเสมอในสภาพธรรมชาติ แบคทีเรียสกุล*Bacillus* เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ รวมทั้ง *B. subtilis* ที่มักจะเจริญปะปนอยู่มากมายทั้งในดิน ตามผิวพืชและแหล่งอาหารที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตสูงและสามารถแยกได้ง่าย

นิรนาม (2542) ได้รายงานถึง การนำสายพันธุ์ *B. subtilis* 31 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรคต้นเน่าและโคนเน่า ของกล้วยไม้ มะนาว ทุเรียนและพริกไทย พบว่า มี 2 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อรา ได้ 44-45 เปอร์เซ็นต์

พากเพียรและคณะ (2538) พบว่า การใช้เชื้อ Bacillus spp. (No.90-321) ร่วมกับสาร benomyl สามารถควบคุมความรุนแรงของโรคกาบใบแห้งซึ่งเกิดจากเชื้อรา Thanatephorus cucumeris ได้ผลดีเท่ากับการใช้สาร benomyl อัตรา 40 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่

สุปรียาและคณะ (2546) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus spp.* จากตัวอย่างเมล็ดข้าว ดิน และเปลือกผลไม้จำนวน 446 ไอโซเลท พบว่า มี 58 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Didymella bryoniae, Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici, Sclerotium rolfsii* และ *Ralstonia solanacearum*

พราวมาสและคณะ (2548) ได้ทำการทดสอบ *Bacillus* spp. 9 ไอโซเลทเพื่อลดการเกิดโรคราดำบนใบมะเขือเทศ พบว่า สามารถลดการเกิดโรคได้ 48.68-66.65 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่แยกได้จากดินปลูก ปุ๋ย คอกและวัสดุปลูกต่างๆ มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชเศรษฐกิจสำคัญ ที่เกิดจากเชื้อราที่ยังเป็นปัญหาของเกษตรกร ต่อการผลิตพืช เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ เพื่อเกษตรจะได้นำไปใช้เพื่อลดการใช้สารเคมีต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ PDA (Potato dectrose agar) , PSA (Potato sucrose agar)

2. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 80 ไอโซเลท

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ

4. ดินปลูก

5. กระถางปลูก

วิธีการ

1. **การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ในห้องปฏิบัติการ**

1.1 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

- ทดสอบกับ *Bacillus spp.* จำนวน 64 ไอโซเลท

1.2 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F.oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ

- ทดสอบกับ *Bacillus spp.* จำนวน 79 ไอโซเลท

1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F.solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา

- ทดสอบกับ *Bacillus spp.* จำนวน 73 ไอโซเลท

1.4 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่

- ทดสอบกับ *Bacillus spp.* จำนวน 78 ไอโซเลท

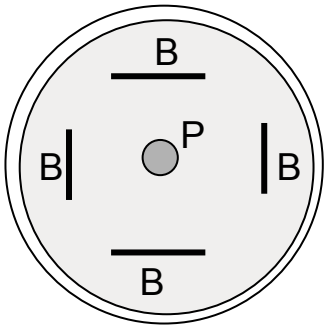
1.5 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริก

- ทดสอบกับ *Bacillus spp.* จำนวน 64 ไอโซเลท

ทดสอบโดยวิธี dual plate technique ปฏิบัติดังนี้

1. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ทดสอบบนอาหาร PDA และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. แต่ละไอโซเลทลงบนอาหาร PSA จนกระทั่งเส้นใยหรือโคโลนีเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ
2. ใช้ cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซ็นติเมตร เจาะเส้นใยของเชื้อราทดสอบบริเวณขอบโคโลนี วางลงบนกึ่งกลางของจานเลี้ยงเชื้อ
3. ใช้ Loop ขนาดมาตรฐานแตะเบาๆที่ *Bacillus spp.* ทดสอบ ที่เลี้ยงไว้ นำมาขีดเป็นเส้นตรง ยาวประมาณ 1 เซ็นติเมตร ขนานกับโคโลนีของเชื้อราทดสอบ 4 ด้านระยะห่างจากโคโลนีเชื้อราประมาณ 1 เซ็นติเมตร (รูปที่ 1)

4. ตรวจผลโดยวัดขนาดความกว้างของ Inhibition zone และ ขนาดของโคโลนีของเส้นใยของเชื้อราทดสอบที่ถูกยับยั้ง



รูปที่ 1 แสดงการทดสอบโดยวิธี dual plate technique , P คือโคโลนีเชื้อราทดสอบ, B คือ *Bacillus* spp. ทดสอบ

2. **การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก**

ปฏิบัติดังนี้ :

1. เลี้ยงเชื้อ *Bacillus spp.* จำนวน 18 ไอโซเลท ซึ่งผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการแล้ว ได้แก่ ไอโซเลท 20W16 20W8 19W36 20W5 17G18 20W3 20W4 22W10 2G7 20W1 2G15 17G5 2G4 19G37 22W8 2G23 1G8 และ 20W33 ลงบนอาหาร PSA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำมาทำเป็น cell suspension โดยใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มิลลิลิตรต่อ 1 จานเลี้ยงเชื้อ ขูดเอาเซลแบคทีเรียที่เจริญบริเวณผิวหน้าอาหารออก ซึ่งจะได้ cell suspension ที่มีปริมาณเชื้อเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร

3.นำผลพริกที่มีความสุกแก่สม่ำเสมอมาล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำมาเช็ดผิวเพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ผึ่งให้แห้ง

4. นำผลพริกที่เตรียมไว้แช่ลงใน cell suspension ของ *Bacillus spp.* ทั้ง 18 ไอโซเลท เป็นเวลา 5 นาที นำไปบ่มในกล่องพลาสติกเพื่อให้ความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5. ใช้ cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซ็นติเมตรเจาะเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารวุ้นPDA นำมาวางลงบนผลพริกซึ่งทำแผลไว้ โดยให้ส่วนของเส้นใยเชื้อราสัมผัสกับผิวผลพริก ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงจึงนำชิ้นส่วนของอาหารวุ้นออก

6. มีกรรมวิธีเปรียบเทียบเป็น positive control (C^+) และ negative control (C^-) ปฏิบัติดังนี้

6.1 การเตรียมC^+ ปฏิบัติเช่นเดียวกับ1-5 แต่ชุบผลพริกด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทน cell suspension ของ *Bacillus spp.* แล้วจึงวางด้วยเชื้อ *C. gloeosporioides*

6.2 การเตรียม C^- ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1-5 แต่วางด้วยชิ้นวุ้น PDA ที่ไม่มีเชื้อรา

7. ตรวจผลโดยวัดขนาดของแผลบนผลพริกเปรียบเทียบกับชุด control ที่เวลา 7 วัน หลังทดสอบ

3. **การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสสาเหตุโรคหอมเลื้อย ของหอมหัวใหญ่ ในโรงเรือนทดลอง**

โดยวิธีฉีดพ่น

3.1 <u>การเตรียมพืชทดสอบ</u> : คัดเลือกหอมหัวใหญ่ให้มีขนาดใกล้เคียงกัน หัวสะอาด ปราศจากโรคแมลงทำลาย นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการเช็ดด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 10 % นำไปวางในตะกร้าเพื่อให้ความชื้นประมาณ 3-4 วัน จนกระทั่งหอมหัวใหญ่มีรากงอกประมาณ 1-2 เซ็นติเมตรจากนั้นย้ายปลูกลงในกระถาง จนกระทั่งอายุได้ 30 วัน จึงนำมาใช้ทดสอบ

3.2 <u>การเตรียม cell suspension ของเชื้อรา *C. gloeosporioides*</u> : เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA ประมาณ 7 วัน ล้างสปอร์ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้นของสปอร์ประมาณ 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร นำ cell suspension ของเชื้อราที่ได้ฉีดพ่นลงบนต้นและใบหอมใหญ่ ด้วยกระบอกฉีดธรรมดาจนชุ่ม คลุมด้วยถุงพลาสติกใสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3 <u>การเตรียม cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus*</u> : นำแบคทีเรีย Bacillus 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราในห้องปฏิบัติการได้แก่ ไอโซเลท 22W10 20W8 17G18 20W12 และ 20W1 เลี้ยงในอาหาร PSA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาทำเป็น cell suspension ให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร นำมาฉีดพ่นลงบนใบและต้นหอมหัวใหญ่ที่ปลูกเชื้อไว้แล้ว (จากข้อ 3) ด้วยกระบอกฉีดธรรมดา โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับการฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides*

มีกรรมวิธีเปรียบเทียบดังนี้

- กรรมวิธีฉีดพ่นด้วย cell suspension เชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังจากครบ 24 ชั่วโมงแล้วฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า
- กรรมวิธีฉีดพ่นด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออย่างเดียว

ตรวจผลโดยให้คะแนนความรุนแรงของโรคดังนี้

0 = ใบหอมหัวใหญ่ไม่แสดงอาการของโรค

1 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 1-10 % ของพื้นที่ใบ

2 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 11-25 % ของพื้นที่ใบ

3 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 26-50 % ของพื้นที่ใบ

4 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 51-75 % ของพื้นที่ใบ

5 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 76-100 % ของพื้นที่ใบ

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ในการควบคุมโรคเหี่ยว

ของมะเขือเทศ ในโรงเรือนทดลอง

ทดสอบโดยวิธี soil infestration ปฏิบัติการทดลองดังนี้

1. การเตรียมดินผสม

1.1 เลี้ยงเชื้อรา *F. oxysporum* บนอาหาร PDA ให้มีอายุ 5 วัน ซึ่งเชื้อราจะเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2 ใช้ cock borrer เจาะเส้นใยเชื้อบนอาหารวุ้น ใส่ลงในถุงข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว น้ำหนักประมาณ 300 กรัม 5 ชิ้นวุ้นต่อ 1 ถุง

1.3 เมื่อเชื้อราเจริญเต็มถุงข้าวฟ่างแล้ว (ประมาณ 7 วัน) นำไปคลุกกับดินอบฆ่าเชื้อ อัตรา 1:10 (ข้าวฟ่าง 1 กรัมผสมดิน 10 กรัม) บ่มเชื้อไว้ 24 ชั่วโมง นำดินผสมที่ได้ใส่ในกระถางดินเผา กระถางละ 300 กรัม

2. ราดดินด้วย cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ทดสอบ ซึ่งผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ โดยคัดเลือกมา 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท 2G4 22W10 20W12 17G18 และ 20W4 ความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร โดยราดในอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อกระถาง

3. ปลูกต้นกล้ามะเขือเทศที่มีอายุประมาณ 10 วันลงในดินที่เตรียมไว้ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ จำนวนมะเขือเทศ 25 ต้นต่อ 1 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control + และ control -) เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

การเตรียมกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control +) ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1-3 โดยราดดินด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทน cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ทดสอบสำหรับ control – เตรียมโดยการปลูกมะเขือเทศทดสอบลงในดินอบฆ่าเชื้อ

4. ตรวจผลโดยนับจำนวนต้นเหี่ยว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรค

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ในการควบคุมโรคเหี่ยว

ของแตงกวา ในโรงเรือนทดลอง

ทดสอบโดยวิธี soil infestration

1. เตรียมดินผสมเพื่อใช้ทดสอบ โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับ การทดลอง 4 (ข้อ 1.1-1.3)

2. ราดดินด้วย cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ทดสอบ ซึ่งผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ โดยคัดเลือกมา 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท 17G18 22W10 20W12 20W16 และ 17G15 ความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตรโดยราดในอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อกระถาง

3. หยอดเมล็ดแตงกว่าที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ (sodium hypoclorite) ลงในดินที่เตรียมไว้ จำนวน 2 เมล็ดต่อกระถาง ทำการทดลอง 4 ซ้ำ จำนวนแตงกวา 30 ต้นต่อ 1 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control + และ control -) เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

การเตรียมกรรมวิธีเปรียบเทียบ ปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4

4. ตรวจผลโดยนับจำนวนต้นเหี่ยว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคเปรียบเทียบกับจำนวนต้นมะเขือเทศทั้งหมด

6. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคไหม้ของพริกในโรงเรือนทดลอง

โดยวิธี Soil Infestration

1. การเตรียมดินผสม

1.1 เลี้ยงเชื้อรา *P. capsici* บนอาหาร PDA ให้มีอายุ 5 วัน ซึ่งเชื้อราจะเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2 ใช้ cock borrer เจาะเส้นใยเชื้อบนอาหารวุ้น ใส่ลงในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 10 ชิ้นต่อน้ำ 10 มิลลิลิตร นำไปวางในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากครบกำหนดแล้วนำออกจากตู้เย็นมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25$\pm$ 1 องศาเซลเซียส) เพื่อกระตุ้นให้เชื้อปล่อย zoospore

1.3 นำ zoospore suspension ของเชื้อที่มีความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรราดบนดินอบฆ่าเชื้ออัตรา 35 มิลลิลิตรต่อกระถาง (ดิน 300 กรัมต่อกระถาง) ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

2. ราดดินด้วย cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ทดสอบ ซึ่งผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ โดยคัดเลือกมา 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท 20W16 20W8 20W1 17G18 และ 20W12 ความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร โดยราดในอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อกระถาง ปลูกต้นกล้าพริกที่มีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ ลงในดินที่เตรียมไว้ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ จำนวนมะเขือเทศ 60 ต้นต่อ 1 ซ้ำโดยมีกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control+และ control -) เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

การเตรียมกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control +) ปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4 โดยราดดินด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทน cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ทดสอบ สำหรับ control – เตรียมโดยการปลูกพริกทดสอบลงในดินอบฆ่าเชื้อ

3. ตรวจผลโดยนับจำนวนต้นที่แสดงอาการไหม้ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรค

7. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกในโรงเรือนทดลอง

โดยวิธีฉีดพ่น

1. <u>การเตรียมพืชทดสอบ</u> : ปลูกพริกชี้ฟ้าในกระถางปลูกจนกระทั่งพริกติดผลสีเขียว (อายุประมาณ 2 เดือน)

2. <u>การเตรียม cell suspension ของเชื้อรา *C. gloeosporioides*</u> : เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA ประมาณ 7 วัน ล้างสปอร์ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้นของสปอร์ประมาณ 10^4 สปอร์/มิลลิลิตร นำ cell suspension ของเชื้อราที่ได้ฉีดพ่นลงให้ทั่วทั้งต้นและผลพริก ด้วยกระบอกฉีดธรรมดา ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

3. <u>การเตรียม cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus*</u> : นำแบคทีเรีย Bacillus 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราในห้องปฏิบัติการได้แก่ ไอโซเลท 20W5 1G8 22W8 20W16 และ 20W33 เลี้ยงในอาหาร PSA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาทำเป็น cell suspension ให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร นำมาฉีดพ่นลงบนทั้งต้นและผลพริกที่ปลูกเชื้อไว้แล้ว (จากข้อ 2.) ด้วยกระบอกฉีดธรรมดา โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับการฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides*

มีกรรมวิธีเปรียบเทียบดังนี้

- กรรมวิธีฉีดพ่นด้วย cell suspension เชื้อรา *C. gloeosporioides* หลังจากครบ 24 ชั่วโมงแล้วฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า
- กรรมวิธีฉีดพ่นด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออย่างเดียว

ตรวจผลโดยให้คะแนนความรุนแรงของโรคดังนี้

0 = ผลพริกไม่แสดงอาการของโรค
1 = ผลพริกอาการจุดแผล 1-10 % ของพื้นที่ผล
2 = ผลพริกอาการจุดแผล 11-25 % ของพื้นที่ผล
3 = ผลพริกอาการจุดแผล 26-50 % ของพื้นที่ผล
4 = ผลพริกอาการจุดแผล 51-75 % ของพื้นที่ผล
5 = ผลพริกอาการจุดแผล 76-100 % ของพื้นที่ผล

เวลาและสถานที่ **เริ่มต้น** ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2550
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ในห้องปฏิบัติการ

1.1 <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก</u>

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 18 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA โดยแบคทีเรียสร้างสารชนิดหนึ่งขึ้นมายับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่ให้แผ่ขยายบนพื้นผิวอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ปรากฏเป็นพื้นที่ใส ๆ บนอาหารที่เรียกว่า Inhibition zone (รูปที่ 2) มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.07-1.87 เซ็นติเมตร โดยไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone มากกว่า 1 เซ็นติเมตร ได้แก่ ไอโซเลท 20W16 และ 20 W8 โดยมีค่า เท่ากับ 1.87 และ 1.17 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

รูปที่ 2 แสดงลักษณะการเกิด Inhibition zone ที่เกิดจากแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สร้างสารขึ้นมายับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

1.2 <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F.oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ</u>

ผลการทดสอบพบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 17 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *F.oxysporum* โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.03 -1.07 เซ็นติเมตร โดยไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone มากกว่า 1 เซ็นติเมตร ได้แก่ ไอโซเลท 2G4 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 1.07 เซ็นติเมตร (ตารางที่ 2)

1.3 <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F.solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา</u>

ผลการทดสอบพบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 28 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *F.solani* โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.1-1.17 เซ็นติเมตรโดยไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone มากกว่า 1 เซ็นติเมตร ได้แก่ ไอโซเลท 17G15 20W16 20W12 22W10 และ 17G18 โดยมีค่า เท่ากับ 1.01 1.07 1.08 1.12 และ 1.17 เซ็นติเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 3)

1.4 <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่</u>

ผลการทดสอบ พบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 14 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.04 – 0.85 เซ็นติเมตร โดยไอโซเลท 22W10 สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.85 เซ็นติเมตร (ตารางที่ 4)

1.5 <u>การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริก</u>

ผลการทดสอบ พบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp 11 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.23-0.99 เซนติเมตร โดยไอโซเลท 20W16 สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.0.99 เซ็นติเมตร (ตารางที่ 5)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก

ผลการทดลองพบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 13 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก โดยมีขนาดของพื้นที่แผลของโรคเท่ากับ 0.9-0.034 ตารางเซ็นติเมตร ซึ่งมีขนาดต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ ซึ่งมีขนาดของแผลโรคแอนแทรคโนสเท่ากับ 1.35 ตารางเซ็นติเมตร โดยพบว่า ไอโซเลท 20W16 22 W8 และ 1G8 สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้สูงสุด โดยมีขนาดของพื้นที่แผลของโรคเท่ากับ0.034 0.09 และ 0.179 ตารางเซ็นติเมตร ตามลำดับ ซึ่งเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะมองเห็นเป็นเพียงจุดเล็กๆเท่านั้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า 3 ไอโซเลท ดังกล่าวสามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกได้เกือบ 100 % เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบซึ่งปรากฏพื้นที่แผลของโรคถึง 1.35 ตารางเซนติเมตร (ตารางที่ 6)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสสาเหตุโรคหอมเลื้อย ของหอมหัวใหญ่ ในโรงเรือนทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า หลังการทดสอบ 3 วัน ทั้ง 5 ไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคหอมเลื้อยได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 100 % โดยที่ไอโซเลท 22W10 และ 20W8 สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ 100% คือหอมใหญ่ไม่แสดงอาการของโรคเลย (ตารางที่ 7)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในโรงเรือนทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า หลังการทดสอบ 35 วัน แบคทีเรีย *Bacillus spp.* ทั้ง 5 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบ ได้แก่ 2G4 22W10 20W12 17G18 และ 20W4 สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมะเขือเทศไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยวเลย เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่มีการราดด้วย cell suspension ของ *Bacillus spp.* ต้นมะเขือเทศแสดงอาการเป็นโรคเหี่ยวถึง 100 % (ตารางที่ 8)

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของแตงกวา ในโรงเรือนทดลอง

หลังการทดสอบ 15 วัน เมล็ดแตงกวางอกเจริญเป็นต้นสมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้ว โดยตรวจสอบเปรียบเทียบการงอกกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control -) ผลการทดลอง พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของแตงกวา 100 เปอร์เซ็นต์ โดย

แตงกวาไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยว เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control +) ซึ่งแตงกวาเป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวรองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท 20W12 และ17G15 ซึ่งแตงกวาแสดงอาการของโรคเหี่ยวเพียง 8.3 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

6. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคไหม้ของพริกในโรงเรือนทดลอง

หลังการทดสอบ 5 วัน พริกทดสอบเริ่มแสดงอาการใบไหม้ โดยเริ่มแรกใบจะมีจุดแผลสีดำ หลังจากนั้นลามไปทั้งใบและต้น เมื่ออาการรุนแรง อาการไหม้จะลามทั้งต้น ทำให้พริกยืนต้นตาย หลังการทดสอบ 9 วัน ซึ่งกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control+) แสดงอาการของโรค 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลท 20W16 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้พริกสูงสุด 79.17 เปอร์เซ็นต์ คือ พริกแสดงอาการของโรคไหม้คิดเป็น 20.83 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนต้นพริกทั้งหมด (ตารางที่10)

7. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริกในโรงเรือนทดลอง

จากการทดสอบ ปรากฏว่า กรรมวิธีเปรียบเทียบ (control+) พริกแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสต่ำมาก ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ จึงไม่สามารถสรุปผลการทดลองได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* จำนวน 79 ไอโซเลท ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก เชื้อรา *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ เชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ และเชื้อรา *P. capsici* สาเหตุโรคไหม้ในพริก ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า มีแบคทีเรีย 37 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราทดสอบดังกล่าวได้ มี 5 ไอโซเลท ได้แก่ 20W8 20W5 20W4 20W16 1G8 และ 17G18 ที่สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราทดสอบทุกตัว ในการทดสอบการควบคุมโรคในระดับเรือนทดลอง พบว่า ไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมโรคพืชทดสอบทุกโรค โดยสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวในแตงกวาและมะเขือเทศ ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ และโรคไหม้พริก ได้ 99.46 90.50 และ 56.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ไอโซเลท 20W12 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศ โรคเหี่ยวแตงกวา โรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ และโรคไหม้พริกได้ 100 91.7 87.5 และ 47.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไอโซเลท 22W10 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศ โรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก และโรคเหี่ยวแตงกวา ได้ 99.10 และ50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ดังนั้นแบคทีเรียไอโซเลท 17G18 จึงน่าจะมีแนวโน้มในการนำไปพัฒนาในควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรากลุ่ม *Fusarium* และโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* ต่อไปในอนาคต

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณอภิรัชต์ สมฤทธิ์ ดร.ศิริพงษ์ คุ้มภัย และดร.ศรีสุข พูนผลกุล ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราโรคพืชที่นำมาใช้ในการทดลองนี้

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม 2542. ผลการดำเนินงานโครงการพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์. หน้า 40-46 *ในมิติใหม่กองโรคพืชและจุลชีววิทยา* การประชุมวิชาการประจำปี 2543 กรมวิชาการเกษตร, 2543 ณ ศูนย์แสดงสินค้านานาชาติ อิมแพค เมืองทอง จ.นนทบุรี, 8-12 พฤษภาคม

พากเพียร อรัญนารถ นงรัตน์ นิลพานิช สมคิด ดิสถาพร อรุณี สุรินทร์ และกัมปนาท มุขดี. 2538. การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และสารป้องกันกำจัดโรคพืชเบนโนมิลในการควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว. หน้า192-199 *ใน* รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการเชื้อจุลินทรีย์ควบคุมศัตรูพืช. ณ โรงแรมรามาการ์เดนท์, 20-23 พฤศจิกายน 2538.

พราวมาส เจริญรักษ์ จิระเดช แจ่มสว่าง วรรณวิไล อินทนู และปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์. 2548. การใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ฉีดพ่นใบมะเขือเทศเพื่อลดการเกิดโรคราดำ (*Pseudocercospora fuligena*) ภายใต้สภาพเรือนพลาสติก. หน้า 40 *ในบทคัดย่อ* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 7. ณ จังหวัดเชียงใหม่, 2-4 พฤศจิกายน 2548

สุปรียา หมื่นกุล นิวัฒ เสนาะเมือง พิศาล ศิริธร และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล .2546. ประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ของ *Bacillus* spp. จากแหล่งต่างๆ ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิด.*ใน* Annual Agricultural Seminar for Year 2003,27-28 January,KKU. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตารางที่ 1 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 18 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซ็นติเมตร)	ค่าเฉลี่ยความกว้างโคโลนีของเชื้อ *C.gloeosporioides*
20W16	1.87	2.62
20W8	1.17	3.08
19W36	0.95	3.33
20W5	0.94	3.80
17G18	0.93	3.84
20W3	0.90	3.90
20W4	0.80	3.92
22W10	0.70	3.95
2G7	0.43	4.60
20W1	0.41	4.68
2G15	0.35	4.65
17G5	0.33	4.69
2G4	0.24	5.32
19G37	0.23	5.38
22W8	0.15	5.71
2G23	0.10	5.79
1G8	0.10	5.96
20W33	0.07	5.99

ตารางที่ 2 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 17 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซ็นติเมตร)	ค่าเฉลี่ยความกว้างโคโลนีของเชื้อ *F. oxysporum*
2G4	1.07	2.87
22W10	0.96	2.84
20W12	0.87	2.80
17G18	0.81	2.81
20W4	0.80	2.81
20W16	0.79	2.83
20W5	0.78	2.87
20W10	0.71	2.97
17G15	0.64	3.06
20W8	0.55	3.22
20W5	0.49	3.69
19W36	0.47	3.73
2G15	0.38	3.93
20W34	0.26	4.09
19W41	0.25	4.15
19G34	0.19	4.54
19W42	0.03	4.82

ตารางที่ 3 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 28 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Fusarium solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของแตงกวา ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซ็นติเมตร)	ค่าเฉลี่ยความกว้างโคโลนีของเชื้อ *F. solani*
17G18	1.17	2.27
22W10	1.12	2.31
20W12	1.08	2.47
20W16	1.07	2.55
17G15	1.01	2.65
20W5	0.93	2.76
20W4	0.81	3.06
2G4	0.83	3.12
19W42	0.78	3.23
20W8	0.65	3.33
2G15	0.53	3.43
20W17	0.53	3.41
20W31	0.45	3.46
20W33	0.42	3.48
2G7	0.38	3.53
20W1	0.33	3.66
19W36	0.32	3.76
20W34	0.30	3.88
1G8(1)	0.26	4.16
22W8	0.25	4.28
1G8(2)	0.23	4.30
17G11	0.21	4.32
19W37	0.17	4.59
17G5	0.16	4.98
19W41	0.12	5.09
2G24	0.12	5.22
20W32	0.10	6.50
20W28	0.10	6.55

ตารางที่ 4 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 14 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซ็นติเมตร)	ค่าเฉลี่ยความกว้างโคโลนีของเชื้อ *C. gloeosporioides*
22W10	0.85	3.13
20W8	0.82	3.17
17G18	0.81	3.46
20W12	0.69	3.48
20W1	0.62	3.74
2G4	0.57	3.85
20W16	0.57	3.87
20W5	0.54	4.85
20W4	0.41	5.85
17G19	0.25	5.53
2G15	0.17	5.85
20W11	0.10	6.13
17G11	0.05	7.03
1G8(1)	0.04	7.88

ตารางที่ 5 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 11 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Phytopthora capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริก ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซ็นติเมตร)	ค่าเฉลี่ยความกว้างโคโลนีของเชื้อ *P.capsici*
20W16	0.99	3.31
20W8	0.93	3.33
20W1	0.92	3.36
17G18	0.92	3.35
20W12	0.89	0.45
20W17	0.86	0.83
20W24	0.83	3.93
17G14	0.82	4.17
20W18	0.76	4.61
20W4	0.72	4.83
20W5	0.23	5.03

ตารางที่ 6 พื้นที่แผลโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลพริกที่ถูกยับยั้งโดยแบคทีเรีย*Bacillus* spp. 18 ไอโซเลท

ไอโ.ซเลท	**ค่าเฉลี่ยพื้นที่แผลโรค (ตารางเซ็นติเมตร)**
20W16	0.03
22W8	0.09
1G8	0.18
20W33	0.34
20W5	0.36
20W8	0.38
2G7	0.47
2G23	0.48
20W3	0.52
20W4	0.52
17G18	0.54
20W1	0.54
19W36	0.75
22W10	0.90
2G15	1.62
17G5	2.22
2G4	2.41
19G37	3.08
Control (-)	0.00
Control (+)	1.35

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคหอมเลื้อยที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งควบคุมด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลท ที่ 72 ชั่วโมง หลังการทดสอบ ในโรงเรือนทดลอง

ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)	เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)
22W10	0.00	0.00
20W8	0.00	0.00
17G18	47.50	9.50
20W12	62.50	12.50
20W1	80.00	16.00
Control (+)	100.00	20.00
Control (-)	0.00	0.00

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ซึ่งควบคุมด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลท ที่ 35 วัน หลังการทดสอบในโรงเรือนทดลอง

ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)
2G4	0.00
22W10	0.00
20W12	0.00
17G18	0.00
20W4	0.00
Control +	100.00
Control -	0.00

[1/] Day after inoculation

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวแตงกวา ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium solani* ซึ่งควบคุมด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลท ที่ 10 และ 15 วัน หลังการทดสอบ ในโรงเรือนทดลอง

ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)	
	10 วัน (DAI) [1/]	**15 วัน** (DAI) [1/]
17G18	0.00	0.00
20W12	0.00	8.30
17G15	0.00	12.50
22W10	0.00	50.00
20W16	6.70	57.30
Control +	0.00	100.00
Control -	0.00	0.00

[1/] Day after inoculation

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไหม้พริกที่เกิดจากเชื้อรา *Phytopthora capsici* ซึ่งควบคุมด้วย

แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 5 ไอโซเลท ที่ 9 วันหลังการทดสอบในโรงเรือนทดลอง

ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)
20W16	20.83
20W8	35.41
20W1	39.58
17G18	43.75
20W12	52.08
Control (+)	100.00
Control (-)	0.00

ภาคผนวก

-

การสำรวจ รวบรวม ตรวจจำแนกสายพันธุ์ปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis*

Survey, Collection and Identification of *Sarcocystis singaporensis* variety

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ดาราพร รินทะรักษ์
กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

คำนำ

Sarcocystis singaporensis Zamen & Colley(1976) เป็นปรสิตโปรโตซัวที่มีศักยภาพสูงในการทำให้หนูสกุลท้องขาว(*Rattus*) และสกุลพุก(*Bandicota*)ป่วยและตายทั้งหมด(100%) ในระดับห้องปฏิบัติการ และ 71% - 92% ในระดับแปลงทดลองในฟาร์มไก่ นาข้าว และสวนปาล์มน้ำมัน และไม่มีผลกระทบที่เป็นอันตรายต่อสัตว์อื่น ๆ ในสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตาม *S. singaporensis* ที่ได้จากการสำรวจและรวบรวมจากสัตว์อาศัยทั้ง 2 ชนิด ในพื้นที่ทำการเกษตรเขตเมือง ได้แก่ หนู และงูเหลือม เป็นต้น ให้ผลความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคที่แตกต่างกัน เมื่อทดสอบกับหนู อย่างเช่น ปริมาณสปอร์โรซีสต์ที่ได้จากงูที่กินหนูป่ามาเลย์ติดเชื้อ $2x10^5$ ซีสต์ ทำให้หนูท้องขาวทดลองตาย 80% ในขณะที่สปอร์โรซีสต์ที่ได้จากงูที่กินหนูพุกใหญ่ติดเชื้ออัตรา $2x10^5$ ซีสต์ ทำให้หนูท้องขาวทดลองตาย 100% เป็นต้น จากข้อมูลที่ได้นี้ทำให้เห็นว่า ปรสิตโปรโตซัว *S. singaporensis* ในหนูแต่ละชนิดนั้นมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะด้านความรุนแรงของการทำให้เกิดโรคในหนู ดังนั้น การสำรวจและคัดเลือกสายพันธุ์ *S. singaporensis* ที่มีศักยภาพสูงจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง สำหรับการผลิตสารชีวินทรีย์ชนิดนี้ในเชิงการค้า เพราะหนู ซึ่งเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถสร้างภูมิคุมกันต่อเชื้อโรคได้ และการใช้เชื้อโปรโตซัวชนิดนี้ไปนานๆ จึงอาจทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดหนูลดลง ได้ นอกจากนี้การสำรวจชนิด รวบรวม และคัดเลือกปรสิตโปรโตซัวที่มีประโยชน์ทั้งในหนูและสัตว์อาศัยสุดท้ายมากขึ้น อาจทำให้ได้ปรสิตโปรโตซัวที่นำมาใช้กำจัดหนูได้ทุกชนิด หรือกำจัดหนูหริ่ง(*Mus* pp.)ซึ่งเป็นศัตรูสำคัญทั่วโลกในการผลิตเมล็ดธัญพืชและพืชไร่หลายชนิด

รหัสโครงการ 09-02-49-01

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงทดสอบหนูเดี่ยว+ขวดน้ำ หนูทดลอง อาหารหนู งูเหลือม อาหารเสริมสำหรับงู และหนูน้ำกลั่น และสัตว์อาศัยสุดท้ายชนิดอื่น ๆ
2. กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบกำลังขยายสูง และแบบสเตอริโอ, TEM, SEM
3. กล่องพลาสติกขนาดใหญ่ สำหรับเป็นที่พักชั่วคราวของงูที่ได้มาจากธรรมชาติ
4. สารเคมีสำหรับ fix เนื้อเยื่อตัวอย่างและสารย้อมสี เช่น ethyl alcohol glutaaldyhide formalin eosin ferric ammonium sulfate, xylene, glycerol, etc.
5. ขวดพลาสติกสำหรับการปั่นตกตะกอนโปรโตซัว ขนาด 500 มล., ice box, slides+coverglass,canada balsam, ether, microtome blades, etc
6. กระดาษทิชชูแบบอเนกประสงค์ ตาชั่งกิโลขนาดใหญ่ ถุงมือยางสำหรับแพทย์ ฯลฯ
7. ถังเก็บตัวอย่างที่ใช้ไนโตรเจนเหลว และไนโตรเจนเหลว

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างหนูจากพื้นที่ต่างๆมาตรวจหาปรสิตโปรโตซัวในทุกส่วนของอวัยวะ และเก็บตัวอย่างมูลงูเหลือมมาตรวจหาสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัว ในห้องปฏิบัติการ
2. ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างโปรโตซัวที่พบ โดยขบวนการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา ทั้งโดยวิธี transmission electron microscope
3. ศึกษาหาวิธีเก็บรักษาเชื้อโปรโตซัวที่มีมีศักยภาพสูงในการทำให้เกิดโรคเพื่อใช้เป็น stock เชื้อในการผลิตสารชีวินทรีย์กำจัดหนู

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกสายพันธุ์ *Sarcocystis singaporensis* ที่ตรวจพบในหนูชนิดต่าง ๆ และแหล่งที่พบ
2. บันทึกลักษณะของโปรโตซัวสกุล *Sarcocystis* ชนิดต่าง ๆที่พบทั้งในสัตว์อาศัยตัวกลางและสัตว์อาสัยสุดท้าย
3. บันทึกปริมาณซาร์โคซีสต์ที่พบในกล้ามเนื้อหนูทดลอง
4. บันทึกความรุนแรง/ประสิทธิภาพของโปรโตซัวระยะสปอร์โรซีสต์ต่อหนูทดลองที่เก็บรักษาในระยะเวลาต่าง ๆ กัน
5. บันทึกระยะเวลาการเก็บรักษา และ pathogenic virurence ในหนูของต้นเชื้อโปรโตซัว

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ดำเนินการศึกษาตั้งเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร และดักจับหนูศัตรูจากแหล่งทำการเกษตร เช่น สวนปาล์มน้ำมัน ฯลฯ และภายในบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และตลาดเทศบาล

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาเบื้องต้น พบซาร์โคซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูท้องขาว ที่ดักจับจากแหล่งรกร้าง และสวนสัตว์ ในจังหวัดนครราชสีมา มี 1 สายพันธุ์ แพร่ 1 สายพันธุ์ และจากสุราษฎร์ธานี 1 สายพันธุ์ การศึกษายังไม่สิ้นสุดและดำเนินต่อไป และการทดสอบเชื้อโปรโตซัวระยะสปอร์โรซีสต์จากงูเหลือมหมายเลข 5 ที่เก็บรักษาในตู้เย็นนาน 7 เดือน กับหนูท้องขาว พบว่ายังมีความรุนแรงของการทำให้เกิดโรคสูง(หนูตาย 100%) การศึกษายังไม่สิ้นสุดและยังดำเนินการต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Dubey,J.P., C.A. Speer and R. Fayer.1989. Sarcocystosis of Animals and Man. CRC Press,Inc. Florida, USA., 215 pp.

Haefner,U., and W.Frank, 1984. Host Specificity and Host Range of Genus Sarcocystis in Three Snake-Rodent Life Cycle. ZBl. Hyg. A., 256 : 296-299.

อนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในสกุล *Bemisia*

Taxonomy of Whiteflies in Genus *Bemisia*

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี **ศิริณี พูนไชยศรี**
ชลิดา อุณหวุฒิ **รัตนา นชะพงษ์**
ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม **สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์**

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในสกุล *Bemisia* ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่มีขนาดเล็กชนิดหนึ่ง อยู่ในอันดับ Homoptera วงศ์ Aleyrodidae ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช และถ่ายมูลเหนียวที่เป็นน้ำหวานซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ใบและผลผลิตของพืชเสียหาย นอกจากนี้แมลงหวี่ขาวยังเป็นพาหะนำโรคไวรัสสู่พืชบางชนิด ทำให้พืชแสดงอาการใบหงิก ลำต้นแคระแกรนและอาจถึงตายได้ ทำการศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนเมษายน 2549 โดยสำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงหวี่ขาวในพืชสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดต่างๆ และพืชทั่วไปที่อาจเป็นแหล่งอาศัยของแมลงหวี่ขาวในภาคต่างๆ ภาคเหนือได้แก่ เชียงใหม่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ นครราชสีมา ภาคกลางได้แก่ กรุงเทพมหานคร กาญจนบุรี และนครปฐม นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาศึกษาในห้องปฏิบัติการ โดยตัวเต็มวัยและดักแด้บางส่วนเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงเพื่อเป็นข้อมูลการสำรวจ และนำดักแด้ที่เหลือไปทำสไลด์ถาวร เพื่อตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิดต่อไป ผลการศึกษาพบแมลงหวี่ขาวในสกุล *Bemisia* เพียง 1 ชนิด คือ *Bemisia tabaci* (Gennadius) ซึ่งอยู่ใน Subfamily Aleyrodinae บนพืช กระเพรา กุหลาบ และมะเขือเปราะ

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

แมลงหวี่ขาว (whitefly) เป็นแมลงศัตรูพืชชนิดหนึ่ง มีขนาดเล็ก ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นพืชแล้วถ่ายมูลเหนียวที่เป็นน้ำหวานออกมาตามใบและดอกของพืชที่มันอาศัย ซึ่งมูลเหนียวนี้เป็นอาหารของราดำทำให้ใบพืชสกปรกคุณภาพเสียไป มีรายงานว่าแมลงหวี่ขาวบางชนิด ได้แก่ *Bemisia tabaci* (Gennadius) เป็นพาหะของเชื้อไวรัสใบหด (tabacco leaf curl virus) ซึ่งเป็นโรคสำคัญของใบยาสูบ และยังพบว่าแมลงหวี่ขาวชนิดนี้ก่อให้เกิดความเสียหายในฝ้าย ทำให้ใบและปุยฝ้ายเสียหาย ผลผลิตของฝ้ายลดลง และยังพบในพืชอาหารหลายชนิด ได้แก่ มะเขือ พืชตระกูลแตง มะเขือเทศ มันฝรั่ง และพืชผักต่างๆ รวมถึงวัชพืชหลายชนิด เป็นต้น (สิริวัฒน์, 2526; Ohno, 1992) นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงการทำลายของแมลงหวี่ขาวชนิดต่าง ๆที่สำรวจพบในประเทศไทยโดย Mound และ Halsey (1978) พบแมลงหวี่ขาวที่เป็นศัตรูพืชไม่น้อยกว่า 50 ชนิด ในพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจต่างๆและวัชพืชทั่วไป ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวส่วนใหญ่มีลักษณะรูปร่างภายนอกที่คล้ายคลึงกัน จึงเป็นการยากที่จะระบุชนิดของแมลงหวี่ขาวด้วยลักษณะภายนอก และในแต่ละระยะของตัวอ่อน มีลักษณะที่แตกต่างไม่ชัดเจน จะเห็นความแตกต่างได้ชัดเจนเมื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ ดังนั้นจึงต้องใช้ดักแด้ของแมลงหวี่ขาวมาจำแนกชนิดและสกุล (Martin,1987) สำหรับการศึกษาแมลงหวี่ขาวในประเทศไทยพบว่ายังขาดข้อมูลด้านอนุกรมวิธานของแมลงหวี่ขาวค่อนข้างมาก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของแมลงหวี่ขาว ซึ่งจะช่วยให้ทราบชนิดของแมลงหวี่ขาวต่าง ๆ ในประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นบานในด้านกีฏวิทยา และยังใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการป้องกันกำจัดและจัดทำ PL/PRA เพื่อการส่งออกและนำเข้าผลิตผลทางการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดดองแมลง ถุงพลาสติก และกรรไกรตัดกิ่ง

2. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดรูปร่างแมลงเพื่อจำแนกชนิด ได้แก่ ตู้อบแมลง เข็มปักแมลง เข็มหมุดขนาดกลาง กระดาษแข็ง และอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บและรักษาแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ การบูร กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบใส่ตัวอย่างแมลง กล่องใส่สไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

3. อุปกรณ์ในการจัดทำสไลด์ถาวร เพื่อการจำแนกชนิด ได้แก่ เข็มเขี่ยแมลง ปีกเกอร์ขนาดต่างๆ แผ่นสไลด์แก้ว cover glass สารเคมีและน้ำยาเมาท์ (mount) ตัวอย่างแมลง เช่น clove oil, KOH 10%, alcohol 70-95%, chloral-phenol, ammonia solution, hydrogen peroxide, acid fuchsin strain และ canada balsam เป็นต้น

4. อุปกรณ์ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสไลด์ ฟิล์มสี

5. พืชสำหรับเป็นอาหารของแมลงศัตรูพืช กระถาง ดิน และปุ๋ย

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงหวี่ขาวศัตรูพืชในแปลงเพาะปลูก โดยตัดใบพืชที่มีดักแด้แมลงหวี่ขาวเกาะอยู่ด้วยกรรไกรตัดกิ่ง นำตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่เก็บรวบรวมพร้อมพืชอาศัยใส่ถุงพลาสติก หรือกล่องพลาสติก หากตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน ต้องนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นดักแด้

2. นำตัวอย่างดักแด้แมลงหวี่ขาวจากข้อ 1 มาตรวจลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope ถ่ายภาพแมลงหวี่ขาวแล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่างลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น

3. แล้วนำตัวอย่างดักแด้ที่สำรวจได้ในข้อ 2 บางส่วนมาทำสไลด์ถาวร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Martin (1987) ตัดชิ้นส่วนของพืชอาศัยเฉพาะที่มีดักแด้ติดอยู่ แช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10 % ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หรือแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์อุ่นๆ ใช้เวลา 10 – 20 นาที จะช่วยให้แยกดักแด้ออกจากพืชอาศัยได้ง่าย โดยไม่ทำให้ตัวอย่างเสียหาย ดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก เติมกรดแกลเซียลอะซิติก แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที แล้วดูดกรดแกลเซียลอะซิติกออก เติมสารละลายคลอรอล-ฟีนอล (chloral-phenol) แช่ทิ้งไว้ 2-3 นาทีเช่นกัน แล้วดูดสารผสมนี้ออก วิธีนี้นอกจากจะช่วยกำจัดคราบไขมันที่ห่อหุ้มดักแด้แล้วยังช่วยในการย้อมสีทำให้ตัวอย่างติดสีได้ดีขึ้น การย้อมสีแมลงหวี่ขาวปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

3.1 ดักแด้ที่มีสีเข้มหรือสีดำ ให้ล้างตัวอย่างด้วยแอลกอฮอล์ 95% แล้วย้ายตัวอย่างลงในสารละลายที่เป็นส่วนผสมของแอมโมเนีย (ammonia) กับไฮโดรเยนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) ในอัตราส่วน 880 : 20 โดยปริมาตร แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที สารละลายนี้จะช่วยทำให้ตัวอย่างที่มีสีเข้มใสขึ้น

3.2 ดักแด้ที่มีสีจางหรือสีซีด ให้ล้างตัวอย่างด้วยกรดแกลเซียลอะซิติก ย้ายตัวอย่างลงในสารละลายแอซิกฟุชซินสเตน ใช้เพียงเล็กน้อยเพื่อย้อมสีตัวอย่าง แช่ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที

ดูดสารละลายหรือสีย้อมในข้อ 3.1 หรือ 3.2 ออก ล้างด้วยกรดแกลเซียลอะซิติกและแช่ในกรดแกลเซียลอะซิติก ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที แล้วดูดสารละลายนี้ออก เติมโคลฟอออยหรือไซลีน แช่ทิ้งไว้ 2 –3 นาที เมาท์ตัวอย่างบนแผ่นสไลด์ แล้วนำไปอบให้แห้งใช้เวลา 5 สัปดาห์

4. นำสไลด์ที่ผ่านการอบจนแห้งแล้วมาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope ที่กำลังขยาย 600 เท่า ตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงหวี่ขาว ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ ขน

และหนาม (setae & spine) ขอบลำตัว (margin) อวัยวะที่ใช้ในการขับไข เช่น รูชนิดต่างๆ (pores) vesiform orifice lingula และ operculum เป็นต้น

5. บันทึกรายละเอียดของแมลงหวี่ขาวชนิดต่างๆที่สำรวจพบ และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ได้แก่

ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่พบ ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่พบ และชื่อผู้เก็บ บันทึกโดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ และวาดภาพลักษณะต่างๆที่สำคัญของแมลงหวี่ขาวโดยใช้ camera lucida ติดกับกล้อง compound microscope รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับสไลด์แมลงหวี่ขาวแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่จับ และ วัน/เดือน/ปีที่ทำสไลด์ถาวร ชื่อน้ำยาที่ใช้เมาท์ (mount) สไลด์ และจัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของแมลงหวี่ขาวที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

6. จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษา โดยนำตัวอย่างแมลงหวี่ขาวพร้อมตัวอย่างพืชที่มีดักแด้เกาะอยู่และสไลด์ถาวรที่ทำเสร็จแล้ว เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล (เพื่อตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

เวลา : ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

สถานที่ : 1. แหล่งเพาะปลูกทั่วไป

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

แมลงหวี่ขาวเป็นแมลงในอันดับ Homoptera วงศ์ Aleyrodida ตัวเต็มวัยส่วนใหญ่มีรูปร่างลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกัน แตกต่างกันเพียงขนาดของลำตัว โดยตัวเต็มวัยจะเป็นแมลงขนาดเล็ก มองดูคล้ายแมลงหวี่หรือผีเสื้อขนาดเล็ก สีขาว มีปีก 2 คู่ ดักแด้ส่วนใหญ่มีรูปร่างกลมแต่แบน ลำตัวแบ่งเป็น 2 ส่วน โดยส่วนหัวและอกรวมเป็นส่วนเดียวกัน (cephalothorax) และส่วนท้อง (abdomen) ที่ส่วนท้องพบว่าส่วนใหญ่มีปล้องท้อง 8 ปล้อง แต่บางชนิดอาจพบเพียง 7 ปล้อง หรือ 3 ปล้อง ขึ้นอยู่กับแมลงหวี่ขาวชนิดนั้นๆ ส่วนการจำแนกชนิดของแมลงหวี่ขาว โดยทั่วไปนักอนุกรมวิธานแมลงจะใช้ดักแด้ของแมลงหวี่ขาวมาตรวจวิเคราะห์จำแนกชนิด เนื่องจากเป็นระยะที่มีอวัยวะต่างๆที่ค่อนข้างเด่นชัดหลายประการ

จากข้อมูลที่เคยรายงานไว้โดย Mound และ Halsey (1978) พบแมลงหวี่ขาวในสกุล *Bemisia* ทั่วโลกมีประมาณ 37 ชนิด และมีข้อมูลที่พบในไทยเพียง 4 ชนิด ซึ่งรายงานไว้โดย

Takahashi (1942) ได้แก่ *Bemisia bambusae* Takahashi, *Bemisia giffardi* (Kotinsky), *Bemisia lampangensis* Takahashi และ *Bemisia tabaci* (Gennadius)

การสำรวจนี้พบแมลงหวี่ขาวเพียง 1 ชนิด ซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง เนื่องจากมีพืชอาศัยค่อนข้างมาก คือ แมลงหวี่ขาวยาสูบ *Bemisia tabaci* (Gennadius) โดยใช้แนวทางวินิจฉัย (key) ที่ปรับปรุงจาก Martin (1987) และมีรายละเอียดของแมลงหวี่ขาว รวมถึงพืชอาศัยและเขตการแพร่กระจาย ดังนี้

Bemisia tabaci (Gennadius), 1936

(ภาพที่ 19)

Aleurodes tabaci Gennadius, 1889

Aleurodes inconspicua Quaintance, 1900

Bemisia tabaci (Gennadius) Takahashi, 1936

ชื่อสามัญ แมลงหวี่ขาวยาสูบ : Tobacco whitefly

Cotton whitefly

Sweetpotato whitefly

ลักษณะที่พบในธรรมชาติ

ตัวอ่อนมีลักษณะแบน คล้ายเพลี้ยแป้ง พบหนามบนลำตัวและปกคลุมด้วยแผ่นไข ขนาดของดักแด้มีความยาว 0.65 มม. กว้าง 0.48 มม. ในระยะนี้จะพบตาแดง 1 คู่อย่างชัดเจน (ภาพที่ 1) ตัวเต็มวัยแมลงหวี่ขาวมีขนาดเล็กประมาณ 1 มม. ลำตัวปกคลุมด้วยฝุ่นไขสีขาว

ลักษณะบนแผ่นสไลด์

โดยปกติปล้องท้องจะปรากฏเห็นเป็น 7 ส่วนระหว่างเส้นลอกคราบทางขวางกับ vasiform orifice ซึ่งปล้องท้องที่ 7 ปรากฏไม่ชัดเจน ท่ออากาศเปิดที่ขอบอย่างธรรมดา vasiform orifice มีรูปร่างค่อนข้างเป็นรูปสามเหลี่ยมเรียวยาวด้านข้างตรง ขนที่ caudal ยาวหนา และยาวกว่า vesiform orifice ขนที่ dorsum ยาวและปลายขนแหลม พบขนที่บริเวณนี้ 7 คู่ ส่วนด้านท้ายของดักแด้จะพบลักษณะเป็นร่อง (caudal furrow) มีขนาดใกล้เคียงกับ vasiform orifice และพบรอยนูนเล็กน้อย 1 คู่อยู่ทั้งสองด้าน (ภาพที่ 2)

ความสำคัญและพืชอาศัย

พบอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบพืช ได้แก่ กะเพรา กุหลาบ และ มะเขือเปราะ และจากรายงานพบว่าแมลงหวี่ขาวชนิดนี้มีพืชอาหารหลายชนิด ประมาณกว่า 150 ชนิด อยู่ใน 63 วงศ์ (Mound and Halsey,1978) จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญและมีพืชอาหารมากชนิดหนึ่ง

เขตการแพร่กระจาย

พบที่ด่านกักกันพืชดอนเมือง กรุงเทพมหานคร จากการตรวจสินค้าเกษตรส่งออก และในแปลงเกษตรกรที่จังหวัดกาญจนบุรี และจากรายงานของ Mound and Halsey (1978) พบว่าแมลงหวี่ขาวชนิดนี้มีการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางในหลายประเทศ เช่น แถบภูมิภาคพาเลอาคติก ได้แก่ อังกฤษ สเปน โมร็อกโค อียิปต์ ไซปรัส อิสราเอล จอร์แดน ซาอุดิอาราเบีย อิหร่าน รัสเซีย และญี่ปุ่น แถบภูมิภาคเอธิโอเปีย ได้แก่ แกมเบีย ไอเวอรี่ กานา คาเมรูน ซูดาน เอเดน, คองโก เคนยา, แทนซาเนีย, ยูกานดา และแองโกลา แถบภูมิภาคมาดากัสแคน ได้แก่ มาดากัสการ์ เมอร์ริเชียส แถบภูมิภาคโอเรียนตอล ได้แก่ ปากีสถาน อินเดีย จีน ไต้หวัน พม่า ศรีลังกา ,และไทย แถบภูมิภาคออสโต-โอเรียนตอล ได้แก่ มาเลเซีย สิงคโปร์ เกาะสุมาตรา อินโดนีเซีย นิวกีนี และฟิลิปปินส์ แถบภูมิภาคออสเตรลาเซียน ได้แก่ ออสเตรเลีย แถบภูมิภาคแปซิฟิก ได้แก่ ฟิจิ แถบภูมิภาคนีอาร์กติก ได้แก่ สหรัฐอเมริกา และแถบภูมิภาคนีโอโทรปิคอล ได้แก่ จาไมก้า บาบาโดส เปอโตริโก้ บราซิล และอาเจนตินา

เนื่องจากมีข้อจำกัดในเรื่องเวลาและงบประมาณ ทำให้การสำรวจไม่สามารถสำรวจและรวบรวมเก็บตัวอย่างได้ทั่วถึง นอกจากนี้ข้อมูลของแมลงหวี่ขาวในประเทศไทยก็มีอย่างจำกัด เพราะขาดผู้เชี่ยวชาญทางด้านแมลงหวี่ขาวโดยเฉพาะ ประการสุดท้ายเกี่ยวกับการจัดทำสไลด์ถาวรที่ต้องใช้ความระมัดระวังอย่างสูงจากสารเคมีบางชนิดที่อาจเป็นอันตรายต่อร่างกาย และขนาดที่ค่อนเล็กของดักแด้ ทำให้การปฏิบัติงานจึงเป็นไปอย่างค่อยเป็นค่อยไป แต่ข้อมูลที่ได้บางส่วนนี้ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการศึกษาด้านอื่นๆ และการวางแผนการป้อง กันกำจัด และตัวอย่างแมลงหวี่ขาวที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญชนิดต่างๆ จะเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ของกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อเป็นหลักฐานสำหรับค้นคว้าและอ้างอิงทางวิชาการ และยังได้ข้อมูลสำหรับประกอบการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) ในการส่งออกผลิตผลทางการเกษตร และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ในการนำเข้าผลิตผลทางการเกษตรต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงหวี่ขาวในสกุล *Bemisia* ซึ่งเป็นแมลงอยู่ในอันดับ Homoptera วงศ์ Aleyrodidae ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยอาศัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืช และถ่ายมูลเหนียวที่เป็นน้ำหวานซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ใบและผลผลิตของพืชเสียหาย จากการสำรวจพบแมลงหวี่ขาว 1 ชนิด คือ แมลงหวี่ขาวยาสูบ (Tobacco whitefly) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Bemisia tabaci* (Gennadius) โดยสำรวจพบที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร และ กาญจนบุรี บนพืช กระเพรา กุหลาบ และมะเขือเปราะ

เอกสารอ้างอิง

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. 2526. แมลงศัตรูพืชทางการเกษตรของประเทศไทย. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 424 น.

Gennadius, P. 1889. Disease of tobacco plantations in the Trikonia. The aleurodid of tobacco. [In Greek]. *Ellenike Georgia* 5 : 1 – 3.

Martin, J. H. 1987. An Identification Guide to Common Whitefly Pest Species of the World (Homoptera: Aleyrodidae). *Tropical Pest Management*. 33(4) : 298-322.

Mound, L. A. and Halsey, S. H. 1978. Whitefly of the World; A systemic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with Host Plant and natural Enemy Data. British Museum (Natural History) and John Wiley & Sons. Chichester. 340 pp.

Ohno, I. 1992. Whiteflies Problem in the United States of America. JAPAN Pesticide Information no. 60 : 19-20.

Quaintance, A. L. 1900. Contribution towards a Monograph of the American Aleurodidae. *Tech. Ser. Bur. Ent. U.S.* 8 : 9-64.

Takahashi, R. 1936. Some Aleyrodidae, Coccidae (Homoptera), and Thysanoptera from Micronesia. *Tenthredo* 1 : 109-120.

Takahashi, R. 1942. Some Foreign Aleyrodidae (Homoptera) V. Species from Thailand and Indo-Chida. *Trans.Nat.Hist.Soc.Formosa.* 32 : 168-175.

ภาพที่ 1 ภาพดักแด้ของแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* (Gennadius) (3X)

ภาพที่ 2 ภาพจากสไลด์ถาวรของแมลงหวี่ขาว *Bemisia tabaci* (Gennadius) (4X)

อนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้ง สกุล *Dysmicoccus*

Taxonomy of Mealybug in Genus *Dysmicoccus*

ชลิดา อุณหวุฒิ ศิริณี พูนไชยศรี ลักขณา บำรุงศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* ที่มีอยู่ในประเทศไทย โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้ง จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย นำตัวอย่างที่รวบรวมได้ไปทำสไลด์ถาวรและตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัย พัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิดพบเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* จำนวน 2 ชนิด คือ *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) และ *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley นอกจากนี้ยังพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด คือ ด้วงเต่า *Crytolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera : Coccinellidae) เป็นแมลงห้ำของ *D. brevipes* และหนอนผีเสื้อ *Spalgis epius epius* Westwood (Lepidoptera : Lycaenidae) เป็นแมลงห้ำของ *D. neobrevipes*

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

เพลี้ยแป้ง (mealybug) เป็นแมลงปากดูด จัดอยู่ในวงศ์ Pseudococcidae อันดับ Homoptera แต่นักอนุกรมวิธานบางกลุ่มได้จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera แมลงวงศ์นี้มีลักษณะพิเศษ คือตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถผลิตไขแป้ง (mealy wax) สีขาวปกคลุมลำตัวไว้ และสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบไม่ใช้เพศ (parthenogenesis) และแบบใช้เพศ อีกทั้งมีมดบางชนิดอาศัยร่วมอยู่ด้วยและเป็นตัวช่วยแพร่กระจายเพลี้ยแป้งจากส่วนหนึ่งของพืชไปยังอีกส่วนหนึ่ง หรือจากต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่ง ชำนาญ (2541) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของมดกับเพลี้ยแป้ง พบมดในไร่สับปะรดที่สามารถจำแนกชนิดได้ 6 ชนิดคือ *Monomorium* sp., *Pheidole* sp., *Solenopsis* sp., *Tetramorium* sp., *Paratrechina* sp. และ *Odontoponera* sp. โดย *Pheidole* sp. (big-headed ant) จะคาบเพลี้ยแป้งวัยที่ 1 วิ่งไปมาตามใบสับปะรด ลงไปในรู และนำเพลี้ยแป้งไปวางไว้ที่รากสับปะรด เพลี้ยแป้งจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากรากสับปะรด จนเจริญเติบโตและต่อมาเคลื่อนย้ายไปอยู่ตรงกาบใบที่โคนสับปะรด เพลี้ยแป้งบางชนิดมีพืชอาศัยมากชนิดและสามารถทำลายส่วนต่างๆของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่นใบเป็นจุดสีเหลืองและบางครั้งมีลักษณะย่น ผลบิดเบี้ยวและร่วง ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ต้นเหี่ยวชะงักการเจริญเติบโตและบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยแป้งยังขับถ่ายของเหลวมีลักษณะเป็นน้ำเหนียวๆ เรียกว่ามูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบ โตได้อย่างรวดเร็วปกคลุมใบและผล ใบจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ สำหรับผลจะสกปรกเนื่องจากมูลน้ำหวานและราดำ ในกรณีผลสกปรกนี้มีผลกระทบโดยตรงต่อไม้ผลนานาชนิด เพราะจะไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ

เพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* เป็นเพลี้ยแป้งที่มีความสำคัญสกุลหนึ่งในวงศ์ Pseudococcidaeสามารถทำลายพืชได้หลายชนิดทั้งพืชสวน และพืชไร่ McKenzie (1967) รายงานว่าในเขตทวีปอเมริกาเหนือมีเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* ประมาณ 30 ชนิด โดยพบที่รัฐแคลิฟอร์เนีย 10 ชนิด และ Williams and Watson (1988) ได้รวบรวมเพลี้ยแป้งในแถบแปซิฟิค พบเพลี้ยแป้งสกุลนี้ 12 ชนิด ต่อมา Ben-Dov (1994) ได้รวบรวมรายชื่อและรายละเอียดของเพลี้ยแป้งที่มีรายงานจากทั่วโลก พบว่ามีเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* จำนวน 106 ชนิด สำหรับในประเทศไทย บุปผา (2538) พบเพลี้ยแป้ง *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley บนผลกล้วย ในปี พ.ศ.2546 ชลิดาและคณะ รายงานว่าพบเพลี้ยแป้งชนิดดังกล่าวเป็นศัตรูมังคุด อย่างไรก็ดีข้อมูลรายละเอียดต่างๆ ของเพลี้ยแป้งสกุลนี้มีน้อยมาก ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง พืชอาหาร เขตแพร่กระจายของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* แต่ละชนิดที่พบในประเทศไทย สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งดังกล่าว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยแป้ง *Dysmicoccus* ที่รวบรวมได้
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ได้แก่ alcohol ขวดดองตัวอย่างแมลง พู่กัน กล่องพลาสติกและถุงพลาสติก
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น potassium hydroxide, alcohol, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิเมตร เตาไฟฟ้า (hot plate) ตู้อบ แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพเพลี้ยแป้ง อุปกรณ์กล้องถ่ายภาพ
5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา Rotring และกระดาษไขเขียนแบบ
6. อุปกรณ์คอมพิวเตอร์
7. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยแป้ง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ ใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยแป้งส่วนหนึ่งใส่ขวดดองตัวอย่างแมลงที่บรรจุ alcohol 70% อยู่ภายในขวด กรณีที่เพลี้ยแป้งกำลังดูดน้ำเลี้ยงบนพืช ปากจะอยู่ที่เนื้อเยื่อพืชจึงได้ตัดตัวอย่างพืชที่มีเพลี้ยแป้งเกาะอยู่ แช่ใน alcohol 70% เช่นเดียวกัน บันทึกสถานที่ วันเดือน ปีที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่าง บนกระดาษไขเขียนแบบใส่ลงในขวดดองตัวอย่างแมลงแต่ละขวด เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งอีกส่วนหนึ่งรวมทั้งพืชอาหารใส่ในกล่องพลาสติกใสที่ฝากล่องบุด้วยลวดตาข่ายตาถี่ พร้อมกับบันทึกรายละเอียดปิดไว้ที่กล่องพลาสติกเช่นเดียวกับที่ใส่ลงในขวดดองตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ถ่ายภาพลักษณะอาการของพืชที่ถูกทำลายในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตว-วิทยา เพื่อจำแนกชนิด และศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด

2. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากข้อ 1. มาตรวจลักษณะภายนอกของเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูธรรมชาติภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น

3. นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งเพศเมียจากขวดดองตัวอย่างแมลง (ข้อ 1) มาทำสไลด์ถาวรโดยดัด แปลงวิธีการของ Williams and Watson (1988) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.1 ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบนของเพลี้ยแป้ง แล้วนำไปใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุด้วยสารละลาย potassium hydroxide 10% จากนั้นนำหลอดทดลองดังกล่าวใส่ในบีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำและตั้งอยู่บนเตาไฟฟ้า ต้มประมาณ 15 นาที นับตั้งแต่น้ำในบีคเกอร์เดือด ระวังไม่ให้สารละลาย potassium hydroxide ที่อยู่ในหลอดทดลองเดือด เพราะจะทำให้ตัวอย่างเสียหาย

3.2 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่ต้มแล้วมาล้างในน้ำกลั่น กดเบาๆ บนลำตัวด้วยเข็มดัดปลายให้โค้ง เพื่อทำให้ไข่หรือตัวอ่อนและของเหลวที่อยู่ในลำตัวหลุดออกมาทางรอยที่เจาะไว้ แต่ถ้ายังมีก้อนไขมันตกค้างอยู่ในลำตัว ต้องกำจัดออกไปโดยนำไปแช่ใน alcohol 95% นานประมาณ 2 – 3 นาที แล้วย้ายไปแช่ใน carbol xylene ประมาณ 10 นาที จนกระทั่งตัวอย่างเพลี้ยแป้งใสดีแล้วจึงนำไปแช่ใน alcohol 95% อีกครั้ง เพื่อล้าง carbol xylene จากนั้นย้ายตัวอย่างเพลี้ยแป้งไปแช่ใน acid alcohol (สารละลายของ glacial acetic acid กับ alcohol 50% อัตราส่วน 1 : 4) ประมาณ 2 – 3 นาที

3.3 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งแช่ในน้ำย้อมสี (สารละลายของ acid fuchsin 0.5 กรัม hydrochloric acid 10% 25 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร) นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้ายไปแช่ใน alcohol 95% ประมาณ 2 – 3 นาที เพื่อให้สีที่เป็นส่วนเกินหลุดออกไป

3.4 ย้ายตัวอย่างเพลี้ยแป้งไปแช่ในสารละลายของ N-butyl alcohol กับ alcohol 95% อัตราส่วน 1:1 นาน 10 นาที จากนั้นย้ายไปแช่ใน N-butyl alcohol อีก 10 นาที และย้ายไปแช่ในcolve oil ประมาณ 20 นาที

3.5 นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งขึ้นจาก clove oil วางลงบนแผ่นสไลด์แก้ว ใช้กระดาษกรองซับ clove oil ส่วนเกินออกไป หยด canada balsam 1 หยดบนตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50°C ประมาณ 1 เดือน จากนั้นจึงนำมาตรวจจำแนกชนิดต่อไป

4. ตรวจจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้ง โดยนำตัวอย่างเพลี้ยแป้งบนแผ่นสไลด์แก้วมาตรวจจำแนกชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง 600 เท่า ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ หนวด (antennae) ขน (setae) รู (pores) ท่อ (tubular ducts) กลุ่มอวัยวะที่ผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว (cerarii) ช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัว (ostioles) และวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย (anal ring)

5. วาดรูปแสดงลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด โดยใช้ camera lucida ติดกับกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope โดยวาดรูปเพลี้ยแป้งทางด้านบน (dorsum)

ครึ่งหนึ่ง และด้านล่าง (venter) ครึ่งหนึ่งให้อยู่ในรูปเดียวกันบนกระดาษไขเขียนแบบ แล้วจัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) ชนิดของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* ที่รวบรวมได้ พร้อมภาพประกอบ

6.บันทึกชื่อชนิดของเพลี้ยแป้งในสกุล *Dysmicoccus* ที่สำรวจพบ พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด และจัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งและแมลงศัตรูธรรมชาติที่ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2548 – เดือนกันยายน 2550

สถานที่: 1) แหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 พบแต่เพลี้ยแป้งเพศเมีย ในการตรวจจำแนกชนิดจึงใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งเพศเมีย ซึ่งมีรูปร่างลักษณะทั่วไปดังภาพที่ 1 สำหรับเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* มีรูปร่างลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญดังนี้

Genus *Dysmicoccus* Ferris, 1950

Dysmicoccus Ferris, 1950 : 53

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยเพศเมียรูปร่างคล้ายรูปไข่ ค่อนข้างกลม มีจำนวนปล้องหนวด 8 ปล้อง ช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัว (ostioles) มีจำนวน 2 คู่ อยู่ทางส่วนหน้า (anterior) ของลำตัว 1 คู่ และส่วนหลัง (posterior) อีก 1 คู่ ขายาวเรียว ปลายเท้า (tarsus) มี 1 ปล้อง ส่วนใหญ่มีเล็บ (claw) 1 อัน และใกล้ฐานของเล็บมีคล้ายเส้นขน (seta like) จำนวน 2 เส้น เรียกว่า digitules ซึ่งบริเวณปลายเส้นมีลักษณะเป็นปม (knob) เล็บไม่มีปุ่มขนาดเล็กที่มีลักษณะคล้ายฟัน (denticle) กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัว (cerarii) มีจำนวน 6-17 คู่ ไม่มีคู่ที่ 2 ที่อยู่บนส่วนหัว (preocular cerarii) แต่ละอันประกอบด้วยรูเปิดรูปสามเหลี่ยม (trilocular pores) ขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวย (conical setae) ขนาดใหญ่จำนวน 5-6 เส้น และมีขนเส้นเล็กๆบางๆ (auxiliary setae) จำนวน 2-3 เส้น แต่บางครั้งไม่พบขนเส้นเล็กๆบางๆที่คู่ที่อยู่บนปล้องท้องก่อนปล้องรองสุดท้าย (antepenultimate cerarii) โดยทั่วไปจะมีแผ่นแข็งที่มีลักษณะเป็นวง (circulus) แต่บางชนิดไม่มีแผ่นแข็งดังกล่าว ไม่มีท่อชนิดที่บริเวณรอบปากท่อเป็นขอบแข็ง (oral rim tubular duct) ขนที่อยู่ด้านบนของลำตัวมีหลายลักษณะ สำหรับขนด้านล่างของลำตัวมีลักษณะเป็นเส้น

เรียวยาวคล้ายแส้ (flagellate setae) แต่อาจมีขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวยปะปนอยู่ด้วย ด้านล่างของลำตัวที่ติ่งปลายปล้องท้องปล้องสุดท้าย (anal lobe) แต่ละอันอาจมีหรือไม่มีลักษณะเป็นแผ่นแข็ง (sclerotized area) ปรากฏอยู่ ไม่มีแถบแคบๆ บนติ่งที่ปลายปล้องท้องปล้องสุดท้าย (anal lobe bar) (Williams และ Watson,1988)

จากการตรวจจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งตามหลักอนุกรมวิธานพบเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* จำนวน 2 ชนิด คือ *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) และ *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley ซึ่งได้จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) และรายละเอียดของเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดนี้ ดังต่อไปนี้

แนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยแป้ง สกุล *Dysmicoccus*

- ด้านบนของลำตัว มีกลุ่มขนเส้นเรียวยาวคล้ายแส้ (Flagalerte setae) อยู่บริเวณด้านหน้า (anterior)

เหนือวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดอวัยวะขับถ่าย (anal ring)

กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัวบนปล้องท้องปล้องสุดท้าย (anal lobe cerarii) ตั้งอยู่บนแผ่น

แข็งรูปร่างค่อนข้างกลม และด้านล่าง (venter) ปรากฏแผ่นแข็งรูปสามเหลี่ยมหรือสี่เหลี่ยมบนติ่ง

ปลายปล้องท้องปล้องสุดท้าย.....*brevipes* (Cockerell)

ด้านบนของลำตัว มีขนเส้นสั้นๆ อยู่บริเวณด้านหน้าเหนือวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดอวัยวะขับถ่าย

กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัวบนปล้องท้องปล้องสุดท้าย ตั้งอยู่บนแผ่นแข็งรูปร่างยาวรี และ ด้านล่างปรากฏแผ่นแข็งลักษณะแคบยาวบนติ่งปลายปล้องท้องปล้องสุดท้าย.....
.....neobrevipes Beardsley

รายละเอียดของเพลี้ยแป้งแต่ละชนิด

เพลี้ยแป้ง *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell)

Dactylopius brevipes Cockerell, 1893 : 267

Pseudococcus brevipes (Cockerell), Fernald, 1903 : 98 ; Zimmerman, 1948 : 189

Dysmicoccus brevipes (Cockerell), Ferris, 1950 : 59

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้งสับปะรด pineapple mealybug

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปร่างรูปไข่ ค่อนข้างกลม ลำตัวยาวประมาณ 2.2-3.0 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 1.6-1.9 มิลลิเมตร ผนังลำตัวสีชมพูปกคลุมด้วยไขแป้ง (mealy wax) สีขาว ด้านข้างรอบลำตัวประกอบด้วยเส้นแป้ง (filament of wax) สั้นๆ เส้นแป้งที่อยู่ทางด้านท้ายของลำตัวยาวกว่าเส้นทางด้านข้าง

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว (ภาพที่ 2) ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปร่างรูปไข่ ค่อนข้างกลม ลำตัวยาวประมาณ 2.2-3.0 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 1.6-1.9 มิลลิเมตร มีจำนวนปล้องหนวด 8 ปล้อง ขายาวเรียวมีรูโปร่งใส (translucent pores) ที่ต้นขา (femur) และน่องขา (tibia) ของขาคู่หลัง (hind legs) เล็บไม่มีปุ่มขนาดเล็กที่มีลักษณะคล้ายฟัน กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัวมีจำนวน 17 คู่ แต่ละอันประกอบด้วยรูเปิดรูปสามเหลี่ยมและขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวยจำนวน 2-4 เส้น สำหรับคู่สุดท้าย (anal lobe cerarii) แต่ละอันจะมีขนดังกล่าวขนาดใหญ่จำนวน 2 เส้น ขนเส้นเล็กๆบางๆ อีก 6-7 เส้น และรูเปิดรูปสามเหลี่ยมจำนวนมาก ซึ่งทั้งหมดตั้งอยู่บนแผ่นแข็ง รูปร่างค่อนข้างกลม สำหรับด้านล่าง (ventral surface) ปรากฏแผ่นแข็งมีลักษณะรูปสามเหลี่ยมหรือสี่เหลี่ยมและมีขนค่อนข้างยาวอยู่ปลายสุดของติ่ง (apical setae) ช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัว มีจำนวน 2 คู่ อยู่ทางส่วนหน้าของลำตัว 1 คู่ และส่วนหลังอีก 1 คู่ แผ่นแข็งที่มีลักษณะเป็นวงเจริญดี

ผนังลำตัวด้านบน มีขนสั้นแข็ง ปลายแหลม และมีขนเส้นเล็กๆบางๆปะปนอยู่ด้วย สำหรับกลุ่มขนที่อยู่บนปล้องท้องปล้องสุดท้าย บริเวณด้านหน้า (anterior) เหนือวงแหวนที่ล้อมรอบอวัยวะขับถ่ายมีลักษณะเป็นเส้นเรียวยาวคล้ายแส้ (flagellate setae) ซึ่งมีความยาวมากกว่าขนบริเวณอื่น มีรูเปิดรูปสามเหลี่ยมเป็นจำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป รูกลมเล็กๆ (discoidal pores) มี 2 ขนาดกระจายอยู่บนผนังลำตัว แต่ละรูบริเวณพื้นผิวหน้ามีลักษณะเป็นร่างแห (reticulated surface) พวกที่มีขนาดใหญ่เห็นได้ชัดบนแนวกลาง (median area) ของส่วนท้อง โดยเฉพาะบริเวณแนวกลางของปล้องท้องที่ 5-8 ส่วนที่ขนาดเล็กมีจำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป วงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย (anal ring) ประกอบด้วยขนจำนวน 6 เส้น

ผนังลำตัวด้านล่าง มีขนสั้นแต่บางกว่าขนบนผนังลำตัวด้านบน รูเปิดรูปวงกลม (multilocular disc pores) จะอยู่เรียงเป็นแถว 1 แถวที่ขอบด้านหลัง (posterior) ของปล้องท้องปล้องที่ 6-7 และพบจำนวนน้อยที่บริเวณขอบด้านหน้าของปล้องท้องปล้องที่ 7 และจากด้านหลังของปล้องนี้ไปจนถึงช่องเปิดของอวัยวะสืบพันธุ์ (vulva) รูเปิดรูปสามเหลี่ยมมีจำนวนน้อยกว่าที่พบบนผนังลำตัวด้านบน รูกลมเล็กๆกระจายอยู่ทั่วไป และมีรูกลมเล็กๆ จำนวน 1-4 รู อยู่บริเวณด้านหลังของขอบรอบตา ท่อชนิดที่ปากท่อเป็นแผ่นแข็ง (oral collar tubular ducts) มี 2 ขนาด พวกที่มีขนาดใหญ่ ปากท่อกว้างกว่ารูเปิดรูปสามเหลี่ยมเล็กน้อย พบอยู่เดี่ยวๆที่ขอบปล้องท้อง

ปล้องที่ 5-7 สำหรับพวกที่มีขนาดเล็กปากท่อแคบกว่ารูเปิดรูปสามเหลี่ยม มักจะพบกระจายอยู่ที่ปล้องท้องที่ 5-6 และที่ขอบด้านข้างของปล้องท้องปล้องที่ 7 ไม่มีแถบแคบๆ บนติ่งที่ปลายปล้องท้องปล้องสุดท้าย ขนที่ปลายส่วนท้องซึ่งอยู่ใกล้วงแหวนที่ล้อม รอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย (cisanal setae) มีขนาดสั้นกว่าขนที่อยู่บนวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย

ความสำคัญและพืชอาศัย

เพลี้ยแป้ง *D. brevipes* เป็นแมลงศัตรูสำคัญของสับปะรด พบดูดกินน้ำเลี้ยงที่ราก กาบใบ และผลบริเวณโคนสับปะรด อีกทั้งเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคเหี่ยวสับปะรด (pineapple wilt disease) อีกด้วย Zimmerman (1948) รายงานว่าเพลี้ยแป้งชนิดนี้เป็นศัตรูสำคัญของสับปะรดในมลรัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา

เขตการแพร่กระจาย

ภาคตะวันออก จังหวัดชลบุรี
ภาคตะวันตก จังหวัดเพชรบุรี
ภาคใต้ จังหวัดชุมพร

Dysmicoccus neobrevipes Beardsley, 1959

Dysmicoccus neobrevipes Beardsley ; 1959 : 31 ; 1965 : 61 ; 1975 : 657 ;

William and Watson, 1988 : 67

ชื่อสามัญ เพลี้ยแป้งสับปะรดสีเทา grey pineapple mealybug

รูปร่างลักษณะ

ลักษณะในธรรมชาติ ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปร่างค่อนข้างกลม ลำตัวยาวประมาณ 3.3-3.5 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 2.7-3.0 มิลลิเมตร ผนังลำตัวสีเทาปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาว ด้านข้างรอบลำตัวมีเส้นแป้งสั้นๆ เส้นแป้งด้านท้ายของลำตัวยาวกว่าด้านข้างเล็กน้อย

ลักษณะบนแผ่นสไลด์แก้ว (ภาพที่ 3) ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปร่างค่อนข้างกลม ลำตัวยาวประมาณ 3.3-3.5 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 2.7-3.0 มิลลิเมตร มีจำนวนปล้องหนวด 8 ปล้อง ขายาวเรียว มีรูโปร่งแสงที่ต้นขาและน่องขาของขาคู่หลัง เล็บไม่มีปุ่มขนาดเล็กที่มีลักษณะคล้ายฟัน กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้างลำตัวมีจำนวน 17 คู่ แต่ละอันประกอบด้วยรูเปิดรูปสามเหลี่ยมและขนปลายแหลมคล้ายรูปกรวย คู่ที่อยู่บริเวณส่วนหัวมีขนดังกล่าวจำนวน 3-6 เส้น ที่ส่วนอกมีจำนวน 2-3 เส้น ที่ส่วนท้องมีจำนวน 4-7 เส้น แต่คู่รองสุดท้าย (penultimate cerarii) และคู่สุดท้าย แต่ละคู่จะมีขนชนิดนี้ขนาดใหญ่จำนวน 2 เส้น และมีขนเส้นเล็กๆบางๆจำนวน 4-6 เส้น สำหรับคู่สุดท้ายอยู่บนแผ่นแข็งรูปร่างยาวรี สำหรับด้านล่างปรากฏมีแผ่นแข็งลักษณะแคบยาวและ

มีขนค่อนข้างยาวอยู่ปลายสุดของติ่ง ช่องเปิดที่มีลักษณะคล้ายรอยแตกตามขวางของลำตัว มีจำนวน 2 คู่ อยู่ทางส่วนหน้าของลำตัว 1 คู่ และส่วนหลังอีก 1 คู่ แผ่นแข็งที่มีลักษณะเป็นวงเจริญดี

ผนังลำตัวด้านบน มีขนสั้นปลายแหลม รวมทั้งขนที่อยู่บนปล้องท้องปล้องสุดท้าย บริเวณด้าน หน้าเหนือวงแหวนที่ล้อมรอบอวัยวะขับถ่าย มีรูเปิดรูปสามเหลี่ยมเป็นจำนวนมาก กระจายอยู่ทั่วไป รูกลมเล็กๆ มีขนาดต่างๆกันกระจายอยู่บนผนังลำตัว แต่ละรูมีขอบหนาและผิวหน้ามีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ (granular) พวกที่มีขนาดใหญ่ที่สุดมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่ารูเปิดรูปสามเหลี่ยม เห็นได้ชัดบนแนวกลางของส่วนท้อง โดยเฉพาะบริเวณแนวกลางของปล้องท้องปล้องท้ายๆ ส่วนที่เหลือมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับรูเปิดรูปสามเหลี่ยม หรือขนาดเล็กกว่า วงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่ายประกอบด้วยขนจำนวน 6 เส้น

ผนังลำตัวด้านล่าง มีขนสั้นๆ ยกเว้นที่ส่วนหัวและปล้องท้องปล้องท้ายๆ ซึ่งมีขนาดยาวกว่า รูเปิดรูปวงกลมเรียงเป็นแถว 1 แถวที่ขอบด้านหลังของปล้องท้องปล้องที่ 7 และพบจำนวนน้อยที่บริเวณขอบด้านหน้าของปล้องท้องปล้องที่ 7 และจากด้านหลังของปล้องนี้ไปจนถึงช่องเปิดของอวัยวะสืบพันธุ์ (vulva) โดยทั้งหมดนี้พบอยู่บริเวณกึ่งกลางหรือเกือบกึ่งกลางของปล้อง รูเปิดรูปสามเหลี่ยมและรูกลมเล็กๆกระจายอยู่ทั่วไป มีรูกลมเล็กๆ จำนวน 2-3 รูอยู่บริเวณด้านหลังของขอบรอบตา ท่อชนิดที่ปากท่อเป็นแผ่นแข็งมี 2 ขนาด พวกที่มีขนาดเล็กจะมีความยาวของท่อเท่ากับรูเปิดรูปวงกลม และปากท่อกว้างเท่ากับรูเปิดรูปสามเหลี่ยม โดยเรียงกันเป็นแถวจำนวน 1 แถวหรือ 2 แถวตามขวางโดยผ่านกลางปล้องท้องปล้องที่ 5-7 นอกจากนี้ยังพบที่ปล้องท้องปล้องแรกๆ แต่ไม่มากนักและพบบนบริเวณกลางส่วนอก บางครั้งพบระหว่างฐานของหนวดอีกด้วย สำหรับพวกที่มีขนาดกว้างจะมีความยาวของท่อสั้นกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของรูเปิดรูปวงกลม มักพบเป็นกลุ่มเล็กๆ ที่ขอบด้านข้างของปล้องท้องปล้องที่ 4-7 ไม่มีแถบแคบๆ บนติ่งที่ปลายปล้องท้องปล้องสุดท้าย ขนที่ปลายส่วนท้องซึ่งอยู่ใกล้วงแหวนที่ล้อม รอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย มีขนาดสั้นกว่าขนที่อยู่บนวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดของอวัยวะขับถ่าย

ความสำคัญและพืชอาศัย

เพลี้ยแป้ง *D. neobrevipes* มีพืชอาศัยมากชนิดรวมทั้งสับปะรด พบดูดน้ำเลี้ยงบริเวณส่วนต่างๆของพืช เช่น ดูดน้ำเลี้ยงบนผลมังคุดที่ขั้วผลบริเวณกลีบเลี้ยงและก้านผล บนผลมะม่วงน้อยหน่า กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม กล้วยเล็บมือนาง ขนุน ฝรั่ง ทับทิม มะขาม บนใบและผลชำมะเลียง สับปะรด บนใบและกิ่งของลีลาวดี จามจุรี พะยอม อากาเว่ กร่าง สัก แคแดง ปีบ บนใบลำไย กุหลาบ เทียนญี่ปุ่น ซ่อนกลิ่นฝรั่ง หมากเหลือง และพบบนดอกทานตะวันอีกด้วย

เขตการแพร่กระจาย

ภาคกลาง จังหวัดกรุงเทพมหานคร นนทบุรี นครปฐม สมุทรสาคร ลพบุรี สระบุรี สุพรรณบุรี

ภาคเหนือ จังหวัดนครสวรรค์ เชียงใหม่

ภาคตะวันออก จังหวัดจันทบุรี ระยอง ชลบุรี ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดนครราชสีมา

ภาคตะวันตก จังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี

ภาคใต้ จังหวัดชุมพร

การสำรวจและรวบรวมแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง สกุล *Dysmicoccus* พบแมลงศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด ได้แก่

1. **ด้วงเต่า** ***Cryptolaemus montrouzieri*** **Mulsant (Coleoptera : Coccinellidae)** พบทั้งตัวหนอนและตัวเต็มวัยเป็นแมลงห้ำของเพลี้ยแป้ง *D. brevipes*

ตัวเต็มวัยเป็นด้วงที่มีลำตัวยาวประมาณ 4.2-4.6 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 2.8-3.0 มิลลิเมตร มีสีดำ หัวและอกปล้องแรกมีสีส้ม ปีกคู่หน้าสีดำปลายปีกมีสีส้ม **ตัวหนอน**มีขนาดเล็ก ลำตัวปกคลุมด้วยไขแป้ง มีลักษณะเป็นเส้นยาวคล้ายเส้นแป้งของเพลี้ยแป้ง Mani *et al.* (1995) รายงานว่าพบด้วงเต่าชนิดนี้ที่ประเทศอินเดีย หนอนด้วงเต่า 1 ตัวสามารถกินตัวอ่อนของเพลี้ยแป้ง *Rastrococcus iceryoides* (Green) ได้ 498 หรือกินไขได้ 355 ฟอง นอกจากนี้สมหมาย (2545) รายงานว่าด้วงเต่า *C.maontrouzieri* เป็นแมลงห้ำของเพลี้ยแป้ง *Nipaecoccus viridis* (Newstead), *D. brevipes*, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) และ *Rastrococcus iceryoides* (Green)

2. **หนอนผีเสื้อ** ***Spalgis epius epius*** **Westwood (Lepidoptera : Lycaenidae)** พบตัวหนอนเป็นแมลงห้ำทำลายเพลี้ยแป้ง *D. neobrevipes*

ตัวหนอน มีขนาดเล็ก ลำตัวยาวประมาณ 5.0-10.0 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 3.0-3.5 มิลลิเมตร ลำตัวประกอบด้วยขนเล็กๆ ละเอียดและปกคลุมด้วยสารสีขาวคล้ายแป้ง ทำให้ดูคล้ายเพลี้ยแป้ง **ดักแด้**มีสีดำ ลักษณะคล้ายหอยตัวเล็กๆ **ตัวเต็มวัย**เป็นผีเสื้อกลางวันขนาดเล็ก ปีกด้านบนสีน้ำตาลแกมเทา ด้านล่างสีขาวอมเทา

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งสกุล *Dysmicoccus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 พบเพลี้ยแป้งสกุลนี้จำนวน 2 ชนิด คือ *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) และ *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley ซึ่งเพลี้ยแป้งทั้งสองชนิดสามารถจำแนกชนิดได้โดยดูลักษณะทางอนุกรมวิธานที่แตกต่างระหว่างชนิด ได้แก่ ลักษณะ ความยาว

และตำแหน่งของเส้นขนบริเวณด้าน หน้าวงแหวนที่ล้อมรอบช่องเปิดอวัยวะขับถ่าย และแผ่นแข็งที่ปรากฏอยู่ด้านบนและด้านล่างของปล้องท้องปล้องสุดท้าย

เพลี้ยแป้ง *D. brevipes* เป็นศัตรูสำคัญของสับปะรดพบบริเวณรากและโคนกาบใบ มีเขตการแพร่กระจายทางภาคตะวันออก ภาคตะวันตกและภาคใต้ โดยพบในเขตจังหวัดชลบุรี เพชรบุรี และชุมพร ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสับปะรด สำหรับ *D. neobrevipes* มีพืชอาศัยมากชนิดรวมทั้งสับปะรดด้วย พบดูดน้ำเลี้ยงบริเวณกิ่ง ใบ ดอก ผล มีเขตการแพร่กระจายทุกภาคของประเทศ นอกจากนี้พบแมลงศัตรูธรรมชาติจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ ด้วงเต่าในวงศ์ Coccinellidae จำนวน 1 ชนิด คือ *Crytolaemus montrouzieri* Mulsant เป็นแมลงห้ำของเพลี้ยแป้ง *D. brevipes* และหนอนผีเสื้อ ในวงศ์ Lycaenidae จำนวน 1 ชนิด คือ *Spalgis epius epius* Westwood เป็นแมลงห้ำของ *D. neobrevipes*

เนื่องจากแมลงห้ำทั้งสองชนิดมีขนาดเล็กและอาศัยปะปนอยู่ในกลุ่มของเพลี้ยแป้ง อีกทั้งตัวหนอนมีลักษณะที่คล้ายคลึงกับเพลี้ยแป้ง ดังนั้นในการตัดสินใจป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งจำเป็นต้องสังเกตกลุ่มของเพลี้ยแป้งเหล่านั้นว่ามีด้วงเต่าและหนอนผีเสื้อดังกล่าวอาศัยปะปนอยู่ด้วยหรือไม่ ถ้ามีควรเลือกสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งที่มีผลกระทบน้อยที่สุดต่อแมลงห้ำ หรือหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี ทั้งนี้เพื่ออนุรักษ์แมลงห้ำให้คงอยู่เพื่อสร้างความสมดุลในธรรมชาติต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ชลิดา อุณหวุฒิ บุปผา เหล่าสินชัย ศิริณี พูนไชยศรี และสมหมาย ชื่นราม. 2546. การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งศัตรูมังคุด, หน้า 723 – 743. ***ใน*** รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2546. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ชำนาญ พิทักษ์. 2541. มดในไร่สับปะรด. น.ส.พ.กสิกร 71 (5) : 435 – 436.

บุปผา เหล่าสินชัย. 2538. การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้งศัตรูกล้วยและแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยแป้ง, หน้า 116 – 128. ***ใน*** รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2538. กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

สมหมาย ชื่นราม. 2545. ด้วงเต่าในประเทศไทย. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.211 หน้า.

Beardsley, J.W. 1959. On the taxonomy of pineapple mealybugs in Hawaii, with a description of a previously unnamed species (Homoptera : Pseudococcidae). Proceeding of the Hawaiian Entomological Society 17 : 29 – 37.

Beardsley, J.W. 1965. Notes on the pineapple mealybug complex, with description of two species (Homoptera : Pseudococcidae). Proceedings of the Hawaiia Entomological Society 19 : 59 - 68.

Beardsley, J.W. 1975. Insects of Micronesia, Homoptera : Coccoidea Supplement. Insects of Micronesia 6 : 657 – 662.

Ben-dov, Y. 1994. *Pseudococcus cryptus* Hempel in Israel. Review of Agriculture Entomology82 (1) : 1197.

Cockerell, T.D.A. 1983. The West Indian species of *Dactylopius*. Entomologist 26 : 177 – 267.

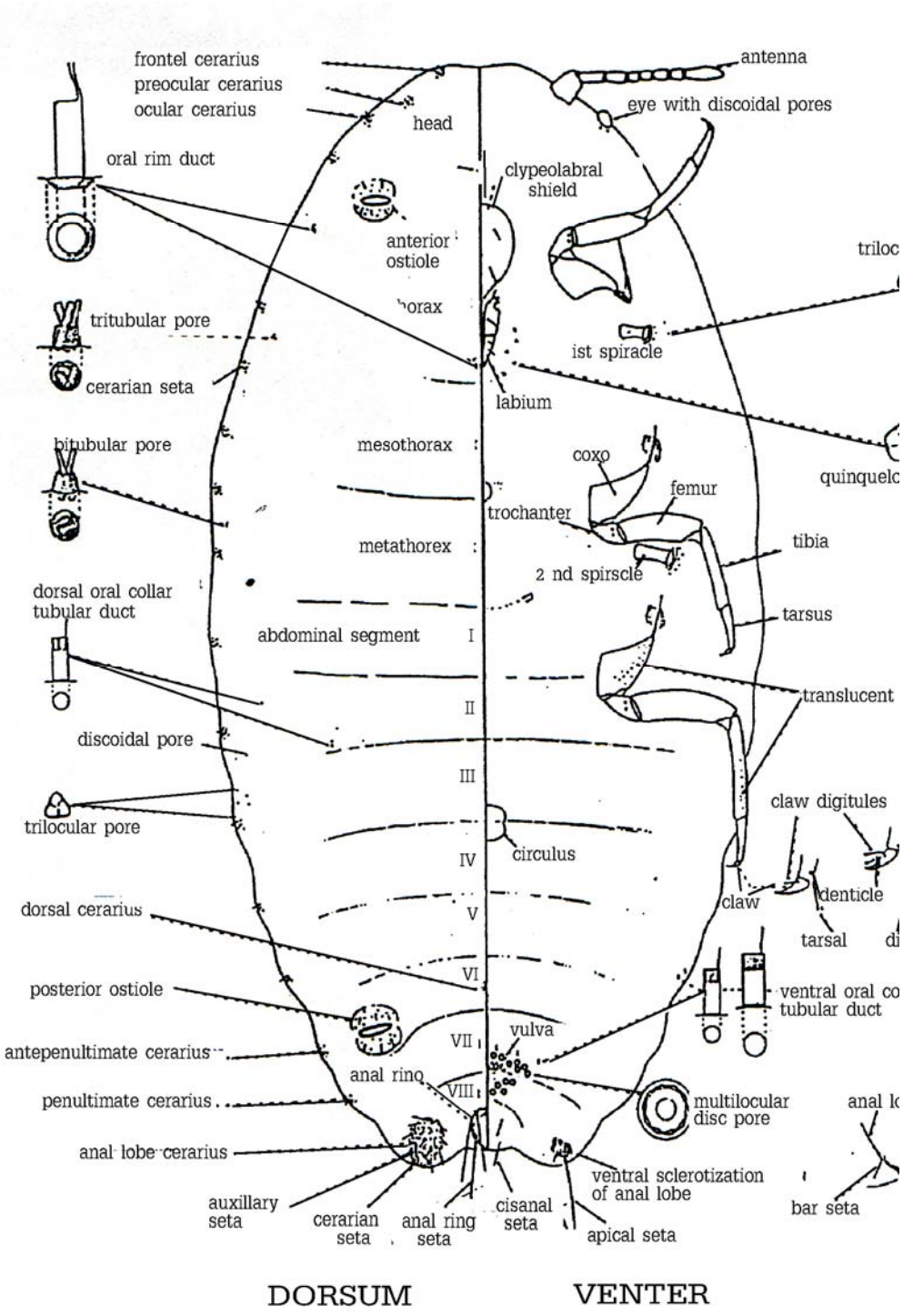
Fernald, M.E. 1903. A catalogue of the Coccidae of the world. Bulletin of the Hatch Agricultural Experiment Station 88 : 1 – 360.

Ferris, G.F. 1950. Atlas of the Scale Insects of North America. Series 5. The Pseudococcidae (Part 1). California Stanford University Press. California. 278 p.

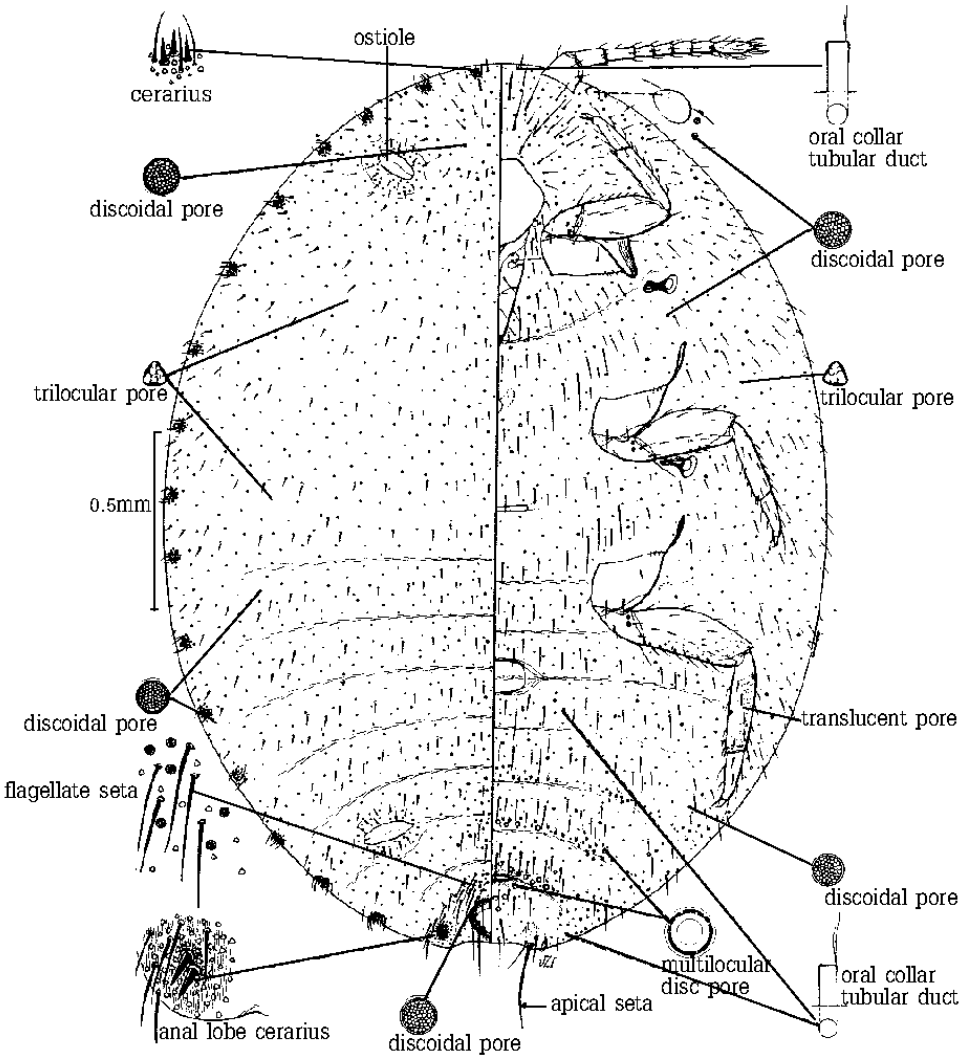
Mani, M., A. Krishnamoorthy and G.L.Patter. 1995. Biological control of the mango mealybug,*Rastrococcus iceryoides* (Green) (Homoptera : Pseudococcidae). Pest Management in Horticultural Ecosystem 1 (1) : 15 – 20.

McKenzie, H.L. 1967. Mealybugs of California with Taxonomy, biology and control of NorthAmerican species (Homoptera : Coccoidea : Pseudococcidae). University of California Press, Berkeley and Los Angeles. 534 pp.

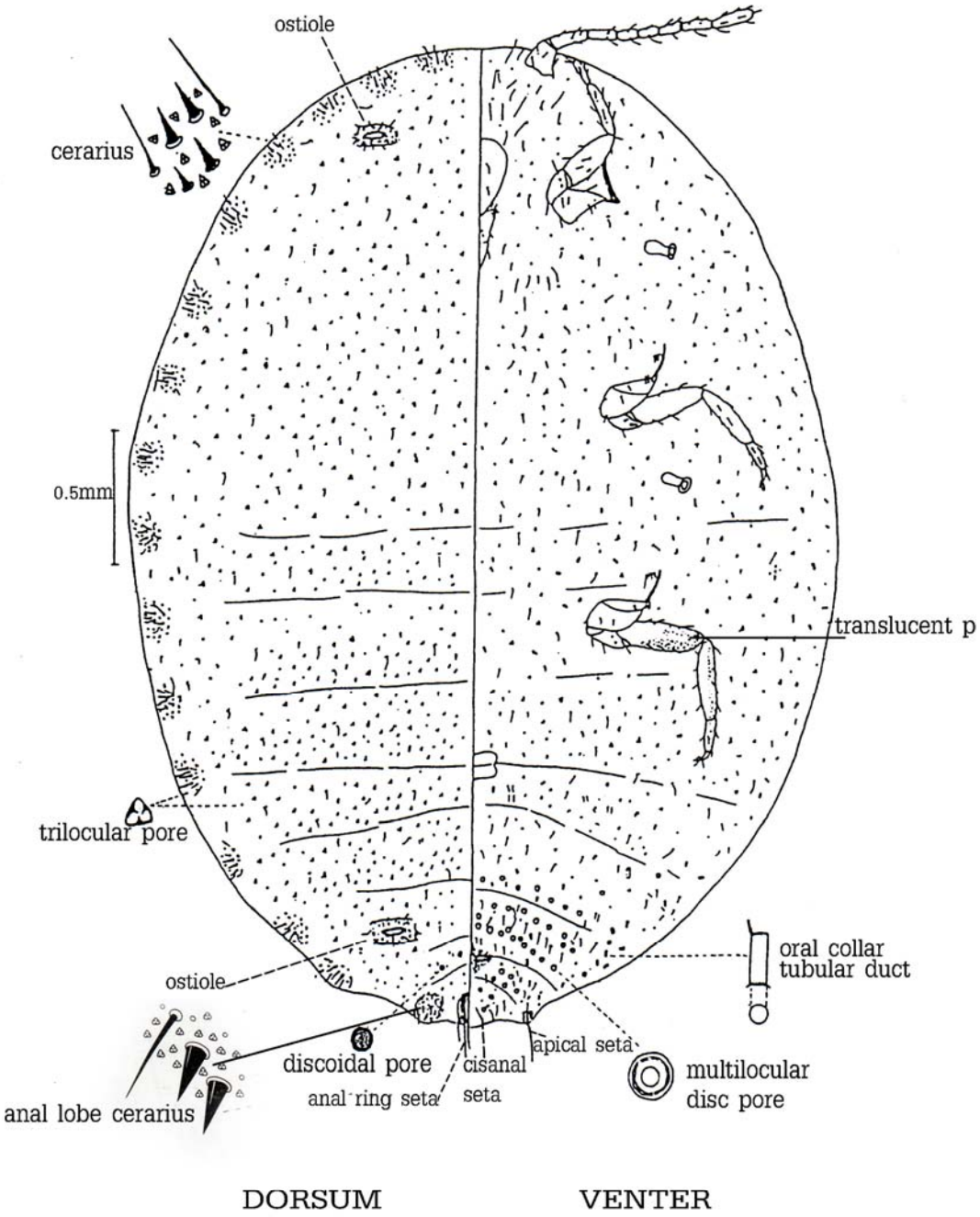
Williams, D.J. and G.W. Watson. 1988. The scale insects of the tropical South Pacific Region Part 2. The mealybugs (Pseudococcidae). CAB International Institute of Entomology, Wallingford. 260 p.



ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเพลี้ยแป้ง ตัวเต็มวัยเพศเมีย วงศ์ Pseudo
(Williams and Watson, 1988)



ภาพที่ 2 เพลี้ยแป้ง *Dysmicocous breipes* (Cockerell) ตัวเต็มวัยเพศ



ภาพที่ 3 **เพลี้ยแป้ง** *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley **ตัวเต็มวัยเพศเ**

Abstract

Study on Taxonomy of mealybugs in genus *Dysmicoccus* was conducted during October 2005 to September 2007. Specimens of mealybugs were collected from the various plants in different parts of Thailand. The collected mealybug specimens were permanently mounted on the Slides and identified under a compound microscope. Taxonomic study of these specimens found 2 species of *Dysmicoccus* in Thailand. They were *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) and *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley

Two species of insect natural enemies, *Crytolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera : Coccinellidae) and *Spalgis epius epius* Westwood (Lepidoptera : Lycaenidae) were predators of these mealybugs. *C. montrouzieri* was observed to prey on *D. brevipes* while *S. epius epius* was observed to prey on *D. neobrevipes*.

อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis*

Taxonomy of Aphids genus *Aphis*

ลักขณา บำรุงศรี ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2548 - กันยายน 2550 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนในสกุล *Aphis* ที่มีอยู่ในประเทศไทย จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร พบเพลี้ยอ่อนสกุล *Rhopalosiphum*, *Aphis*, *Macrosiphum*, *Pseudoregma* และ *Astegopteryx* จากการจำแนกชนิดพบเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* 2 ชนิด คือ *Aphis gossypii* Glover เป็นเพลี้ยอ่อนขนาด 0.9-1.1 มิลลิเมตร สีเหลืองอ่อน เหลืองอมเขียวจนถึงเขียวเข้ม หนวดสีอ่อน cauda สีอ่อนกว่า siphunculi และมีขน 4-7 เส้น *Aphis nerii* Boyer เป็นเพลี้ยอ่อนขนาด 1.0-1.1 มิลลิเมตร ลำตัวสีเหลือง cauda และ siphunculi สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ cauda มีขนมากกว่า 7 เส้น เพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* ทั้ง 2 ชนิด ทำลายพืชโดยดูดน้ำเลี้ยงอยู่ใต้ใบพืช ยอดอ่อน ดอกอ่อนและผลอ่อน

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก วงศ์ Aphididae อันดับ Homoptera แต่นักอนุกรมวิธานบางกลุ่มได้จัดอยู่ในอันดับ Hemiptera แมลงวงศ์นี้มีลักษณะพิเศษ คือตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบใช้เพศและแบบไม่ใช้เพศ (parthenogenesis) ทำให้เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้งมีมดบางชนิดอาศัยร่วมอยู่ด้วยและเป็นตัวช่วยกระจายเพลี้ยอ่อนจากส่วนหนึ่งของพืชไปยังอีกส่วนหนึ่ง หรือจากพืชต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่ง เพลี้ยอ่อนทำลายพืชโดยดูดน้ำเลี้ยงอยู่ใต้ใบพืช ส่วนอ่อน ๆ ของพืช เช่น ยอดอ่อน ดอกอ่อนและผลอ่อน ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบย่น ผลบิดเบี้ยวใบและผลที่ถูกทำลายจะแห้งและร่วงไปในที่สุด ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ชะงักการเจริญเติบโต หรือบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยอ่อนยังขับถ่ายของเหลวมีลักษณะเป็นน้ำเหนียว ๆ เรียกว่า มูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วปกคลุมใบและผล ใบจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ สำหรับผลจะสกปรกเนื่องจากมูลน้ำหวานและราดำ ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ เพลี้ยอ่อนนอกจากจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืชแล้วยังเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชบางชนิด เช่น โรคใบหงิกในฝ้าย โดยเพลี้ยอ่อนที่ดูดกินน้ำเลี้ยงต้นพืชที่เป็นโรค เชื้อไวรัสจากต้นพืชจะเข้าไปอยู่ในตัวเพลี้ยอ่อน เมื่อเพลี้ยอ่อนไปดูดกินพืชต้นอื่นเชื้อไวรัสจะถูกถ่ายไปกับน้ำลายทำให้พืชต้นนั้นเป็นโรคด้วย

ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนในสกุล *Aphis* แต่ละชนิด สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยอ่อนดังกล่าว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* ที่รวบรวมได้
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อน ได้แก่ ขวดเก็บตัวอย่าง น้ำยาดอง พู่กันและกล่องพลาสติกขนาดต่าง ๆ
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่าง ๆ เช่น potassium hydroxide, alcohol, lactic acid, glacial acetic acid, xylene, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิเมตร เตาไฟฟ้า (hot plate) ตู้อบแผ่นสไลด์แก้ว แผ่นสไลด์แก้วและ cover slip

4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope อุปกรณ์กล้องถ่ายภาพ และฟิล์ม

5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ดินสอ ยางลบ กระดาษกราฟ ปากกา Rotring และกระดาษเขียนแบบ

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยอ่อน

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ ใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบางส่วนใส่ขวดดองตัวอย่างแมลงที่บรรจุน้ำยาสำหรับดองเพลี้ยอ่อนซึ่งประกอบด้วย alcohal 80% + lactic acid 75% อัตรา 2 : 1 ส่วน บันทึกสถานที่ วัน เดือน ปีที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่างบนกระดาษไขเขียนแบบใส่ลงในขวดดองตัวอย่างแมลงแต่ละขวด เก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนอีกส่วนหนึ่งรวมทั้งพืชอาหารใส่ในกล่องพลาสติกใสที่ฝากล่องบุด้วยลวดตาข่ายตาถี่ พร้อมกับบันทึกรายละเอียดปิดไว้ที่กล่องพลาสติกเช่นเดียวกับที่ใส่ลงในขวดดองตัวอย่างเพลี้ยอ่อน ถ่ายภาพลักษณะอาการของพืชที่ถูกทำลายในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อจำแนกชนิด และศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิด

2. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากข้อ 1. มาตรวจลักษณะภายนอกของเพลี้ยอ่อนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่าง ๆ เช่น รูปร่างลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น

3. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากขวดดองตัวอย่างแมลงมาทำสไลด์ถาวร โดยวิธีการของ Blackman and Eastop (1994) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.1 ย้ายเพลี้ยอ่อนจากขวดดองลงในหลอดแก้วที่มีแอลกอฮอล์ 80% นำไปต้มใน water bath นาน 1 – 2 นาที

3.2 ดูดแอลกอฮอล์ออก เติม KOH 10% สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 3 – 5 นาที

3.3 ดูด KOH ออก ล้างตัวอย่างโดยเติมน้ำกลั่นลงไปทิ้งไว้ 5 นาที ทำซ้ำ 5 – 6 ครั้ง

3.4 ดูดน้ำกลั่นออก เติม glacial acetic สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที ดูด glacial acetic ออก ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง

3.5 เติม clove oil ลงไป ทิ้งไว้ 10 – 20 นาที จนตัวอย่างใส ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบนของเพลี้ยอ่อน และรีดเอาของเหลวภายในตัวออก

3.6 หยด canada balsam เพียงเล็กน้อยลงบนกึ่งกลางแผ่นสไลด์แก้วที่สะอาด เขี่ยเพลี้ยอ่อนลงในหยด canada balsam โดยคว่ำหน้าลง จัดหนวดและขาให้เข้าที่ นำ cover slip จุ่มใน xylene ปิดอย่าให้มีฟองอากาศ นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 7 – 15 วัน

4. ตรวจจำแนกชนิดของเพลี้ยอ่อน โดยนำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบนแผ่นสไลด์แก้วมาตรวจจำแนกชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง 600 เท่า ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ หนวด cauda, siphunculi หรือ cornical

5. วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดบนกระดาษกราฟ และลอกลงกระดาษไขเขียนแบบ

6. บันทึกชื่อชนิดของเพลี้ยอ่อนในสกุล *Aphis* ที่สำรวจพบ พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิด

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2548 - เดือนกันยายน 2550

สถานที่ : 1. แหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลการทดลองและวิจารณ์

เพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* เป็นแมลงในอันดับ Hemiptera วงศ์ Aphididae วงศ์ย่อย Aphidinae เป็นแมลงที่มีขนาดตัวเล็ก (ประมาณ 1 มิลลิเมตร) รูปร่างลักษณะทั่วๆ ไป ดูจากรูปที่ 1 เพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae มีหนวดเรียวยาว ยาวมากกว่า 0.3 เท่าของลำตัว ส่วนหัวและอกแยกออกจากกัน ตาเป็นตารวมประกอบด้วยเซลล์ตา (facet) หลายเซลล์ (multifacets) เพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae แบ่งเป็น 2 เผ่า (Tribe) คือ Macrosiphini และ Aphidini เพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* อยู่ในเผ่า Aphidini

เพลี้ยอ่อนในเผ่า Macrosiphini ร่องหนวดพัฒนาดี (รูปที่ 2 ก) และไม่มีตุ่มข้างลำตัว (abdominal tubercle) ส่วนในเผ่า Aphidini ร่องหนวด (antennal tubercle) ไม่ค่อยพัฒนาหรือพัฒนาน้อย (รูปที่ 2 ข) ด้านข้างส่วนท้องปล้องที่ 1-7 มีตุ่มเล็กๆ (abdominal tubercle) ปล้องละตุ่ม (รูปที่ 2 ค) จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร พบเพลี้ยอ่อนสกุล *Rhopalosiphum*, *Aphis, Macrosiphum, Pseudoregma* และ *Astegopteryx* จากการจำแนกชนิดพบเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* 2 ชนิด คือ *Aphis gossypii* Glover จากเฟื่องฟ้า ชวนชม เทียนทอง สาบเสือ พริก และ *Aphis nerii* Boyer จากต้นรัก และยี่โถ

Aphis gossypii Glover, 1877

ชื่อสามัญ เพลี้ยอ่อนฝ้าย Cotton Aphid, Melon Aphid

รูปร่างลักษณะ

พวกไม่มีปีก

มีขนาด 0.9-1.1 มิลลิเมตร อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม สีเหลืองอ่อน สีเหลืองอมเขียวจนถึงสีเขียวเข้มและสีดำ หัวสีเหลืองอมน้ำตาลหรือเหลืองอ่อน สีค่อยๆจางมาทางส่วนอกและท้อง ตาสีน้ำตาลดำ หนวดปล้องแรก (scape) สีเหลืองอมน้ำตาล หนวดปล้องที่ 2 (pedicel) สีจางลง หนวดปล่องที่ 3, 4, 5 และ 6 มีสีเหลืองแกมขาว

หัว มีขนาดเล็ก vertex โค้ง frontal tubercle ยื่นออกมาแต่ไม่ยาวเลย vertex หนวดปล้องที่ 6 มี processus terminalis ยาวกว่าส่วนฐานน้อยกว่า 3.5 เท่า (ภาพที่ 4)

ลำตัวเป็นรูปไข่ เรียวไปทางด้านหัว ท้องสีเหลืองแกมเขียว siphunculi สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ cauda สีอ่อนแต่เข้มกว่าสีของลำตัว มีขน 4-7 เส้น (ภาพที่ 4)

ขา สีขาวอมเหลือง ตอนปลายของต้นขา (femur) ที่ต่อกับหน้าแข้งสีเข้มขึ้น ปลายหน้าแข้ง (tibia) ที่ต่อกับเท้า (tarsus) และเท้าสีน้ำตาลเข้มหรือดำ เท้าปล้องแรกและเล็บ (claw) สีดำ

Aphis nerii Boyer, 1841

ชื่อสามัญ Oleander Aphis

รูปร่างลักษณะ

พวกไม่มีปีก

มีขนาด 1.0-1.1 มิลลิเมตร อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม สีเหลือง ตาสีดำ หนวดปล้องแรก (scape) และปล่องที่ 2 (pedicel) สีเทาดำ หนวดปล้องที่ 3, 4, 5 และ 6 สีเข้มกว่า

หัว มีขนาดเล็ก vertex โค้ง frontal tubercle ยื่นออกมาแต่ไม่ยาวเลย vertex หนวดปล้องที่ 6 มี processus terminalis ยาวกว่าส่วนฐาน 3.5 เท่า (ภาพที่ 5)

ลำตัวเป็นรูปไข่ เรียวไปทางด้านหัว สีเหลือง siphunculi และ cauda สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ cauda มีขนมากกว่า 7 เส้นแต่ไม่เกิน 20 เส้น (ภาพที่ 5)

ขา สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ยกเว้นปล้องฐานขา (coxa) มีสีเหลือง เท้า (tarsus) และเล็บ (claw) สีดำ

สรุปผลการทดลอง

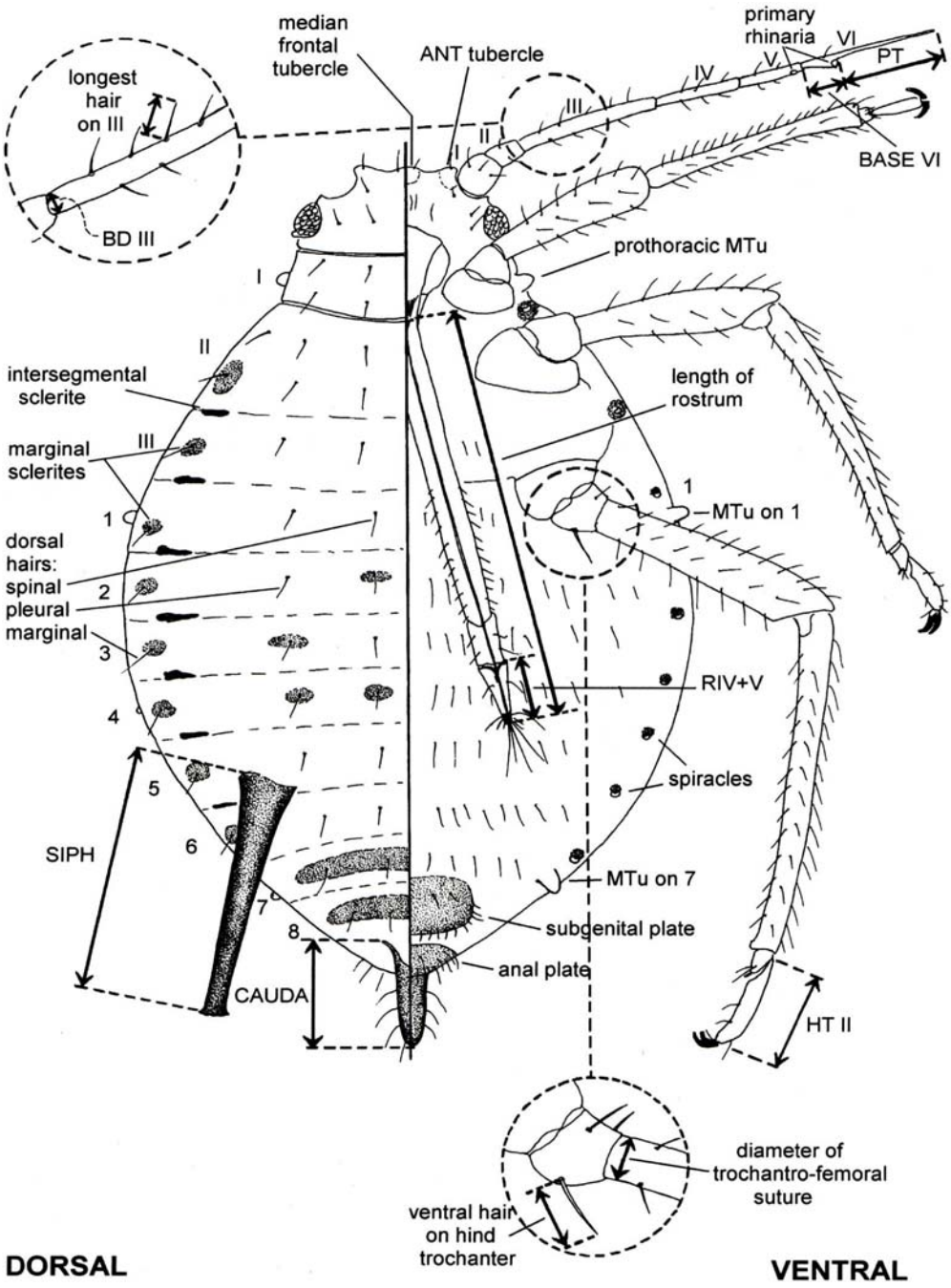
พบเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis* 2 ชนิด คือ *Aphis gossypii* Glover มีสีเหลืองอ่อน เหลืองปนเขียวจนถึงเขียวเข้ม หนวดสีอ่อน cauda สีอ่อนกว่า siphunculi และมีขน 4-7 เส้น *Aphis nerii* Boyer ลำตัวสีเหลือง cauda และ siphunculi สีน้ำตาลเข้มเกือบดำ cauda มีขนมากกว่า 7 เส้น

เอกสารอ้างอิง

Blackman, R.L.and V.F.Eastop. 2000. Aphids on the World's Crops : An Identification and Information Guide. John Wiley & Sons, West Sussex, England. 466 pp.

Blackman, R.L.and V.F.Eastop. 2006. Aphids on the World's Herbaceous Plants and Shrubs. Volume 1 Host Lists and Keys. John Wiley & Sons, West Sussex, England. 1024 pp.

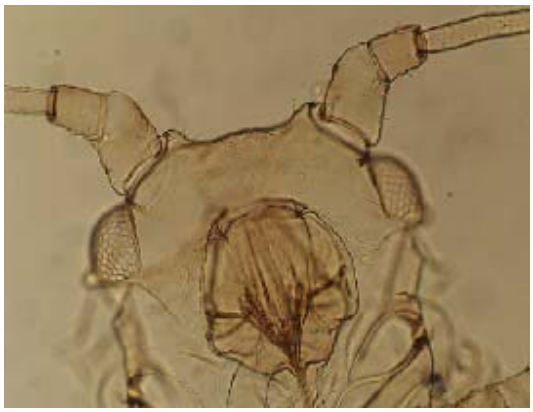
Sirikajornjaru, W. 2002. Taxonomic Study of Aphids (Homoptera : Aphididae) in Northern Thailand. A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy (Biology), Mahidol University, Bangkok. 325 pp



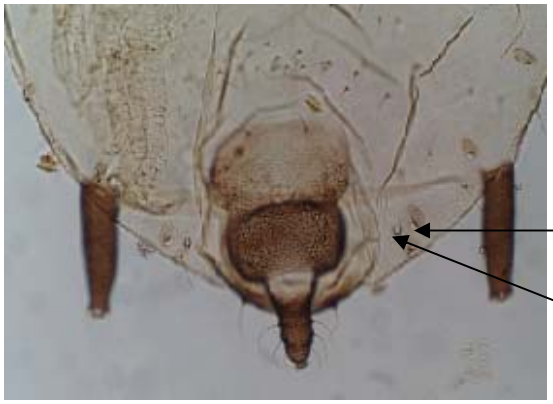
ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปทางสัณฐานวิทยาของเพลี้ยอ่อน

ที่มา Blackman และ Eastop 2006

ก



ข



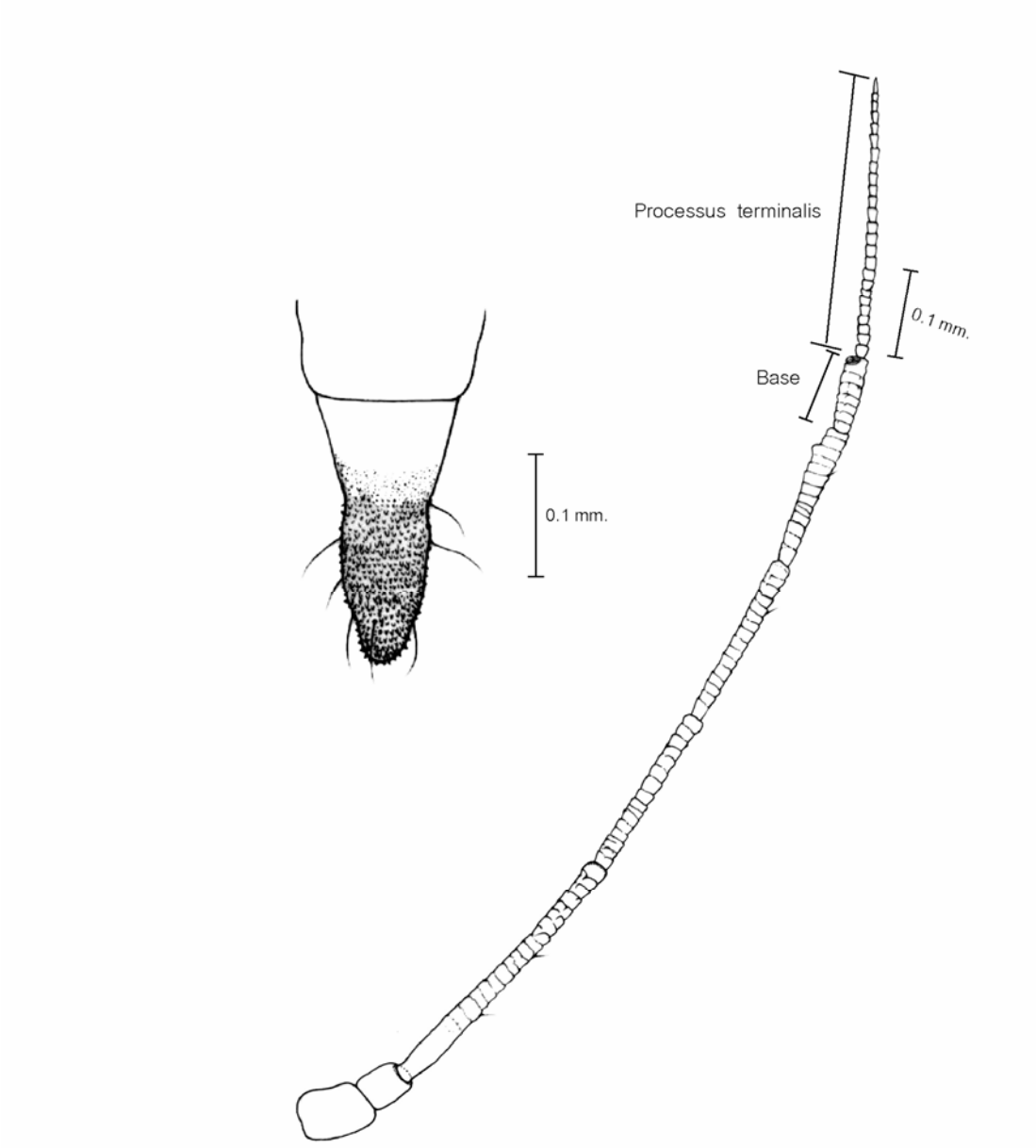
ค

ภาพที่ 2 ก. ลักษณะร่องหนวดของเพลี้ยอ่อนเผ่า Macrosiphini
ข. ลักษณะร่องหนวดของเพลี้ยอ่อนเผ่า Aphidini
ค. ตำแหน่งของ abdominal tubercle และรูหายใจของเพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis*

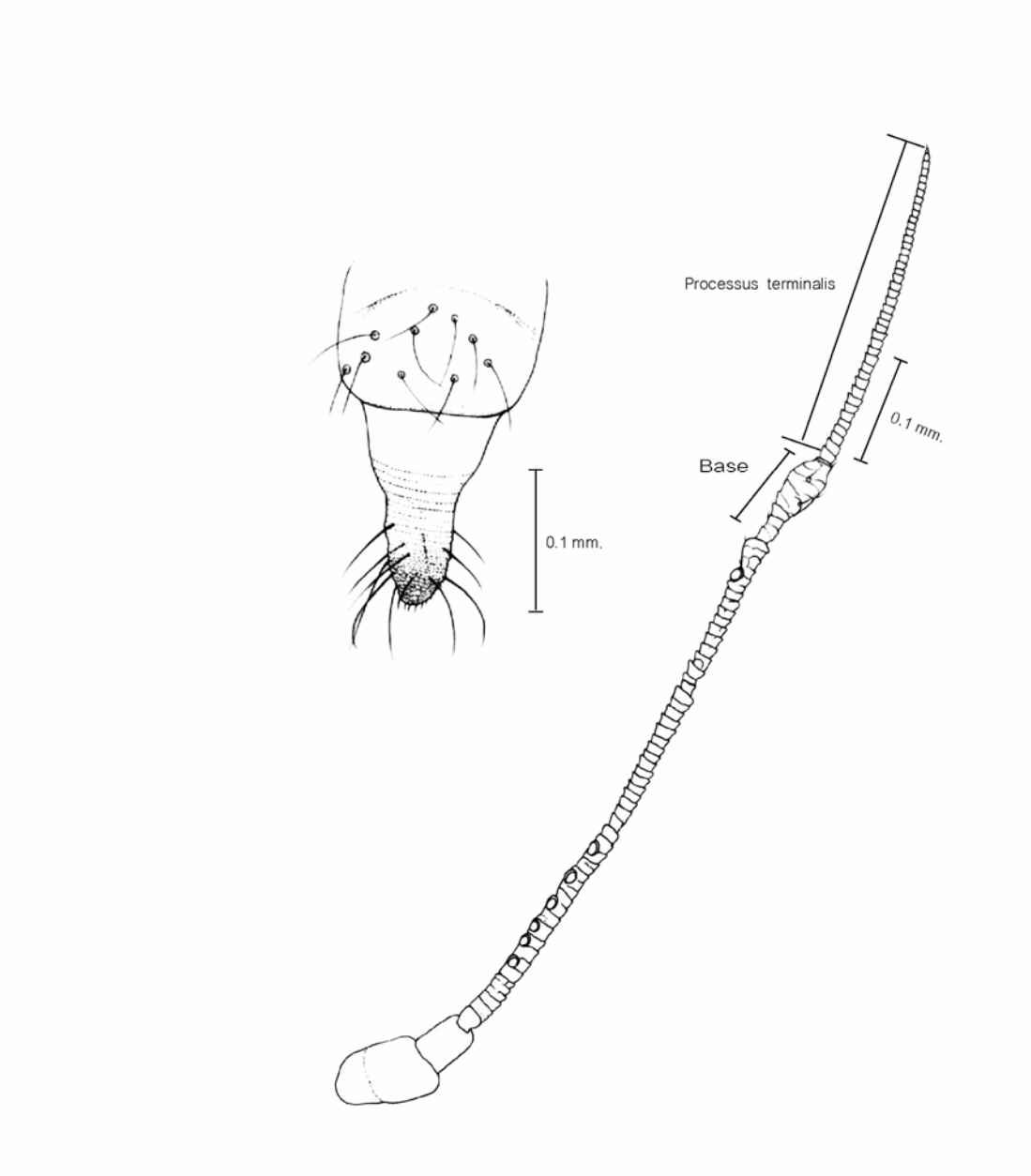
เพลี้ยอ่อนรัก *Aphis nerii* Boyer

เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover

ภาพที่ 3 เพลี้ยอ่อนสกุล *Aphis*



ภาพที่ 4 Cauda และหนวดของ *Aphis gossypii* Glover



ภาพที่ 5 Cauda และหนวดของ *Aphid nerii* Boyer

Abstract

Study on taxonomy of aphids genus *Aphis* were conducted during September 2005 to October 2007. Aphids were collected from many crops growing in Phetchaburi, Kanchanaburi, Nonthaburi, Nakhon Ratchasima, Chiang Mai, Chiang Rai, Chanthaburii and Bangkok. These specimens had been mounted to permanent slides for identifying under a compound microscope. The genus of aphids were found as follows : *Rhopalosiphum, Aphis, Macrosiphum, Pseudoregma* and *Astegopteryx.* The genus *Aphis* were found as A*phis gossypii* Glover and *Aphis nerii* Boyer.

อนุกรมวิธานของด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae และ Alticinae วงศ์Chrysomelidae

Taxonomy of the Beetle Subfamily Hispinae and Alticinae Family Chrysomelidae

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

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานด้วงวงศ์ย่อย Hispinae และ Alticinae วงศ์ Chrysomelidae ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 ได้ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงวงศ์ย่อย Hispinae และ Alticinae จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ เพื่อนำมาศึกษาด้านอนุกรมวิธาน เมื่อนำมาจัดรูปร่างและทำการวิเคราะห์ชนิดพบด้วงวงศ์ย่อย Hispinae เผ่า (Tribe) Coelaenomenoderini ได้แก่ ด้วงชอนใบสิบสองปันนา หรือด้วงชอนใบอินทผาลัม ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Javeta pallida* Baly ทำลายพืชโดยการชอนใบ ไข่ฝังในเนื้อเยื่อพืชโผล่ให้เห็นบางส่วน หนอนชอนอยู่ใต้ผิวใบพืช ดักแด้จะอยู่ในใบพืชเช่นกัน พบทำลายใบอินทผาลัม ที่อำเภอ บางละมุง จังหวัดชลบุรี และเขตจตุจักร กรุงเทพฯ พบชอนใบสิบสองปันนาเขตจตุจักร และเขตพญาไท กรุงเทพฯ ใบที่ถูกทำลายจะเป็นรอยไหม้แห้งสีน้ำตาล อีกชนิดหนึ่งของด้วงวงศ์ย่อย Hispinae อยู่ในเผ่า Hispini กินใบพุดด่าง พบที่จังหวัดเชียงใหม่ ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dactylispa chinensis* Weise ลักษณะแตกต่างจากแมลงดำหนามข้าว*Dicladispa armigera* ซึ่งเป็นแมลงเผ่าเดียวกัน(Hispini)ตรงที่ *Dactylispa* มีหนามข้างละ 1 คู่ตรงขอบด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก(pronotum) ส่วนด้วงวงศ์ย่อย Alticinae พบทำลายพืชผัก ได้แก่ ด้วงหมัดผัก ชนิดที่พบในพื้นที่ปลูกผักจังหวัดกาญจนบุรี นนทบุรี สุพรรณบุรีเป็นด้วงหมัดผักแถบลาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phyllotreta flexuosa* Illiger หรือที่รู้จักกันในชื่อ *Phyllotreta sinuata* Stephens

---

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

การศึกษาด้านอนุกรมวิธานแมลง ทำให้ทราบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ สามารถนำไปค้นคว้าหาข้อมูลต่างๆ จากเอกสารที่ตีพิมพ์แล้ว สามารถนำเอาข้อมูลทางวิชาการที่มีอยู่แล้วไปทำการวิจัยเพิ่มเติม สามารถแก้ปัญหาได้ทันต่อเวลาและเหตุการณ์ การศึกษาข้อมูลด้านอนุกรมวิธานสามารถช่วยแก้ปัญหาในการระบาดของศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่น เมื่อมีการระบาดของแมลงศัตรูพืชทำให้สามารถตรวจสอบได้ทันทีว่าแมลงศัตรูพืชนั้นๆ คือชนิดอะไร มีชีวประวัติ และพฤติกรรมการทำลายพืชหรือผลผลิตอย่างไร ทำให้หาวิธีป้องกันกำจัดได้อย่างเหมาะสม ถูกต้องและรวดเร็ว นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ในด้านการบริการวิเคราะห์ชนิด และชื่อวิทยาศาสตร์ ให้แก่นักวิชาการภาครัฐ ภาคเอกชน และเกษตรกร นอกจากนั้นความสำคัญของงานด้านอนุกรมวิธานต่อการจัดทำพิพิธภัณฑ์ เป็นประโยชน์ในการศึกษาค้นคว้า อ้างอิง และการบริการตรวจจำแนกแมลง พรรณเพ็ญและคณะ (2548)ได้ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของด้วงในวงศ์ Chrysomelidae วงศ์ย่อย Hispinae เผ่า Cryptonychini ที่เป็นแมลงศัตรูพืชตระกูลปาล์มในประเทศไทยพบมี 3 สกุล 3 ชนิด ได้แก่ *Brontispa longissima* Gestro , *Octodonta subparallela* Spaeth และ *Plesispa reichei* Chapuis การศึกษาอนุกรมวิธานด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae และ Alticinae ทำให้ทราบชนิดหรือชื่อวิทยาศาสตร์ รวมทั้งลักษณะความแตกต่างระหว่างชนิด และได้ตัวอย่างด้วงวงศ์ย่อยดังกล่าว เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ สำหรับเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลและเป็นประโยชน์ในการหาวิธีการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

พู่กัน แอลกอฮอล์ 75 % กล่องพลาสติกใส สำลี กรรไกร เข็มปักแมลง ตู้อบ กล้องจุลทรรศน์

วิธีการทดลอง

ตรวจเอกสารเกี่ยวกับด้วงวงศ์ย่อย Hispinae และ Alticinae

วิธีการรวบรวมตัวอย่างและขั้นตอนการดำเนินงาน

1.สำรวจและเก็บรวบรวม ด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae และ Alticinae

วิธีการรวบรวมตัวอย่าง

- ใช้มือจับ หรือใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่ถูกทำลาย
- หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะหนอน แบ่งตัวอย่างนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

- การบันทึกข้อมูล บันทึกรายละเอียดของด้วง บันทึกข้อมูลสำคัญ อาทิ พืช / ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

2.เตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ โดยจัดรูปร่าง นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 - 60°C นำแมลงที่จัดรูปร่าง อบ เรียบร้อยแล้วไปตรวจวิเคราะห์ชนิด ตามหลักของอนุกรมวิธาน

3.จำแนกและวิเคราะห์ชนิดของ ด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae และ Alticinae โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวิเคราะห์ชนิดของแมลงดังกล่าว ของ Gressitt(1960, 1963) ประกอบกับเปรียบเทียบตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์ และการตรวจวิเคราะห์ใต้กล้องจุลทรรศน์

4.จัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดของ ด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae และ Alticinae และวาดภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธาน

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

เริ่มทำการทดลองเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 ณ แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ และห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสืบค้นข้อมูลจากเอกสาร Pierre และ Hawkeswood (1995) ได้กล่าวว่าด้วงวงศ์ย่อย (Subfamily) Hispinae วงศ์(Family) Chrysomelidae จะมีลักษณะการทำลายของหนอนแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มหนอนกินอยู่ในยอดใหม่ที่ยังไม่คลี่ ของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่นพืชตระกูลปาล์ม กลุ่มหนอนที่ฝังตัวในต้นพืช กลุ่มหนอนที่ชอนใบพืช เป็นต้น ตัวเต็มวัยของด้วงวงศ์ย่อย Hispinae จะกินใบในชั้น mesophyll parenchyma เป็นทางยาว ส่วนใหญ่หากินกลางคืน ยกเว้นบางชนิดหากินกลางวันคือ แมลงดำหนามข้าว *Dicladispa armigera* ในกลุ่มหนอนในวงศ์ย่อยนี้ ที่กินใบยอดที่ยังไม่คลี่ พรรณเพ็ญและคณะ(2548)ได้ทำการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานไปแล้ว พบว่าอยู่ในเผ่า (Tribe) Cryptonychini เป็นแมลงศัตรูพืชตระกูลปาล์ม พบมี3 สกุล 3 ชนิด ได้แก่ *Brontispa longissima* Gestro , *Octodonta subparallela* Spaeth และ *Plesispa reichei* Chapuis ตัวเต็มวัย และหนอนทำลายยอดที่ยังมี่คลี่ของมะพร้าว อินทผาลัม และพืชตระกูลปาล์มอื่นๆ

จากการทดลองสำรวจและเก็บตัวอย่าง ด้วงในวงศ์ย่อย Hispinae ในกลุ่มหนอนที่ชอนใบพืช ในพืชชนิดต่างๆได้แก่ พืชตระกูลปาล์ม พบด้วงชอนใบอินทผาลัม(date palm) ที่อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี โดยหนอนชอนกินอยู่ใต้ผิวใบ ที่ค่อนข้างหนา ชอนใบเป็นทางยาว เข้าดักแด้ในใต้ผิวใบนั้น เมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยจะอยู่ใต้ผิวใบระยะหนึ่งก่อนเจาะรูออกมาภายนอก เมื่อนำตัวเต็มวัยมาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน และวิเคราะห์ชนิดตามแนวทางการวิเคราะห์ของ

Gressitt (1960,1963) พบว่าเป็นด้วงในเผ่า Coelaenomenoderini ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Javeta pallida* Baly โดยด้วงตัวเต็มวัยในเผ่านี้ จะมีลักษณะคือ ขอบด้านข้างของสันหลังอกปล้องแรก (pronotum) และปีกไม่มีหนาม ปีกคู่หน้ามีรูเรียงเป็นแถวตามแนวยาวของปีก ส่วนหัวจะมีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยม ซึ่งต่างจากด้วงตัวเต็มวัยในเผ่าCryptonychini ตรงที่ส่วนหัวของด้วงเผ่า Cryptonychini มีอวัยวะรูปร่างคล้ายมงกุฎ(cephalic process)

นอกจากนั้นพบด้วงชอนใบอินทผาลัม ที่เขตจตุจักร และด้วงชอนใบสิบสองปันนา(dwarf date palm) ที่ เขตจตุจักร และเขตพญาไท กทม. นำมาวิเคราะห์ชนิดพบว่าเป็นด้วงในเผ่า Coelaenomenoderini มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Javeta pallida* จากรายงานของ Pierre และ Hawkeswood (1995) พบว่า *Javeta* ทำลายพืชหลายชนิดเช่นหมาก(*Areca*) หมากงาช้าง หรือหมากเจ(*Pinanga*) และสาคู (Sago palm ; *Metroxylon*) ที่เกาะ Java และ Sumatra ประเทศอินโดนีเซีย

ได้ทำการเก็บตัวอย่างด้วงวงศ์ย่อย Hispinae ในกลุ่มหนอนด้วงชอนใบ ที่ต้นพุดด่าง ตำบล แม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ได้ตัวเต็มวัยด้วงมาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน พบอยู่ในเผ่า Hispini แตกต่างจากเผ่าที่กล่าวมาแล้วคือ **ส่วนสันหลังอกปล้องแรก(pronotum) และปีกจะมีหนาม** นำมาวิเคราะห์ชนิดพบว่าชื่อ *Dactylispa chinensis* Weise ตรงกับรายงานของ Pierre และHawkeswood (1995) ที่กล่าวถึง พืชอาศัยของ *Dactylispa* ว่า หนอนจะชอนใบพืชตระกูลเดียวกับข้าว อ้อย(Gramineae) และ พุดซ้อน (Rubiaceae)

จากการตรวจสอบข้อมูลตัวอย่างแมลงสกุล *Dactylispa* พบว่า ด้วงสกุลนี้ มีพืชอาศัยกว้างมากในประเทศไทย พบในพืชชนิดต่างๆ เช่น นุ่น ทุเรียน พืชตระกูลหญ้า เป็นต้น

แนวทางการวินิจฉัยด้วงวงศ์ย่อย Hispinae

Key to tribes

1. -ด้านข้างของสันหลังอกปล้องแรก และปีกมีหนาม ..... ……..Hispini
   -ด้านข้างของสันหลังอกปล้องแรก และปีกไม่มีหนาม.....2
2. -ลำตัวส่วนมากไม่กว้าง ไม่เรียบ แบน จะมีลำตัวยาวปลายกว้าง.....3
   -ลำตัวกว้างมาก เรียบ และแบน สันหลังอกปล้องแรกกว้างมากมีขอบเห็นได้ชัด มีขนที่ขอบมุมฐานทั้ง2 ข้าง.....Callispini
3. - เล็บแยกเป็นคู่ divaricate สันหลังอกปล้องแรกมีรูปทรงค่อนข้างเป็นสี่เหลี่ยม คือความกว้างของด้านหน้าใกล้เคียงกับด้าน ปีกมีรู(puncture) เรียงเป็นแถวตามยาว หนวดแต่ละปล้องมีความยาวไม่สม่ำเสมอ femur ขาคู่หลังไม่ยาวมาก..... Coelaenomenoderini
   - เล็บเดี่ยว สันหลังอกปล้องแรกค่อนข้างเป็นทรงกระบอกด้านหน้านูน ปีกมียอดแหลม.....Eurispini

Key to species

1.ด้านข้างของสันหลังอกปล้องแรก และปีกไม่มีหนาม..... Tribe Coelaenomenoderini

-ส่วนหัวทู่สั้น อกและลำตัวสีส้ม ตาสีดำ ปีกมีรูเรียงเป็นแถวตามแนวยาว..... *Javeta*

2.ด้านข้างของสันหลังอกปล้องแรก และปีกมีหนาม ..... ……..…Tribe Hispini

-ขอบด้านหน้า(anterior margin)ของสันหลังอกปล้องแรก(pronotum)

มีขนข้างละ 1 คู่.....*Dactylispa*

-ขอบด้านหน้า(anterior margin)ของสันหลังอกปล้องแรก(pronotum)

ไม่มีขน.....*Dicladispa*

Javeta pallida Baly ,1858

Claasification :

Family Chrysomelidae

Subfamily Hispinae

Tribe Coelaenomenoderini

Synonyms (Maulik , 1919):

Javeta pallida, Baly , Cat. Hisp.1858, p. 108, pl. ii, f. 10,& pl. viii, f.3.

Distolaca flavida , Gestro ,Ann. Mus.Civ. Genova, 1911,p.16

ชื่ออื่น -

ชื่อสามัญ ด้วงชอนใบอินทผาลัม ด้วงชอนใบสิบสองปันนา

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

ตัวเต็มวัยจะวางไข่ใต้ผิวใบ หนอนจะชอนกินใต้ผิวใบ เนื้อเยื่อที่ถูกชอนจะแห้งเป็นสีน้ำตาลเป็นทางตามรอยที่กิน เข้าดักแด้ในใต้ผิวใบนั้น เมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยจะเจาะรูออกมาภายนอก ใบที่ถูกทำลายจะเป็นรอยแห้ง ไหม้ เป็นสีน้ำตาล

รูปร่างลักษณะ

ไข่ ยาวรี ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อพืช บริเวณส่วนผิวใบบางส่วน และมีบางส่วนโผล่ให้เห็นตามแนวยาวของไข่

หนอน มีขนาดลำตัวเฉลี่ย $2 \pm 0.1414 \times 8.34 \pm 0.8532$ มิลลิเมตร. สีส้ม ไม่มีขาส่วนหัวจะมีแผ่นสีน้ำตาลรอบๆส่วนปาก ลำตัวหนอนมี 11 ปล้อง (ภาพที่ 1.1)

ดักแด้ มีขนาดเฉลี่ย 3 x 6 มิลลิเมตร สีส้ม เห็นอวัยวะส่วนต่างๆ ชัด เช่น ปีก ขา หนวด เป็นต้น (ภาพที่ 1.2)

ตัวเต็มวัย ขนาดลำตัวเฉลี่ย 2 $\pm$ 0.2352 x 6.06 $\pm$ 0.2508 มิลลิเมตร สีส้ม (ภาพที่ 1.3)

ส่วนหัว ทู่สั้น หนวด 11 ปล้อง หนวดยาวเท่ากับ ความยาวของหัวบวกกับอก ส่วนหัวสีส้ม ตาสีดำ

ส่วนอก สันหลังอกปล้องแรก(pronotum)สีส้ม มีส่วนยาวมากกว่ากว้าง ด้านข้าง 2 ด้านค่อนข้างขนาน ส่วนหน้าที่ติดกับหัวแคบกว่าส่วนหลังเล็กน้อย อกด้านล่าง เรียบ สีเป็นมัน

ปีก ฐานปีกจะกว้างกว่าอกเล็กน้อย ปีกคู่หน้าแข็งมีรู(puncture)เล็กๆเรียงเป็นแถวเป็นระเบียบประมาณ 10 แถวตามความยาวของปีก เวลาหุบปีก ปีกคลุมมิดส่วนท้องค่อนข้างขนานปลายกลมมน

พืชอาศัยและเขตการแพร่กระจาย

แมลงชนิดนี้ทำลายพืชตระกูลปาล์มหลายชนิด เช่น อินทผาลัม สิบสองปันนา พบที่จังหวัดชลบุรี และ กรุงเทพมหานคร พืชในสกุลหมาก(*Areca*) ,หมากงาช้าง หรือหมากเจ (*Pinanga*) และสาคู (Sago palm ; *Metroxylon*) พบที่เกาะ Java และ Sumatra ประเทศอินโดนีเซีย (Pierre และ Hawkeswood ,1995) ทำลายพืชตระกูลปาล์มเมืองมาดราส อินเดีย (Maulik,1919)

Dicladispa armigera Olivier,1808

Claasification :

Family Chrysomelidae

Subfamily Hispinae

Tribe Hispini

Synonyms(Gresitt,1950) :

Hispa armigera Olivier

Dicladispa aenescens(Baly)

Hispa similis

Hispa aenescens Baly

Dicladispa similis (Uhmann)

Dicladispa armigera subsp. *yunnanica*

Dicladispa armigera subsp. *similis*

Dicladispa armigera subsp. *boutani*

ชื่ออื่น -

ชื่อสามัญ แมลงดำหนามข้าว rice hispa , paddy hispa , rice hispid , hispa , leaf beetle

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

ทำลายใบข้าว ทำให้เป็นขีดโปร่งแสง พบมากในช่วงฤดูฝน หลังฝนตกชุก หนอนกัดกินอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อในใบข้าว เห็นเป็นอุโมงค์เริ่มจากปลายใบข้าวด้านบน ลามมาสู่โคนใบ ใบเป็นสีขาวเหมือนรอยขูด เป็นทางยาวขนานกับเส้นกลางใบ พื้นที่สังเคราะห์แสงลดลง ใบเหี่ยว ต้นแคระแกรน ผลผลิตลดลง (สุวัฒน์และรจนา, 2542)

รูปร่างลักษณะ

หนอน ลำตัวแบน ขนาด 2.4 มม. สีเหลืองอ่อน ระยะหนอน 7 – 12 วัน เข้าดักแด้ในเนื้อเยื่อใบข้าว(สุวัฒน์และรจนา, 2542)

ดักแด้ 4 – 5 วัน(สุวัฒน์ และ รจนา,2542)

ตัวเต็มวัย ขนาดลำตัว 5.5 มม. รูปร่างป้อม สีดำแกมน้ำเงินเป็นเงา มีหนามแข็งแหลมที่ส่วน pronotum ข้างละ 4 อัน และมีหนามกระจายทั่วปีก

ส่วนหัว มีความยาวเท่ากับ ครึ่งหนึ่งของส่วนอก

ส่วนอก มีหนามข้างละ 4 อัน อยู่ด้านข้าง ตรงขอบด้านหน้าสันหลังอกปล้องแรก (anterior margin of pronotum) ไม่มีหนาม (ภาพที่ 2)

ปีก ฐานปีกกว้างกว่าส่วนอก อัตราส่วนความกว้างของอกกับความกว้างของฐานปีกเท่ากับ 3 : 5

พืชอาศัยและเขตการแพร่กระจาย(สุวัฒน์และรจนา, 2542)

นอกจากข้าวแล้ว ยังทำลายพืชตระกูลหญ้าหลายชนิดเช่น หญ้าไซ หญ้าข้าวนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู เป็นต้น และทำลายใบอ้อย เคยระบาดทำลายข้าวเป็นครั้งคราวในภาคกลาง และพบระบาดทำลายข้าวในประเทศเพื่อนบ้าน เช่น ลาว กัมพูชา เวียดนาม พม่า จีน มาเลเซีย เป็นต้น

Dactylispa chinensis Weise,1905

Claasification :

Family	Chrysomelidae
Subfamily	Hispinae
Tribe	Hispini

Synonyms (Gresitt, 1950) :

Dactylispa chinensis W., 1905,Arch. F. Naturg. 71,1 : 102 [1] ; Uhmann, 1938, Ent. Tidskr. 59: 227 [2] ; Uhmann, 1940 , Ent. Blatt. 36 : 126 [3]

D. gestroi Gress., 1938, Lingnan Sc. J1. 17 : 327 , pl. 11, fig 4 [4];1939, op.cit 18 : 203 [5] ; Syn. Nov.

ชื่ออื่น -

ชื่อสามัญ ด้วงดำหนามชอนใบ

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

หนอนและตัวเต็มวัย ชอนกินใบ ทำให้ใบเป็นรอยโปร่งแสง และขาดในที่สุด

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัย มีขนาด เฉลี่ย 2.11 $\pm$ 0.1387 X 4.13 $\pm$ 0.2079 มิลลิเมตร มีจุดสีดำบนสันหลังอกปล้องแรก และมีหนาม 2 คู่(ข้างละ 1 คู่) อยู่ที่ด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก (ภาพที่ 3) เป็นส่วนที่แสดงความแตกต่างจาก แมลงดำหนามข้าว *Dicladispa armigera* คือมีหนามที่ขอบด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรกข้างละ 1 คู่(ภาพที่ 2)

ด้านข้างของสันหลังอกปล้องแรก มีหนามข้างละ 4 อัน อันแรกขนาดเท่ากับอันที่ 4 อันที่ 2 และ3 ขนาดใกล้เคียงกัน metasternum สีน้ำตาลด้านๆ ไม่เป็นเงา มีหนามรอบๆขอบปีก หนามที่อยู่ตรงกลางปีก เรียงเป็นแนวเฉียง

พืชอาศัยและเขตการแพร่กระจาย

สกุล Dactylispa ในประเทศจีนมี 44 ชนิด บางชนิดพบที่ใบไผ่(Gresitt, 1950) จากการสำรวจเก็บตัวอย่าง ในประเทศไทย พบ *D. chinensis* ชอนใบ พุดด่าง ที่ตำบล แม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ นอกจากนั้นPholboon (1965) รายงานว่า *D. chinensis* และ *D. xanthespila* ชอนใบพุดซ้อน และ *D. leonardi* ชอนใบทุเรียน และนุ่น

Phyllotreta flexuosa **(Illiger,1794)**

Classification :

Family Chrysomelidae

Subfamily Alticinae

ชื่ออื่น(CAB,2003) *Phyllotreta sinuat*a (Stephens)

ชื่อสามัญ ด้วงหมัดผักแถบลาย Striped Flea Beetle

ความสำคัญและลักษณะการทำลาย

หนอนกัดกินราก ตัวเต็มวัยจะกัดกินส่วนใบ และต้นกล้าอ่อน ทำให้ใบเป็นรูพรุน จะชอบทำลายพืชผัก โดยเฉพาะพืชผักตระกูลกะหล่ำ พืชตระกูลกะหล่ำมีสาร sinigrin ซึ่งเป็นสารที่ด้วงหมัดผักชอบ(Pierre และ Hawkeswood ,1995)

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัย

ส่วนหัว หนวด 11 ปล้อง ส่วนหัวเล็กกว่าส่วนอก ส่วนหัวยาว 1 ใน 3 เท่าของส่วนอก

ส่วนอก สันหลังอกปล้องแรกและปีกไม่มีขนหนาแน่น tarsi ปล้องที่ 3เป็นรูปหัวใจ ส่วนปล้องสุดท้าย รูปร่างยาว และมีเล็บ 1 คู่อยู่ที่ปลาย ส่วนขาคู่ที่ 3 มี femur พองโต ใช้ในการกระโดด (ภาพที่ 4)

ปีก มีลายสีเหลือง และดำเป็นแถบบนปีกแข็งคู่หน้า (ภาพที่ 4)

พืชอาศัยและเขตการแพร่กระจาย

พบทั่วไปตามแหล่งปลูกผัก โดยเฉพาะพืชผักตระกูลกะหล่ำเช่น คะน้า กะหล่ำปลี กวางตุ้ง ผักกาดหัว ผักกาดเขียวปลี เป็นต้น ชนิดนี้พบที่จังหวัดกาญจนบุรี นนทบุรี และสุพรรณบุรี เป็นต้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงวงศ์ย่อย (Subfamily) Hispinae ของวงศ์ (Family) Chrysomelidae พบด้วงในเผ่า(Tribe) ต่างๆคือ เผ่า Coelaenomenoderini ได้แก่ ด้วงชอนใบสิบสองปันนา หรือด้วงชอนใบอินทผาลัม ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Javeta pallida* Baly ทำลายพืชโดยการชอนใบ ไข่ หนอน และดักแด้จะอยู่ในใบพืช ทำให้ใบอินทผาลัม และปาล์มสิบสองปันนา ที่ถูกด้วงชนิดนี้ชอนใบ เป็นรอยไหม้ แห้ง สีน้ำตาล โดยด้วงตัวเต็มวัยในเผ่านี้ จะมีลักษณะคือ ขอบด้านข้างของสันหลังอกปล้องแรก (pronotum) และปีกไม่มีหนาม ปีกคู่หน้ามีรูเรียงเป็นแถวตามแนวยาวของปีก ส่วนหัว ทู่ สั้น ต่างจากด้วงตัวเต็มวัยในเผ่าCryptonychini ตรงที่ส่วนหัวของด้วงเผ่า Crytonychini รูปร่างคล้ายมงกุฎ(cephalic process) นอกจากนั้นพบพบด้วงวงศ์ย่อย Hispinae เผ่า Hispini ได้แก่ แมลงดำหนามข้าว *Dicladispa armigera* ทำลายใบข้าว โดยหนอนกัดกิน ทำให้ใบเป็นขีดโปร่งแสง จากปลายใบ ลามมาโคนใบ อีกชนิดหนึ่งของด้วงในเผ่า Hispini พบกินใบพุดด่าง ที่จังหวัดเชียงใหม่ ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dactylispa chinensis* Weise ความแตกต่างของแมลง 2 ชนิดนี้คือ *Dicladispa* ไม่มีหนามที่ขอบด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก(pronotum) ส่วน *Dactylispa* มีหนามข้างละ 1 คู่ ที่ขอบด้านหน้าของสันหลังอกปล้องแรก จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วงวงศ์ย่อย Alticinae พบว่ามีด้วงชนิดที่ทำลายพืชผักตระกูลกะหล่ำ ได้แก่ ด้วงหมัดผักแถบลาย พบในพื้นที่ปลูกผักจังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดนนทบุรี และสุพรรณบุรี มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phyllotreta flexuosa* (Illiger) มีแถบลายเหลืองสลับดำ บนปีกคู่

หน้า ส่วน femur ขาคู่ที่ 3 ขยายใหญ่ ใช้กระโดด และได้ตัวอย่างแมลงชนิดต่างๆ ดังกล่าวเก็บในพิพิธภัณฑ์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คณะทำงานแมลงศัตรูผักที่ช่วยเก็บตัวอย่าง ด้วงหมัดผัก

เอกสารอ้างอิง

พรรณเพ็ญ ชโยภาส ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ รัตนา นชะพงษ์ ลักขณา บำรุงศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม ยุวรินทร์ บุญทบ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์. 2548. อนุกรมวิธานด้วงในเผ่า Cryptonychini วงศ์ Chrysomelidaeและการเก็บรักษา.รายงานผลการค้นคว้าวิจัย ปี 2548. กลุ่มงานอนุกรมวิธาน กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สุวัฒน์ รวยอารีย์ และ รจนา สุรการ. 2542. แมลงดำหนามข้าว . กสิกร 72(1) :17 - 21

Maulik ,S. 1919. Fauna of British India. Coleoptera ;Chrysomelidae : Hispinae and Cassidinae . Taylor and Francis,Red Lion Court, Fleet Street.

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

Gressitt ,J.L. 1960. Papuan-West Polynesian Hispine Beetles(Chrysomelidae).Pacific Insects. V.2(1):25

Gressitt ,J.L. and S. Kimoto . 1961. The Chrysomelidae (Coleopt,) of China and Korea-Part 1,2. Pacific Insects monograph 1A, 1B.

Gressitt ,J.L. 1963. Hispine Beetles from new Guinea. Pacific Insects. V.5(3):618

Howard ,F.W. , D. Moore , R.M. Giblin-Davis and R.G. Abad. Defoliators of Palms. In Insects on Palms. P. 87. CABI Publishing.400 pp.

Lever ,R.J.AW. 1969. Pests of Coconut Palm .Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.190 pp.

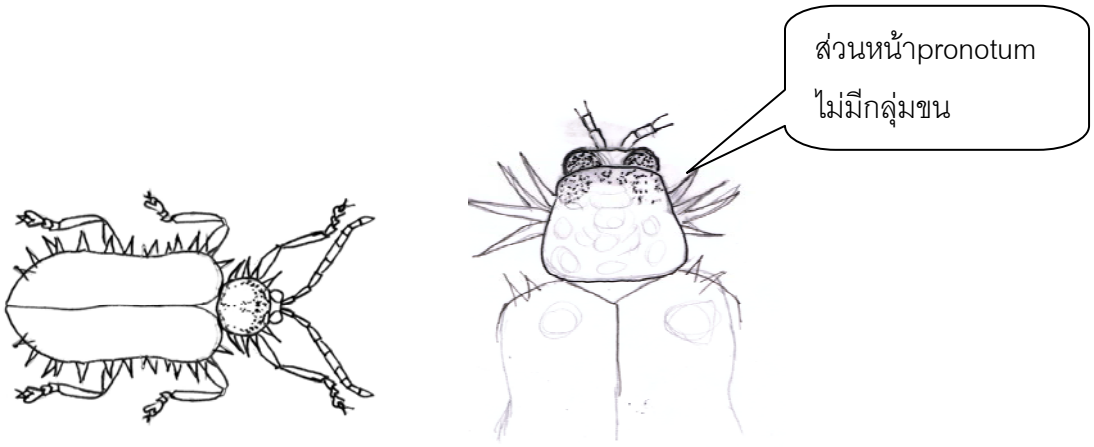
Pholboon P.1965. A Host lists of the insects of Thailand.Department of Agriculture.149 pp.

Pierre , J. and T. J. Hawkeswood. 1995. HOST – PLANTS OF CHRYSOMELIDAE OF THE WORLD. Backhuys Publishers , Leiden. 281pp.

หนอน ดักแด้ ตัวเต็มวัย

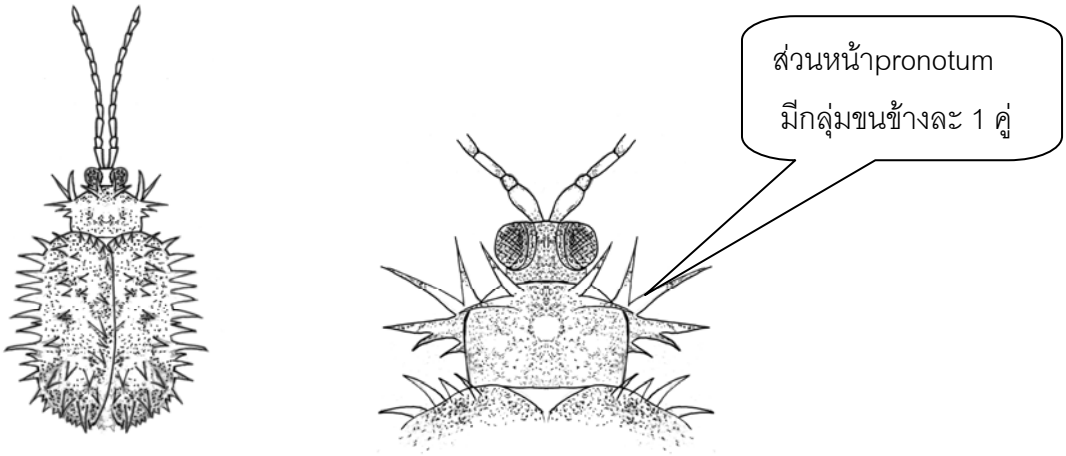
ภาพที่ 1 ด้วงชอนใบอินทผาลัม *Javeta pallida*

(Chrysomelidae;Subfam. Hispinae Tribe Coelaenomenoderini)



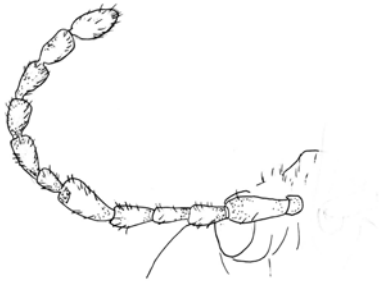
ภาพที่ 2 แมลงดำหนามข้าว *Dicladispa armigera*

(Chrysomelidae;Subfam. Hispinae Tribe Hispini)

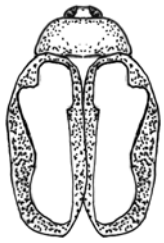


ภาพที่ 3 ด้วงชอนใบ *Dactylispa chinensis* Weise

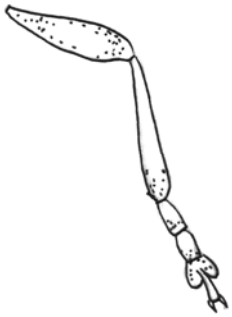
(Chrysomelidae;Subfam. Hispinae Tribe Hispini)



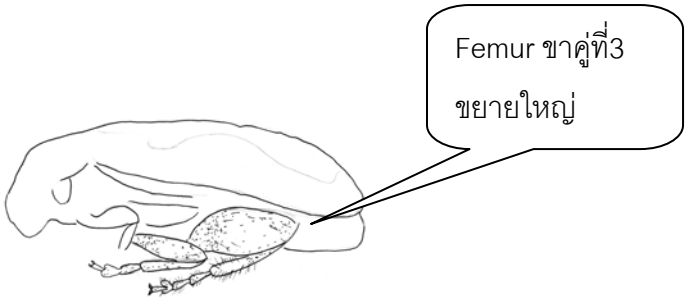
หนวด



ลวดลายบนปีกตัวเต็มวัย



ขาคู่ที่ 1 และ 2



ภาพที่ 4 ด้วงหมัดผัก *Phyllotreta flexuosa* (*P. sinuata*)

(Chrysomelidae;Subfam. Alticinae)

อนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* และ *Chromatomyia*

Taxonomy of the Dipteran Leaf Miner in Genus *Liriomyza* and *Chromatomyia*

รัตนา นชะพงษ์ ศิริณี พูนไชยศรี สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี
พรรณเพ็ญ ชโยภาส ชลิดา อุณหวุฒิ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* และ *Chromatomyia* ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 ได้ทำการสืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องทางด้านอนุกรมวิธาน สำรวจ รวบรวมตัวอย่างของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* และ *Chromatomyia* ในแหล่งปลูกพืช ภาคเหนือได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้แก่ จังหวัด อุดร หนองคาย และขอนแก่น ภาคกลางได้แก่ จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นครปฐม เพชรบุรี ราชบุรี และกาญจนบุรี และรวบรวมตัวอย่างจากบุคคลที่ส่งมาจำแนกชนิด นำตัวเต็มวัยมาจัดเก็บในหลอดแก้วที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70 % ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานและตรวจวิเคราะห์ชนิด พบแมลงวันหนอนชอนใบ 5 ชนิด ในสกุล *Liriomyza* และสกุล *Chromatomyia* โดยสกุล *Liriomyza* พบ 4 ชนิด คือ *Liriomyza sativae* Blanchard พบบนใบแตง ฝักทอง บวบ โหระพา แมงลัก และพิทูเนีย ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี และขอนแก่น *L.brassicae* (Riley) พบบนใบคะน้าที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร และนนทบุรี *L. huidobrensis* (Blanchard) พบบนใบเบญจมาศที่จังหวัดเชียงใหม่ *L. chinensis* (Kato) พบบนใบหอมที่จังหวัดกาญจนบุรี และสกุล *Chromatomyia* พบ 1 ชนิด คือ *Chromatomyia horticola* (Goureau) พบบนใบเบญจมาศที่จังหวัดเชียงใหม่ และได้จัดทำแนวทางการวิเคราะห์ชนิดพร้อมวาดภาพประกอบลักษณะที่สำคัญ

คำนำ

แมลงวันหนอนชอนใบสกุล (Genus) *Liriomyza* และสกุล *Chromatomyia* วงศ์ (Family) Agromyzidae อันดับ (Order) Diptera เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของพืชผักและไม้ดอกไม้ประดับ ทั้งในสภาพไร่และโรงเรือน(greenhouse) พบมีมากกว่า 300 กว่าชนิด(species) แต่พบมากได้ทั่วไปในเขตอบอุ่น มีถึง 136 ชนิดที่พบในยุโรป แต่มีเพียง 2 – 3 ชนิดที่พบในเขตร้อน (Spencer,1973) และได้มีการแพร่กระจายไปยังประเทศต่างๆ (Parella, 1987) รวมถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Lim, Sastrontomo & Loke, 1999) สำหรับประเทศไทยแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งที่เป็นปัญหาทั้งในไม้ดอกและไม้ประดับมาตั้งแต่ปี 2529 แต่ระบาด

รหัสโครงการ 09-02-49-01

รุนแรงมากขึ้นในปี 2540 (กอบเกียรติและอัมพร, 2544) นอกจากนี้กอบเกียรติและอัมพร (2544) ยังรายงานอีกว่า *Liriomyza trifolii* เป็นแมลงวันหนอนชอนใบที่ทำลายพืชผักในเขตภาคใต้ของประเทศไทย *L. sativae* ทำลายมะเขือเทศในเขตภาคกลาง และ *L. huidobrensis* ทำลายไม้ดอกไม้ประดับ หลายชนิดที่พระตำหนักภูพิงคราชนิเวศ จังหวัดเชียงใหม่ จะเห็นได้ว่าแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* ในประเทศไทยมีความสำคัญมากขึ้นเรื่อยๆ จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเร่งทำการศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันหนอนชอนใบสกุลนี้ เพราะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญที่จะสนับสนุนการศึกษาค้นคว้าวิจัยด้านอื่นๆ เช่นการแพร่ระบาด และการผันแปรประชากร เป็นต้น ซึ่งความรู้ทางด้านต่างๆเหล่านี้จะเป็นฐานข้อมูลในการวางยุทธศาสตร์และยุทธวิธีในการบริหารจัดการแมลงวันหนอนชอนใบสกุลนี้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ กรรไกร กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป

3. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงแมลงได้แก่ กล่องพลาสติก โหลพลาสติก สำลี กระดาษเนื้อเยื่อ

5. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

6. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บรักษาแมลง ได้แก่ ขวดแก้วดองแมลง แอลกอฮอล์ 70 % และกล่องใส่ตัวอย่างแมลง

7. ตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบ

วิธีการ

ตรวจเอกสารเกี่ยวกับแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* และ *Chromatomyia* ที่มีการรายงานไว้ในประเทศไทยและต่างประเทศ ทำการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงวันหนอนชอนใบจากนักวิชาการ ผู้มาขอรับบริการ และจากพืชต่างๆในสภาพธรรมชาติ โดยกิ่งหรือลำต้นพืชที่ใบมีแมลงวันหนอนชอนใบทำลายใส่ถุงพลาสติก นำกลับมาเลี้ยงต่อจนเป็นตัวเต็มวัยที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช นำตัวเต็มวัยแมลงวันหนอนชอนใบใส่ขวดดองที่มีแอลกอฮอล์ 70 % อยู่ภายใน นำตัวอย่างแมลงที่เตรียมได้นี้ไปจำแนกและวิเคราะห์ชนิด โดยการตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza และ Chromatomyia* จัดทำ

แนวทางวินิจฉัยชนิดของแมลงวันหนอนชอนใบที่พบ พร้อมวาดภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธาน

บันทึกรายละเอียดของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza และ Chromatomyia* บนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่จับและชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และบันทึกรายละเอียดข้อมูลสำคัญของแมลงวันหนอนชอนใบ และชนิดของพืชที่พบตัวอย่าง ถ่ายภาพแมลงที่ได้ศึกษา นำตัวอย่างแมลงที่ได้ศึกษาจัดเก็บเข้ากล่องใส่ตัวอย่างแมลง

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

สถานที่ แปลงปลูกพืชในแหล่งปลูกพืชต่างๆ และห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza และ Chromatomyia* อยู่ในวงศ์ Agromyzidae วงค์ย่อย (Subfamily) Phytomyzidae Division Schizophora Section Acalyptratae อันดับ Diptera ทำการศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 โดยสำรวจรวบรวมตัวอย่างของแมลงวันหนอนชอนใบในแหล่งปลูกพืช ภาคเหนือได้แก่จังหวัดเชียงใหม่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้แก่จังหวัด อุดร หนองคาย และขอนแก่น ภาคกลางได้แก่จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นครปฐม เพชรบุรี ราชบุรี และกาญจนบุรี พบแมลงวันหนอนชอนใบ 5 ชนิด คือ สกุล *Liriomyza* พบ 4 ชนิด ได้แก่ *Liriomyza sativae* (Blanchard) *L. brassicae* (Riley), *L. huidobrensis* (Blanchard) และ *L. chinensis* (Kato) และสกุล *Chromatomyia* พบ 1 ชนิด ได้แก่ *Chromatomyia horticola* (Goureau) ทำการบันทึกราย ละเอียดของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza และสกุล Chromatomyia* บนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่จับ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และชนิดของพืชที่พบตัวอย่าง

แมลงวันหนอนชอนใบวงศ์ Agromyzidae ระยะตัวเต็มวัยเป็นแมลงวันที่มีขนาดเล็กมีขนาดลำตัวยาว 1-3 มิลลิเมตร มีตาเดี่ยว (ocellus) ขนาดเล็ก 3 ตา เรียงเป็นรูปสามเหลี่ยม (ocellar triangle) ที่บริเวณกลางหน้าผาก มีขนที่บริเวณด้านหลังของตาเดี่ยว (postvertical bristle) ที่มุมฐานของรูปสามเหลี่ยม 1 คู่ โดยปลายขนแยกห่างจากกัน และอีก 1 คู่ที่บริเวณยอดของรูปสามเหลี่ยม (ocellar bristle) บริเวณหน้า (fron) มีเส้นตะเข็บส่วนหน้า (frontal suture) เป็นรูปตัวยูหัวกลับ มีขนแข็งสั้นที่ด้านข้างของปาก (oval vibrissae) 1 คู่ หนวดมี 3 ปล้อง ปล้องที่ 3 มีขนแข็ง (arista) 1 เส้น (ภาพที่ 1) แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอก (scutellum)ที่บริเวณส่วนปลายมีขน (apical bristle) 2 เส้นและมีอีก 2 เส้นที่บริเวณด้านข้างของส่วนฐาน (lateral bristle) ส่วนมากมีสี

เหลือง มีส่วนน้อยที่มีสีดำ มีขนจำนวนมากบนส่วนหัวและลำตัว ลำตัวมี 6 ปล้อง ปีกมีเส้นใต้ขอบปีก(sub costa หรือ Sc) ไม่สมบูรณ์โดยปลายเส้นไม่รวมกับฐานของเส้นรัศมี(radius)แต่อยู่ติดกับเส้นรัศมี เส้นขอบปีก (costa) ขาดที่บริเวณใกล้กับส่วนปลายของเส้นรัศมี 1 (R_1) เส้นกลางปีก 1+2 (M_{1+2}) ยาวไปสิ้นสุดที่ส่วนปลายสุดของปีก มี anal cell (ภาพที่ 2)

แมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* และ *Chromatomyia* สามารถจำแนกชนิดโดยใช้การวินิจฉัย (key) และรายละเอียดของแมลงวันหนอนชอนใบแต่ละชนิดที่ได้ปรับปรุงมาจากการศึกษาของ Spencer (1973) และ Mitsuhiro (1981)

แนวทางการวินิจฉัยชนิดแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* และ *Chromatomyia*

1. - สันหลังอกปล้องที่สอง (mesonotum)ที่บริเวณกลางปล้องระหว่างแถวของขนด้านสันหลัง (dorsocentral bristle)ไม่มีขนสั้นเรียงเป็นแถว (acrostichal bristle)ปีกไม่มี discal cell เส้นขอบปีก (costa) สิ้นสุดที่ปลายของเส้นรัศมี 4+5 (R_{4+5}) (ภาพที่ 3)……..
……..*Chromatomyia .horticola* (Goureau)

   - สันหลังอกปล้องที่สองที่บริเวณกลางปล้องระหว่างแถวของขนด้านสันหลังมีขนสั้นเรียงเป็นแถว ปีกมีdiscal cell เส้นขอบปีกสิ้นสุดที่ปลายของเส้นกลางปีก 1+2 (M_{1+2}) (ภาพที่ 4)...
.....*Liriomyza* sp……2

   - สันหลังอกปล้องที่สองมีสีดำมันวาว.....3

   - สันหลังอกปล้องที่สองมีสีดำไม่มันวาว.....4

2. - หน้า (fron) และกระหม่อม (vertex) บริเวณด้านข้างมีสีเหลืองใส มีขนบนกระหม่อมอยู่ติดกับด้านข้างของตารวมที่ตาซ้าย 1 คู่ และตาขวา 1 คู่ โดยขนบนกระหม่อมแต่ละคู่จะตั้งอยู่ทางด้านนอก 1 เส้นและอยู่ทางด้านใน 1 เส้น ซึ่งขนบนกระหม่อมเส้นนอก(outer vertical bristle)ตั้งอยู่บนพื้นสีดำ ขนบนกระหม่อมเส้นใน(inner vertical bristle)ตั้งอยู่บนพื้นสีเหลือง.....*Liriomyza sativae* Blanchard

   - หน้าและกระหม่อมบริเวณด้านข้างมีสีเหลืองอมน้ำตาล ขนบนกระหม่อมเส้นนอก และ ขนบนกระหม่อมเส้นในตั้งอยู่บนพื้นสีเหลืองอมน้ำตาล.....*L. brassicae* (Riley)

4. - ปีกมี discal cell ขนาดใหญ่ หนวดปล้องที่ 3 มีขนาดค่อนข้างใหญ่สีเหลืองอมน้ำตาล บริเวณส่วนยอดของปล้องมีลักษณะกลมมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 5) แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอก (scutellum) มีสีเหลืองใสที่บริเวณด้านข้างทั้งสองด้านมีแถบใหญ่สีดำ (ภาพที่ 6).....
……..…… *L. huidobrensis* (Blanchard)

   - ปีกมี discal cell ขนาดเล็ก หนวดปล้องที่ 3 มีขนาดเล็กสีเหลืองส่วนปลายยอดของปล้องมีลักษณะเป็นเหลี่ยม(angulate) (ภาพที่ 5) แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีเทาดำ.....
…… *L. chinensis* (Kato)

รายละเอียดของแมลงวันหนอนชอนใบแต่ละชนิดที่พบ

Chromatomyia horticola (Goureau, 1851)

(ภาพที่ 3)

ชื่ออื่น (synonym) *Phytomyza atricronis*

Phytomyza horticola Goureau, 1851

ชื่อสามัญ (common name) garden pea leaf miner

รูปร่างลักษณะ

หัว

หน้า (fron) มีสีเหลืองอมดำ บริเวณหลังตารวมมีสีดำ กระหม่อมบริเวณด้านข้างมีสีเหลืองอมดำ มีขนบนกระหม่อมอยู่ติดกับด้านข้างของตารวมที่ตาซ้าย 1 คู่ และตาขวา 1 คู่ โดยขนบนกระหม่อมแต่ละคู่จะตั้งอยู่ทางด้านนอก 1 เส้นและอยู่ทางด้านใน 1 เส้น ซึ่งขนบนกระหม่อมเส้นนอก (outer vertical bristle) ตั้งอยู่บนพื้นสีดำ และขนบนกระหม่อมเส้นใน (inner vertical bristle) ตั้งอยู่บนพื้นสีเหลืองอมดำ หนวดปล้องที่ 3 มีขนาดใหญ่สีดำส่วนยอดของปล้องมีลักษณะกลม

อก

สันหลังอกปล้องที่สอง (mesonotum) มีสีเทาดำไม่มันวาวและที่บริเวณกลางปล้องระหว่างแถวของขนด้านสันหลัง (dorsocentral bristle) ไม่มีขนสั้นเรียงเป็นแถว (acrostichal bristle) แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอก (scutellum) มีสีดำ ขาส่วนของปล้องฐานขา, ต้นขา, หน้าแข้งและฝ่าเท้ามีสีดำ ปีกไม่มี discal cell มี anal cell เส้นขอบปีก (costa) สิ้นสุดที่ปลายของเส้นรัศมี 4+5 (R_{4+5})

ท้อง

มี 6 ปล้อง แผ่นแข็งที่ด้านหลังของปล้องท้องมีสีดำ

แหล่งที่พบ

จังหวัดเชียงใหม่

พืชอาศัย

เบญจมาศ

Liriomyza sativae Blanchard, 1938

(ภาพที่ 4,5 และ6)

ชื่ออื่น (synonym) *Agromyza (Liriomyza) subpusilla* Frost, 1943

Liriomyza verbenicola Hering, 1951

Liriomyza pullata Frick, 1952

L. canomarginis Frick, 1952

L. minutiseta Frick, 1952

L. propepusilla Frost, 1954

L. munda Frick, 1957

L. guytona Freeman, 1958

ชื่อสามัญ (common name) vegetable leaf miner, cabbage leaf miner, tomato leaf miner, serpentine vegetable leaf miner

รูปร่างลักษณะ

หัว

หน้ามีสีเหลืองใส บริเวณหลังตารวมมีสีดำ กระหม่อมบริเวณด้านข้างมีสีเหลืองใส มีขนบนกระหม่อมอยู่ติดกับด้านข้างของตารวมที่ตาซ้าย 1 คู่ และตาขวา 1 คู่ โดยขนบนกระหม่อมแต่ละคู่จะตั้งอยู่ทางด้านนอก 1 เส้นและอยู่ทางด้าน ใน 1 เส้น ซึ่งขนบนกระหม่อมเส้นนอกอยู่บนพื้นสีดำ ขนบนกระหม่อมเส้นในอยู่บนพื้นสีเหลือง หนวดปล้องที่ 3 มีขนาดเล็กสีเหลืองใสส่วนยอดของปล้องมีลักษณะกลม

อก

สันหลังอกปล้องที่สองมีสีดำมันวาว และมีขนสั้นเรียงเป็นแถวที่กลางปล้องระหว่างแถวของขนด้านสันหลัง แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีเหลืองใสยกเว้นด้านข้างบริเวณส่วนฐานมีจุดสีน้ำตาลข้างละจุด ปล้องฐานขาและต้นขามีสีเหลืองใส ส่วนหน้าแข้งและฝ่าเท้ามีสีน้ำตาล ปีกมี discal cell เล็ก มี anal cell เส้นขอบปีกสิ้นสุดที่ปลายของเส้นกลางปีก 1+2 (M_{1+2})

ท้อง

มี 6 ปล้อง แผ่นแข็งที่ด้านหลังของปล้องท้องมีสีดำ

แหล่งที่พบ

จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปทุมธานี และ ขอนแก่น

พืชอาศัย

แตง ฝักทอง บวบ โหระพา แมงลัก และ พิทูเนีย

L. brassicae (Riley,1884)

(ภาพที่ 4 และ5)

ชื่ออื่น (synonym) *Oscinis brassicae* Riley,1884

Agromyza brassicae Riley,1884

Liriomyza cruciferarum Hering, 1927

Phytomyza mitis Curran, 1931

L. hawaiiensis Frick, 1952

L. bulnesiae Spence, 1963

L. ornephila Garg, 1971

ชื่อสามัญ (common name) cabbage leaf miner, cabbage serpentine leaf miner, serpentine leaf miner, north American cabbage leaf miner,

รูปร่างลักษณะ

หัว

หน้ามีสีเหลืองอมน้ำตาล บริเวณหลังตารวมมีสีดำ กระหม่อมบริเวณด้านข้างมีสีเหลืองอมน้ำตาล มีขนบนกระหม่อมอยู่ติดกับด้านข้างของตารวมที่ตาซ้าย 1 คู่ และตาขวา 1 คู่ โดยขนบนกระหม่อมแต่ละคู่จะตั้งอยู่ทางด้านนอก 1 เส้นและอยู่ทางด้าน ใน 1 เส้น ซึ่งขนบนกระหม่อมเส้นนอก และขนบนกระหม่อมเส้นในอยู่บนพื้นสีเหลืองอมน้ำตาล หนวดปล้องที่ 3 มีขนาดเล็กสีเหลืองส่วนยอดของปล้องมีลักษณะกลม

อก

สันหลังอกปล้องที่สองมีสีดำมันวาว และมีขนสั้นเรียงเป็นแถวที่กลางปล้องระหว่างแถวของขนด้านสันหลัง แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีเหลืองใส ปล้องฐานขาและต้นขามีสีเหลือง ส่วนหน้าแข้งและฝ่าเท้ามีสีดำ ปีกมี discal cell เล็ก มี anal cell เส้นขอบปีกสิ้นสุดที่ปลายของเส้นกลางปีก1+2

ท้อง

มี 6 ปล้อง แผ่นแข็งที่ด้านหลังของปล้องท้องมีสีดำ

แหล่งที่พบ

จังหวัดกรุงเทพมหานคร และ นนทบุรี

พืชอาศัย

คะน้า

***L. huidobrensis* (Blanchard, 1926)**

(ภาพที่ 4, 5 และ6)

ชื่ออื่น (synonym) *Liriomyza orbona* Meigen, 1830

Agromyza huidobrensis Blanchard, 1926

Liriomyza cucumifoliae Blanchard, 1938

L. langei Frick, 1951

L. decora Blanchard, 1954

L dianthi Frick, 1958

ชื่อสามัญ (common name) pea leaf miner, pea leaf South America leaf miner, potato leaf miner

รูปร่างลักษณะ

หัว.

หน้ามีสีเหลือง บริเวณหลังตารวมมีสีดำ กระหม่อมบริเวณด้านข้างมีสีเหลือง มีขนบนกระหม่อมอยู่ติดกับด้านข้างของตารวมที่ตาซ้าย 1 คู่ และตาขวา 1 คู่ โดยขนบนกระหม่อมแต่ละคู่จะตั้งอยู่ทางด้านนอก 1 เส้นและอยู่ทางด้าน ใน 1 เส้น ซึ่งขนบนกระหม่อมเส้นนอกและขนบนกระหม่อมเส้นในตั้งอยู่บนพื้นสีเทาดำ หนวดปล้องที่ 3 มีขนาดค่อนข้างใหญ่สีเหลืองอมน้ำตาล บริเวณส่วนยอดของปล้องมีลักษณะกลมสีน้ำตาล

อก

สันหลังอกปล้องที่สองมีสีดำไม่มันวาว และมีขนสั้นเรียงเป็นแถวที่กลางปล้อง ระหว่างแถวของขนด้านสันหลัง แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีเหลืองใสที่บริเวณด้านข้างทั้งสองข้างมีแถบใหญ่สีดำ ปล้องฐานขามีดำอมสีเหลือง ต้นขามีสีเหลืองและมีแถบลายสีน้ำตาลดำ หน้าแข้งและฝ่าเท้ามีสีดำ ปีกมี discal cellขนาดใหญ่ มี anal cell เส้นขอบปีกสิ้นสุดที่ปลายของเส้นกลางปีก 1+2

ท้อง

มี 6 ปล้อง แผ่นแข็งที่ด้านหลังของปล้องท้องมีสีน้ำตาลอมดำ

แหล่งที่พบ

จังหวัดเชียงใหม่

พืชอาศัย

เบญจมาศ

L. chinensis **(Kato, 1949)**

(ภาพที่ 4 และ 5)

ชื่ออื่น (synonym) *Dizygomyza cepae* ssp. *Chinensis* Kato, 1949

Phytobia (Cephalomyza) cepae

ชื่อสามัญ (common name) onion leaf miner

รูปร่างลักษณะ

หัว

หน้ามีสีเหลือง บริเวณหลังตารวมมีสีเหลือง กระหม่อมบริเวณด้านข้างมีสีเหลือง มีขนบนกระหม่อมอยู่ติดกับด้านข้างของตารวมที่ตาซ้าย 1 คู่ และตาขวา 1 คู่ โดยขนบนกระหม่อมแต่ละคู่จะตั้งอยู่ทางด้าน นอก 1 เส้นและอยู่ทางด้าน ใน 1 เส้น ซึ่งขนบนกระหม่อมเส้นนอกตั้งอยู่บนพื้นสีดำขนาดเล็ก และขนบนกระหม่อมเส้นในตั้งอยู่บนพื้นสีเหลือง หนวดปล้องที่ 3 มีขนาดเล็กสีเหลืองส่วนยอดของปล้องมีลักษณะเป็นมุม (angulate)

อก

สันหลังอกปล้องที่สองมีสีเทาดำไม่มันวาว และมีขนสั้นเรียงเป็นแถวที่กลางปล้องระหว่างแถวของขนด้านสันหลัง แผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอกมีสีเทาดำ ขาส่วนของปล้องฐานขาและต้นขามีสีเหลืองใส หน้าแข้งและฝ่าเท้ามีสีน้ำตาลดำ ปีกมี discal cell ขนาดเล็ก มี anal cell เส้นขอบปีกสิ้นสุดที่ปลายของเส้นกลางปีก 1+2

ท้อง

มี 6 ปล้อง แผ่นแข็งที่ด้านหลังของปล้องท้องมีสีดำ

แหล่งที่พบ

จังหวัดกาญจนบุรี

พืชอาศัย

หอม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza และ Chromatomyia* ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 พบแมลงวันหนอนชอนใบ 5 ชนิด ได้แก่สกุล *Liriomyza* และสกุล *Chromatomyia* โดยสกุล *Liriomyza* พบ 4 ชนิด คือ *Liriomyza sativae* Blanchard พบบนใบแตง ฝักทอง บวบ โหระพา แมงลัก และพิทูเนีย ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี และขอนแก่น *L. brassicae* (Riley) พบบนใบคะน้า ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร และนนทบุรี *L. huidobrensis* (Blanchard) พบบนใบเบญจมาศที่จังหวัดเชียงใหม่ *L. chinensis* (Kato) พบบนใบหอมที่จังหวัดกาญจนบุรี และสกุล *Chromatomyia* พบ 1 ชนิด คือ *Chromatomyia horticola* (Goureau) พบบนใบเบญจมาศที่จังหวัดเชียงใหม่ พร้อมได้จัดทำแนวทางการวิเคราะห์ชนิดพร้อมวาดภาพประกอบลักษณะที่สำคัญ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญและน่าสนใจของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza และ Chromatomyia* เพื่อที่จะสนับสนุนการศึกษาค้นคว้าวิจัยด้านอื่นๆเช่นการแพร่ระบาด และการผัน

แปรประชากร เป็นต้น ซึ่งความรู้ทางด้านต่างๆเหล่านี้จะเป็นฐานข้อมูลในการวางยุทธศาสตร์และยุทธวิธีในการบริหารจัดการแมลงวันหนอนชอนใบสกุลนี้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

CAB/EPPO. 1992. Data sheets on quarantine pests: *Liriomyza huidobrensis.* pp. 194-198. In quarantine pests for Europe. CAB International. Wallingford, Oxford, UK.

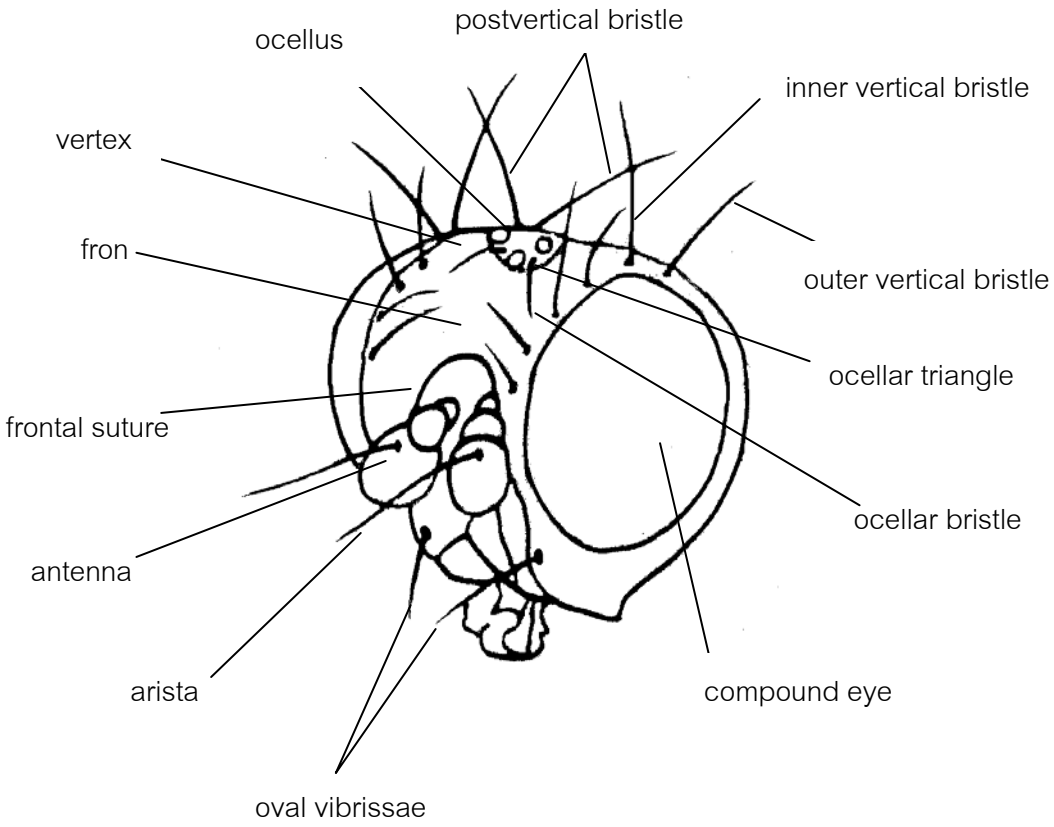
Lim G.S, S.S. Sastroutomo, W.H. Loke.1999. Workshop on leafminers of vegetables in Southeast Asia. CABI-SEARC.

Parrella MP. 1987. Biology of *Liriomyza.* Ann. Rev. Entomol. 32: 201 – 224.

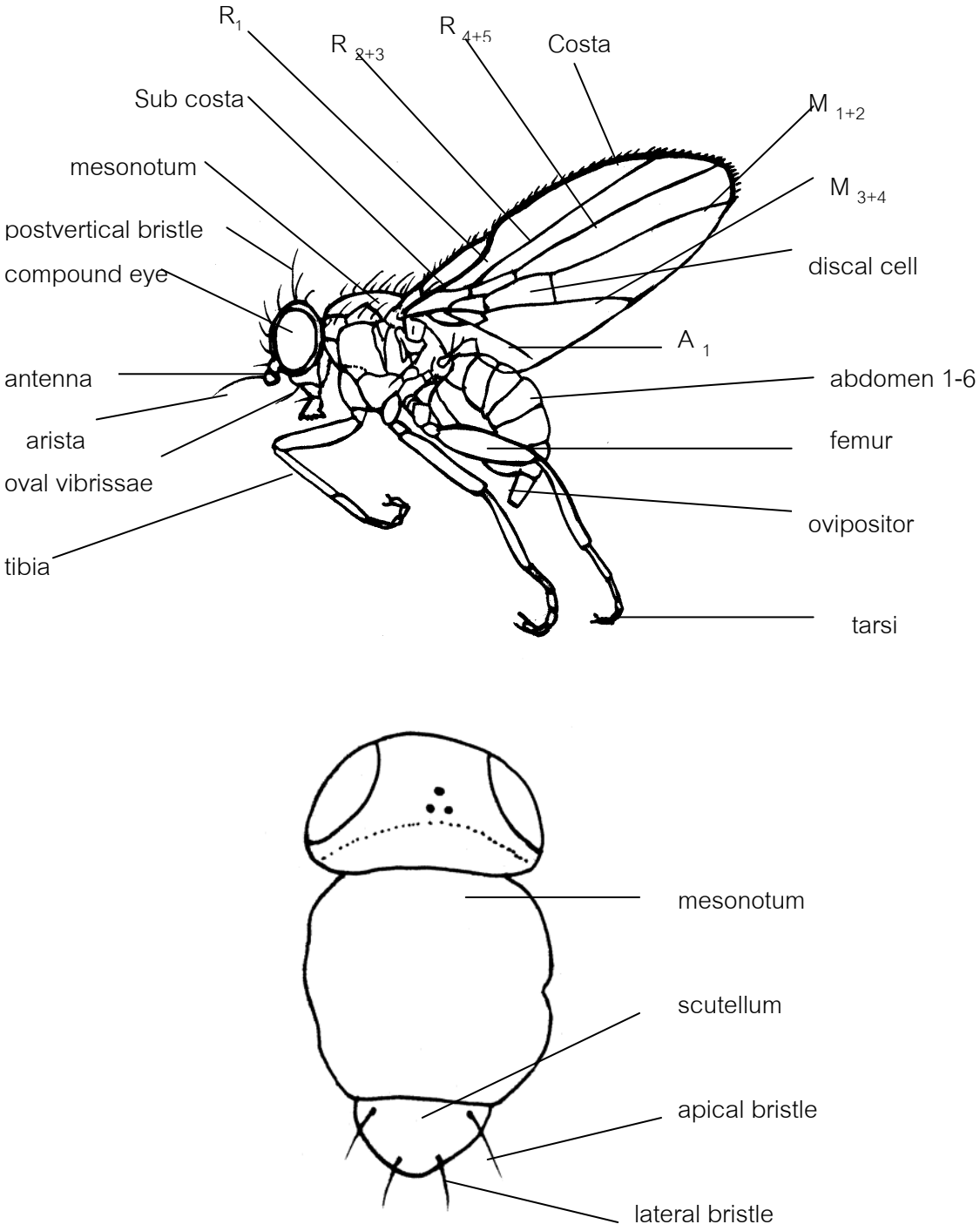
Spencer KA. 1973. Agromyzidae (Diptera) of economic importance. Dr. W. Junk.,The Hague. Natherland. 418 p.

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ และ อัมพร วิโนทัย. 2544. การแก้ไขปัญหาการระบาดของหนอนชอนใบบนพื้นที่สูงภาคเหนือ. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพฯ. 42 หน้า.

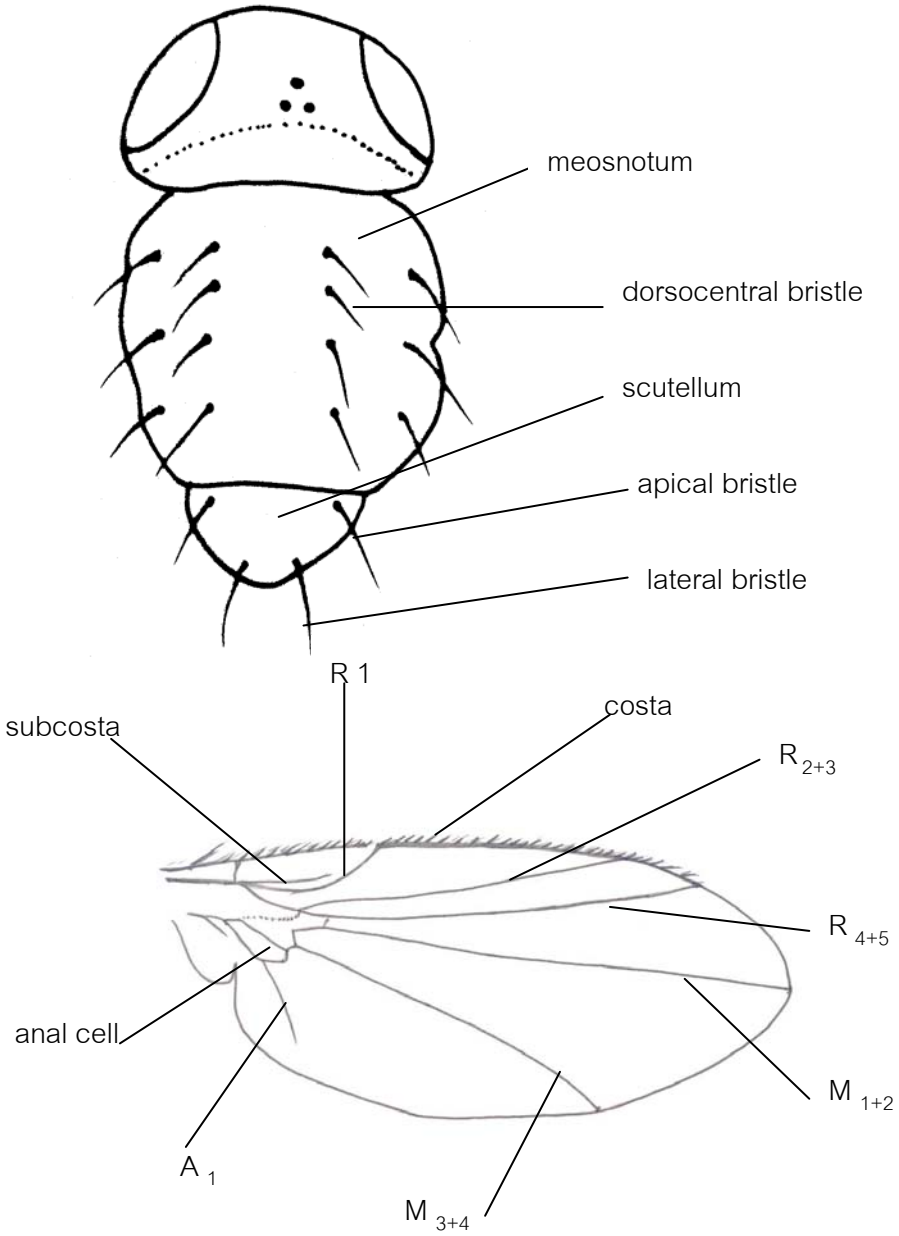
ภาคผนวก



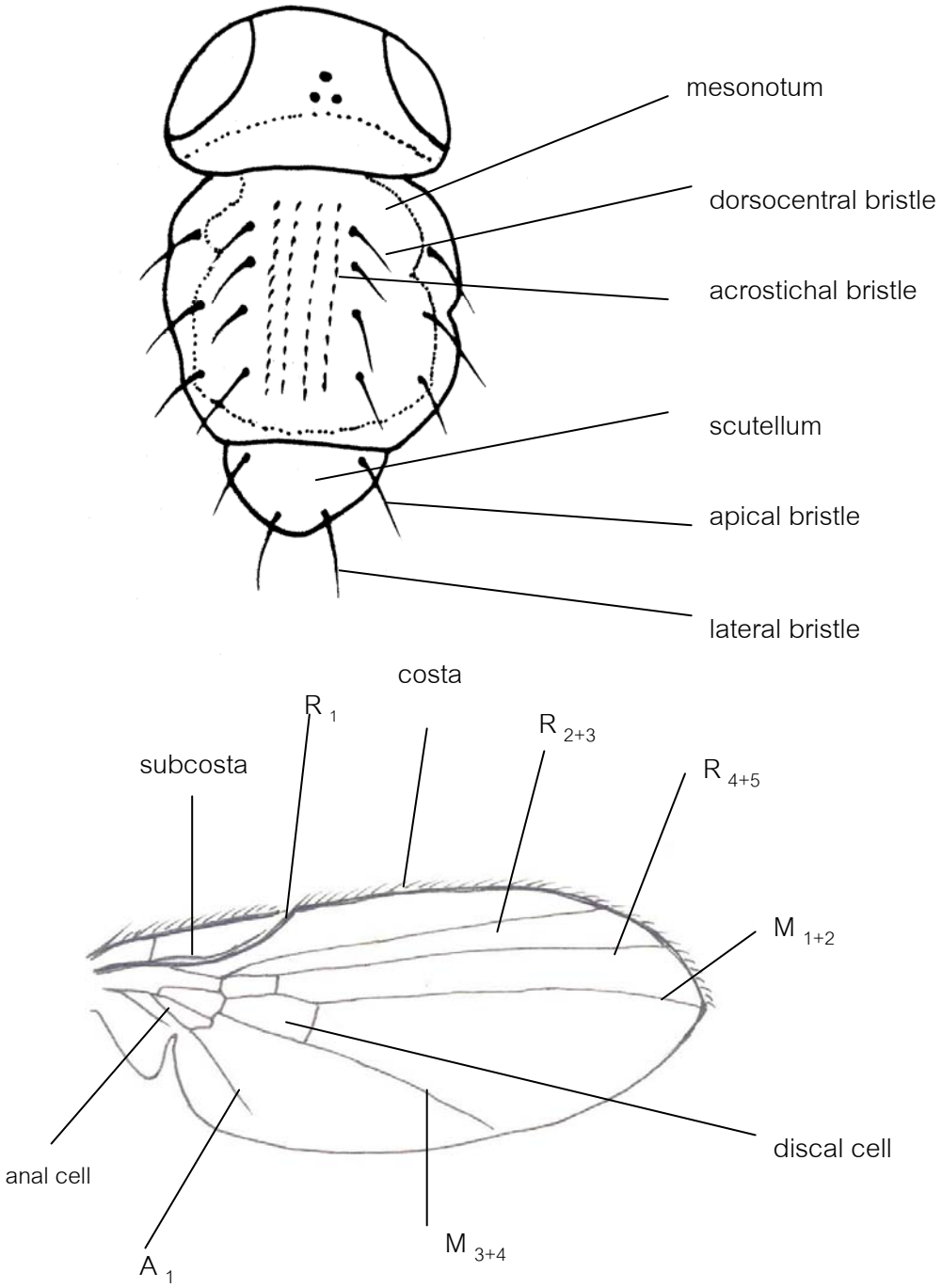
ภาพที่ 1 ลักษณะส่วนหัวของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* และ *Chromatomyia*



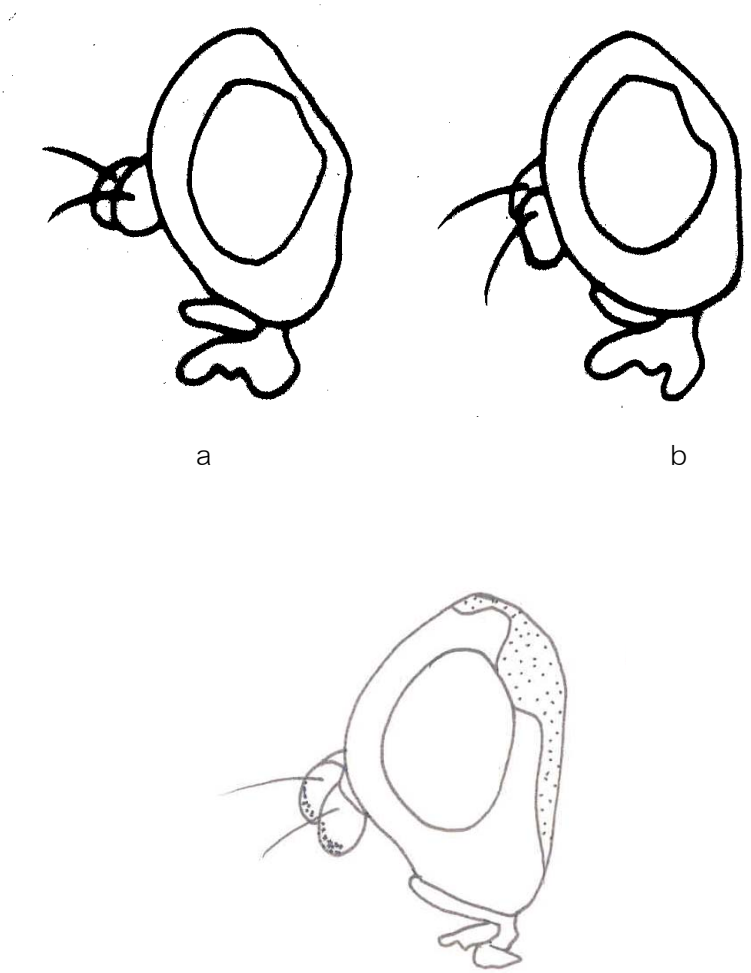
ภาพที่ 2 ลักษณะรูปร่างของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza* และ สกุล *Chromatomyia*



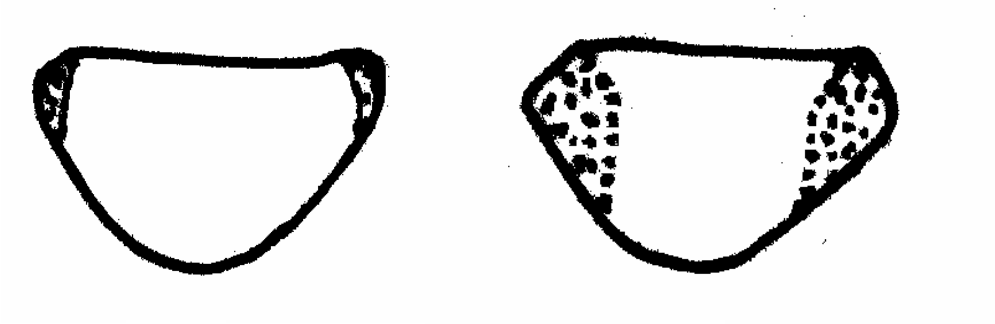
ภาพที่ 3 ลักษณะส่วนอก และปีกของแมลงวันหนอนชอนใบ *Chromatomyia horticola* (Goureau)



ภาพที่ 4 ลักษณะส่วนอกและปีกของแมลงวันหนอนชอนใบสกุล *Liriomyza*



ภาพที่ 5 ลักษณะหนวดของแมลงวันหนอนชอนใบ a) *Liriomyza* sativae Blanchard, *L. brassicae* (Riley) และ *Chromatomyia horticola* (Goureau) *b) L. chinensis* (Kato) และ c) *L. huidobrensis* (Blanchard)



ภาพที่ 6 ลักษณะแผ่นสามเหลี่ยมสันหลังอก a) *Liriomyza* sativae Blanchard
b) *L*. *huidobrensis* (Blanchard)

อนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้ สกุล *Bactrocera*

Taxonomy of Fruit fly in Genus *Bactrocera*

ยุวรินทร์ บุญทบ ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ
ลักขณา บำรุงศรี ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2550 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ที่มีอยู่ในประเทศไทย ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ เช่น กระท้อน ชมพู่ พริก มะเฟือง ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้ไปจัดเซ็ทรูปร่างและตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรม- วิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิดพบแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ ดังนี้ *Bactrocera apicalis* , *B. nigrotibialis*, *B. latifrons*, *B. correcta*, *B. cucurbitae* และแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* complex ซึ่งอยู่ระหว่างการจำแนกชนิดอีก 3- 4 ชนิด รวมทั้งแมลงวันผลไม้ที่พบครั้งแรกในประเทศไทยและอยู่ระหว่างการตั้งชื่อวิทยาศาสตร์อีกหนึ่งชนิด การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อในปี 2551

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

แมลงวันผลไม้หรือแมลงวันทอง (Fruit Flies) เป็นแมลงศัตรูที่มีความสำคัญมากสำหรับผลไม้และผักในเขต Tropical และ Subtropical โดยตัวเต็มวัยจะเข้าทำลายผลไม้โดยการวางไข่กับผลไม้ที่มีเปลือกบาง หรืออ่อนนุ่ม จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในผลทำให้ผลไม้เน่าเสียก่อนการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ตัวหนอนของแมลงวันผลไม้บางชนิดตัวหนอนสามารถเจริญเติบโตบนดอกไม้ สกุล Asteraceae และสกุลอื่น ๆได้อีกด้วย และตัวหนอนบางชนิดยังสามารถเข้าชอนใบ เนื้อเยื่อหรือรากพืช (White, 1992) และสร้างปมได้อีกด้วย (Ibrahim and Ghani , 1990) จากการศึกษาพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ มนตรี (2544) รายงานว่าพบแมลงวันผลไม้เข้าทำลายพืช 359 ชนิด โดยเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 106 ชนิด และเป็นพืชที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 253 ชนิด ดังนั้นเห็นได้ว่าแมลงวันผลไม้สามารถขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณ จากพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ ได้ตลอดทั้งปี จึงทำให้การป้องกันกำจัดทำได้ยาก ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาต่อพืชผัก โดยเฉพาะผลไม้ที่เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น มะม่วง มังคุด ฝรั่ง ชมพู่ และพริก ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน พืชอาหาร และการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ ทำให้สามารถจำแนกชนิดของแมลงวันผลไม้ได้อย่างถูกต้อง ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ในการควบคุม กำจัด และป้องกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ กับดักแมลงวันผลไม้แบบ Steiner ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดดองแมลง ถุงพลาสติก และสารเคมี เช่น Cue lure, Methyl Eugenol, lati lure และ alcohol 70-80%

2. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดรูปร่างแมลงเพื่อจำแนกชนิด ได้แก่ ตู้อบแมลง ขวดฆ่าแมลง เข็มปักแมลง เข็มหมุดขนาดกลาง กระดาษแข็ง และอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บและรักษาแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ การบูร กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบใส่ตัวอย่างแมลง กล่องใส่สไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

3. อุปกรณ์ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสไลด์ ฟิล์มสี แผ่นบันทึกข้อมูล

4. กรงเลี้ยงแมลง และยีสต์สำหรับเป็นอาหารของแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัย

5. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในแปลงเพาะปลูกและในสภาพธรรมชาติ โดยใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ Steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 3 ประเภท ได้แก่ Cue lure, Methyl Eugenol และ lati lure รวมทั้ง เก็บรวบรวมผลไม้ที่มีร่องรอยการทำลายของแมลงวันผลไม้ พร้อมพืชใส่ถุงพลาสติกหรือกล่องพลาสติก เพื่อให้ระบายอากาศได้ดี บันทึกวันที่ เดือน พ.ศ. และสถานที่เก็บ และนำกลับมาเลี้ยงยังห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

2. นำส่วนของพืชมายังห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างพืชมาใส่กล่องพลาสติกที่มีตะแกรงรองก้นซึ่งข้างล่างใส่ขี้เลื่อย และนำกล่องพลาสติกใส่ในกรงผ้า เพื่อให้ตัวเต็มวัยเจริญออกมา ให้อาหารคือ น้ำตาลผสมบรีเวอร์ยีสต์ในอัตรา 1 : 4 เพื่อให้สืบนลำตัวพัฒนาได้ดี

3. เตรียมตัวอย่างตัวเต็มวัย เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ โดยใช้ตัวอย่างตัวเต็มวัยที่อบแห้ง หรืออาจฆ่าด้วยเอทิลอาซีเตด หรือเก็บแมลงใส่หลอดแก้ว แช่ในช่องน้ำแข็ง 4 – 5 ชั่วโมง วิธีนี้จะทำให้สีไม่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อได้ตัวอย่างแล้วใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) แทงบริเวณด้านข้างของส่วนอกใต้ปีกให้ไปทางด้านหน้าของลำตัว แล้วจึงเสียบ micropin กับโฟมหรือคอ็กขนาดเล็กที่มีเข็มปักแมลงเสียบอยู่ โดยมีป้ายเล็ก ๆ กำกับโดยบอก สถานที่ วันเดือนปี ผู้เก็บ อีกแผ่นเป็นชื่อพืชที่เก็บมา อีกแผ่นเป็นชื่อแมลงที่จำแนกชนิดได้

4. การเตรียมตัวอย่างอวัยวะเพศ (genitalia) ในการทำสไลด์

- ตัดส่วนท้องของแมลงวันผลไม้แช่ในน้ำยาโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 10%
- แช่ส่วนที่ตัดไว้ในน้ำยาโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 คืน
- นำชิ้นส่วนออกจากน้ำยา แช่ในน้ำกลั่นและเขี่ยเอาไขมัน และส่วนที่ไม่ใช้อวัยวะเพศออก โดยใช้เข็มแหลม ๆ ค่อย ๆ เขี่ยเอาเฉพาะอวัยวะเพศออกมาจากส่วนของท้อง และแช่ในแอลกอฮอล์ 75% และ 95% ตามลำดับ นานครั้งละ 5 นาที
- นำส่วนของอวัยวะเพศผู้และเพศเมียแช่ชั่วคราวในน้ำยา citric acid 3 นาที
- เขี่ยอวัยวะเพศผู้หรืออวัยวะวางไข่ของเพศเมีย มาวางบนสไลด์ที่หยดน้ำยาที่จะทำสไลด์ คือ Canada balsam แล้วปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์
- นำไปอบให้แห้งรวม 2 – 6 สัปดาห์ในตู้อบอุณหภูมิ 40-45^{O}C จึงนำออกมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูงๆ และบันทึกภาพโดยการวาดรูปโดยใช้เครื่องมือ camera lucida ช่วยจะทำให้ทราบสัดส่วนที่แท้จริงได้ พร้อมทั้งจัดทำแนวทางในการวินิจฉัยแมลงวันผลไม้ที่พบ

5. นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากข้อ 1 ตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจาก ลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะขนาด และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนว

ทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงวันผลไม้ ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

6. บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาโดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกของแมลงวันผลไม้แต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่พบตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

7. จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) สกุลและชนิดของแมลงวันผลไม้ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

8. จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง (แมลงวันผลไม้ทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจ สอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2549 – เดือนกันยายน 2550

สถานที่ : 1) แหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวัน
ออกเฉียงเหนือ และภาคใต้

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549ถึง เดือนกันยายน 2550 ทำการศึกษาโดยเก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้จากแห่งปลูกผักผลไม้ เช่น แก้วมังกร เงาะ ลำไย แตงกวา ชมพู่ พริก ในกรุงเทพมหานคร ระยอง จันทบุรี ปทุมธานี ลำพูน เชียงใหม่นั้น พบแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ ดังนี้ *Bactrocera apicalis* (ภาพที่ 1) *B. nigrotibialis* (ภาพที่ 2) *B. latifrons*, *B. correcta*, *B. cucurbitae* และแมลงในกลุ่ม *B. dorsalis* complex (ภาพที่ 3) ซึ่งแมลงในกลุ่ม *B. dorsalis* complex นี้กำลังอยู่ระหว่างการจำแนกชนิดอีก 3- 4 ชนิด จากการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้ครั้งนี้พบแมลงวันผลไม้ชนิดใหม่ซึ่งเป็นแมลงวันผลไม้ที่ยังไม่เคยมีรายงานในประเทศไทยมาก่อน แต่พบครั้งแรกที่ประเทศภูฏาน และขณะนี้ยังอยู่ระหว่างการตั้งชื่อจาก Professor Dick Drew ผู้เชี่ยวชาญด้านแมลงวันผลไม้แห่ง International Centre for the management of Pest Fruit flies, Griffith University, Brisbane ประเทศ Australia และการศึกษาครั้งนี้จะต้องดำเนินต่อในปี 2551 โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* จากแหล่งปลูกไม้ผล ผัก ให้

ครอบคลุมทุกภาคของประเทศ โดยแผนดำเนินการในปี 2551 นั้น มีแผนที่จะสำรวจรวบรวมแมลงวันผลไม้ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และจัดทำแนวทางวินิจฉัยแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* พร้อมกับบันทึกรายละเอียดของแมลงวันผลไม้แต่ละชนิด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

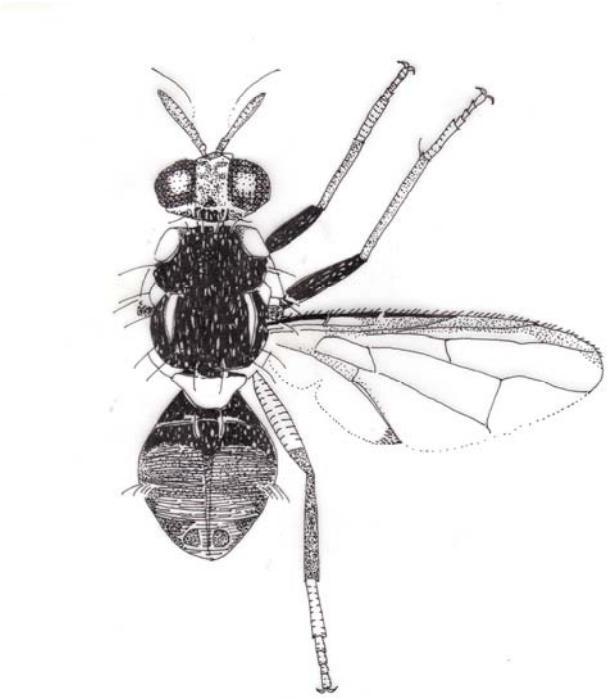
การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2550 พบแมลงวันผลไม้ที่สามารถจำแนกชนิดได้ 5 ชนิด ดังนี้ *Bactrocera apicalis, B.nigrotibialis*, *B. latifrons*, *B. correcta*, *B. cucurbitae* และแมลงในกลุ่ม *B. dorsalis* complex อีกหนึ่งชนิดที่เป็นแมลงวันผลไม้ชนิดใหม่ที่รอการตั้งชื่อวิทยาศาสตร์ และการศึกษาครั้งนี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการต่อในปี 2551

เอกสารอ้างอิง

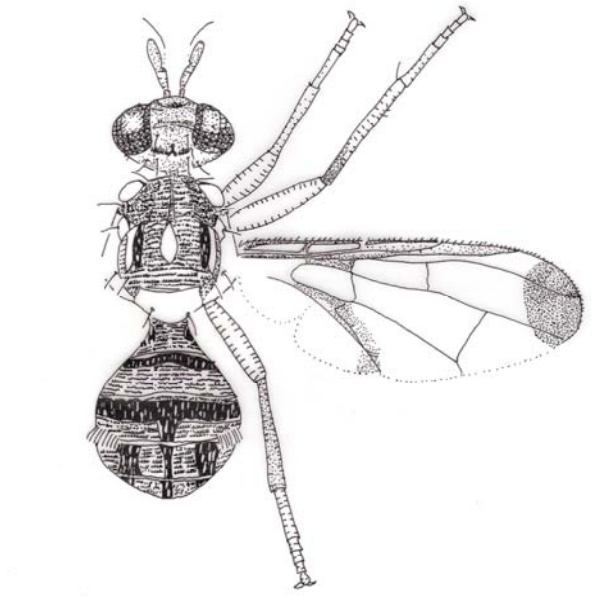
มนตรี จิรสุรัตน์. 2544. **ฐานข้อมูลแมลงวันผลไม้ในประเทศไทย**, 168 – 233. *ใน* แมลงวันผลไม้ในประเทศไทยผลไม้ในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพ. 244 หน้า

Ibrahim, R. and A. B. Ibrahim. 1990. **Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropical**. University Pertanian Malaysia Press. Malaysia.199 p.

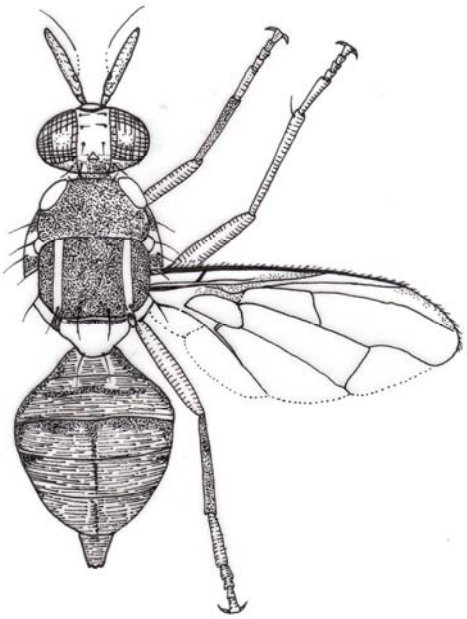
White, Ian M., and Marlene M. Elson – Harris. 1992. **Fruit Flies of Economics Significance :Their Identification an dBionomics. CAB International In Association with Aciar(Australian Centre for International Agricultureal Research)** Printed and bound in the UK by Redwood Press Ltd, Melksham. 601 pp.



ภาพที่ 1 ลักษณะทางอนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้ *B. nigrotibialis*



ภาพที่ 2 ลักษณะทางอนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้ *B. apicalis*



ภาพที่ 3 ลักษณะทางอนุกรมวิธานแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* complex

อนุกรมวิธาน ชีววิทยาเพลี้ยไฟกล้วยไม้ ; Orchid Thrips : *Dichromothrips corbetti* Priesner

Taxonomy, Biology of Orchid Thrips : *Dichromothrips corbetti* Priesner

ศิริณี พูนไชยศรี ปิยรัตน์ เขียนมีสุข ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โดยการรวบรวมเพลี้ยไฟกล้วยไม้ ; Orchid Thrips : *Dichromothrips corbetti* Priesner จากแหล่งปลูกกล้วยไม้ในจังหวัดนนทบุรี สมุทรสาคร นครปฐม กาญจนบุรี อยุธยาและกรุงเทพมหานคร ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2550 นำไปศึกษาด้านอนุกรมวิธานและชีววิทยา ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผลการศึกษาด้านอนุกรมวิธาน โดยการทำสไลด์ถาวรและตรวจวิเคราะห์ใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope พบว่าเพลี้ยไฟกล้วยไม้ *Dichromothrips corbetti* เป็นเพลี้ยไฟขนาด 0.8-1.0 มิลลิเมตร สีดำ ในวงศ์ Thripidae มีลักษณะเด่นเฉพาะชนิดโดยตรวจวิเคราะห์ได้จากตำแหน่งขนคู่ที่ 3 บริเวณตาเดี่ยว(ocellar setae III) ขนและลักษณะการเรียงตัวของขนบริเวณอกปล้องแรก (pronotum) ลวดลายและตำแหน่งขนบริเวณสันหลังอกปล้องสุดท้าย (metanotum) การเรียงตัวของขน (comb) บริเวณขอบปล้องท้องปล้องที่ 8 มีลักษณะแบบสมบูรณ์พาดผ่านตลอดขอบปล้อง ส่วนการศึกษาด้านชีววิทยา โดยนำไปเลี้ยงบนกลีบดอกกล้วยไม้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่ามีวงจรชีวิต 12-17 วัน โดยมีระยะไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ 4-5 วัน, 6-9 วัน และ 2-3 วัน ตามลำดับ ตัวเต็มวัยมีอายุ 5-8 วัน เพลี้ยไฟกล้วยไม้ทุกระยะการเจริญเติบโต ยกเว้นระยะดักแด้สามารถทำลายกล้วยไม้ได้ โดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเนื้อเยื่อกลีบดอก ทำให้กลีบดอกด่างขาวกระจายทั่วกลีบ

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

เพลี้ยไฟกล้วยไม้ (orchid thrips) หมายถึงเพลี้ยไฟในสกุล *Dichromothrips* ซึ่งมีทั้งหมดประมาณ 16 ชนิด (Moritz *et al*, 2001) พบเข้าทำลายพืชตระกูลกล้วยไม้ โดยเฉพาะประเทศแถบในเขตร้อน (tropical) เพลี้ยไฟกล้วยไม้ชนิด *Dichromothrips corbetti* เป็นชนิดที่พบได้ทั่วไป สำหรับ ในประเทศไทยเคยพบเพลี้ยไฟชนิดนี้เข้าทำลายกล้วยไม้ในยุคแรกๆที่ปลูกกล้วยไม้ ต่อมาเมื่อมีการส่งออกกล้วยไม้มากขึ้น พบว่าเพลี้ยไฟที่ก่อปัญหาในการส่งออก คือ เพลี้ยไฟฝ้าย : cotton thrips ; *Thrips palmi* Karny (ปิยรัตน์และคณะ,2542) และเป็นปัญหาต่อเนื่องมาโดยตลอด แต่เมื่อ พ.ศ.2549 กล้วยไม้ที่ปลูกบริเวณกลุ่มกีฏและสัตววิทยา ได้เกิดการระบาดอย่างหนักของเพลี้ยไฟกล้วยไม้ ในขณะเดียวกันได้พบเพลี้ยไฟดังกล่าวในแปลงปลูกกล้วยไม้จังหวัดอยุธยา นครปฐม ซึ่งทำให้เกิดความวิตกว่าเพลี้ยไฟชนิดนี้มีแนวโน้มที่จะเข้าทำลายกล้วยไม้ในแปลงปลูกจนถึงระดับการระบาดได้ ดังนั้นการเตรียมพร้อมข้อมูลด้านอนุกรมวิธานและชีววิทยาของเพลี้ยกล้วยไม้นี้ นับว่ามีความจำเป็นที่จะดำเนินการศึกษาเพื่อรองรับปัญหาที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เพลี้ยไฟชนิด *Dichromothrips corbetti*
2. อุปกรณ์ทำสไลด์ถาวร (แผ่นสไลด์แก้ว, cover glass, Canada balsum)
3. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope และชนิด compound microscope
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
5. หลอดแก้วทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร ยาว 1.5 เซนติเมตร
6. แผ่นพาราฟิน
7. ดอกกล้วยไม้

วิธีการ

1. **การศึกษาด้านอนุกรมวิธาน**

รวบรวมเพลี้ยไฟจากสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร จากแหล่งปลูกในจังหวัดนนทบุรี สมุทรสาคร นครปฐม กาญจนบุรี อยุธยาและกรุงเทพมหานคร นำไปศึกษารายละเอียดด้านอนุกรม- วิธาน โดยวิธีการทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของ Palmer *et al*, (1989) และศิริณี (2544) นำไปตรวจวิเคราะห์ใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope บันทึกและถ่ายภาพลักษณะสำคัญที่ใช้ศึกษาเพื่อตรวจวิเคราะห์ชนิด

2. **การศึกษาด้านชีววิทยา**

นำตัวเต็มวัยของเพลี้ยไฟชนิด *Dichromothrips corbetti* ไปเลี้ยงบนกลีบดอกกล้วยไม้ที่ปราศจากการทำลายของเพลี้ยไฟและแมลงชนิดต่างๆ ตามวิธีการของปิยรัตน์และคณะ (2542) หลัง จากนั้นหมั่นตรวจดูกลีบกล้วยไม้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope เมื่อพบไข่เพลี้ยไฟให้ตัดแยกกลีบดอกกล้วยไม้ โดยให้แต่ละชิ้นมีไข่เพลี้ยไฟเพียงฟองเดียว นำไข่ที่แยกแล้วไปเลี้ยงต่อในตู้ควบคุมอุณหภูมิ โดยใส่ลงในหลอดทดลองหลอดละ 1 ชิ้น ปิดปากหลอดด้วยแผ่นพาราฟิน นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรวจดูการเจริญเติบโตของเพลี้ยไฟทุกวัน เช้า-เย็น บันทึกข้อมูลพร้อมถ่ายภาพการเปลี่ยนแปลงและพฤติกรรมทุกระยะการเจริญเติบโต

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนกันยายน 2550

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาด้านอนุกรมวิธาน

ผลการศึกษาด้านอนุกรมวิธานพบว่า เพลี้ยไฟกล้วยไม้ ; Orchid Thrips : *Dichromothrips corbetti* Priesner เป็นเพลี้ยไฟในอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae รูปร่างลักษณะทั่วๆไปคล้ายคลึงกับเพลี้ยไฟในอันดับย่อย Terebrantia (ภาพที่ 1) ซึ่งมีรายละเอียด (description) เฉพาะ ดังนี้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Dichromothrips corbetti* Priesner, 1936

ชื่ออื่น *Anaphothrips corbetti* Priesner, 1936

ชื่อสามัญ เพลี้ยไฟกล้วยไม้ (orchid thrips, vanda orchid thrips)

รูปร่างลักษณะ

ลำตัว (body) สีดำ มีขนาดยาว 0.8-1.0 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2-ก)

ส่วนหัว (head) มีความกว้างมากกว่าความยาว ตาเดี่ยว 3 ตา ขนคู่ที่ 3 บริเวณตาเดี่ยว (oceller setae III) อยู่บริเวณนอกกรอบสามเหลี่ยมของตาเดี่ยวทั้ง 3 ตา (ภาพที่ 2-ข) หนวดมีจำนวนปล้อง 8 ปล้อง มีอวัยวะรับความรู้สึก (sense cone) เป็นรูปส้อม บริเวณปล้องที่ 3 และ 4 (ภาพที่ 2-ค)

ส่วนอก (thorax) อกปล้องแรก (pronotum) มีริ้วรอยเป็นเส้นตามขวางปล้องและมีขนขนาดเล็กกระจายทั่วไป ส่วนปลายขอบมีขนสั้นขนาดเท่าๆกันเรียงรอบขอบปล้อง (ภาพที่ 2-ง) สันหลังอกปล้องสุดท้าย (metanotum) มีลวดลายและตำแหน่งขน ดังภาพที่ 2-จ ปีกคู่หน้า (forewing) สีน้ำตาล บริเวณโคนปีกสีขาวขุ่น เส้นปีกเส้นบนเกิดจากขนจำนวน 2 เส้น เส้นล่างเกิด

จากขนจำนวน 15 เส้นเรียงต่อกัน ปีกคู่หน้า (hindwing) สีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 2-ฉ) ขาทุกคู่สีน้ำตาล บริเวณส่วนกลางถึงปลายขาแข้ง (tibia) และส่วนปลายขา (tarsi) สีเหลืองปนน้ำตาลอ่อน

ส่วนท้อง (abdomen) ปล้องท้องทุกปล้องไม่มีลวดลาย ขอบปล้องท้องปล้องที่ 8 มีการเรียงตัวของขน (comb) มีลักษณะแบบสมบูรณ์ พาดผ่านตลอดขอบปล้อง (ภาพที่ 2-ช) มองเห็นอวัยวะวางไข่ที่มีลักษณะคล้ายฟันเลื่อยได้ชัดเจนที่บริเวณปล้องท้องปล้องที่ 8 ถึง 10

2. การศึกษาด้านชีววิทยา

วงจรชีวิต

เพลี้ยไฟกล้วยไม้มีวงจรชีวิตจากไข่ถึงตัวเต็มวัย 12-17 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศา-เซลเซียส โดยมีระยะไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ 4-5 วัน, 6-9 วัน และ 2-3 วัน ตามลำดับ ส่วนตัวเต็มวัยมีอายุ 5-8 วัน (ดูตาราง และภาพที่ 3) รายละเอียดและพฤติกรรมของแต่ละระยะการเจริญเติบโตมีดังนี้

ระยะไข่

ไข่มีลักษณะขาวใส รูปร่างคล้ายเมล็ดถั่ว ขนาด 0.1-0.2 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่สอดไว้ใต้เนื้อเยื่อของกลีบดอกและวางกระจายทั่วกลีบดอก เมื่อใกล้ฟักไข่จะเปลี่ยนจากสีขาวใสเป็นสีเหลืองขุ่น ตัวอ่อนเมื่อเริ่มออกจากไข่ใหม่ๆมีลักษณะเหมือนหนอนแมลงวันไม่เห็นหนวดและขา ส่วนปลายสุดของส่วนท้องยังคงติดอยู่กับเนื้อเยื่อของกลีบดอกกล้วยไม้ เมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่งหนวดและขาจะค่อยๆเจริญออกมาจนครบสมบูรณ์พร้อมๆกับหลุดเป็นอิสระจากเนื้อเยื่อของกลีบกล้วยไม้

ตัวอ่อนจะหยุดนิ่งชั่วขณะจึงเริ่มเคลื่อนไหว

ระยะตัวอ่อน

ตัวอ่อนระยะที่หนึ่ง

ตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่ใหม่ๆ สีขาวใส ผอมเรียว ขนาดลำตัวยาว 0.2-0.3 มิลลิเมตร ปลายส่วนท้องค่อนข้างแหลม ตารวมสีแดง มองไม่เห็นตาเดี่ยว หนวดมีจำนวน 8 ปล้อง เคลื่อนไหวตลอด เวลา และเริ่มทำลายกลีบกล้วยไม้โดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากเนื้อเยื่อกลีบดอก ต่อมาสีของตัวอ่อนจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนๆ

ตัวอ่อนระยะที่สอง

ตัวอ่อนระยะที่สอง มีลักษณะคล้ายคลึงกับตัวอ่อนระยะที่หนึ่งมาก โดยทั่วไปมีขนาดเล็กประมาณ 0.3-0.4 มิลลิเมตร ซึ่งโตกว่าตัวอ่อนระยะที่หนึ่งเพียงเล็กน้อย สีของลำตัวเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ผนังลำตัวมีลักษณะคล้ายตุ่มหรือขนขนาดเล็กยื่นจากตัว และเมื่อใกล้เข้าสู่ระยะก่อนเข้าดักแด้ สีของลำตัวจะเป็นสีเหลืองส้ม ตัวอ่อนระยะนี้เคลื่อนไหวได้รวด เร็วและว่องไวมาก และเป็นระยะที่เข้าทำลายกล้วยไม้และก่อให้เกิดความเสียหายมากที่สุดระยะหนึ่ง

ตัวอ่อนระยะที่สามหรือระยะก่อนเข้าดักแด้

ตัวอ่อนระยะนี้มีขนาดประมาณ 0.5-0.7 มิลลิเมตร ลำตัวสีเหลืองส้มปนแดง ปล้องหนวดมีขนาดยาวขึ้นและชี้ตรงไปข้างหน้า แผ่นปีก (wing pad) บริเวณอกปล้อง 2 และ 3 เริ่มเจริญเติบโต มีสีขาวขุ่น ยังคงเคลื่อนไหวได้รวดเร็วและว่องไว ตัวอ่อนดูดกินน้ำเลี้ยงจากเนื้อเยื่อกลีบดอกกล้วยไม้ตลอดเวลา

ระยะดักแด้

เพลี้ยไฟในระยะดักแด้จะเคลื่อนไหวน้อยลงจนกระทั่งหยุดนิ่ง ไม่กินอาหาร ในขณะเดียวกันหนวดจะวกกลับชี้ไปทางด้านหลังเหนือส่วนตัว ลำตัวเรียวยาวและใหญ่เกือบเท่าตัวเต็มวัย ตารวมมีขนาดใหญ่ขึ้น แผ่นปีกทั้งสองคู่เจริญมากขึ้น

ระยะตัวเต็มวัย

เพลี้ยไฟชนิดนี้ตัวเต็มวัยมีทั้งชนิดปีกสั้น (brachypterous) และชนิดปีกยาว (macropterous) ลำตัวสีดำ ขนาดลำตัวยาว 0.8-1.0 มิลลิเมตร หนวดสีน้ำตาลเข้มมีจำนวน 8 ปล้องบริเวณปล้องที่ 3-4 ปรากฏอวัยวะรับความรู้สึก (sense cone) มีลักษณะเป็นรูปส้อม ตารวมมีขนาดใหญ่สีดำ ตาเดี่ยว 3 ตา ชนิดปีกสั้นปีกสีขาวขุ่นมีความยาวปีกเพียงปล้องท้องปล้องแรกเท่านั้น ส่วนชนิดปีกยาวปีกคู่หน้าสีน้ำตาล โคนปีกสีขาวขุ่น ปีกยาวคลุมมิดส่วนท้อง ปล้องท้องมีจำนวน 10 ปล้อง เพศเมียมองเห็นอวัยวะวางไข่ซึ่งลักษณะคล้ายฟันเลื่อย ที่บริเวณปล้องท้องปล้องที่ 8 ถึง 10 ได้ชัดเจน เพลี้ยไฟในระยะนี้มีการเคลื่อนไหวรวดเร็วและว่องไวมากรวมทั้งมีความสามารถทำลายกล้วยไม้ได้สูงด้วย

ลักษณะการทำลาย

พบว่าเพลี้ยไฟทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยมีความสามารถสูงในการเข้าทำลายกล้วยไม้ โดยใช้ปากที่มีลักษณะเป็นแท่งแข็ง (stylet) แทงเข้าไปในเนื้อเยื่อของกลีบดอกเพื่อดูดกินน้ำเลี้ยง ทำให้บริเวณที่ถูกดูดกินมีสีซีดจางเกิดเป็นรอยด่างกระจายทั่วกลีบ นอกจากนี้พฤติกรรมการวางไข่โดยใช้อวัยวะวางไข่สอดไข่ไว้ใต้เนื้อเยื่อของกลีบดอก ทำให้ปรากฏรอยแผลสีน้ำตาลกระจายทั่วกลีบดอกอีกด้วย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เพลี้ยไฟกล้วยไม้ ; orchid thrips : *Dichromothrips corbetti* Priesner เป็นเพลี้ยไฟในวงศ์ Thripidae ขนาดตัวยาว 0.8-1.0 มิลลิเมตร สีดำ มีทั้งชนิดปีกสั้น (brachypterous) และชนิดปีกยาว (macropterous) ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญ ตำแหน่งขนคู่ที่ 3 ของตาเดี่ยว อยู่บริเวณนอกกรอบสามเหลี่ยมของตาเดี่ยวทั้ง 3 ตา หนวดมีจำนวน 8 ปล้อง อวัยวะรับความรู้สึกบริเวณปล้องหนวดที่ 3 และ 4 มีลักษณะเป็นรูปส้อม อกปล้องแรกมีขนขนาดเล็กกระจายทั่วไป ส่วนปลายขอบมีขนสั้นขนาดเท่าๆกัน เรียงรอบขอบปล้อง สันหลังอกปล้องสุดท้ายไม่มีลวดลาย

ตามขวาง มีขนขนาดยาว 2 เส้นบริเวณใต้ขอบบนของปล้องนี้ ชนิดปีกสั้นปีกสีขาวขุ่นมีความยาวปีกเพียงปล้องท้องปล้องแรกเท่า นั้น ส่วนชนิดปีกยาวปีกคู่หน้าสีน้ำตาล โคนปีกสีขาวขุ่น ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีวงจรชีวิตจากไข่ถึงตัวเต็มวัย 12-17 วัน โดยมีระยะไข่ ตัวอ่อนดักแด้ 4-5 วัน, 6-9 วัน และ 2-3 วัน วันตามลำดับ ตัวเต็มวัยมีอายุ 5-8 วัน เพลี้ยไฟชนิดนี้เข้าทำลายดอกกล้วยไม้โดยการวางไข่สอดไว้ใต้เนื้อเยื่อของกลีบดอก ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเนื้อเยื่อกลีบกล้วยไม้ ทำให้สีของดอกซีดจาง เกิดรอยด่างขาวกระจายทั่วไปบนกลีบดอก ชอบเข้าทำลายกล้วยไม้ในตระกูลแวนด้าที่มีสีเข้ม เนื่องจากมีวงจรชีวิตสั้น จึงทำให้พบเพลี้ยไฟกล้วยไม้จำนวนมากในดอกๆหนึ่ง ดังนั้นเพลี้ยไฟชนิดนี้น่า จะมีแนวโน้มในการที่จะเกิดการระบาดได้ในอนาคต หากมีการปลูกกล้วยไม้ตระกูลนี้อย่างกว้างขวางและไม่ได้ดูแลรักษาสวนกล้วยไม้อย่างใกล้ชิด การศึกษาในครั้งนี้จะเป็นการเตรียม พร้อมข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้น เพื่อนำไปพิจารณาในการหาวิธีการป้องกันไม่ให้เกิดการระบาดและก่อปัญหาเช่นเดียวกับเพลี้ยไฟฝ้าย

เอกสารอ้างอิง

ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, ไพศาล รัตนเสถียร, วัฒนา จารณศรี, ศิริณี พูนไชยศรี, ชมพูนุท จรรยาเพศ และศรีสุดา โท้ทอง. 2542. **แมลง-สัตว์ศัตรูกล้วยไม้**. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการ-เกษตร. 32 หน้า.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. **เพลี้ยไฟ** Terebrantia. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพฯ. 75 หน้า.

ศิริณี พูนไชยศรี, ชลิดา อุณหวุฒิ, พรรณเพ็ญ ชโยภาส, รัตนา นชะพงษ์, ลักขณา บำรุงศรี, สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี, ยุวรินทร์ บุญทบ, ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม. 2548. **แมลงการจำแนกและการเก็บตัวอย่าง**. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 100 หน้า.

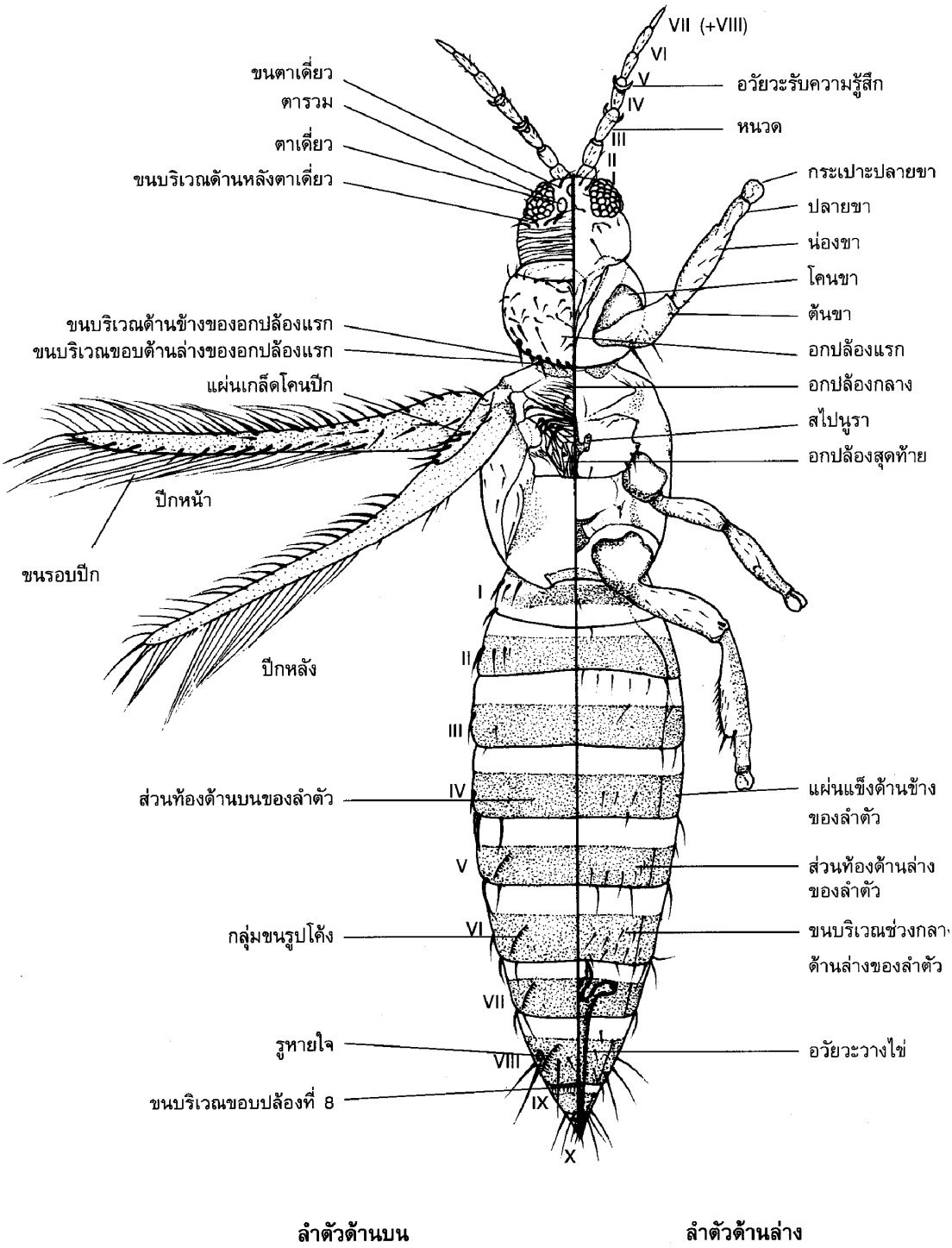
Moritz, G., L. A. Mound., D. C. Morris and A. Goldarazena. 2001. Pest thrips of the world. **An identification and information system using molecular and microscopical method**. (CD-ROM).

Palmer, M. J., L. A. Mound and G. J. du Heaume. 1989. CIE GUIDES TO INSECTS OF IMPORTANCE TO MAN. **2. THYSANOPTERA**, eds. C. R. Betts. C.A.B International Institute of Entomology. British Museum Natural History. 69 p.

ตาราง แสดงผลการเจริญเติบโตของเพลี้ยไฟกล้วยไม้ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

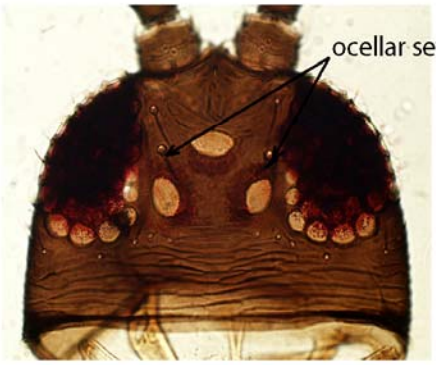
ระยะการเจริญเติบโต	จำนวน (ฟอง,ตัว)	ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต(วัน) [1/] ค่าเฉลี่ย ± ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน	พิสัย (วัน)
ระยะไข่	20 ฟอง	4.45 ± 0.5104	4-5
ระยะตัวอ่อน			
ตัวอ่อนระยะที่ 1	20 ตัว	2.70 ± 0.4702	2-3
ตัวอ่อนระยะที่ 2	20 ตัว	3.45 ± 0.5104	3-4
ตัวอ่อนระยะที่ 3 (ระยะก่อนเข้าดักแด้)	20 ตัว	1.50 ± 0.5130	1-2
ระยะดักแด้	20 ตัว	2.15 ± 0.6304	2-3
ชีพจักร (ไข่-ตัวเต็มวัย)	20 ตัว	14.30 ± 1.0563	12-17
ระยะตัวเต็มวัย	20 ตัว	7.00 ± 1.1239	5-8

[1/] จำนวนแมลงที่ใช้ในการศึกษา 20 ฟองหรือ/ตัว

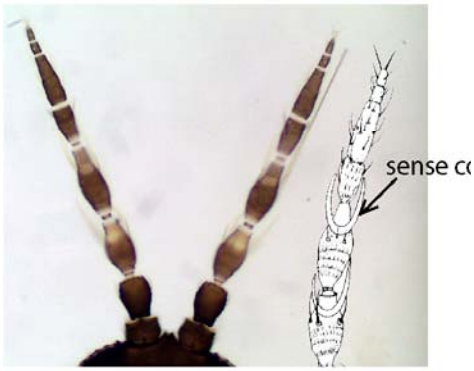


ภาพที่ 1 รูปร่างลักษณะของเพลี้ยไฟวงศ์ Thripidae

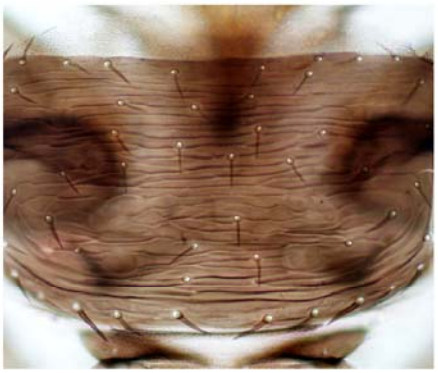
ก



ข



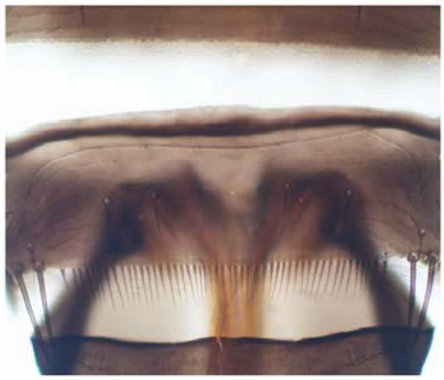
ค



ง

จ

ฉ

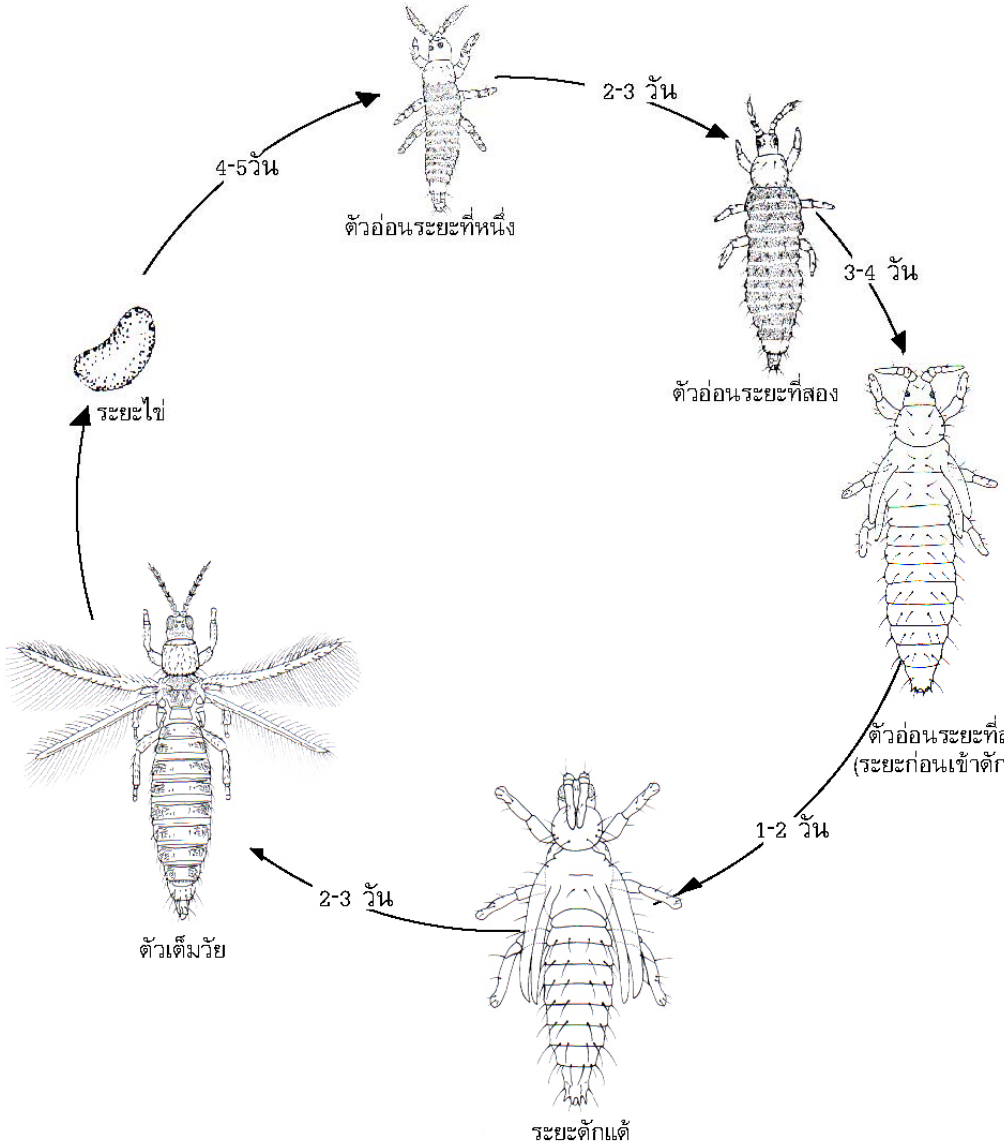


ช

ภาพที่ 2 ลักษณะของเพลี้ยไฟกล้วยไม้ : *Dichromothrips corbetti*

ก. ตัวเต็มวัย ข. หัว ค. หนวด ง. อกปล้องแรก

จ. สันหลังอกปล้องสุดท้าย ฉ. ปีก ช. ปล้องท้องปล้องที่ 8



ภาพที่ 3 แสดงวงจรชีวิตของเพลี้ยไฟกล้วยไม้ *: Dichromothrips corb*

Taxonomy Biology of Orchid Thrips : *Dichromothrips corbetti* Priesner

Sirinee Poonchaisri Piyarat Keinmeesuke Chalida Unahawutti
Luckana Bumroongsri Yuvarin Boontop Natthawat Yamyim
Sittisirodom Kaewsawad

Entomology and Zoology Division
Plant Protection Research and Development Office

Abstract

Orchid Thrips : *Dichromothrips corbetti* Priesner were collected from orchid nursery in Nonthaburi, Samut Sakhon, Nakhon Pathom, Kanchanaburi Ayutthaya and Bangkok in October 2006 to September 2007. The specimens were taken to study for taxonomy and biology in laboratory of Insect Taxonomy Group, Entomology and Zoology Division. The taxonomy was studied under compound microscope. The result showed that orchid thrips belongs to the family Thripidae. The specific characters for this species could identifiy from the origin of ocellar setae III, setae on pronotum, sculture and the origin of setae on metanotum including complete comb on the margin of abdominal segment 8. The biology was studied by rearing orchid thrips on orchid flower at temperature 30 degree celcious found that egg stage, nymphal stage and pupal stage are 4-5 days, 6-9 days and 2-3 days respectively. The total of the life cycle is 12-17 days. Longevity of adult is 5-8 days. Every stages of this thrips except pupal stage could damage the orchid by suking sap from the tissue of flowers.

การศึกษาอนุกรมวิธานไรแมงมุมในสกุล *Tetranychus*

Taxonomic Study on Spider mite in Genera *Tetranychus*

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

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างไรศัตรูพืชในสกุล *Tetranychus* ของประเทศไทย บนพืชชนิดต่าง ๆ รวม 74 ชนิด ตั้งแต่เดือน ก.ย. 2548-ก.ย. 2550 บนพื้นที่ 20 จังหวัด เพื่อนำมาศึกษาลักษณะอนุกรมวิธาน และจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะลายบนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 ลักษณะการเรียงตัวของขน duplex setae ลักษณะของหนามแหลมที่อยู่เหนือ Proximovental hair (empodial spure) ฯลฯ ผลจากการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานพบไรในสกุล *Tetranychus* ทั้งหมด 9 ชนิดได้แก่ *Tetranychus fijiensis* Hirst, *T. neocaledonicus*, *T. piercei* , *T. kanzawai*, *T. truncatus*, *T. urticae*, *T. macfarlanei* , *T. taiwanicus*, *T. gloveri* สำหรับไรตัวห้ำที่พบร่วมกับไรศัตรูพืชในสกุล *Tetrantchus* พบ 10 ชนิด ทั้งหมดเป็นไรตัวห้ำที่อยู่ในวงศ์ phytoseiidae

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ซึ่งปัจจุบันได้ประสบปัญหากับศัตรูพืชหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นโรค แมลง และไร ไรจัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งและเนื่องจากมีขนาดเล็ก ยากแก่การมองเห็นด้วยตาเปล่า อาการที่เข้าทำลายในระยะแรกมักสังเกตได้ยาก เมื่อพบการระบาดรุนแรงจะทำให้ยากแก่การกำจัด โดยเฉพาะไรในวงศ์ Tetranychidae ซึ่งจัดเป็นกลุ่มไรที่มีความสำคัญระบาดทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดยไรจะเข้าทำลายพืชด้วยการดูดกินน้ำเลี้ยง จากใบ ลำต้น ผล และดอก ไรจะอยู่เป็นกลุ่ม และสร้างเส้นใยขึ้นคลุมไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย บริเวณที่ถูกไรดูดกินจะมีลักษณะเป็นจุดประ ขาวซีด และแผ่ขยายเป็นปื้นเหลือง หรือสีขาว เมื่อระบาดรุนแรงจะทำให้ใบร่วง พืชหยุดชะงักการเจริญเติบโต และมีผลกระทบต่อผลผลิต ไรที่พบในประเทศไทยมีอยู่หลายสกุลเช่น *Eutetranychus Eotetranychus Schizotetranychus Oligonychus* และ *Tetranychus* โดยเฉพาะไรในสกุล *Tetranychus* ซึ่งจัดเป็นกลุ่มไรที่มีความสำคัญ เข้าทำลายพืชปลูกได้กว้างหลากหลายชนิด เช่น ไรในสกุล *Tetranychus* เป็นศัตรูที่สำคัญ มีรายงานการเข้าทำลายพืชปลูกหลายชนิด ในปี 1986 Raros รายงานพบไรแมงมุมฟิจิในสกุล *Tetranychus* ครั้งแรกบนมะพร้าวในประเทศฟิจิ เป็นศัตรูที่สำคัญของเสาวรส พืชตระกูลปาล์ม และยังพบในพืชตระกูลส้มและสาลี่ ที่ Hawaii ประเทศไอแลนด์พบไร *Tetranychus cinnabarinus* เข้าทำลายพืชปลูก และวัชพืชกว่า 100 ชนิด เป็นศัตรูที่สำคัญของถั่ว พริกไทย มะเขือเทศ ผัก มะละกอ เสาวรส และผลไม้อื่น ๆ อีกมากมายนอก จากนี้ยังเข้าทำลายไม้ดอกและไม้ประดับเช่นคาร์เนชั่น ดาวเรือง กุหลาบ แกลดิโอลัส (Mau and Martin Kessing,1992)

Cranshaw and Sclar (2004) พบไรสองจุด twospotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) เข้าทำลายพืชปลูกได้จำนวนมากประกอบด้วยพืชตระกูลผักเช่น ถั่ว มะเขือม่วง ในไม้ผลเช่น ราสเบอรี่ ลูกcurrants ลูกแพร์ และในไม้ดอก

สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการพบไรในสกุล *Tetranychus* ดังนี้

Ehara and Wongsiri (1975) รายงานการพบไรในสกุล Tetranychus ของประเทศไทย พร้อมทั้งจำแนกและจัดทำ key ที่ใช้ในการจำแนกไว้ 4 ชนิดด้วยกันคือ *T. fijiensis*, *T. taiwanicus*, *T. hydrangeae* และ *T. truncatus*

กองกีฏและสัตววิทยา (2544) ได้รายงานว่าไรหลายชนิดดูดทำลายส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ลำต้น ผล และราก ไรทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใต้ใบอ่อน ทำให้ใบเป็นจุดเล็ก ๆ สีขาวและขยายจนใบเป็นสีเหลืองทั้งใบและร่วงในที่สุด ถ้าทำลายรุนแรงจะทำให้กุหลาบทิ้งใบ และแห้งตาย เช่นไรแมงมุมคันซาวา *Tetranychus kanzawai* เป็นศัตรูที่สำคัญทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น ฝ้าย มะละกอ สตรอเบอรี่ ฯ

วัฒนาและคณะ (2544) ได้รายงานพบไรในสกุล *Tetranychus* อีกหลากหลายชนิดเช่นไรสองจุด ไรแดงกระเจี๊ยบ ไรแดงหม่อน ฯ

เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีใครได้รวบรวมชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของไรใน 2 สกุลนี้อย่างแท้จริง ดังนั้นในการศึกษาอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Tetranychus* จึงนับว่าเป็นประโยชน์ในการทราบถึงพืชอาศัยได้กว้างขึ้น และเป็นความรู้พื้นฐานในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่มีอยู่แล้ว

1.1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างไร : ได้แก่ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กล่องพลาสติก พู่กันเบอร์ 0, ขวดดองตัวอย่างไร ขนาด 1 แดรม บรรจุแอลกอฮอล์ 70% พู่กัน กล่องพลาสติกรักษาความเย็นขนาด 68 ควอทซ์ แว่นขยาย (กำลังขยาย 20x) และกรวยแยกไร (Berlese Tullgren funnel)

1.2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน : ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope) , ตะเกียงแอลกอฮอล์ โคมไฟ พู่กันเบอร์ 0 เข็มเขี่ยปลายแหลม และปลายงอ สำลี ตู้อบ/เครื่องอุ่นสไลด์ ตั้งอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส แป้นหมุนสำหรับผนึกขอบสไลด์ น้ำยาผนึกขอบสไลด์

1.3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร : ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ติดอุปกรณ์วาดภาพ (camera lucida) key สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรศัตรูในโรงเก็บ และไรตัวห้ำในวงศ์ต่าง ๆ

1.4. อุปกรณ์วาดภาพ : ได้แก่ กระดาษ ดินสอ ยางลบ ปากกา Rotring หมึกดำ กระดาษลอกลาย กระดาษเขียนแบบ

2 อุปกรณ์การวิจัยที่ต้องการเพิ่มเติม

2.1. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไร ได้แก่ ถุงกระดาษ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ แอลกอฮอล์ 95% และสารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง

2.2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน ได้แก่ แผ่นสไลด์ แผ่นปิดสไลด์ ปากกาเขียนกระจก กระดาษบันทึก กล่องใส่สไลด์, สารเคมีสำหรับใช้เตรียมน้ำยาเมาท์สไลด์ สำลี น้ำยาสำหรับผนึกขอบสไลด์

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างไรแมงมุม ในสกุล *Tetranychus*

1.1. โดยเก็บใบ กิ่ง ผล หรือส่วนต่าง ๆ ของพืช ที่แสดงอาการผิดปกติ ลงในกล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษพับปากถุง บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างไร เช่น ชื่อพืช ผู้เก็บ สถานที่ที่เก็บตัวอย่างไร จากนั้นนำตัวอย่างแช่ลงในกระติกน้ำแข็งก่อนนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

1.2. โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างไรออกจากส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แสดงอาการ ผิดปกติ ลงในขวดดองที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70% (ควรเติม glycerine ลงไปในขวดดอง 2-3 หยด เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างแข็ง) ซึ่งไรในสกุล *Tetranychus* จะใช้ไรทั้งตัวผู้และ ตัวเมียในการจำแนก บันทึกข้อมูลชื่อผู้เก็บ สถานที่เก็บ และวันที่ที่เก็บตัวอย่างไร วิธีนี้เหมาะสำหรับการเก็บตัวอย่างไร ในท้องที่ที่ห่างไกล

1.3. การทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วน ต่าง ๆ ได้ชัดเจน ส่วนไรตัวผู้ให้จัดท่าทางในลักษณะตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ จากนั้นปิดสไลด์ด้วย coverglass นำสไลด์ขึ้นอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อน เพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ยืดออก และเพื่อไล่ฟองอากาศ นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ coverglass ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Tetranychus*

นำตัวอย่างไรที่ทำสไลด์ถาวรแล้วมาศึกษาลักษณทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง compound microscope จำแนก ชนิด จากตำราต่าง ๆ ทีเกี่ยวข้อง วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดพร้อมทั้งทำ key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรแมงมุมในสกุล *Tetranychus* บนพืชต่าง ๆ ในประเทศไทยปิดป้ายบันทึกผลการจำแนกไว้ด้านซ้ายมือของแผ่นสไลด์ก่อนที่จะนำเข้าเก็บในพิพิธภัณฑ์ต่อไป

เวลาและสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน ก.ย. 2548-ก.ย. 2550 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างบนพื้นที่ 20 จังหวัดได้แก่ กรุงเทพ, ปราจีนบุรี, กาญจนบุรี, ราชบุรี, เพชรบุรี, นครปฐม,สมุทรสาคร, นครสวรรค์, ลพบุรี, อ่างทอง, ชุมพร, ภูเก็ต, กระบี่,กาฬสิน, นครราชสีมา, หนองคาย, สระแก้ว, เลย, เชียงใหม่, เชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างไรแมงมุม ในสกุล *Tetranychus*

ผลจากการสำรวจและจำแนกชนิดไรในสกุล *Tetranychus* ของประเทศไทย ตั้งแต่เดือน ก.ย. 2548-ก.ย. 2550 บนพื้นที่ 19 จังหวัด พบไรศัตรูพืชในสกุล *Tetranychus* ทั้งหมด 9 ชนิด บนพืชชนิดต่าง ๆ รวม 74 ชนิด (Table 1) อย่างไรก็ตามไรในสกุล *Tetranychus* ของประเทศไทยยังมีรายงานพบอีกหลายชนิดโดย Baker (1975) ได้รายงานพบไรในสกุลนี้ 4 ชนิด ด้วยกันคือ *T. cinnabarinus*, *T. ludeni*, *T. tumidellus* และ *T. yusti* และวัฒนา (2544) ได้รายงานพบเพิ่มอีก 2 ชนิดด้วยกันคือ *T. marianae* และ *T. bambusae* (Table 1) นอกจากนี้ยังพบไรตัวห้ำอีก 10 ชนิด ทั้งหมดเป็นไรตัวห้ำที่อยู่ในวงศ์ phytoseiidae (Table 2) สำหรับรูปแสดงลักษณะอนุกรมวิธานของไรตัวห้ำที่พบร่วมกับไรศัตรูพืชในสกุล *Tetranychus* แสดงไว้ในภาคผนวก

Table 1. Tetranychus mite pests found in Thailand.

Scientific name of mite	Host plant	Location
Tetranychus bambusae Wang & Ma	*Bamboo*	- (วัฒนา, 2544)
Tetranychus cinnabarinus (Boisduval)	*Helianthus annuus*	Bangkhen (Baker, 1975)
Tetranychus fijiensis Hirst	Palm	Chiang Mai
	coconut	Kanchanaburi
	Pumelo	Prachin Buri, Nongkay
	Betel nut	Bangkok
	Scarlet bean	Samut Sakhon
	orange	Chumphon
	Cerbera odollum	Chumphon
	Persian lilac	Chumphon
	Anthurium	Phuket
	Apple	Nakhon Phanom
Tetranychus gloveri Banks	*Amaranthus* sp.	Bangkok
	Musk melon	Bangkok
	sunflower	Bangkok
	Holy basil	Bangkok
	Impala lily	Kalasin
	Parsley	NaKhon Sawan

Scientific name of mite	Host plant	Location
Tetranychus kanzawai	Rose	Loei ,Chiang Mai and
Kishida		NaKhon Ratchasima
	Hyacinth,Popping pod	Bangkok
	Cassava	Phuket
	Apple,Cherry	Chiang Rai
	Water melon	Phetchaburi
	Acalypha indica	Phetchaburi
	Jujube	Chiang Rai, Chiang Mai
	Angled rag gourd	Chiang Rai
	Papaya	Sakaew
	Hydrangea	Chiang Mai
	Prickly solanum	Nakhon Pathom
	Karturai	Ratchaburi
	Cucumber,Sweet pepper	NaKhon Ratchasima
	Marigold	Kanchanaburi
Tetranychus ludeni Zacher	*Ipomoea batatas*	Bangkhen(Baker, 1975)
	Solanum torvum	Bangkhen (Baker, 1975)
Tetranychus macfarlanei	Okra, Sesbania	Kanchanaburi
Baker & Pritchard	*Gymnopetalum integrifolium*	NaKhon Ratchasima
	Brinjal	Nakhon Pathom, Krabi & Ratchaburi
	Angled rag gourd	Nakhon Pathom, Lop Buri& Krabi
	Cucumber	Kanchanaburi
	Scarlet bean	Samut Sakhon
	Pumpkin	Ratchaburi, Nakhon Pathom
	Rubus sp.	Chumphon
	Jute	Bangkok
	Winged bean	Kalasin
	Sunflower	Lop Buri

Scientific name of mite	Host plant	Location
Tetranychus marianae McGregor	Bamboo	Bangkok (Baker, 1975)
	Centrosema pubescens	Songkhla (Baker, 1975)
	Gliricida sepium	Bangkhen (Baker, 1975)
	Ipomoea aquatica	Bangkhen (Baker, 1975)
	Morus sp.	Bangkhen (Baker, 1975)
	Zea mays	Bangkhen (Baker, 1975)
	Alocasia cucullata Schott	- (วัฒนา, 2544)
Tetranychus neocaledonicus Andr'e	*Buddleja paniculata*	Chumphon
	Black eyed susan	Chiang Mai
	Walsura robusta	Chiang Mai
Tetranychus piercei McGregor	Mussel-shell creeper	Bangkok,Chumphon
	Acalypha indica	Bangkok
	Polyacias guilfoylei	Bangkok
	Amaranthus sp.	Bangkok
	Sunflower	Bangkok
	Long bean	Chumphon
	Rubus sp.	Krabi
	Tinospora crispa	Phuket
	Swan plant	Phuket
Tetranychus sp.	Rose	Loei
	Indian oak	Lop Buri
	Pelican flower	Chiang Mai
	Ivy gourd	Kanchanaburi
	Sunflower	Lop Buri
Tetranychus taiwanicus Ehara	Pumelo	Nakhon Phanom, Nakhon Pathom, Chiang Mai
	Gardenia	Chumphon, Kanchanaburi
Tetranychus truncatus Ehara	Horse-Radish Tree	Bangkok
	Mulberry	Chiang Mai
	Jujube	Chiang Rai

Scientific name of mite	Host plant	Location
	Morning glory	Chiang Rai
	Castor bean	Ang Thong
	Painted Spurge	Chiang Rai
	Jatropha gossypifolia L.	Ratchaburi
Tetranychus tumidellus Pritchard and Baker	*Solanum* sp.	Ratchaburi (Baker, 1975)
Tetranychus urticae Koch	Strawberry	Chiang Mai
	Rose	Chiang Mai
	Cucumber	Bangkok
	Carnation	Bangkok (air port plant quarantine)
Tetranychus yusti McGregor	*Cucumis* sp.	Bangkhen (Baker, 1975)
	Manihot esculenta	Bangkhen (Baker, 1975)

Table 2. Predatory mite associated with Tetranychus mite in Thailand.

Scientific name of predatory mite	plant	Location
Amblyseius cinctus Corpuz and Rimando	Apple, Cherry	Chiang Rai
	Pumelo	Chiang Mai and Nakhon Pathom
	Morning glory, Jujube	Chiang Rai
	Rose	Petchaburi
	Papaya	Sakel, Petchaburi
	Scarlet bean	Samut Sakhon
	Sweet pepper	NaKhon Ratchasima
	Apple	Nakhon Phanom
Amblyseius deleoni Muma & Denmark	Apple	Nakhon Phanom
Amblyseius largoensis (Muma)	*Anthurium* sp.	Phuket
	Betel nut	Bangkok

Scientific name of predatory mite	plant	Location
Amblyseius longispinosus (Evans)	Rose	Loei
	Sunflower	Lob Buri
	Amaranthus sp.	Bangkok
	Okra	Kanchanaburi
	Sesbania	Kanchanaburi
	Gymnopetalum integrifolium	NaKhon Ratchasima
	Pumpkin	Nakhon Pathom and Ratchaburi
	Brinjal	Nakhon Pathom
	Angled rag gourd	Nakhon Pathom
Amblyseius nicholsi Ehara & Lee	*Amaranthus* sp.	Bangkok
Amblyseius sp.	Castor bean	Ang Thong
Amblyseius syzygii Gupta	Jujube	Chiang Mai
Phytoseius hawaiiensis Prasad	*Gymnopetalum integrifolium*	NaKhon Ratchasima
	Egg plant	Nakhon Pathom
	Jujube	Kanchanaburi
Phytoseius hongkongensis Swirski & Shechter	Pumelo	NaKhon Pathom
Paraphytoseius multidentatus Swirski & Shechter	Sunflower	Lob Buri

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Tetranychus*

จากสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่างไรศัตรูพืชในสกุล *Tetranychus* บนพืชปลูกชนิดต่าง ๆ รวม 74 ชนิด ที่ในช่วงเวลาระหว่างตั้งแต่เดือน ก.ย. 2548-ก.ย. 2550 บนพื้นที่ 19 จังหวัด ของประเทศไทยเพื่อนำมาศึกษาลักษณะอนุกรมวิธาน และจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะลายบนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 ลักษณะการเรียงตัวของขน duplex setae ลักษณะของหนามแหลมที่อยู่เหนือ Proximovental hair (empodial spur) ฯลฯ พบไรในสกุล *Tetanychus*

ทั้งหมด 9 ชนิดได้แก่ *Tetranychus fijiensis* Hirst, *T. neocaledonicus*, *T. piercei* , *T. kanzawai*, *T. truncatus*, *T. urticae*, *T. macfarlanei* , *T. taiwanicus*, *T. gloveri* ซึ่ง key ที่ใช้ในการจำแนกและลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Tetranychus* แต่ละชนิดมีดังนี้

Key to species of *Tetranychus* in Thailand

1. Female and male empodia with 3 pairs of proximoventral hairs 2
   - Female and male empodia with 2 pairs of proximoventral hairs……7
2. Female with proximal pair of duplex setae distal to proximal tactile setae and empodia without obvious mediodorsal spurs……3
   -Femal with proximal pair of duplex setae more or less in line with most of the proximal tactile setae and empodia with obvious mediodorsal spurs……..8
3. Aedeagus with distal termination more or less dilated to form definite terminal knob……..4
   - Aedeagus with distal termination scarcely dilated……..*T. piercei*
4. Aedeagal knob with one or both projections acute……5
   -Aedeagal knob with anterior and posterior projections rounded; head recurved berrylike, without tip,…… *T. neocaledonicus*
5. Aedeagus head upright, long neck, with short pointed beak; Terminal knob of aedeagus ca. 4 μm in diameter……*T. kanzawai*
   - Knob of aedeagus tiny, the anterior and posterior projections inconspicuous; Terminal knob of aedeagus ca. 1.5 μm in diameter……..*T. truncatus*
   -Aedeagus head nearly rounded-convex dorsally, anvil-shaped; Terminal knob of aedeagus 2.5-2.6 μm in diameter……*T. urticae*
7. Aedeagus with distal part flagellate……*T. fijiensis*
   - Aedeagus with distal part very slender, but not flagellate……...*T. taiwanicus*
8. Aedeagal knob with relatively small, acute projections anteriorly and posteriorly; male empodium II with proximoventral tridigitate spurs……...*T. macfarlanei*
   -Aedeagus head directed forward, ducklike……..…*T. gloveri*

1. *Tetranychus fijiensis* Hirst

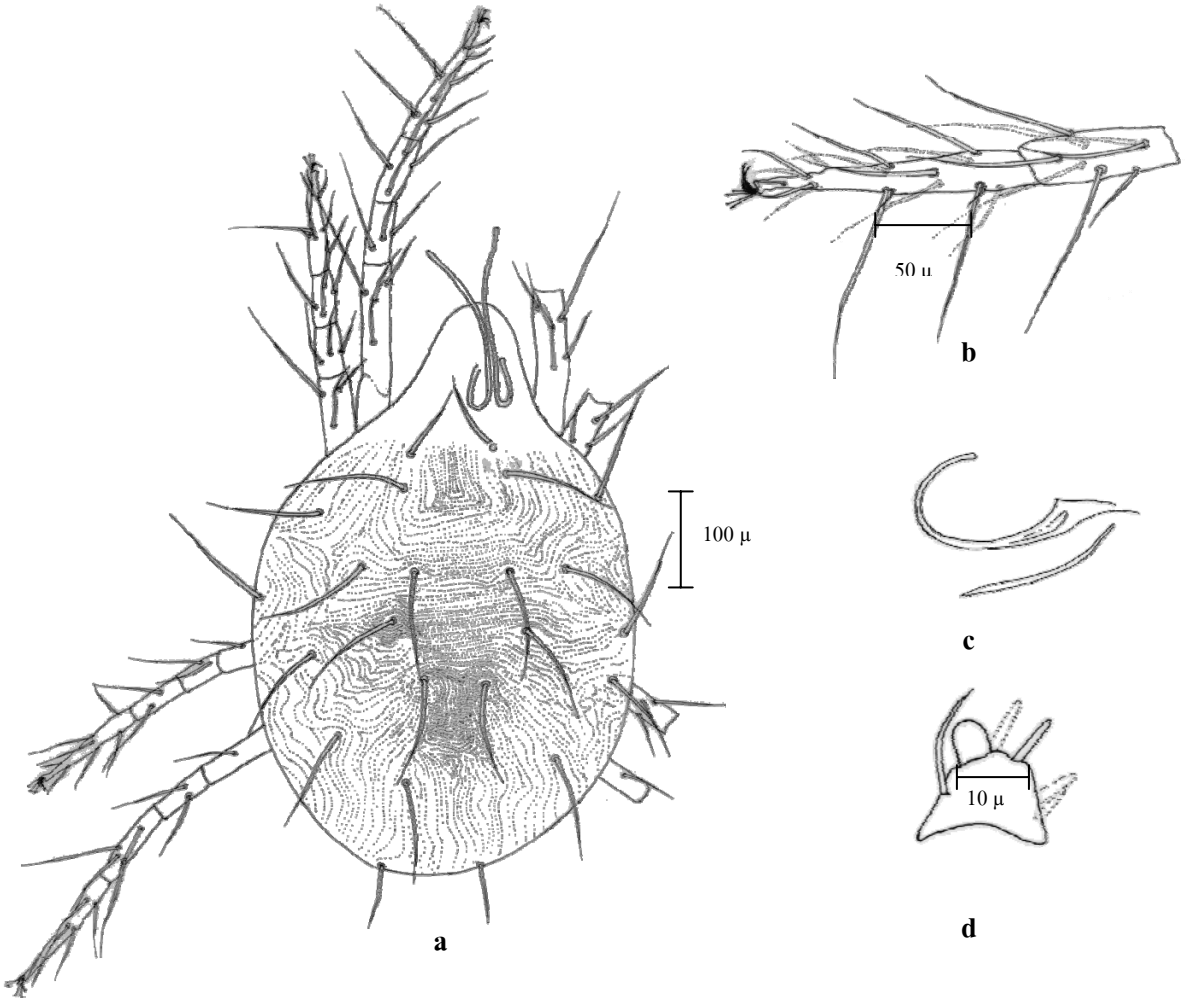


Fig 1. *Tetranychus fijiensis* Hirst : a. dorsum of female ; b. tibia and tarsus of female; c. aedeagus; d. distal segment of palpus of female.

เพศเมีย: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 431.28 ไมครอน กว้าง 361ไมครอน ; ที่ปลายขามี proximoventral hair จำนวน 2 คู่ ;ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลังระหว่างขน e1 และ f1 อยู่ในลักษณะเป็น diamond shape pattern; duplex setae ที่อยู่บนปล้องของ tarsus ของขาคู่ที่ 1 อยู่ห่างกันมากและขน duplex setae คู่ที่อยู่ที่โคนปล้อง (proximal set) อยู่ในแนวเดียวกันกับ tactile setae เส้นอื่น ๆ

เพศผู้: มีความยาวลำตัวประมาณ 334.44 ไมครอน; อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ มีลักษณะก้านใหญ่และเรียวแคบเล็กลงจนเป็นเข็มแหลมโค้งงอขึ้นด้านบนคล้ายเบ็ดตกปลา โดยมีความยาวเป็น 3 เท่าของก้านเป็นอย่างน้อย

2. *Tetranychus gloveri* Banks

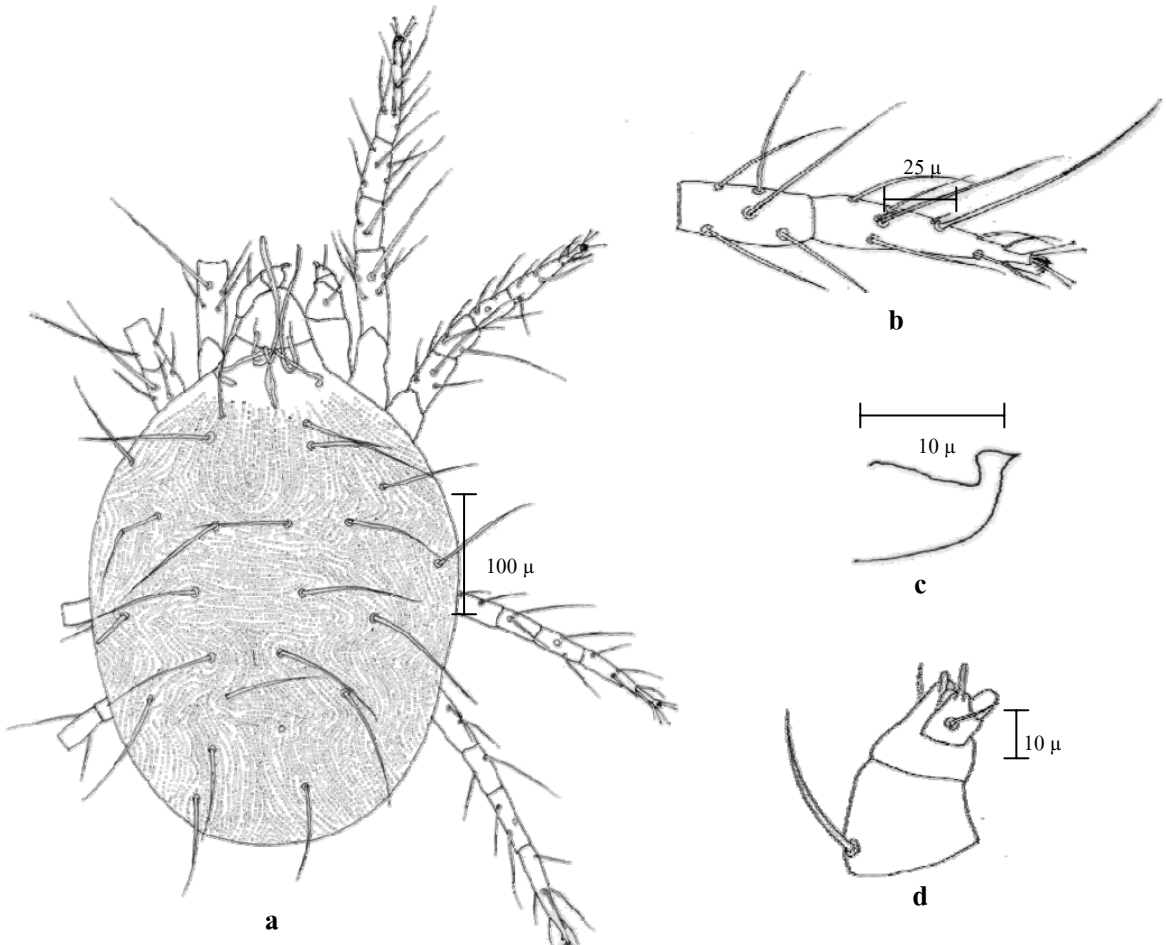


Fig2. *Tetranychus gloveri* Banks: a. dorsum of female ; b tibia and tarsus of female; c. aedeagus; d. distal segment of palpus of female

เพศเมีย: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 489.33 ไมครอน กว้าง 396 ไมครอน ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 อยู่ในลักษณะเป็น diamond shape pattern ; ที่ปลายขามี proximoventral hair จำนวน 3 คู่ ;ท่อทางเดินของอากาศ (peritremes) เป็นแบบตะของอทั้ง 2 ด้าน มี Spinneret อ้วนด้านความกว้างและความยาวเท่า ๆ กัน ; tarsi ของขาคู่ที่ 3 มีขน Solenidia ด้านโคนปล้องยาวจนเกือบถึงปลายของ tarsus ; มีขน duplex setae คู่ที่อยู่ที่โคนปล้อง (proximal set) อยู่ในแนวเดียวกันกับ tactile setae เส้นอื่น ๆ ; เหนือ proximoventral hair มี empodial spurs เป็นหนามแหลมยื่นออกมาเห็นได้อย่างชัดเจน

เพศผู้ : ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 340 ไมครอน ; มีขนด้านสันหลังและรูหายใจคล้ายกับเพศเมีย มี spinneret ด้านยาวมากกว่าด้านกว้าง 2 เท่า อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้มีส่วนโคนคล้ายหัวเป็ด ducklike (Fig.2c)

3. *Tetranychus kanzawai* Kishida

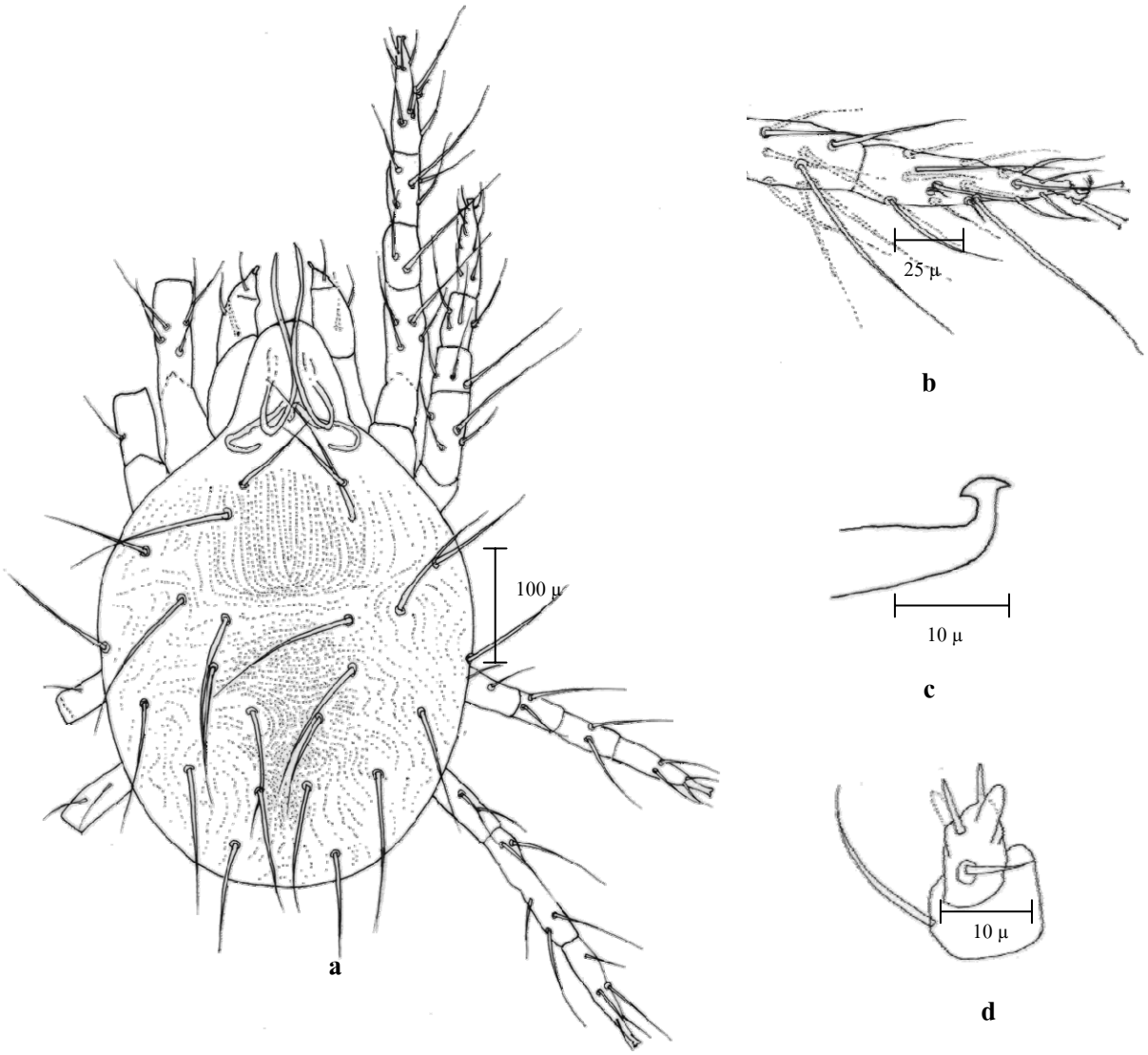


Fig 3. *Tetranychus kanzawai* Kishida: a. dorsum of female ; b. tibia and tarsus of female; c. aedeagus; d. distal segment of palpus of female.

เพศเมีย: มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 389.29 ไมครอน กว้าง 325.48 ไมครอน ; ท่อทางเดินของอากาศ (peritremes) เป็นแบบตะของอทั้ง 2 ด้าน;ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 อยู่ในลักษณะเป็น diamond shape pattern;ที่ปลายขามี proximoventral hair จำนวน 3 คู่ ; มี duplex setae ตั้งอยู่บนปล้อง tarsus ของขาคู่ที่ 1 และตำแหน่งของขน duplex setae ไม่อยู่ในระนาบเดียวกับ tactile setae

เพศผู้; มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 315.56 ไมครอน มีส่วนของหัวของ aedeagus คล้ายกับหมวกเห็ด(Fig 3c.)

4. *Tetranychus macfarlanei* Baker & Pritchard

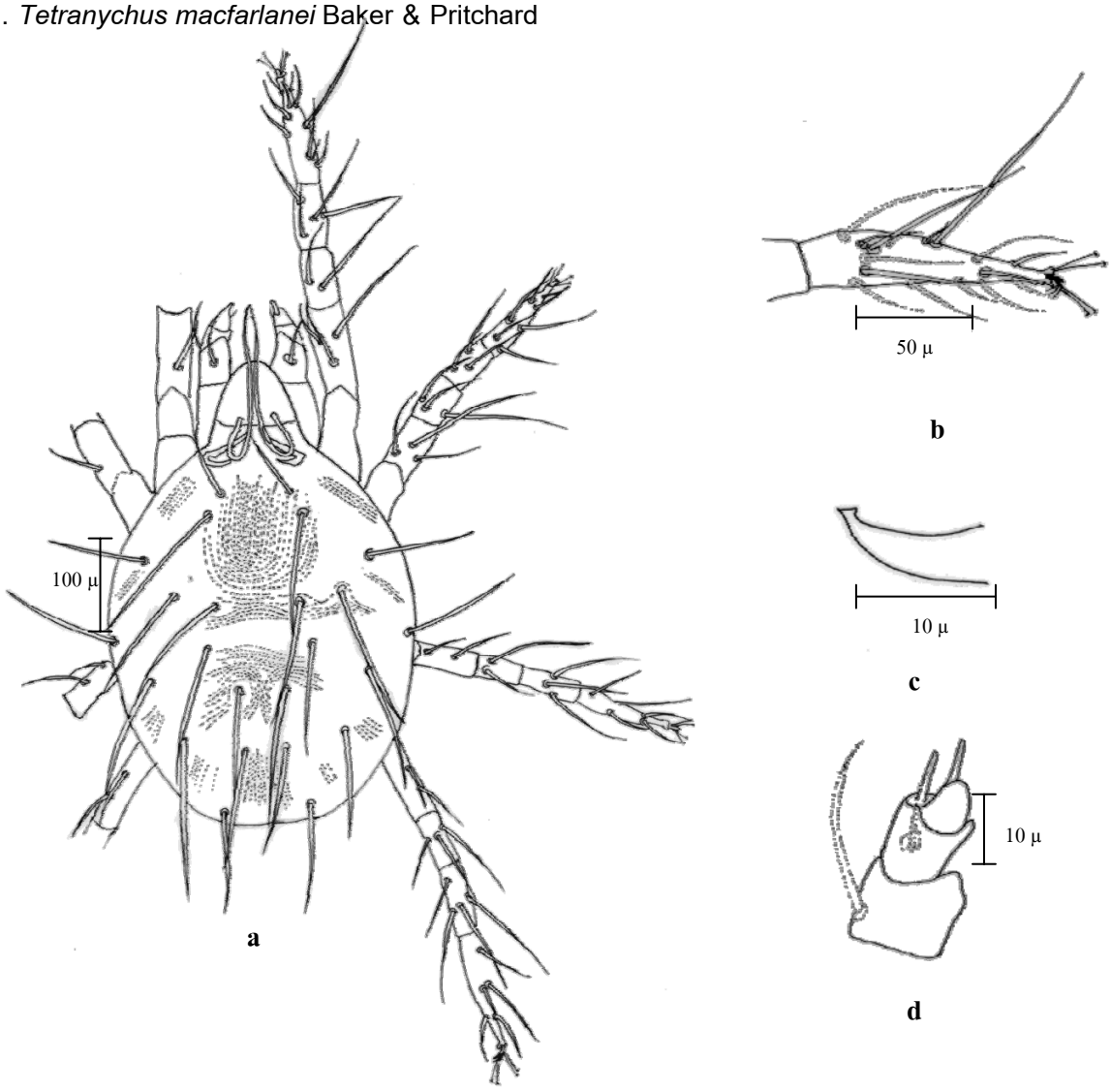


Fig 4. *Tetranychus macfarlanei* Baker & Pritchard: a. dorsum of female ; b. tibia and tarsus of female; c. aedeagus; d. distal segment of palpus of female.

เพศเมีย: มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 402.67 ไมครอน กว้าง 320 ไมครอน;ท่อทางเดินอากาศ (peritremes) เป็นแบบตะของอทั้ง 2 ด้าน; ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 เรียงกันอยู่ในแนวตั้งอย่างไม่เป็นระเบียบ ; ที่ปลายขามี proximoventral hair จำนวน 3 คู่ ;empodium ที่อยู่ปลายสุดของปล้อง tarsus ของขาคู่ที่ 1 มี mediodorsal spur ยาวประมาณ ¼ ของความยาวของแผ่นขนที่อยู่ด้านล่าง (medioventral hair); ขน duplex setae คู่ที่อยู่ที่โคนปล้อง (proximal set) อยู่ในแนวเดียวกันกับ tactile setae เส้นอื่น ๆ

เพศผู้ : มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 324.45 ไมครอน; terminal sensillum ที่อยู่ปลายสุดของระยางค์ปาก palp มีความยาว 1 หรือ 1.5 เท่า ของความกว้าง อวัยวะเพศผู้มีก้าน shaft) ค่อย ๆ เรียวแคบ ด้านหน้าของ knob เล็กส่วนด้านท้ายเกือบจะเป็นมุมสามเหลี่ยม (Fig. 4c)

5. *Tetranychus neocaledonicus* Andr'e

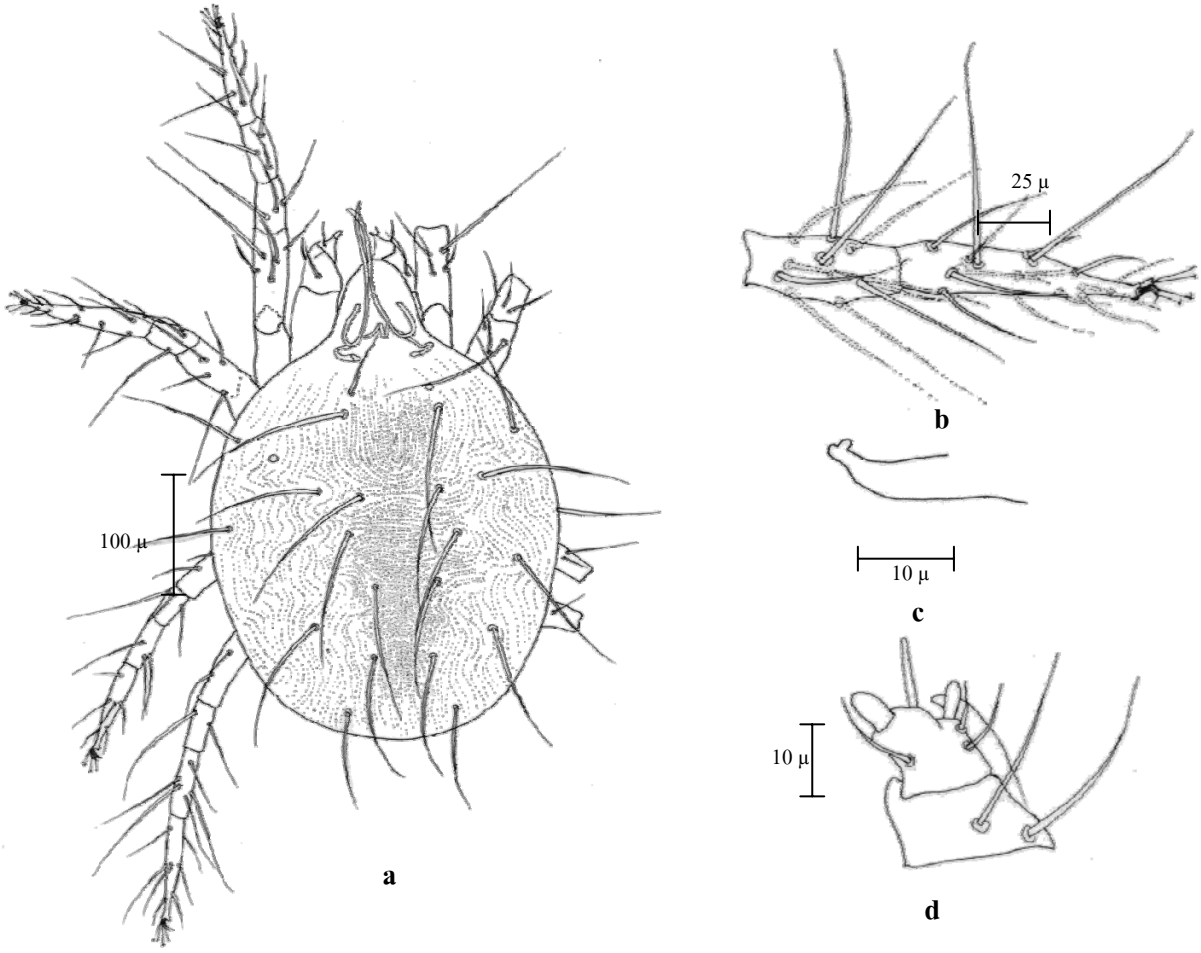


Fig 5. *Tetranychus neocaledonicus* Andr'e: a. dorsum of female ; b. tibia and tarsus of female; c. aedeagus; d. distal segment of palpus of female.

เพศเมีย: มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 389.33 ไมครอน กว้าง 317.33 ไมครอน: ขนด้านสันหลัง (dorsal setae) ยาวเลยขนด้านสันหลังคู่ถัดไป:ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 อยู่ในลักษณะเป็น diamond shape pattern; ท่อทางเดินของอากาศ (peritremes) เป็นแบบตะของอทั้ง 2 ด้าน; มี Spinneret ยาวน้อยกว่า 2 เท่าของความกว้าง ; ที่ปลายขามี proximoventral hair จำนวน 3 คู่ ; มี duplex setae ตั้งอยู่บนปล้อง tarsus ของขาคู่ที่ 1 และตำแหน่งของขน duplex setae ไม่อยู่ในระนาบเดียวกับ tactile setae

เพศผู้: มีความยาวลำตัวประมาณ 325.56 ไมครอน; มีขนด้านสันหลัง (dorsal setae) ท่อทางเดินของอากาศ (peritremes) และ Spinneret คล้ายในเพศเมีย อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้โค้งกลับ ส่วนหัวคล้ายลูกเบอรี่ (berrylike) (Fig.5c)

6. *Tetranychus piercei* McGregor

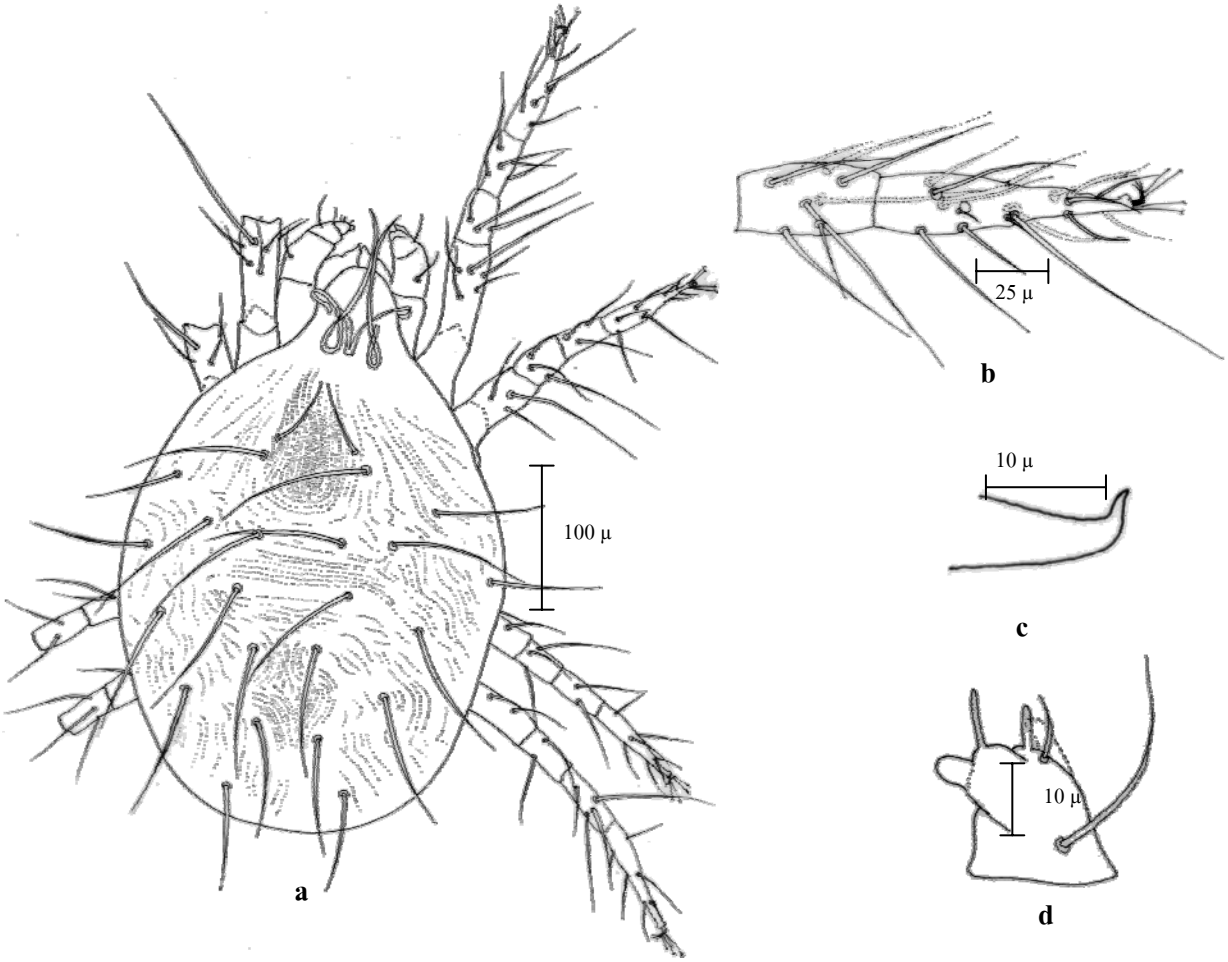


Fig 6. *Tetranychus piercei* McGregor: a. dorsum of female ; b. tibia and tarsus of female; c. aedeagus; d. distal segment of palpus of female.

เพศเมีย; มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 415.33 ไมครอน กว้าง 330.93 ไมครอน; ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 อยู่ในลักษณะเป็น diamond shape pattern;ที่ปลายขามี proximoventral hair จำนวน 3 คู่ ; มี duplex setae ตั้งอยู่บนปล้อง tarsus ของขาคู่ที่ 1 และตำแหน่งของขน duplex setae ไม่อยู่ในระนาบเดียวกับ tactile setae, บริเวณปลาย tarsus ไม่มีหนาม empodium spur ยื่นออกมา

เพศผู้ : มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 316.67 ไมครอน; อวัยวะเพศผู้มีปลายโค้งงอขึ้นด้านบน; ปลายสุดของknob ไม่ขยายกว้างออก (Fig.6c)

7. *Tetranychus urticae* Koch

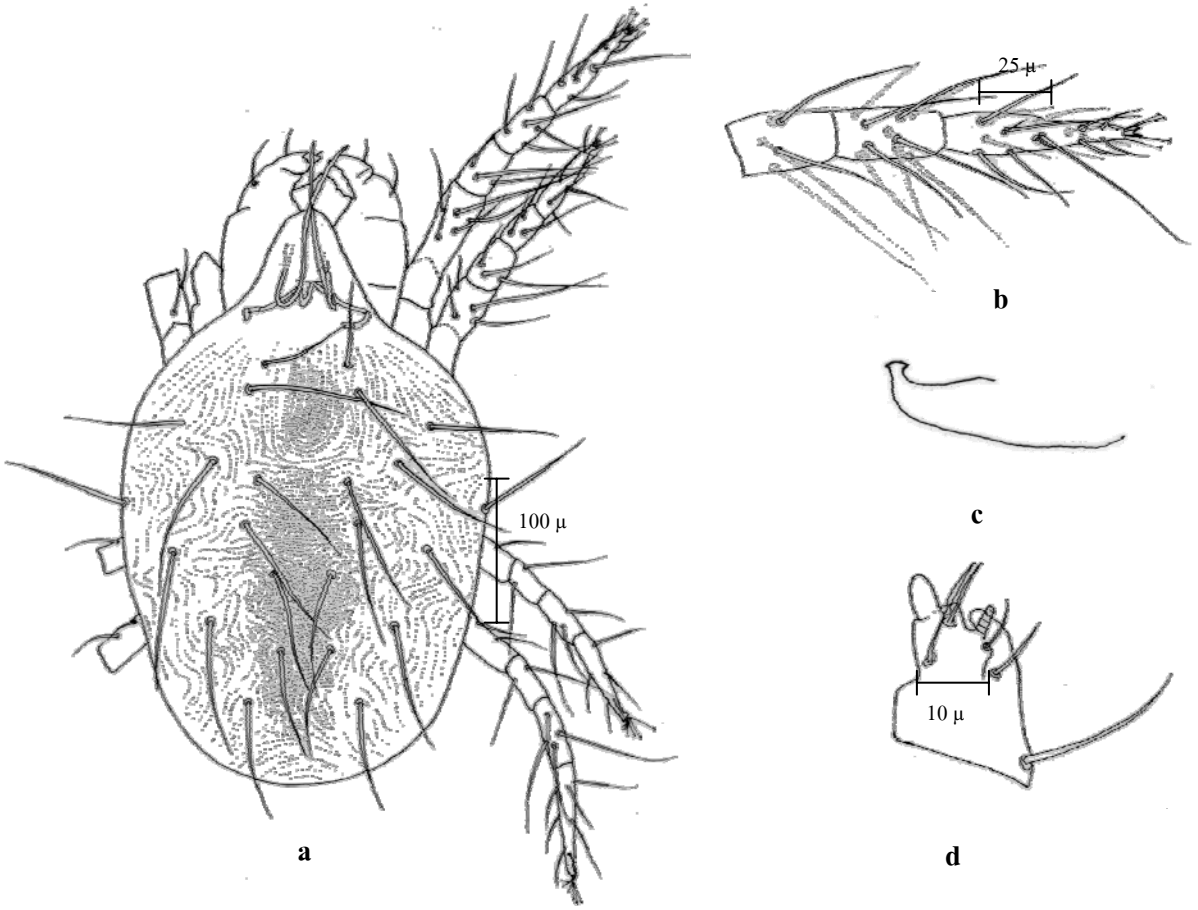


Fig 7. *Tetranychus urticae* Koch : a. dorsum of female ; b. tibia and tarsus of female; c. aedeagus; d. distal segment of palpus of female.

เพศเมีย: มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 516.99 µm กว้าง 408.61 µm ; ขนด้านสันหลัง (dorsal setae) มีความยาวเลยฐานของขนด้านสันหลังคู่ถัดไป; ท่อทางเดินของอากาศ (peritremes) เป็นแบบตะของอทั้ง 2 ด้าน;มี Spinneret ยาวประมาณ 2 เท่าของความกว้าง; ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 อยู่ในลักษณะเป็น diamond shape pattern; ที่ tarsiของขาคู่ที่ 1 มีขน duplex setae อยู่ห่างกันเป็นระยะที่ทำให้แบ่ง tarsus ออกเป็น 3 ส่วน เท่า ๆ กัน ; ที่ปลายขามี proximoventral hair จำนวน 3 คู่ ; มี duplex setae ตั้งอยู่บนปล้อง tarsus ของขาคู่ที่ 1 และตำแหน่งของขน duplex setae ไม่อยู่ในระนาบเดียวกับ tactile setae

เพศผู้: มีความยาวลำตัวประมาณ 333.33 µm มีขน (setae) และท่อทางเดินของอากาศ (peritremes) คล้ายในเพศเมีย; Spinneret มีความยาว 3 เท่าของความกว้าง; ส่วนหัวของ aedeagus มีขนาดเล็กคล้ายทั่งตีเหล็ก (anvil-shape)(Fig. 7c)

8. *Tetranychus taiwanicus* Ehara

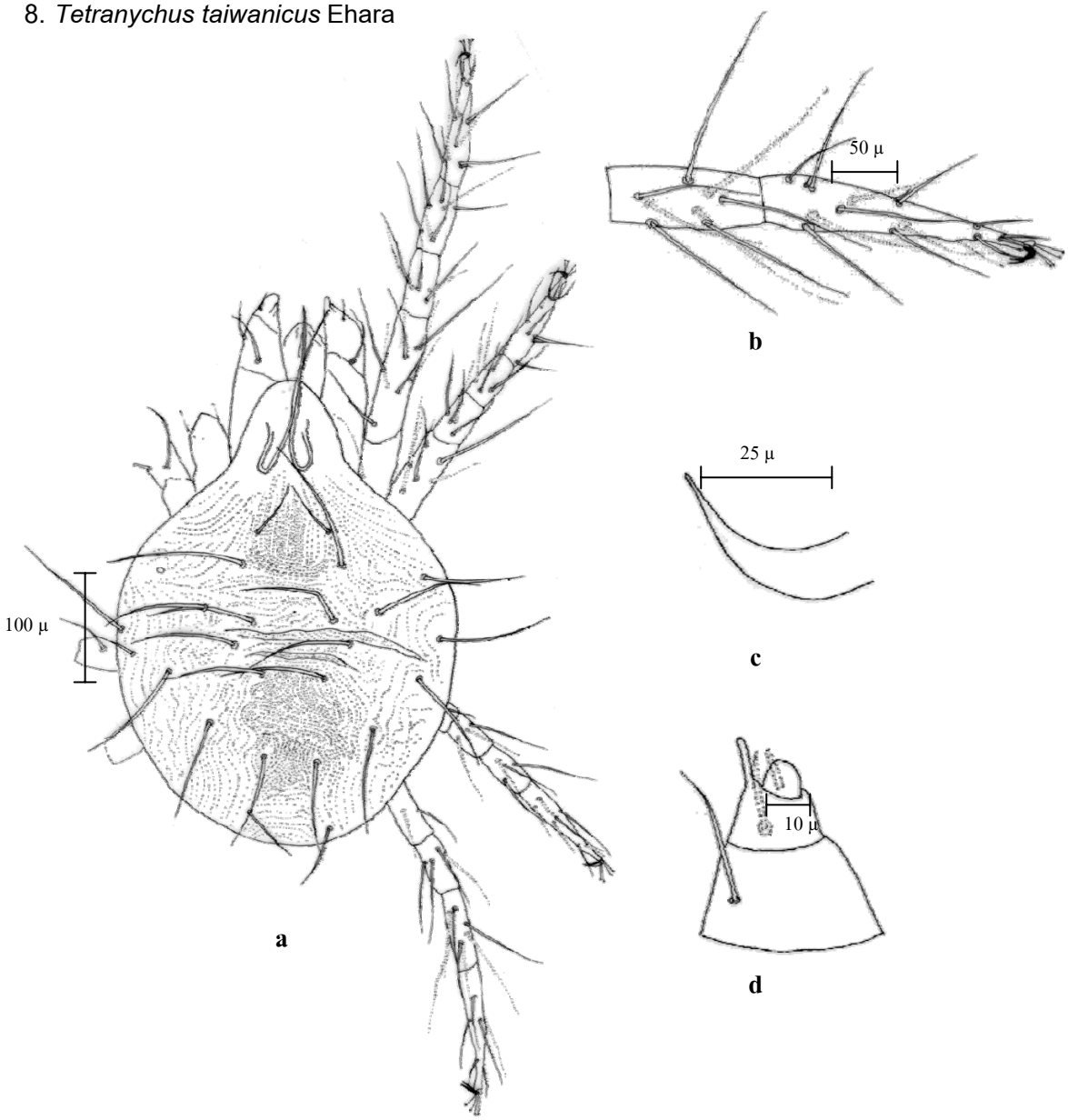


Fig 8. *Tetranychus taiwanicus* Ehara : a. dorsum of female ; b. tibia and tarsus of female; c. aedeagus; d. distal segment of palpus of female.

ตัวเมีย: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 436.94 ไมครอน กว้าง 396.66 ไมครอน; ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 อยู่ในลักษณะเป็น diamond shape pattern ; tibia ของขาคู่ที่ 1 มีขน tactile setae 9 เส้น และขน sensory setae 1 เส้น ; tibia ของขาคู่ที่ 2 มีขน tactile setae 7 เส้น; ที่ปลายขามี proximoventral hair จำนวน 2 คู่

เพศผู้: ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 351.73 ไมครอน ;อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ มีลักษณะก้านใหญ่และเรียวแคบลง คล้ายอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของไร *T. fijiensis* แต่ด้านปลายก้านจะทู่และสั้นกว่า

9. *Tetranychus truncatus* Ehara

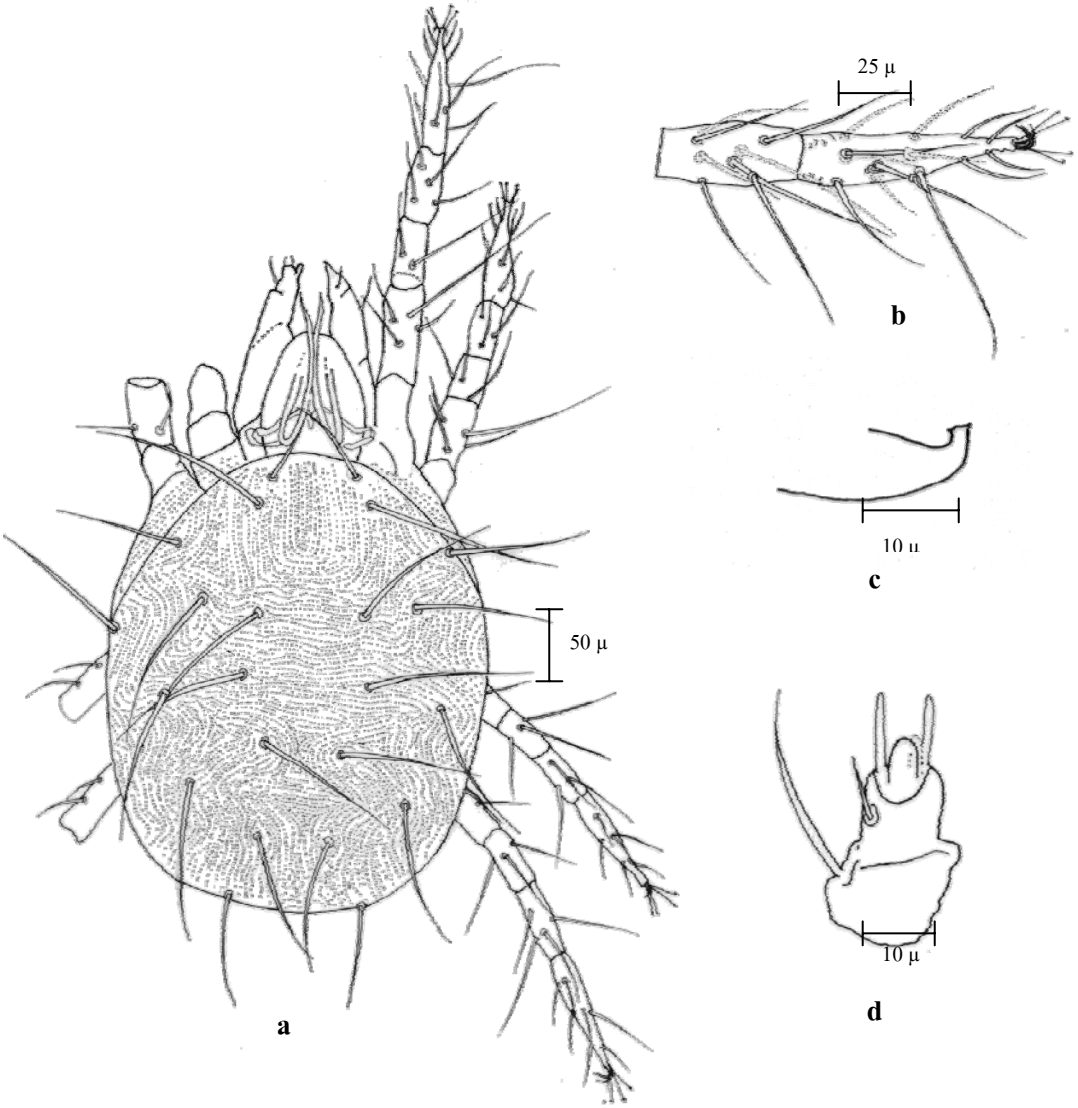


Fig 9. *Tetranychus truncatus* Ehara : a. dorsum of female ; b. tibia and tarsus of female; c. aedeagus; d. distal segment of palpus of female.

ตัวเมีย: มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 418 ไมครอน กว้าง 349.67 ไมครอน ; ลักษณะลายหรือรอยย่น (Striae) บนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 อยู่ในลักษณะเป็น diamond shape pattern; tibia ของขาคู่ที่ 1มีขน tactile setae 9 เส้น และขน sensory setae 1 เส้น;ที่ปลายขามี proximoventral hair จำนวน 3 คู่; empodium spur ไม่ปรากฏ

เพศผู้: มีความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย 337.72 ไมครอน ; อวัยวะเพศผู้หักงอขึ้นด้านหลัง; ส่วนปลาย knob เบนเข้าหาลำตัวเล็กน้อย ด้านบนของ knob เว้าลงเป็นแอ่งเล็กน้อย มีส่วน knob เล็ก มีความยาวของ knob ประมาณ 1.5 µm

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลจากการสำรวจและศึกษาอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Tetranychus* ของประเทศไทย บนพืชชนิดต่าง ๆ รวม 74 ชนิด ตั้งแต่เดือน ก.ย. 2548-ก.ย. 2550 บนพื้นที่ 20 จังหวัด พบไรศัตรูพืชในสกุล *Tetranychus* ทั้งหมด 9 ชนิด ได้แก่*Tetranychus fijiensis* Hirst, *T. neocaledonicus*, *T. piercei* , *T. kanzawai*, *T. truncatus*, *T. urticae*, *T. macfarlanei* , *T. taiwanicus*, *T. gloveri* โดยชนิดของไรศัตรูพืชที่มีความสำคัญและเข้าทำลายพืชชนิดต่าง ๆ เช่นไรแมงมุมฟิจิ (*T. fijiensis*) เป็นไรศัตรูที่สำคัญที่พบในพืชตระกูลปาล์มและพืชตระกูลส้ม, ไรแมงมุมคันซาวา (*T. kanzawai*) เป็นไรศัตรูพืชที่สำคัญของกุหลาบ มะละกอ พืชตระกูลแตงและพืชอื่น ๆ อีกหลายชนิด ไรแดงกระเจี๊ยบ (*T. macfarlanei*) เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของกระเจี๊ยบ พืชตระกูลแตง และมะเขือ และไรสองจุด (*T. urticae*) เป็นไรศัตรูพืชที่สำคัญของสตรอเบอรี่ สำหรับไรตัวห้ำที่พบร่วมกับไรศัตรูพืชในสกุล *Tetranychus* พบ 10 ชนิด ทั้งหมดเป็นไรตัวห้ำที่อยู่ในวงศ์ phytoseiidae

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณพงษ์ศักดิ์ พลตรี นักวิชาการเกษตร 6 และคุณปราโมทย์ ไตรบุญ นักวิชาการเกษตร 5 ที่ช่วยจำแนกชนิดของพืช

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2545. คู่มือตรวจแมลง ไรและสัตว์ศัตรูพืชเศรษฐกิจ. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ. 275 น.

วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์และพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2544. ไรศัตรูพืช และการป้องกันกำจัด. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ. 192 น.

วัฒนา จารณศรี. 2544. เอกสารประกอบการอบรม"แมลง-สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด" ครั้งที่ 11. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กทม. 34 น.

Baker, E. W., 1975. Plant- Feeding mites of Thailand (Tetranychidae, Tenuipalpidae and Tuckerellidae). Department of Agriculture Ministry of Agriculture and co-operatives. Bangkok. 43 p

Cranshaw, W.S. and D.S. Sclar (2004). Spider mite. Available: http://www.ext.colostate.edu/pubs/insect/05507.html[2004,Nov30]

Ehara, S. and T. Wongsiri. 1975. The spider mites of Thailand (Acarina: Tetranychidae). Mushi. 48(13):149-185.

Mau, R. F.L. and J.L. Martin Kessing (1992). *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval). Available: http://www. extento.hawaii. edu/kbase/crop/Type/t_cinnab.htm [2004,Nov12]

Raros, L.C. 1986. Philippine mites. Guide to Philippine Flora and Fauna. Vol. III : 51-204

ภาคผนวก

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 1.)

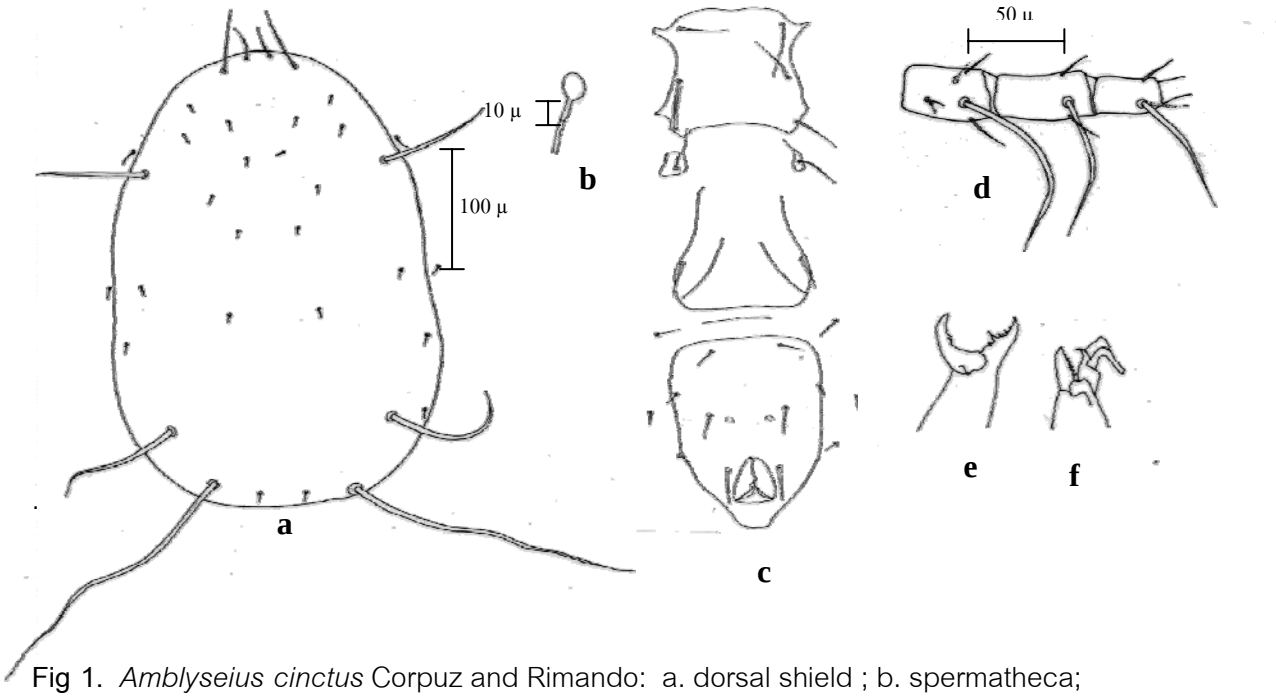


Fig 1. *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando: a. dorsal shield ; b. spermatheca; c. venter of idiosoma (female); d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae (female); f. chelicerae (male) with spermatodectyl.

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 2.)

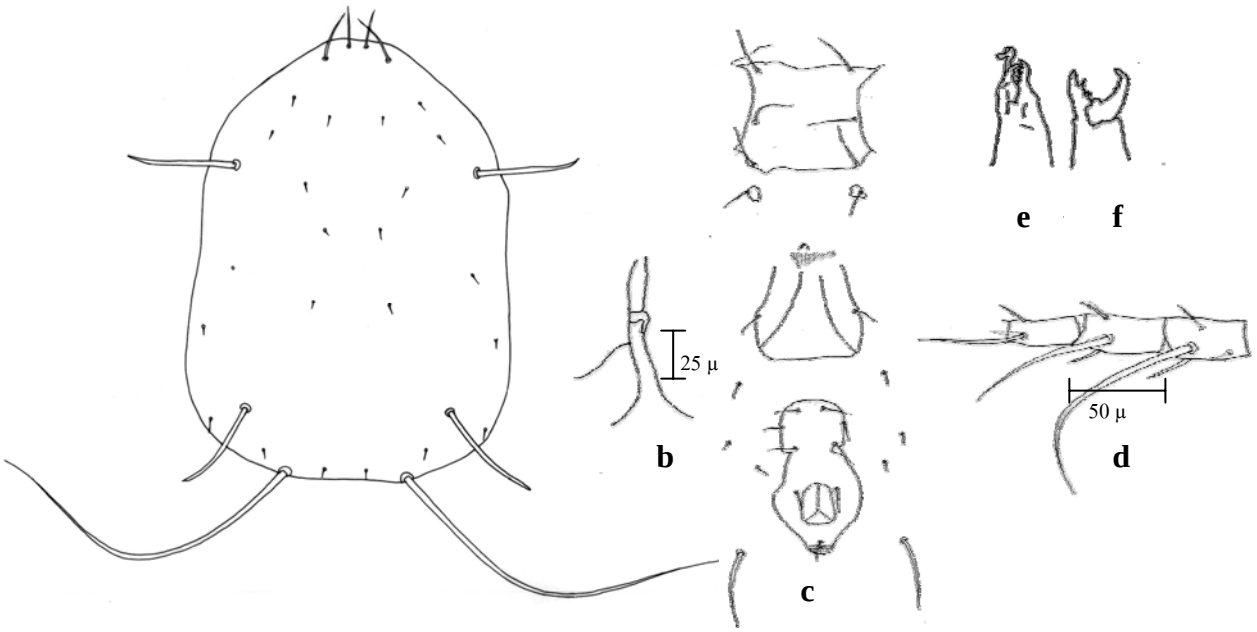


Fig 2. *Amblyseius deleoni* Muma and Denmark: a. dorsal shield; b. spermatheca; c. venter of idiosoma (female) ; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae (male) with spermatodectyl; f. chelicerae (female).

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 3.)

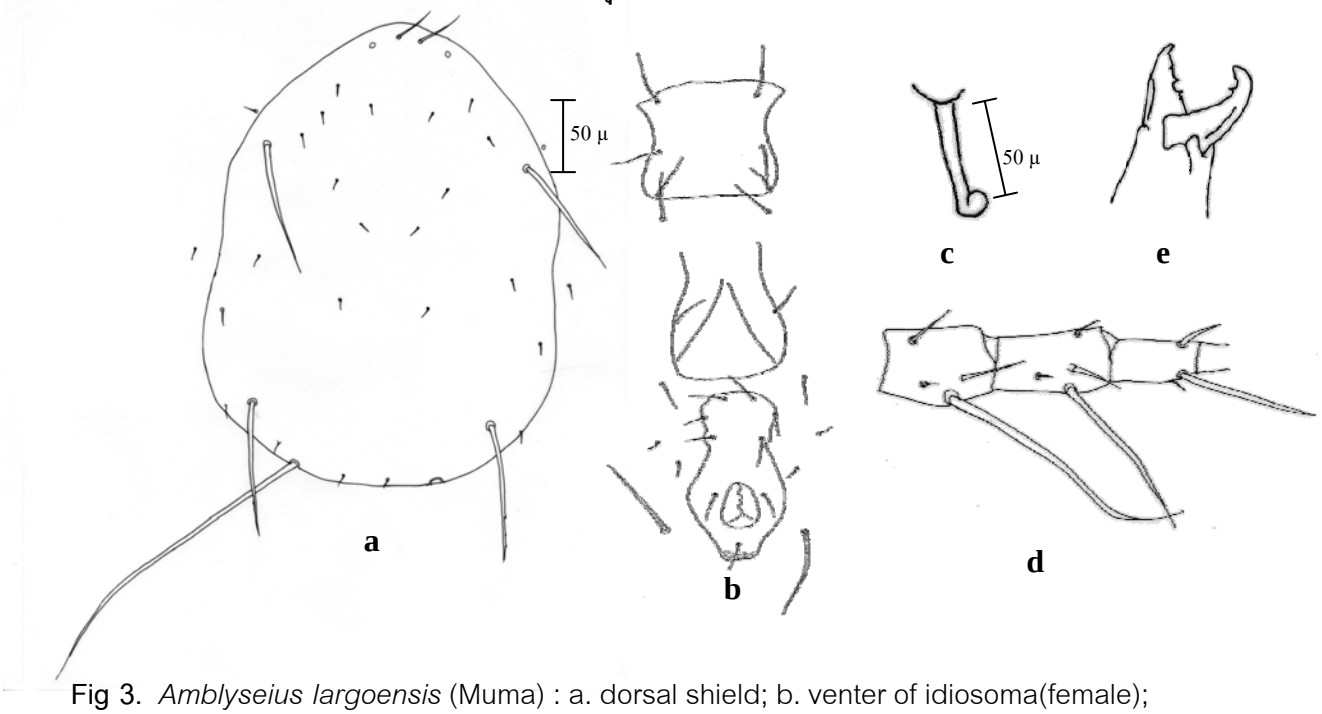


Fig 3. *Amblyseius largoensis* (Muma) : a. dorsal shield; b. venter of idiosoma(female); c. spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae(female)

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 4.)

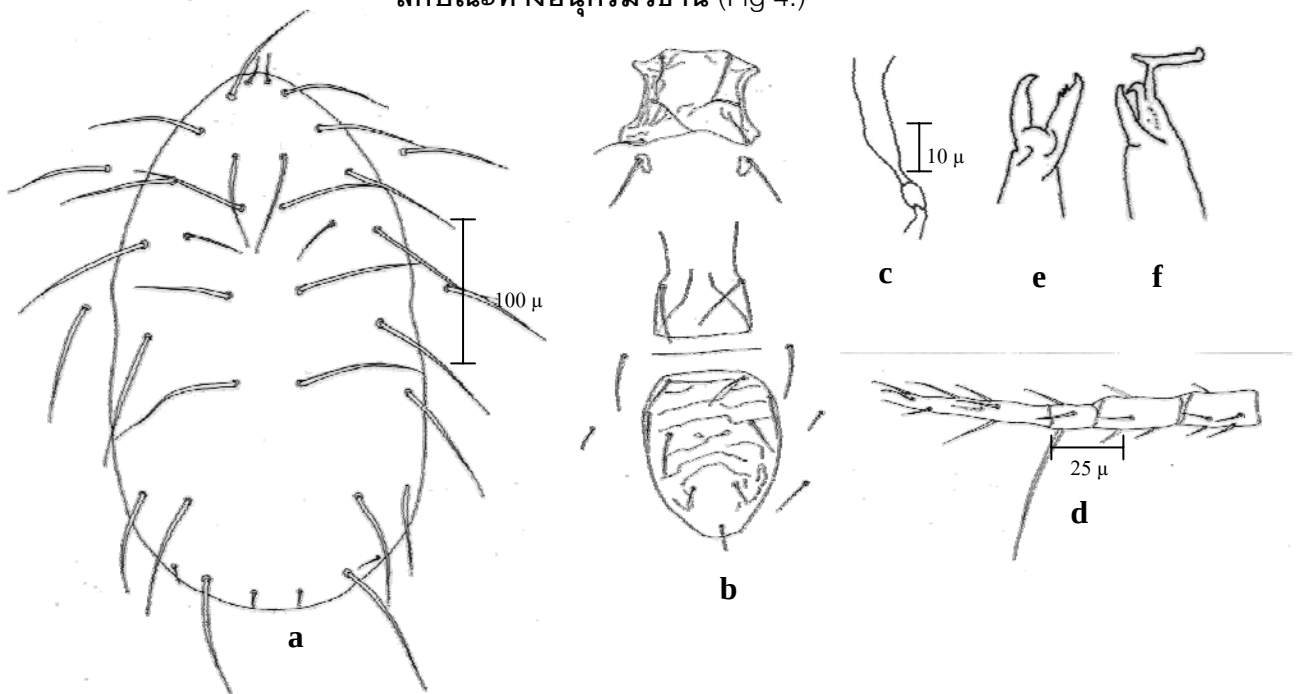


Fig 4. *Amblyseius longispinosus* (Evans) : a. dorsal shield; b. venter of idiosoma(female) c. spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae (female); f. chelicerae (male) with spermatodectyl.

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 5.)

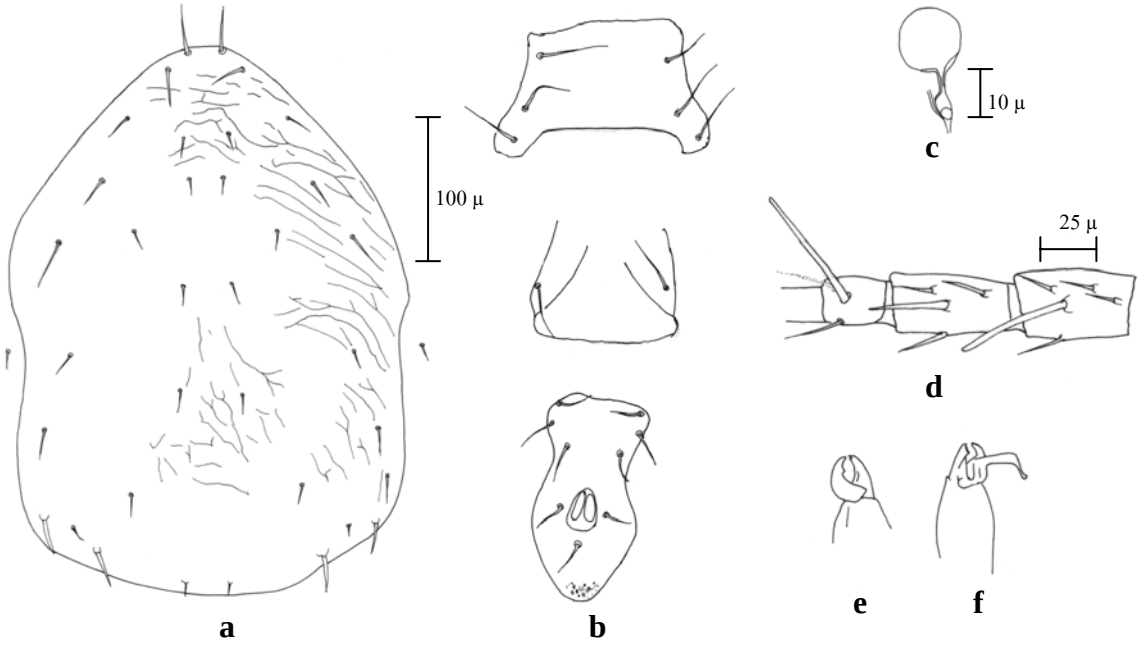


Fig 5. *Amblyseius nicholsi* Ehara and Lee : a. dorsal shield; b. venter of idiosoma (female); c. spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae (female); f. chelicerae (male) with spermatodectyl.

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 6.)

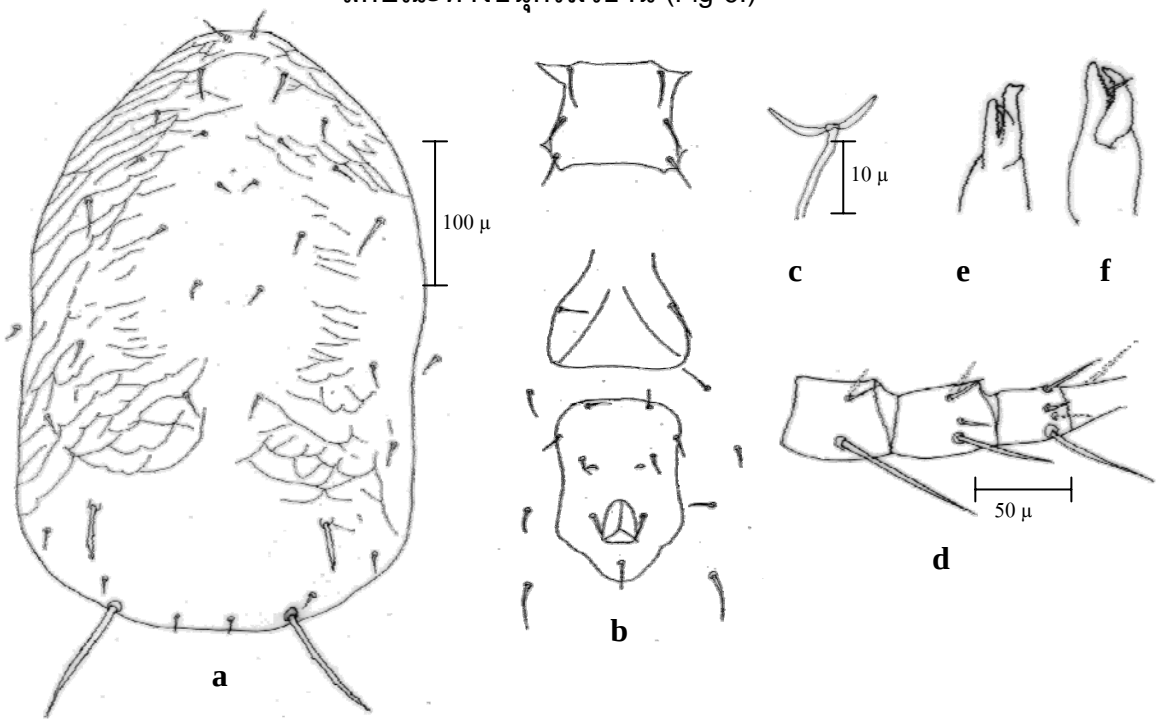


Fig 6. *Amblyseius syzygii* Gupta: a. dorsal shield; b. venter of idiosoma (female); c. spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae (male); f. chelicerae (female).

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 7.)

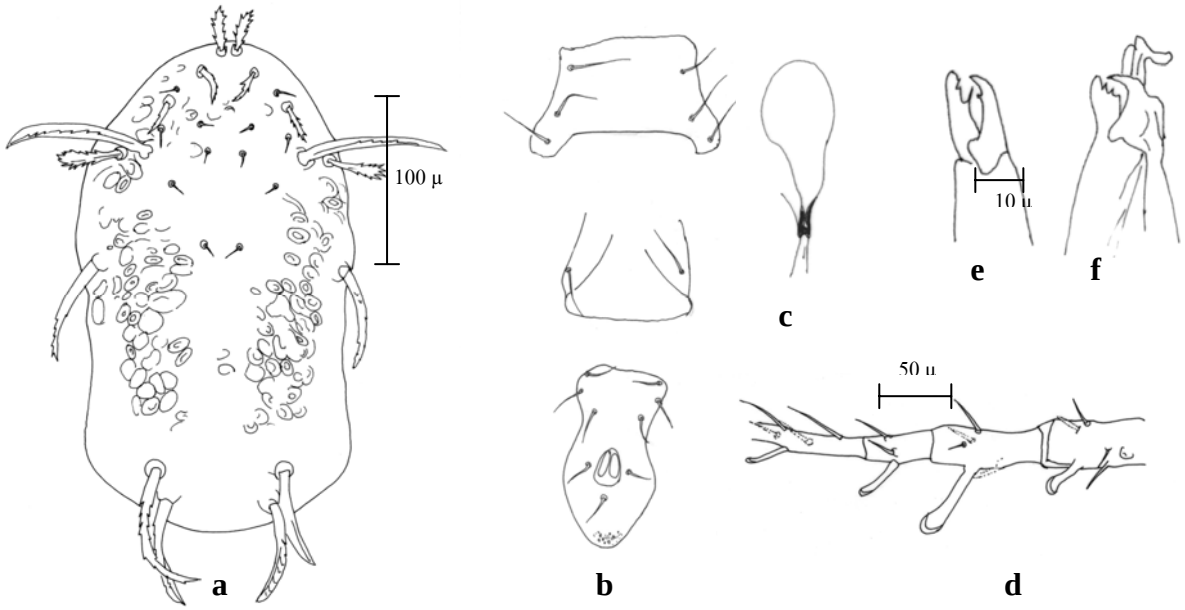


Fig 7. *Amblyseius hawaiiensis* Prasad : a. dorsal shield; b. venter of idiosoma (female); c. spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae (female); f. chelicerae (male) with spermatodectyl.

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 8.)

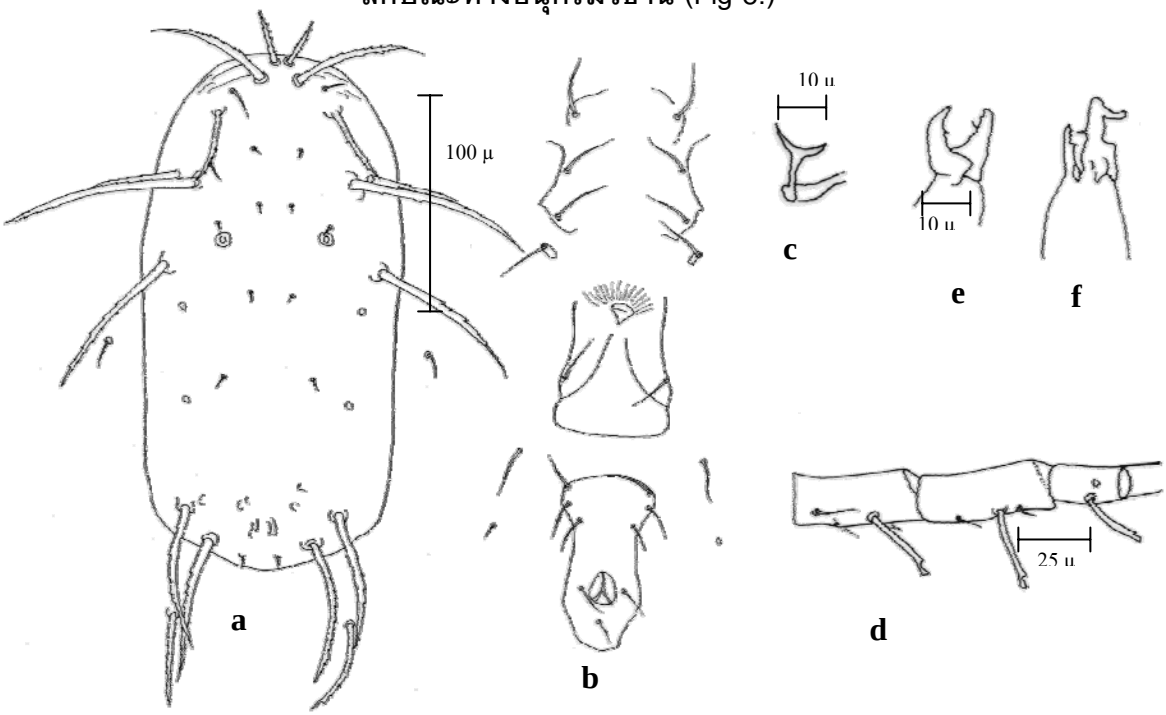


Fig 8. *Phytoseius hongkongensis* Swirski & Shechter : a. dorsal shield; b. venter of idiosoma (female); c. spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae (female); f. chelicerae (male) with spermatodectyl.

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Fig 9.)

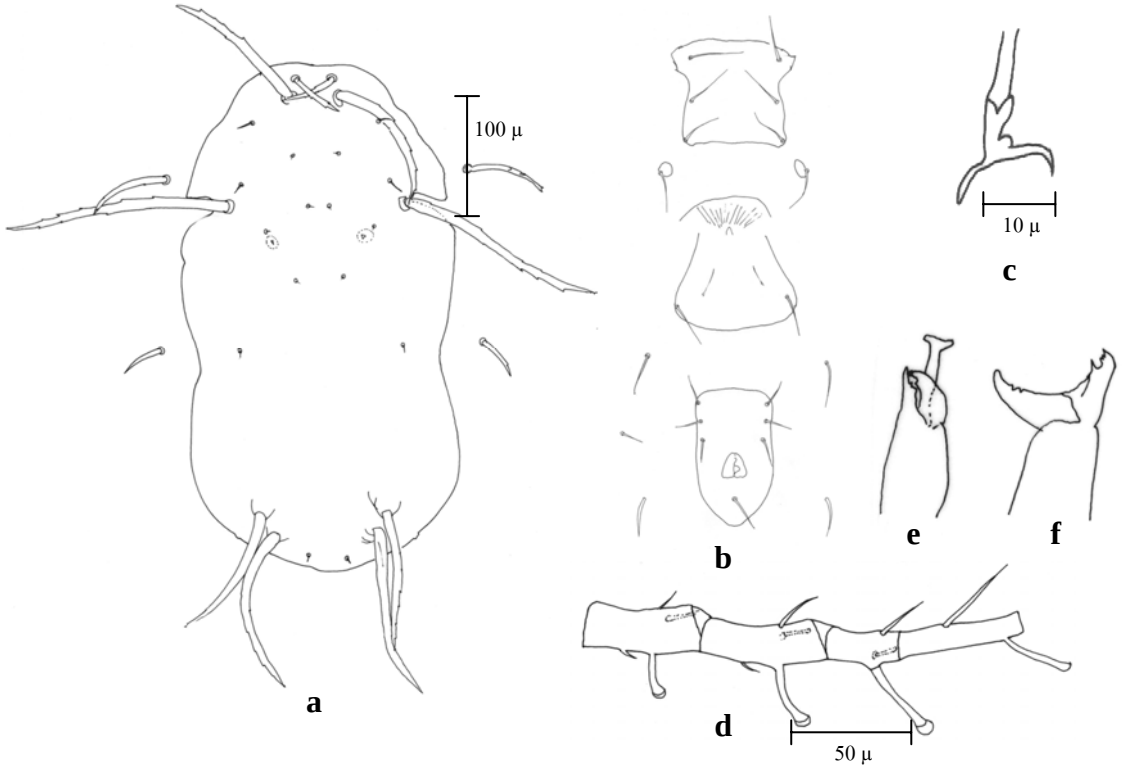


Fig 9. *Paraphytoseius multidentatus* Swirski & Shechter:a. dorsal shield; b. venter of idiosoma (female); c. spermatheca; d. genu, tibia and basitarsus of leg IV; e. chelicerae (male); f. chelicerae (female).

การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมวงศ์ Araneidae และ Tetragnathidae

Taxonomic Study on Spider Fauna in Family Araneidae and Tetragnathidae

วิภาดา วังศิลาบัตร **พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์**
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมระหว่างปี 2549-2550 วงศ์ Araneidae พบแมงมุม 6 ชนิด คือ *Araneus inustus* (L. Koch) *A. mitificus* (Simon) *Argiope aemula* (Walckenaer) *A. catenulata* (Doleschall) *Cyclosa insulana* (Costa) *Eriovixia excelsa* (Simon) วงศ์ Tetragnathidae พบ 2 ชนิด คือ *Tetragnatha mandibulata* Walckenaer และ *T. maxillosa* Thorell

คำนำ

แมงมุมวงศ์ Araneidae หรือแมงมุมใยกลม (Trypical Orb Weavers) มีเขตแพร่กระจายทั่วโลก ชอบอาศัยในที่ชื้น เกือบทุกชนิดสร้างใยกลมดักเหยื่อบริเวณต้นไม้ ใบไม้ ไม้พุ่ม หรือหญ้า แต่ไม่พบตามพื้นดิน แต่ละชนิดสร้างใยกลมที่มีรูปแบบแน่นอนและสวยงาม หลายชนิดสร้างรังอาศัยใกล้ใยดักเหยื่อโดยม้วนใบทำเป็นรัง มีเส้นใยที่ต่อเชื่อมจากรังไปสู่กลางใยดักเหยื่อ ชนิดที่ไม่สร้างรังอาศัยจะทิ้งตัวลงมา หรือวิ่งหนีเมื่อถูกกระทบ และจะปีนขึ้นมาสู่ใยดักเหยื่อด้วยเส้นใยที่ปล่อยขณะทิ้งตัวลงมาหลังเหตุการณ์สงบ โดยทั่วไปเพศผู้มีขนาดเล็กกว่าเพศเมีย และมักไม่พบที่ใยดักเหยื่อ

แมงมุมวงศ์ Araneidae มักหากินกลางคืน ส่วนใหญ่ไม่พบที่ใยเวลากลางวัน ยกเว้นบางสกุล เช่น *Argiope Cyclosa Gasteracantha Leucauge* ฯลฯ เมื่อเส้นใยที่มีสารเหนียวๆติดอยู่แห้งไป แมงมุมจะซ่อมแซมเวลาเย็น แมงมุมบางชนิดเก็บใยดักเหยื่อเวลาเช้าก่อนที่จะจากไปหาที่กำบังเวลากลางวัน และจะสร้างใยดักเหยื่อแทนที่เวลาเย็น

แมงมุมวงศ์ Araneidae กลืนเหยื่อเกือบทุกชนิดที่มาติดใย เป็นแมงมุมที่มีสายตาไม่ดี จะรู้ว่าเหยื่อมาติดใยจากการสั่นสะเทือนของเส้นใย แมงมุมใช้ขาพลิกเหยื่ออย่างรวดเร็ว และใช้ขาคู่ที่ 4 ดึงเส้นใยจากท่อปล่อยเส้นใยมาพันเหยื่อไว้ เหยื่อถูกกัดก่อนลากมาที่กลางใยหรือที่รังอาศัย แมงมุมดูดกินเหยื่อและทิ้งกากไป (Tikader,1982) แมงมุมวงศ์ Araneidae เป็นแมงมุมวงศ์ใหญ่ มีทั้งหมดมากกว่า 4,000 ชนิดใน 163 สกุล (Daxiang, et. all. 1999)

รหัสโครงการ 09-02-49-01

แมงมุมวงศ์ Tetragnathidae มี 57 สกุลและหลายร้อยชนิด สร้างใยกลมดักเหยื่อ สกุล *Tetragnatha* สร้างใยกลมดักเหยื่อใกล้สระน้ำ สกุล *Pachynatha* พบตามเศษพืชใกล้พื้นดิน ใต้ก้อนหิน กิ่งไม้หรือใบไม้ที่ร่วงหล่นตามพื้น พบมากที่ค่อนข้างชื้น ตัวเต็มวัยไม่สร้างใย มีแต่ตัวอ่อนที่สร้างใย สกุล *Nephila* สร้างใยกลมสีเหลืองขนาดใหญ่ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0-1.5 เมตร) ตามป่า ทุ่งหญ้าและสวน ชื่อสามัญ คือ แมงมุมใยทอง (Golden Orbweb Spiders) เส้นใยเหนียวๆที่ม้วนเป็นวงกลมสีเหลือง แมงมุมชนิดนี้หากินกลางวัน โดยเกาะห้อยหัวลงที่กลางใย สกุล *Leucauge* (Silver Marsh Spiders) มีท้องสีเงินและมีลายสีแดง เขียวและสีทอง สร้างใยแนวดิ่งหรือแนวนอนตามต้นไม้บริเวณที่ชื้นๆ หลายชนิดถักใยเวลาเช้าหรือกลางวัน กลางใย(hub)จะโปร่ง (Daxiang, *et*.all 1999)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมงมุม ได้แก่ สวิงจับแมลง ท่อนไม้กลมยาว หลอดแก้วทดลอง ขวดดองตัวอย่างแมงมุมขนาดต่าง ๆ กัน กล่องพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กัน ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ กัน กระดาษtissue พู่กัน ปากคีบ และสารเคมี ได้แก่ alcohol 75% ethyl acetate

2. อุปกรณ์ในการจำแนกชนิดและวาดภาพ ได้แก่ จาน petridish ทรายหยาบ กล้อง stereomicroscope กระดาษกราฟ กระดาษลอกลาย ดินสอ ปากกา rotring เบอร์ 1, 2, 3 เอกสารด้านอนุกรมวิธานแมงมุมที่เกี่ยวข้อง

3. อุปกรณ์ในการเขียนผลงานวิจัยและเผยแพร่ ได้แก่ อุปกรณ์ในการถ่ายภาพ กล้อง stereomicroscope ติดตั้งด้วยกล้องถ่ายภาพ ฟิล์มสี สไลด์ อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ วัสดุสำนักงาน

วิธีการ

1. การเก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุม แมงมุมแต่ละชนิดมีอุปนิสัยแตกต่างกัน การเก็บตัวอย่างจึงมีหลายวิธี ดังนี้

1.1 การเคาะ เดินเข้าไปในสวน ใช้ท่อนไม้กลมยาวเคาะกิ่งไม้ที่เลือกไว้กิ่งละ 5 ครั้ง แมงมุมจะตกลงในสวิงจับแมลงที่รองใต้กิ่ง ทำการคัดแยกแมงมุมตัวอ่อนและตัวเต็มวัยออกจากกัน จับแมงมุมตัวเต็มวัยใส่กล่องพลาสติกที่วางก้อนสำลีไว้ หยด ethyl acetate 2 – 3 หยดลงบนก้อนสำลีเพื่อทำให้แมงมุมสลบ ดองแมงมุมในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเก็บรักษาตัวอย่างต่อไป ส่วนแมงมุมตัวอ่อน จับแยกใส่กล่องพลาสติกใสที่ปูพื้นกล่องด้วยกระดาษ tissue กล่องละ 1 ตัว หยดน้ำใส่กระดาษให้ชื้น นำกล่องแมงมุมเหล่านี้ไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนแมงมุมตัวอ่อนกลายเป็นตัวเต็มวัยเพื่อฆ่าและเก็บรักษาต่อไป

1.2 การมองหาและจับโดยตรง วิธีนี้เหมาะสำหรับจับแมงมุมทุกสถานที่ทุกเวลา และทำให้ผู้จับสามารถทราบถึงพฤติกรรมต่าง ๆ ของแมงมุมแต่ละชนิด บันทึกพฤติกรรมต่าง ๆ ของแมงมุมแต่ละชนิด เช่นเวลาที่ออกหากิน บริเวณที่อยู่อาศัยและหากิน วิธีจับเหยื่อและชนิดของเหยื่อ ลักษณะใยดักเหยื่อ เป็นต้น การจับแมงมุมอาจใช้มือจับ หรือใช้หลอดแก้วช่วยในการจับ ส่วนการฆ่าและเก็บรักษาตัวอย่างแมงมุมเช่นเดียวกับข้อ 1.1

1.3 การโฉบ ใช้สวิงจับแมลงโฉบแมงมุมจากวัชพืชในไร่ สวน ในหญ้า หรือในนาข้าว ฆ่าและรักษาตัวอย่างแมงมุมดังข้อ 1.1

2. การศึกษาอนุกรมวิธาน

แมงมุมที่เก็บรักษาไว้ นำมาจำแนกเป็นวงศ์ สกุล ชนิด การจำแนกจะศึกษาจากตำราต่าง ๆ โดยเฉพาะจากเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมในแถบทวีปเอเชีย วาดรูปโดยใช้ grid scale เพื่อให้ได้ขนาดและสัดส่วนที่แท้จริงตามตัวอย่างแมงมุมที่วาด บรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธาน ทำ key เพื่อใช้เป็นแนวทางในการจำแนก ถ่ายรูปแมงมุม เก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุมไว้ในพิพิธภัณฑ์ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2549 ถึง กันยายน 2552 (3 ปี)

สถานที่ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมวงศ์ Araneidae และ Tetragnathidae ในสวนมะม่วง จ. ปทุมธานี พบแมงมุมวงศ์ Araneidae 6 ชนิด คือ *Araneus inustus* (C.L. Koch) *A. mitificus* (Simon) *Argiope aemula* Walckenaer *A. catenulata* (Doleschall) *Cyclosa insulana* (Costa) *Eriovixia excellsa* (Simon) วงศ์ Tetragnathidae พบ 2 ชนิด คือ *Tetragnatha mandibulata* Walckenaer และ *T. maxillosa* Thorell

วงศ์ Araneidae (แมงมุมใยกลม, Typical Orb Weavers)

เป็นแมงมุมวงศ์ใหญ่ มี 163 สกุล และมากกว่า 4,000 ชนิด รู้จักกันในนามแมงมุมใยกลม (orbweb spiders) ชอบอยู่ที่ค่อนข้างชื้น เกือบทุกชนิดสร้างใยดักเหยื่อแบบกลมตามต้นไม้ ไม้พุ่ม หญ้า มักไม่พบอาศัยตามพื้นดิน ใยดักเหยื่อมีลักษณะสวยงาม แต่ละชนิดมีลักษณะของใยแตกต่างกันบ้าง บางชนิดเกาะนิ่งแบบห้อยหัวลงที่กลางใย บางชนิดหลบซ่อนตัวใกล้ ๆ ใย คอยจับกินเหยื่อที่ติดใย บางครั้งพบแม่แมงมุมกำลังเฝ้ากลุ่มไข่ที่มีใยหุ้มภายในใบพืชที่ม้วนหรือพับ ถ้าถูกรบกวน บางชนิดจะทิ้งตัวลงหรือวิ่งหนีออกจากใยดักเหยื่อ แล้ววิ่งกลับมาเกาะที่กลางใยอีกครั้งใน

เวลาต่อมา เพศผู้มักมีขนาดเล็กกว่าเพศเมียและไม่ค่อยพบที่ใยเหมือนเพศเมีย มักหากินกลางคืน มีเพียงบางชนิดที่เกาะที่ใยดักเหยื่อเวลากลางวัน เช่น สกุล *Argiope* *Cyclosa* *Gasteracantha* เป็นต้น แมงมุมวงศ์นี้หลายชนิดมีบทบาทในการกำจัดแมลงศัตรูพืชเศรษฐกิจ เช่น เพลี้ยไก่แจ้ส้ม เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน ผีเสื้อ ตั๊กแตน แมลงวันผลไม้

สกุล *Singa* และ *Hyposinga* (วงศ์ย่อย Araneinae) ประกอบด้วย แมงมุมที่มีขนาดเล็ก ลำตัวแววาว มีลวดลายเป็นจุดหรือเส้น อาศัยในพืชต้นเตี้ย ใยของ *Cyclosa* มักสร้างในป่าโปร่ง ลักษณะใยกลม เส้นใยละเอียด stabilimentrum มีซากของเหยื่อติดอยู่ในแนวดิ่งจนถึงกลางใย แมงมุมวงศ์ย่อย Argiopinae มีขนาดลำตัวใหญ่และท้องสีสดใส หากินกลางวันโดยเกาะที่กลางใยดักเหยื่อ ใยมี stabilimentrum เป็นแถบยาวพร้อมด้วยขีดเส้นไหมสีเงินลายซิกแซก (zigzag silk bands) *Cyrtophora* (วงศ์ย่อย Cyrtophorinae) สร้างใยที่มีลักษณะเฉพาะตัว คล้ายใยของแมงมุมวงศ์ Linyphiidae ใยของ *Cyrtophora* ประกอบด้วยใยเป็นแผ่นเส้นใยละเอียด ลักษณะเส้นใยคล้ายกับเส้นใยบริเวณกลางใยของแมงมุมใยกลม แต่เส้นใยจะแห้ง และอยู่ในแนวราบ นอกจากนี้ยังมีส่วนพยุงด้านบนและล่างของใยนี้ แมงมุมเกาะกลางใยแบบห้อยหัวลง แมลงที่บินมากระทบกับใยที่พยุงด้านบนจะตกลงมาที่กลางใยเพื่อให้แมงมุมจับกิน แมงมุมวงศ์ย่อย Gasteracanthinae มีลำตัวสีสดใส มีหลายสี เช่น เหลือง แดง ดำ ขาว ใยดักเหยื่อแบบใยกลมสมบูรณ์ขึงในแนวดิ่งหรือแนวเอียง วงกลมกลางใย (hub) ไม่มีเส้นใย มีเส้นใยรัศมี (radii) และใยเหนียว ๆ (viscid spirals) จำนวนมาก

ลักษณะแมงมุมวงศ์นี้มีขนาดเล็กถึงขนาดใหญ่ (3 – 30 มิลลิเมตร) บางสกุลลักษณะเพศผู้และเพศเมียแตกต่างกัน หรือเพศผู้ขนาดเล็กกว่าเพศเมียมาก หัวและอกมักแบน ส่วนหัวมักแยกจากส่วนอกด้วยรอยกดลึกเอียง clypeus แคบ ตา 8 ตา เรียง 2 แถว ตาข้างตั้งอยู่ริมหัวแยกจากตากลาง fovea เด่นชัดหรือไม่มี chelicerae แข็งแรง เคลื่อนไหวได้อิสระ มี boss ฟัน 2 แถว labium ยาวและกว้าง ขอบหนา ขามีหนามมาก ไม่มี scopula มี claw 3 อัน trichobothria มีทุกส่วนของขายกเว้นบริเวณ tarsi ปลาย tarsi มีขนที่เป็นหนาม ท้องใหญ่ มีรูปทรงต่าง ๆ กัน มักเป็นรูปไข่ ด้านบนมีลวดลายชัดเจนและมีปุ่มนูน (humps) ปกคลุมด้วยขน มีปุ่มลึกทั่วไป (ยกเว้นสกุล *Chorizopes*) มี booklungs 2 อัน tracheal spiracle อยู่ใกล้ spinneret spinnerets ขนาดเกือบเท่ากัน สั้นและอยู่รวมกันแน่น มี colulus epigyne สมบูรณ์แบบ บางส่วนเป็นแผ่นแข็ง palp ของเพศผู้มี paracymbium ที่เป็นตะขอ

Araneus inustus (C.L. Koch)

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Epeira inustus* C. L. Koch, 1871

ชื่อสามัญ

รูปร่างลักษณะ

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 5.2 มิลลิเมตร เพศเมีย 6.6 มิลลิเมตร

หัวและอก สีครีม ส่วนหัวนูนกว่าส่วนอกเล็กน้อย มี cervical groove แบ่งแยกระหว่างส่วนหัวและอก เห็น thoracic groove ชัด ตา 8 ตา แบบ diurnal eyes เรียง 2 แถว (4-4) แถวแรกเรียงแบบ recurve แถวหลังเรียงแบบ procurve เล็กน้อย clypeus แคบ chelicerae มีฟัน แถวหน้า 4 ซี่ แถวหลัง 3 ซี่ เห็น boss ชัด maxillae มีความยาวมากกว่าความกว้างเล็กน้อย มี scopulae labium มีความกว้างมากกว่าความยาว ขอบหนา sternum มีความยาวมากกว่าความกว้างเล็กน้อย ด้านหน้ารูปโค้งเว้า ด้านปลายแหลม มนและตั้งอยู่ตอนหน้าของ coxae ขา 4 ขาเรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ 1, 2, 4, 3

ท้อง สีขาว มีลายสีเทา ท้องรูปไข่ มีความยาวมากกว่าความกว้างเล็กน้อย

เขตการแพร่กระจาย พบทั่วไปในนาข้าวของประเทศไทย

Araneus mitificus (Simon)

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Epeira mitificus* Simon, 1886

Araneus mitificus Boes et. Str, 1906

ชื่อสามัญ Kidney Garden Spider

รูปร่างลักษณะ

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 2.4 มิลลิเมตร เพศเมีย 6.1 มิลลิเมตร

หัวและอก สีน้ำตาล มีความยาวมากกว่าความกว้าง ตา 8 ตา แบบ diurnal eyes เรียง 2 แถว (4-4) ตาแถวหน้าเรียงแบบ

recurve มาก แถวหลังค่อนข้างตรง ตากลางแถวหน้าขนาดเล็กกว่าตากลางแถวหลังเล็กน้อย และอยู่ห่างกันเองมากกว่าระยะห่างตากลางแถวหลัง ตาข้างแถวหน้าและหลังขนาดใกล้เคียงกันและอยู่ติดกัน ส่วนหัวนูนเล็กน้อย และแยกจากส่วนอกโดยเส้น cervical groove clypeus แคบ chelicerae มีฟันแถวหน้า 3 ซี่ แถวหลัง 3 ซี่ maxillae 2 อัน ขนานกัน มีความยาวมากกว่าความกว้าง ปลายตัดและมี scopulae labium ขอบหนา sternum มีความยาวมากกว่าความกว้าง ด้านหน้าปลายเว้า ด้านปลายแหลม ความยาวขา 4 คู่ เรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ 1, 2, 4, 3

ท้อง สีขาว มีความกว้างเท่ากับความยาว มีรูปไตสีดำขวางบนด้านหน้าส่วนท้อง และปลายท้องมีแถบสีดำ

เขตการแพร่กระจาย ปทุมธานี

Argiope aemula **(Walckenaer)**

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Epeira aemula* Walckenaer, 1841

Epeira striata Doleschall, 1857

Argiope aemula Thorell, 1877

Argiope trivittata Karsch, 1891

Argyope aemula Pocock, 1900

ชื่อสามัญ

รูปร่างลักษณะ

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 6.9 มิลลิเมตร เพศเมีย 25.9 มิลลิเมตร

หัวและอก มีขนอ่อนสีเงินปกคลุม ความกว้างเท่ากับความยาว ส่วนหัวและอกแบน แต่ส่วนหัวนูนกว่าเล็กน้อย เห็น cervicle groove แยกส่วนหัวและอกชัดเจน ตา 8 ตา แบบ diurnal eyes เรียง 2 แถว (4-4) แถวหน้าเรียงแบบ recurve เล็กน้อย แถวหลังแบบ procurve ตาข้างแถวหน้าและหลังติดกัน clypeus แคบ chelicerae เห็น

boss ชัด มีฟันแถวหน้า 2 ซี่ แถวหลัง 3 ซี่ maxillae มีความกว้างเท่ากับความยาว ปลายเบนออกจากกัน มี scopulae labium มีความกว้างมากกว่าความยาว ขอบหนา sternum มีความกว้างเท่ากับความยาว ด้านหน้าตรง ด้านปลายแหลม และตั้งอยู่ระหว่าง coxae IV ความยาวขาทั้ง 4 เรียงจากมากไปหาน้อย ดังนี้ 4, 1, 2, 3

ท้อง สีเงิน มีขีดลายขวางสีเหลืองและขอบสีน้ำตาลบนท้อง มีความยาวมากกว่าความกว้างเล็กน้อย

เขตการแพร่กระจาย พบทั่วไปในนาข้าวของประเทศไทย

Argiope catenulata (Doleschall)

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Epeira catenulata* Doleschall, 1859

Argiope opulenta Thorell, 1859

Epeira stellata Stoliczka, 1869

Argiope pelewensis Keyserling, 1886

Argiope catenulata Roewer, 1942

ชื่อสามัญ

รูปร่างลักษณะ

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 5.4 มิลลิเมตร เพศเมีย 12.1 มิลลิเมตร

หัวและอก สีน้ำตาล มีแถบขนสีเงินทั่วไป มีความยาวมากกว่าความกว้างเล็กน้อย ส่วนหัวนูน มี cervical groove แยกส่วนหัวออกจากส่วนอก ส่วนอกเห็น thoracic groove เป็นรอยตามขวาง ตา 8 ตาแบบ diurnal eyes เรียง 2 แถว (4-4) ตาแถวหน้าขนาดเล็กกว่าแถวหลัง และเรียงแบบ procurve เล็กน้อย ตาแถวหลังเรียงแบบ procurve มาก ตาข้างแถวหน้าและแถวหลังอยู่ติดกัน clypeus แคบ chelicerae มีฟันแถวหน้า 4 ซี่ แถวหลัง 3 ซี่ maxillae มีความกว้างเท่ากับความยาว labium มีความกว้างมากกว่าความยาว sternum มีความกว้าง

เท่ากับความยาว ขาสีน้ำตาลยาว มีหนามทั่วไป ขาคู่ที่ 3 สั้นที่สุด

ท้อง สีน้ำตาล มีลายสีเงินบนท้อง

เขตการแพร่กระจาย พบทั่วไปในนาข้าวของประเทศไทย

Cyclosa insulana (Costa)

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Epeira insulana* Costa, 1835

Cyclosa insulana Barrion & Litsinger, 1981

ชื่อสามัญ Island Cyclosa Spider

รูปร่างลักษณะ

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 5.1 มิลลิเมตร

หัวและอก สีน้ำตาลค่อนข้างมัน มีขนอ่อนปกคลุมทั่วไป มีความยาวมากกว่าความกว้าง (1 : 0.7) ส่วนหัวนูน และแคบกว่าส่วนอกประมาณ 1 เท่า และมีรอยแยกจากส่วนอกเป็นรูปตัวยู (U) ส่วนอกกว้างแบน เห็น fovea เป็นทางยาว clypeus แคบ chelicerae มีฟันแถวหน้า 3 ซี่ แถวหลัง 4 ซี่ และระหว่างฟัน 2 แถวนี้ยังมีฟันซี่เล็ก ๆ อยู่ด้วย maxillae มีความยาวมากกว่าความกว้างเล็กน้อย labium มีความกว้างมากกว่าความยาว และขอบหนา sternum รูปหัวใจ โดยแหลมไปทางปลายท้อง ตา 8 ตา แบบ diurnal eyes ตาแถวหน้า recurve มากกว่าแถวหลัง ตากลางแถวหน้าใหญ่กว่าตาอื่นและอยู่ใกล้กันเองมากกว่าตาข้างแถวหน้า ตากลางแถวหลังอยู่ใกล้กันเองมากกว่าตามข้างแถวหลัง ขาสีน้ำตาลอ่อนสลับแก่ ความยาวขาต่าง ๆ เรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ 1, 4, 2, 3

ท้อง สีน้ำตาลมีขนปกคลุมทั่วไป ส่วนท้องยาวมากกว่ากว้างประมาณ 2 เท่า ด้านหน้าและด้านหลังท้องเป็นรูปตัด มีจุด 2 จุดบริเวณกลางหลังท้อง

เขตการแพร่กระจาย กทม.

Eriovixia excelsa (Simon)

วงศ์ Araneidae

ชื่อพ้อง *Glyptogona excelsus* Simon, 1889

Epeira excelsa Bank, 1896

Araneus excelsus Simon, 1906

Neoscona excelsus Tikader & Bal, 1981

ชื่อสามัญ แมงมุมก้นงอน

รูปร่างลักษณะ

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 6 มิลลิเมตร เพศเมีย 8.2 มิลลิเมตร

หัวและอก สีขาว ยกเว้นบริเวณขอบมีลายสีเทา รูปทรงค่อนข้างกลม ด้านหน้าส่วนหัวยื่นเป็นมุมแหลมไปข้างหน้า ด้านบนแบนมีขนบาง ๆ ปกคลุม thoracic groove เป็นเส้นตรงลึกตามยาว และ cervical groove เป็นขีดตามขวาง ตาแบบ diurnal สีน้ำตาลเรียงแบบ recurve ทั้ง 2 แถว ตาข้างแถวหน้าและหลังอยู่ติดกันและตั้งอยู่บนส่วนที่นูนขึ้น chelicerae สีขาว มีฟันแถวหน้า 4 ซี่ แถวหลัง 3 ซี่ (แต่ละแถวมีซี่ใหญ่ 1 ซี่) ฟันสีแดง maxillae มีความกว้างเท่ากับความยาว มี scopulae labium มีความกว้างมากกว่าความยาว และ ขอบหนา sternum สีเทารูปทรงยาว 2 ข้างขนานกัน ด้านหน้ารูปตัด ด้านปลายแหลม ความยาวขา ต่าง ๆ เรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ 1, 4, 2, 3 ขามีขนและหนามยาวทั่วไป บริเวณ tibia ของขาคู่ที่ 2 มีหนามเป็นจำนวนมาก ปลายขามี claw 3 อัน มี spurious claw

ท้อง สีขาว มีขนอ่อนปกคลุมทั่วไป ความกว้างเท่ากับความยาว ปลายท้องแหลมและเชิดขึ้น

เขตการแพร่กระจาย กทม. ปทุมธานี

วงศ์ Tetragnathidae (**แมงมุมเขี้ยวใหญ่**, Big-Jawed Spiders)

แมงมุมวงศ์นี้มี 57 สกุล และหลายร้อยชนิด ชักใยดักเหยื่อแบบกลม สกุล *Tetragnatha* ชักใยกลมดักเหยื่อเหนือน้ำหรือใกล้น้ำ สกุล *Pachygnatha* พบใกล้พื้นดิน โพรง

ต้นไม้ ใต้หิน ใต้ท่อนไม้ หรือใบไม้ โดยเฉพาะบริเวณที่ชื้นพบมากกว่าบริเวณอื่น เฉพาะตัวอ่อนเท่านั้นที่ชักใยดักเหยื่อ ตัวแก่ไม่ชักใย สกุล *Nephila* สร้างใยดักเหยื่อแบบกลมสีเหลือง เส้นผ่าศูนย์กลางกว้าง 1.0 – 1.5 เมตร บริเวณป่า หรือพืชยืนต้นต่าง ๆ ชื่อสามัญของแมงมุมสกุลนี้คือ แมงมุมใยทอง (golden orbweb spiders) เส้นใยที่มีสารเหนียวสีเหลือง ส่วนเส้นรัศมีไม่พุ่งเป็นเส้นตรง เส้นใยที่ใช้พยุงใยดักเหยื่อจะเหนียวแข็งแรงมาก เส้นใยหลัก ๆ ของใยดักเหยื่อจะใช้ไประยะเวลาหนึ่ง แมงมุมสร้างแทนที่เฉพาะเส้นใยที่มีสารเหนียว ๆ เนื่องจากเสียหายเมื่อเหยื่อมาติดเส้นใยหรือจากปัจจัยอื่น เส้นใยของแมงมุมตัวอ่อนจะกลม ส่วนของแมงมุมที่มีอายุมาก อาจจะเหลือแค่ครึ่งวงกลม แมงมุมชนิดนี้หากินกลางวัน และเกาะที่ใยแบบห้อยหัวลง สกุล *Leucauge* (silver marsh spiders) มีส่วนท้องที่มีสีเงิน มีลวดลายสีแดง เขียว และสีทอง สร้างใยกลมแนวดิ่งหรือแนวนอนบนพืชบริเวณชื้น เช่น หนอง บึง หรือป่าฝน หลายชนิดในสกุลนี้สร้างใยดักเหยื่อทั้งช่วงเช้าและช่วงกลางวัน โดยยังใช้เส้นใยหลัก ๆ ของใยดักเหยื่อ ใยของพวกสกุล *Meta* มีทั้งแบบแนวดิ่งถึงแนวนอน บริเวณวงกลมกลางใย (hub) ไม่มีเส้นใย เส้นใยที่ขึงวนเป็นวงกลมจะห่างกัน ส่วนมากสร้างใยที่ร่มเงา บริเวณที่ชื้น ที่มืดเช่นในถ้ำหุบเขา

แมงมุมวงศ์นี้มีตั้งแต่ขนาดเล็กถึงขนาดใหญ่ (2-40 มิลลิเมตร) โดยทั่วไปสีเทาแถบเหลือง สีน้ำตาล หรือเทา สกุล *Tetragnatha* มีลายสีเงิน สกุล *Pachygnatha* มีลวดลายบนท้องสีเทาและสีเงิน หัวและอกยาวมากกว่ากว้าง ตา 8 ตาเรียง 2 แถว (4-4) ตาข้างอาจจะติดกัน ด้านปลาย sternum แหลม มีเยื่อระหว่าง coxae ในสกุล *Pachygnatha* chelicerae แตกต่างกัน อาจอ้วนสั้น หรือยาว มีฟันซี่ใหญ่เป็นแถวและ spur แข็งแรง ในเพศผู้ของวงศ์ย่อย Tetragnathinae และ Leucauginae นั้น chelicerae จะยาวมาก หรือยาวและฐานอ้วนในวงศ์ย่อย Metinae endite ขนานกันในสกุล *Tetragnatha* หรือเบนเข้าหากันในสกุล *Pachygnatha* ขอบ labium หนา ขายาวและผอม มี spine หรือไม่มี บางชนิดของสกุล *Nephila* มีกลุ่มขนชัดเจนบนขาบริเวณ femora และ tibiae ในวงศ์ย่อย Leucauginae มีกลุ่มขน 2 แถว งอนขึ้น (trichobothria) ด้านข้างที่อยู่ใกล้ส่วนหัว บริเวณครึ่งแรกของ femora ของขาคู่ที่ 4 หรือมีขน trichbothria ที่เป็นเส้นตรงเรียงเป็นแถว บริเวณ tibiae ของขาทุกขา ส่วนท้องแตกต่างกัน อาจจะยาว เป็นท่อ กลม หรือรูปไข่ บางชนิดปลายท้องแหลมยื่นยาวจนไกลกว่าที่ตั้งของ spinnerets epigastric furrow เกือบตรง เพศผู้ของ Nephilinae ส่วนใหญ่ท้องมีแผ่นแข็ง spinneret ธรรมดา คู่ที่ 1 และ 3 ขนาดใกล้เคียงกัน มี 2 booklungs tracheal spiracle ของวงศ์ย่อย Tetragnathinae ตั้งอยู่กึ่งกลางระหว่าง spinnerets และ epigynal plate epigyne ของเพศเมียไม่มีแผ่นแข็ง paracymbium ของ palp ของเพศผู้แยกอยู่อิสระและเคลื่อนไหวได้ tegulum กลม embolus ขดเป็นวงและ conductor อยู่ที่ปลาย

Tetragnatha mandibulata Walckenaer

วงศ์ Tetragnathidae

ชื่อพ้อง *Tetragnatha mandibulata* Walckenaer, 1841

ชื่อสามัญ

รูปร่างลักษณะ

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 8.2 มิลลิเมตร เพศเมีย 9.8 มิลลิเมตร

หัวและอก สีเหลืองทอง มีความยาวมากกว่าความกว้าง ค่อนข้างแบน ส่วนหัวแยกจากส่วนอกโดย cervical groove thoracic groove เป็นวงกลมลึกกลางอก ตาสีดำ 8 ตา เรียง 2 แถว (4-4) แถวแรกเรียงแบบ recurve เล็กน้อย แถวหลังค่อนข้างตรง ตาข้างแถวหน้าขนาดเล็กสุด ตาอื่น ๆ ขนาดเกือบเท่ากัน ตากลางแถวหน้าอยู่ใกล้กันเอง มากกว่าระยะห่างระหว่างตากลางแถวหน้ากับตาข้างแถวหน้า ระยะห่างของทุกตาของตาแถวหลังเท่ากัน clypeus แคบกว่าระยะห่างระหว่างตากลางแถวหน้า ความยาวฐาน chelicerae มากกว่าความกว้างของหัวและอก เพศเมียมีฟันแถวหน้า 10 ซี่ แถวหลัง 14 ซี่ ขนาดฟันแถวหลังเล็กกว่าแถวหน้า เพศผู้มี locking apophysis ธรรมดา ปลายแหลม มีฟันแถวหน้า 12 ซี่ แถวหลัง 12 ซี่ fang ยาว maxillae ยาว 2 อันขนานกัน ปลายบาน มี scopulae labium สีน้ำตาลมืด กว้างมากกว่ายาว sternum ยาวมากกว่ากว้าง ขาผอมยาวมาก มี spine ทั่วไป ความยาวขา 4 ขาเรียงจากมากไปหาน้อย ดังนี้ 1, 2, 4, 3

ท้อง สีเขียวขี้ม้า มีลายสีเงินทั่วไป ตอนหน้าของท้องอ้วนกว่าตอนปลาย ปลายท้องแหลม genital fold ของเพศเมียยาว spinnerets อยู่รวมเป็นกลุ่มใต้ปลายท้อง

เขตการแพร่กระจาย พบทั่วไปในนาข้าวทุกแห่งทั่วประเทศ

Tetragnatha maxillosa Thorell

วงศ์ Tetragnathidae

ชื่อพ้อง *Tetragnatha maxillosa* Thorell, 1895

T. mandibulata Thorell, 1890

T. japonica Boes. et. Str, 1906

T. listeri Gravely 1921

T cliens Chamberlin, 1924

ชื่อสามัญ

รูปร่างลักษณะ

ความยาวลำตัวโดยเฉลี่ย เพศผู้ 6.7 มิลลิเมตร เพศเมีย 7.6 มิลลิเมตร

หัวและอก สีน้ำตาล มีความยาวมากกว่าความกว้าง ส่วนหัวนูน ส่วนอกแบนกว่า ส่วนหัวแยกจากส่วนอกโดย cervical groove thoracic groove เป็นวงกลมลึกกลางอก ตา 8 ตาสีดำแบบ diurnal eyes แถวหน้าเรียงแบบ recurve เล็กน้อย แถวหลังเรียงเส้นตรง ตากลางแถวหน้า และแถวหลังมีขนาดใหญ่กว่าตาอื่น ความยาวฐาน chelicerae ของเพศผู้มากกว่าความยาวหัวและอก ส่วนของเพศเมียจะเท่ากับความยาวหัวและอก ปลาย locking apophysis ของเพศผู้ มีรอยหยัก maxillae ผอม ยาว 2 อัน ขนานกัน labium มีความกว้างเท่ากับความยาว ขอบหนา sternum มีความยาวมากกว่าความกว้าง ด้านหน้าปลายตัด ด้านปลายแหลม ความยาวขา 4 ขา เรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ 1, 2, 4, 3

ท้อง สีเทา มีจุดสีเงินทั่วไป ท้อง ผอม ยาว

เขตการแพร่กระจาย พบทั่วไปในนาของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุมระหว่างปี 2549-2550 วงศ์ Araneidae พบ 6 ชนิด คือ *Araneus inustus* (L. Koch) *A. mitificus* (Simon) *Argiope aemula* (Walckenaer) *A. catenulata* (Doleschall) *Cyclosa insulana* (Costa) *Eriovixia excella* (Simon) วงศ์ Tetragnathidae พบ 2 ชนิด คือ *Tetragnatha mandibulata* Walckenaer และ *T. maxillosa* Thorell

เอกสารอ้างอิง

Tikader, B.K. 1982. Fauna of India. Navana Printing Works Private Limited. Calcutta. pp.1-2.

Daxiang, S.,Z. Mingsheng and C. Jun.1999. The Spiders of China. Hebei Science and Technology Publishing House. 640 p.

สำรวจและศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่

Exploration and Studies on Rat Species in Oil Palm Plantations Ecosystem

กรแก้ว เสือสะอาด พวงทอง บุญทรง เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและศึกษาความหลากชนิดสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 1.5-2 ปี ระหว่าง เดือน ตุลาคม 2549–กันยายน 2550 เขตภาคตะวันออก ในจังหวัดจังหวัดตราด เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในจังหวัดหนองคาย และจังหวัดกาฬสินธุ์ โดยวิธีการดักหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ที่ทำการสำรวจ ตัวอย่างหนูที่ดักได้นำมาจำแนกชนิด เพศ และชื่อวิทยาศาสตร์พร้อมบันทึกรายละเอียดต่างๆ แล้วสต๊าฟตัวอย่างหนู เก็บรวบรวมไว้ในห้องเก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป จากการสำรวจพบว่าในเขตตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ดักและรวบรวมได้หนู 2 ชนิด คือ หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) และหนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) ในเขตตำบลพระพุทธบาท อำเภอศรีเชียงใหม่ และตำบลบ้านม่วง อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย ดักและรวบรวมได้หนู 4ชนิด คือหนูพุกใหญ่((*Bandicota indica*) หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) หนูหริ่งนาหางสั้น(*Mus cervicolor*) และหนูหริ่งนาหางยาว(*Mus caroli*) ในเขตตำบลหนองนาง และตำบลน้ำโมง อำเภอท่าบ่อ จังหวัดหนองคาย ดักและรวบรวมได้หนู 2 ชนิด คือหนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) และหนูจี๊ด(*Rattus exulans*) ในเขตตำบลศรีชมภู อำเภอโซ่พิสัย จังหวัดหนองคาย ดักและรวบรวมได้หนู 4 ชนิด คือ หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) หนูหริ่งนาหางสั้น(*Mus cervicolor*) และหนูหริ่งนาหางยาว(*Mus caroli*)และหนูฟันขาวใหญ่(*Rattus berdmorei*) ในเขตตำบลโพนกรง อำเภอเมือง จังหวัดกาฬสินธุ์ ดักและรวบรวมได้หนู1 ชนิด คือหนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) จากการสำรวจสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ปลูกปาล์มใหม่ของเกษตรกรที่ดักหนูได้ เป็นพื้นที่ที่พบรูหนู ร่องรอยการทำลายปาล์มน้ำมัน มีหญ้าขึ้นรกหรือติดกับพื้นที่ปลูกไม้ผล มันสำปะหลัง หรือนาข้าว เป็นต้น เนื่องจากมีการปลูกปาล์มใหม่ทั่วประเทศเพื่อเป็นพืชทดแทนพลังงานตามนโยบายของรัฐบาล ซึ่งการสำรวจในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือยังไม่เสร็จสิ้น ดังนั้นจึงได้ทำการสำรวจความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออก- เฉียงเหนือ และภาคอื่นๆ เพิ่มเติมต่อไปในปี 2551

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

การทำเกษตรกรรมที่เพาะปลูกพืชเพื่อการค้าเป็นการปลูกพืชเชิงเดี่ยวทำให้ระบบนิเวศเปลี่ยนไปเกิดการระบาดของศัตรูพืช ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจต่างๆ จากการสำรวจความเสียหายของพืชต่างๆในประเทศไทย ระหว่าง ปี 2530-2535 พบความเสียหายจากการทำลายของหนูในข้าวบาร์เลย์ 6.5% ข้าวสาลี 6.36% อ้อย 5.3% ปาล์มน้ำมัน 6.36% มะพร้าว 8.7% มะคาเดเมียนัท 2.14% และยังมีพืชอีกหลายชนิดที่ถูกหนูทำลาย(กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร,2544) เกษตรกรมักแก้ปัญหาการทำลายของศัตรูพืชเหล่านี้โดยการใช้สารเคมีป้องกันกำจัด ซึ่งมีผลกระทบต่อสภาพนิเวศการเกษตร ทำให้ศัตรูธรรมชาติตายไป สภาพสมดุลทางธรรมชาติเสีย ไป เมื่อเปรียบเทียบกับสภาพนิเวศธรรมชาติที่มักไม่เกิดปัญหาเหล่านี้ เนื่องจากมีความหลากหลายของสัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติมากมาย จึงทำให้เกิดการระบาดของสัตว์ศัตรูพืชน้อยมาก(เกรียงศักดิ์,2540;ประเสริฐ และเกรียงศักดิ์ ,2546; Lekunze, Ezealor และ Aken Ova, 2001; Duckett และ Karuppiah,1989) แนวทางการศึกษานี้ เพื่อให้ทราบถึงความหลากหลายของสัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในสภาพการปลูกพืชชนิดต่าง ๆ เพื่อเป็นประโยชน์ ในการหาแนวทางจัดการศัตรูพืชไม่ให้เกิดการระบาดรุนแรง ดังนั้น ข้อมูลพื้นฐาน เช่น ข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธาน ชนิด จำนวน เขตการแพร่กระจายของสัตว์ศัตรูพืช ศัตรูธรรมชาติ ความเสียหายของพืชผล ระยะเวลาการระบาด ความหลากชนิดของสัตว์เหล่านี้ ในสภาพพื้นที่นั้นๆจึงมีความ สำคัญและจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อประโยชน์ในการสืบค้นข้อมูลและเป็นแนวทางในการนำไปใช้วางแผนการจัด การสัตว์ศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งควรใช้ประโยชน์จากศัตรูธรรมชาติเช่นนกแสก (Smal,1990)ในการควบคุมการระบาดของสัตว์ศัตรูพืช โดยไม่ใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชและเป็นการลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช จากผลการศึกษาและสำรวจชนิดหนูศัตรูปาล์มปลูกใหม่ในปี 2549 ในเขตจังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดจันทบุรีและจังหวัดตราด ในปี 2549 พบว่ามีความหลากชนิดของหนูในพื้นที่เหล่านี้มีทั้งสกุลหนูพุก สกุลหนูท้องขาว และสกุลหนูหริ่ง ดังนั้นจึงได้ทำการสำรวจความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือเพิ่มเติมต่อไปในปี 2550

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. กรงดักหนู(Live trap) 100 กรง กรงเลี้ยงหนู อาหารเลี้ยงหนู
2. เหยื่อดักหนู เช่น ขี้ไต้ ข้าวโพดหวาน
3. สวนปาล์มน้ำมันปลูกใหม่ของเกษตรกรในเขตภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

4. เครื่องชั่งน้ำหนักสนาม เชือก สำลี ลวด บอร์แร็ก เวอร์เนียร์ ไม้บรรทัด ไฟฉาย สายวัด ถุงผ้าดิบ สมุดบันทึกข้อมูล เครื่องมือผ่าตัด ขวดดองสัตว์ บิ๊กเกอร์ petridish ฟอร์เซ็บ

5. สารเคมี เช่น แอลกอฮอล์ ฟอร์มาลิน ไดเอททิลอีเทอร์ ไดอ็อกแซน เป็นต้น

6. อุปกรณ์สำหรับสตั๊ฟสัตว์ เช่น ใบมีดผ่าตัด กรรไกรตัดกระดูก ผงบอแร็ก ลวด สำลี

7. กล้องจุลทรรศน์ แว่นขยาย กล้องถ่ายรูป ฟิลม์สี และฟิลม์สไลด์

8 ตู้เก็บตัวอย่างสัตว์

แบบและวิธีการทดลอง

1.แผนการทดลอง(Experimental Design): -

2. กรรมวิธี(Treatment) -

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง (Methods or cultural Practice)

1) สำรวจ รวบรวม เก็บตัวอย่างหนูและสัตว์ศัตรูพืชในพื้นที่ปลูกปาล์มที่เลือก โดยทำการดักหนูและสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออกเช่น จังหวัดตราด และในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดหนองคาย กาฬสินธุ์ โดยสุ่มวางกรงดักหนู 100 กรง บริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมัน ต้นละ 1 กรง 2 เดือนต่อครั้งๆละ3 วัน ทำการตรวจกรงทุกวัน บันทึกระบบนิเวศของพื้นที่นั้น อายุปาล์มน้ำมันและจำนวนหนูที่ดักได้ หนูที่ดักได้นำมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

2) ตัวอย่างหนูมีชีวิตและหนูตายดองในขวดบรรจุฟอร์มาลินหรือแอลกอฮอล์ 70% เพื่อนำมาวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะความแตกต่าง ตามระบบอนุกรมวิธานในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร โดยจำแนกชนิด เพศ น้ำหนัก และรายละเอียดของสัตว์ที่ดักได้ เช่น สีขนด้านหลัง สีขนท้อง ความยาวของหัว ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวหู ความยาวตีนหลัง ลักษณะของกระโหลก ฟัน เป็นต้น ตามระบบการจำแนกชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในประเทศไทย ในหนังสือ Mammals of Thailand ของ Lekagul,B and J.A.McNeedlyปี 1997 และหนังสือ The Mammals of the Indomalayan Region ของ Corbet, G.B.and J.E. Hill ปี 1992

3) สตั๊ฟหนู และสัตว์ที่ดักได้ จัดเก็บเป็นตัวอย่าง พร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้น ไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชเพื่อใช้เป็นข้อมูลฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป

การบันทึกข้อมูล(Observation or Measurements)

1. บันทึกสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ทำการสำรวจ
2. บันทึกลักษณะความเสียหายของปาล์มน้ำมันที่ถูกหนูทำลายในพื้นที่ทำการสำรวจ
3. บันทึกจำนวน ชนิด เพศ น้ำหนัก ลักษณะสีขน ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวตีนหลัง ความยาวใบหู ของหนูที่ดักได้
4. บันทึกลักษณะสำคัญของตัวอย่าง ที่เก็บรวบรวมมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ เช่น ลักษณะกะโหลก

ฟัน สีขน ความยาวอวัยวะต่างๆ สภาพนิเวศวิทยาพื้นที่ที่ดักหนูได้ เพื่อจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2553 รวม 5 ปี

สถานที่ดำเนินการ : สวนปาล์น้ำมันในเขตจังหวัดตราด จังหวัดหนองคาย จังหวัดกาฬสินธุ์ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลอง

การสำรวจความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในปี 2549 ระหว่างเดือนตุลาคม 2548-กันยายน 2549 ในเขตภาคตะวันออกคือจังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดจันทบุรี และจังหวัดตราด พบว่าสัตว์ศัตรูปาล์มปลูกใหม่อายุ1.5 -2 ปี ที่ดักและรวบรวบรวมได้เป็นหนูในวงศ์ Muridae มี 6 ชนิด(species)คือ หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) หนูพุกเล็ก(*Bandicota savilei*) หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) หนูหริ่งนาหางยาว(*Mus caroli*) หนูหริ่งนาหางสั้น(*Mus cervicolor*) และหนูจิ๊ด(*Rattus exulans*) เนื่องการสำรวจยังไม่เสร็จสมบูรณ์จึงได้ดำเนินการต่อเนื่องไปในปี 2550

ในปี 2550 ได้ทำการสำรวจและศึกษาความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 1.5-2 ปี ระหว่างเดือน ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 ในเขตภาคตะวันออก คือ จังหวัดตราด ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือจังหวัดหนองคาย และจังหวัดกาฬสินธุ์ ทำการดักหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ที่ทำการสำรวจโดยใช้ข้าวโพดหวานและขี้ไต้เป็นเหยื่อดักหนู โดยสุ่มวางกรงดักหนู 100 กรงบริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมัน ต้นละ 1 กรง สำรวจ 2 เดือนต่อครั้งๆละ3 วัน ตรวจกรงทุกวัน บันทึกระบบนิเวศของพื้นที่นั้น อายุปาล์มน้ำมัน และจำนวนหนูที่ดักได้ หนูที่ดักได้นำมาศึกษาในห้อง ปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เพื่อนำมาจำแนกชนิด เพศ น้ำหนัก และรายละเอียดของสัตว์ที่ดักได้ เช่น สีขนด้านหลัง สีขนท้อง ความยาว

ของหัว ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวหู ความยาวตีนหลัง ลักษณะของกระโหลก ฟัน เป็นต้น และวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะความแตกต่างตามระบบอนุกรมวิธานโดยใช้ระบบการจำแนกชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในประเทศไทย อาศัยหลัก การจำแนกชนิด ในหนังสือ Mammals of Thailand ของ Lekagul,B and J.A.McNeedlyปี 1997 และหนังสือ The Mammals of the Indomalayan Region ของ Corbet, G.B.and J.E. Hill ปี 1992 สต๊ัฟหนูและสัตว์ที่ดักได้และ จัดเก็บเป็นตัวอย่าง พร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้นไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป ผลการสำรวจพบว่าหนูที่ดักได้อยู่ในวงศ์ Muridae ทั้งหมด คือ ในเขตตำบลวังตะเคียน อำเภอเขาสมิง จังหวัดตราด ดักและรวบรวมได้หนู 2 ชนิด คือ หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) และหนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) ในเขตตำบลพระพุทธบาท อำเภอศรีเชียงใหม่ และตำบลบ้านม่วง อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย ดักและรวบรวมได้หนู 4 ชนิด คือหนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*) หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) หนูหริ่งนาหางสั้น(*Mus cervicolor*) และหนูหริ่งนาหางยาว(*Mus caroli*) ในเขตตำบลหนองนาง และตำบลน้ำโมง อำเภอท่าบ่อ จังหวัดหนองคาย ดักและรวบ รวมได้หนู 2 ชนิด คือหนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) และหนูจี๊ด(*Rattus exulans*) ในเขตตำบลศรีชมภู อำเภอโซ่พิสัย จังหวัดหนองคาย ดักและรวบรวมได้หนู 4 ชนิด คือ หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) หนูหริ่งนาหางสั้น(*Mus cervicolor*) และ หนูหริ่งนาหางยาว(*Mus caroli*) และหนูฟันขาวใหญ่ (*Rattus berdmorei*) ในเขตตำบลโพนกรง อำเภอเมือง จังหวัดกาฬสินธุ์ ดักและรวบรวมได้หนู1 ชนิด คือหนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*)

จากการสำรวจสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ปลูกปาล์มใหม่ของเกษตรกรที่ดักหนูได้ เป็นพื้นที่ที่พบรูหนู ร่องรอยการทำลายปาล์มน้ำมัน พื้นที่มีหญ้าขึ้นรกหรือติดกับพื้นที่ปลูกไม้ผล มันสำปะหลัง หรือแปนาข้าว เป็นต้น เนื่องจากมีการปลูกปาล์มใหม่ทั่วประเทศเพื่อเป็นพืชทดแทนพลังงานตามนโยบายของรัฐบาล และการสำรวจในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือยังไม่เสร็จสิ้นจึงได้ทำการสำรวจความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคอื่นๆ ต่อเนื่องไปในปี 2551

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์. 2540. ความหลากชนิดและนิเวศวิทยาของหนูในพื้นที่ป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรมริมชายฝั่งแม่น้ำโขง อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย. วิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ. 70 หน้า.

กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร. 2544. เอกสารวิชาการ : หนูและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด จตุจักร กรุงเทพฯ 10900. 136 หน้า.

ประเสริฐ อวภาค และเกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์. 2546. ประสบการณ์และแนวทางการป้องกันกำจัดหนูของเอกชน. จดหมายข่าวปาล์มน้ำมัน. 4(2) : 9-11.

พวงทอง บุญทรง พิเชษฐ์ เชาวน์วัฒนวงศ์ กรแก้ว เสือสะอาด ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ชมพูนุท จรรยาเพศ และวิรัตน์ ธรรมบำรุง. 2532. การสำรวจชนิดสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมัน. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 126-136.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ทักษิณ อาชวาคม เกษม ทองทวี เสริมศักดิ์ หงส์นาค วิยะดา สีหะบุตร และทรงทัพ แก้วตา. 2532. การสำรวจชนิดของสัตว์มีกระดูกสันหลังศัตรูกาแฟ. รายงานผลการค้น คว้าและวิจัยปี 2532 กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 63-64.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ กรแก้ว เสือสะอาดและพวงทอง บุญทรง.2532. การสำรวจชนิดและปริมาณของหนูศัตรูถั่วเขียว. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2532 กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 72-86.

Corbet, G.B. and J.E. Hill. 1992. The mammals of the Indomalayan region : a systematic review. Oxford university press, New York.488 p.

Duckett, J. E. and S., Karuppiah. 1989. A guide to the planter in utilizing barn owls(*Tyto alba*) as a effective biological control of rats in mature oil palm plantations. Proceeding 1989 PORIM International palm oil, development conference 5 -9 September, 1989. Kuala Lumpur, Malaysia. 15 p.

Lekakul, B. and J.A. McNeedley. 1977. Mammals of Thailand. Association for the conservation of wildlife,Bangkok. Kurusapha press, Bangkok. 758 p.

Lekunze, L.M., A.U. Ezealor, T. Aken Ova. 2001. Prey groups in the pellets of the barn owls *Tyto alba* (Scopoli) in the Nigerian savanna. East Africa wildlife society. Afr. J. Ecol. 39 : 38-44.

Miura, S., M.Yasuda and Louis C. Ratnam. 1997. Who steals the fruits? Monitoring frugivory of mammals in a tropical rain forest. Malayan Nature Journal. 50 : 183-198.

Smal,C.M. 1990. Research on the use of barn owls *Tyto alba* for biological control of rats in oil palm plantation. Proceedings of 1989 International palm oil development conference agriculture. Palm oil research institute of Malaysia, Kuala Lumpur. 588 p.

ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช

Biodiversity of Land Snail and Slug in Biosphere Reserve Sakaerat

ชมพูนุท จรรยาเพศ **ปราสาททอง พรหมเกิด**
ปิยาณี หนูกาฬ **ดาราพร รินทะรักษ์**
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

สำรวจหอยทากและทากในบริเวณป่าดิบแล้ง พบหอยทาก (snail) เพิ่มเติมจากปี 2549 11species รวมเป็น 20 species แยกเป็น หอยทาก (snail) 17 ชนิด และทาก (slug) 2 ชนิด รวม 7 family ทั้งนี้หอยทากที่สำรวจพบจัดอยู่ในพวกหอยทากกินเนื้อ (carnivorus snail) 1species และทากกินเนื้อ 1 species นอกจากนี้ยังพบหอยทากที่จำแนกชนิดไม่ได้อีกอย่างน้อย 4 species

คำนำ

โครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อการอนุรักษ์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ เป็นโครงการวิจัยเกี่ยวกับงานด้านอนุกรมวิธาน ที่หมายรวมถึงการสำรวจ เก็บรวบรวม จำแนก ตรวจวิเคราะห์ชนิด ตลอดจนการศึกษาด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา พืชและสัตว์อาศัย รวมทั้งการเก็บรักษา ไว้ในพิพิธภัณฑ์ เพื่อเป็นแหล่งสืบค้นอ้างอิง ลักษณะงานดังกล่าวนี้เป็นงานวิจัยพื้นฐานที่สำคัญอย่างยิ่งต่องานที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีการผลิตพืชและการอารักขาพืช โดยเฉพาะด้านการจัดการศัตรูพืช ชมพูนุท (2537) ได้สำรวจหอยทากและทากที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย พบว่า ได้แก่ หอยทากยักษ์อาฟริกา Giant African Snail, *Achatina fulica* (Bowdich) หอยเจดีย์ *Prosopeas walkeri* (Benson) หอยสาริกา *Sarika* spp. หอยทากซัคซิเนีย Amber Snail *(Succinea* spp.) หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* , *Cyclotropis bedaliensis*, *Euconulus* sp. หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ทาก *Parmarion pupilaris* และทากฟ้า *(Semperula siamensis*) และพบหอยทากที่ไม่ใช่ศัตรูพืชอีกเป็นจำนวนมาก ที่อาศัยอยู่ตามลำต้นหรือใบพืช ตามพื้นดินในสวนไม้ผลต่างๆ ดังนั้นจึงสมควรศึกษาชนิดอื่นๆในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช (Sakaerat Biosphere Reserve) ซึ่งเป็นแหล่งสงวนชีวมณฑลของโลกโดยได้รับการรับรองจากองค์การยูเนสโก เป็นแหล่ง

รหัสโครงการ 09-02-49-01

สงวนหนึ่งในสามแห่งในประเทศไทย ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง โดยมีชนิดพันธุ์พืชจำนวนมาก ทั้งมีป่า 2 ชนิด ได้แก่ ป่าดิบแล้ง ต่อกับป่าเต็งรังอย่างกลมกลืน ซึ่งนับวันก็จะถูกบุกรุกทำลายกลายเป็นชุมชน ป่าลดน้อยลง พันธุ์พืชสัตว์ก็จะค่อยสูญสิ้นไป จึงสมควรสำรวจและศึกษาชนิดพันธุ์หอยทากไว้เสียก่อน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ตู้กระจก
- กล่องและถุงพลาสติกขนาดต่างๆ
- เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์
- เวอร์เนียร์ คาลิปเปอร์
- กระดาษเช็ดมือ(paper towel)
- ดินขุยมะพร้าว
- แว่นขยาย (hand lens)
- กล้องจุลทรรศน์
- กล้องถ่ายภาพ

วิธีการ

สำรวจชนิดทากและหอยทากในบริเวณป่าดิบแล้ง และป่าเต็งรัง โดยแบ่งพื้นที่แต่ละป่าแห่งละ 3 ตารางกิโลเมตร จำนวน 4 พื้นที่ ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่างหอยที่มีชีวิตเพื่อนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และศึกษาชีววิทยาบางประการ ศึกษาและจำแนกชนิด รวมทั้งเก็บตัวอย่างเปลือกหอย นำมาทำความสะอาดและจัดเก็บเป็นหมวดหมู่ในตู้เก็บตัวอย่างหอยทาก

บันทึกภาพหอยทากขณะยังมีชีวิตและเปลือกหอย บันทึกข้อมูลนิเวศวิทยาบริเวณแหล่งที่เก็บ และวันที่ ความกว้าง ยาวเปลือกหอย ลักษณะรูปร่างเปลือก ความกว้างยาวและลักษณะรูปร่าง mouth ลักษณะรูปร่าง lip ผิวของเปลือกหอย จำนวนวงเปลือก(whorl)

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2553

แหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช นครราชสีมา

ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจและศึกษาชนิดของทากและหอยทาก ในปี 2550 เก็บตัวอย่างเปลือกหอยได้ 200 ตัวอย่าง ได้ชนิดเพิ่มเติมจากในปี 2549 จำนวน 11 ชนิด รวมทั้งสิ้นเป็น 20 ชนิด (species) แบ่งเป็น หอยทาก(snail) ชนิด และ ทาก (slug) ชนิด ดังนี้

Subclass Pulmonata

Order Stylommatophora

Superfamily Camaenoidea

Family Camaenidae

หอยนกขมิ้น *Amphidromus* (*Amphidromus*) *shomburgki* (L.)

หอยนกขมิ้นลาย *Amphidromus* spp.

Ganesella perakensis Crosse

Family Bradybaenidae

Pseudobuliminus siamensis (Redfield)

Superfamily Streptaxoidea

Family Streptaxidae

Oophana sp.

Perrottetia siamensis

Superfamily Helicarionnoidea

Family Arionphantidae

หอยดักดาน *Cryptozona simensis* (Tomlin)

Cryptozona sp.

หอยเดื่อ *Hemiplecta distincta* (Pfeiffer)

Hemiplecta sakaya (de Morgan)

Hemiplecta weinkauffiana Crosse & Fisher

ทาก *Cryptustenia gadinodromica* Solem

หอยสาริกา *Sarika resplendens*

Superorder Systellommatophora

Order Soleofifera

Family Rathouisiidae

ทากกินเนื้อ *Atopos* sp.

Family Veronicellidae

ทากฟ้า *Semperula siamensis* (Martens)

Subclass Prosobranchia

Superfamily Cyclophoroidaea

Family Cyclophoridae

หอยหอม *Cyclophorus speciosus* (Philippi)

หอยเปลือกไข่ *Rhiostoma housei* (Haines)

Tubicyclotus setosus (Moelendorff)

Leptopoma aspirans (Benson)

Leptopoma vitriem (Lesso)

Panha S. (1996) กล่าวถึงหอยทากบกกลุ่ม pulmonate snail ในประเทศไทยว่ามีจำนวน 137 species 50 genera อยู่ใน 15 families กลุ่มนี้เป็นหอยทากที่มีหนวด 2 คู่ ตา 1 คู่อยู่ที่ปลายหนวดคู่หลัง บางชนิดไม่มีเปลือก เพศแยก พวกที่มีเปลือกจะไม่มีฝาปิด(operculum) มีเพศรวม ตัวอย่างได้แก่ ทากบก(land slug) หอยเดื่อ หอยดักดาน เป็นต้น อีกกลุ่มหนึ่งคือ กลุ่ม Prosobranchia กลุ่มนี้ มีหนวด 1 คู่ ตาอยู่ที่โคนหนวด เปลือกมีฝาปิด (operculum) ยึดติดแน่นกับด้านบนของส่วนท้าย (tail) และปิดสนิทเมื่อหอยหดตัวเข้าในเปลือก หอยทากกลุ่มนี้มีเพศแยก ตัวอย่างเช่นหอยหอม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษายังไม่เสร็จสิ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายทักษิณ อาชวาคม ผู้อำนวยการสถานีวิจัย และแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช ตำบลอุดมทรัพย์ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ที่อนุเคราะห์เจ้าหน้าที่

มาช่วยนำทางในการสำรวจทุกครั้ง รวมทั้งให้ความสะดวกในด้านยานพาหนะเดินทางภายในบริเวณสถานีวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ, ทักษิณ อาชวาคม, ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และเกษม ทองทวี. 2537. หอยทากในประเทศไทย. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2537 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 9 ณ โรงแรมแกรนด์จอมเทียนพาเลซ ชลบุรี 21-24 มิถุนายน 2537. หน้า 495-522.

ชมพูนุท จรรยาเพศ . 2538 . หอยทากศัตรูพืช . เอกสารประกอบการบรรยายการฝึกอบรมหลักสูตรอารักขาพืช สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ณ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 19-29 มิถุนายน 2538. 11 หน้า

ชมพูนุท จรรยาเพศ . 2542. หอยทากศัตรูกล้วยไม้. เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จังหวัดราชบุรี. สำนักงานเกษตรจังหวัดราชบุรี, 3 มิถุนายน 2542. 5 หน้า.

Gordon , David G. 1994. Field guide to the Slugs. Western Society of Malacologists. Sasguatch Books , Seattle USA. 48 pp.

Kerney , M.P. and R.A.D. Cameron. 1987. A Field Guide to the Land Snail of Britain and North-West Europe. Collins, London. 288 pp.

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.

ชีววิทยาหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude)

Biological studies of terrestrial snail *Ovachlamys fulgens* (Gude)

ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ ปิยาณี หนูกาฬ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนสิงหาคม 2550 ได้สำรวจและเก็บข้อมูลการระบาดของหอยทากศัตรูพืช จากสวนกล้วยไม้ในเขตจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี จำนวน 4 สวน พบว่ามีการระบาดของหอยทากบกศัตรูกล้วยไม้ 4 ชนิด คือ หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) หอยซัคซิเนีย (*Succinea* sp.) หอยเจดีย์เล็ก (*Lamellaxis* sp.) และหอยเจดีย์ ใหญ่ *Prosopeas walker*i (Benson) จึงเก็บตัวอย่างหอยศัตรูพืช โดยเฉพาะหอยเลขหนึ่ง *O. fulgens* (Gude) มาเลี้ยงเพื่อศึกษาวงจรชีวิต ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร โดยการสังเกต บันทึก วาดภาพและถ่ายภาพ และจากการศึกษาชีววิทยาหอยเลขหนึ่งที่เพาะเลี้ยงในตู้กระจกใส ขนาด 25x40x26 เซนติเมตร รองตู้กระจกด้วยกาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และดิน เพื่อปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการมีชีวิตและสามารถผสมพันธุ์ได้ พบว่าหอยเลขหนึ่งมีพฤติกรรมไม่ชอบแสงและต้องการความชื้นสูง ตัวเต็มวัยอายุโดยเฉลี่ย 38 วัน (n=17) ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย และพบว่าหอยเลขหนึ่งมีการปฏิสนธิข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืน โดยเฉพาะในสภาพที่มีความชื้นสูง และวางไข่ที่มีลักษณะเป็น gelatinous egg ซึ่งพัฒนาเป็นเปลือกไข่สีขาวที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ โดยหอยจะวางไข่เป็นกลุ่ม ๆ ตั้งแต่ 3-10 ฟอง ครั้งละ 1-2 ฟองทุกๆวันใต้วัสดุปลูก หรือรอยแยกของดินที่มีความชุ่มชื้น โดยไม่มีวุ้นใสปกคลุมกลุ่มไข่ ขนาดไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1.22-1.78 มิลลิเมตร (n=39) และระยะเวลาที่ตัวอ่อนฟักออกจากไข่ (eclosion time) ที่อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส ในห้องปฏิบัติการ = 10.7 วันโดยเฉลี่ย ต้องดำเนินการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผสมพันธุ์และปัจจัยที่มีผลต่อการฟักออกจากไข่ของตัวอ่อน ศึกษาพฤติกรรมการกิน (juvenile feeding behavior) และพร้อมช่วงชีวิต (life span) ในปีต่อไป

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ประเทศไทยจัดได้ว่าเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง เนื่องจากมีลักษณะทางภูมิประเทศ และภูมิอากาศที่หลากหลาย อุดมสมบูรณ์ แต่การศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในประเทศไทยนั้นมีน้อยมาก ซึ่งส่วนใหญ่มีการศึกษาอยู่ในวงแคบๆ เพียงบางกลุ่มเท่านั้น และมักศึกษาในกลุ่มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและทางการแพทย์เท่านั้น ในขณะที่ข้อมูลเกี่ยวกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะหอยทากบก (land snail) กลับพบว่าข้อมูลทั้งด้านชนิด ชีววิทยา อนุกรมวิธาน และนิเวศวิทยาของหอยทากในประเทศไทยยังมีความคลุมเครือ เนื่องจากยังไม่มีผู้สนใจศึกษาอย่างจริงจัง ทำให้ไม่ทราบถึงความหลากชนิด ข้อมูลทางชีววิทยา ขอบเขตการแพร่กระจาย รวมถึงข้อมูลในด้านทำลายพืช ทั้งที่สัตว์กลุ่มนี้เป็นที่รู้จักกันแพร่หลาย สามารถพบเห็นได้ทั่วไป ทั้งตามแหล่งเกษตรกรรม สถานที่ท่องเที่ยวตามธรรมชาติ ป่าไม้ หรือแม้กระทั่งตามบ้านเรือน และในปัจจุบัน พบว่าหอยทากจัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญอันดับต้นๆ ที่พบในสวนไม้ผลและสวนกล้วยไม้ ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย

จากการศึกษาของ Panha (1996) พบว่าประเทศไทยมีหอยทากบก มากถึง 15 ครอบครัว (family) 50 สกุล (genus) และมีจำนวนมากกว่า 136 ชนิด (species) มีทั้งชนิดที่อยู่ตามพื้นและชนิดที่อยู่บนต้นไม้ ชมพูนุท และคณะ (2542) พบว่าหอยทาก ชนิดที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย มีอยู่ 6 ชนิด ซึ่งมีหลายชนิดที่พบเป็นศัตรูกล้วยไม้ ได้แก่หอยทากยักษ์อาฟริกา (*Achatina fulica*) หอยดักดาน *(Cryptozona siamensis*) หอยทากสาริกา (*Sarika* sp.) นอกจากนั้นยังมีหอยทากขนาดเล็ก ได้แก่หอยเจดีย์ *(Lamellaxis gracilis*) หอยอำพัน, (*Succinea* sp.) และหอยเลขหนึ่ง *(Ovachlamys fulgens*)

ดังนั้นจึงมีความจำเป็น ที่จะต้องเร่งทำการศึกษาข้อมูลพื้นฐานของหอยทากศัตรูพืช เพื่อทราบวงจรชีวิต ตลอดจนชีววิทยา และนิเวศวิทยา เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐาน สำหรับใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาและคิดค้นหาเทคโนโลยีการควบคุม และป้องกันกำจัดหอยเลขหนึ่ง ให้ได้ผลสัมฤทธิ์ยิ่งขึ้น และสามารถจัดทำคู่มือ เพื่อการถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ได้ให้แก่ภาคเอกชนและเกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่ง *O. fulgens* (Gude) ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์ฉีดน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย+ ถ่านไฟฉาย กระดาษทิชชู อเนกประสงค์

- อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงหอย ได้แก่ ตู้กระจกขนาดความกว้างxยาวxสูง = 25x40x26 เซนติเมตร และวัสดุสำหรับรองตู้กระจก เช่น กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และดิน
- อุปกรณ์สำหรับแยกหอยเพื่อศึกษาชีววิทยา ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 ซ.ม. และขนาด 6.5x9.5x2 ซ.ม. พร้อมสเปรย์ฉีดน้ำ
- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลาชนิดเม็ด ผักสดชนิดต่างๆ เป็นต้น
- สารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง ไว้ศึกษาอวัยวะภายใน ได้แก่ ethyl alcohol 95% และ formaldehyde 40% เป็นต้น
- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น forceps , beaker , vial, Petri-dish etc.
- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ ฟิล์มสี และกระดาษเช็ดเลนส์กล้องจุลทรรศน์
- อุปกรณ์สำหรับวัดขนาด ได้แก่ เวอร์เนียร์
- เอกสารประกอบการศึกษาชีววิทยาหอยทาก

วิธีการ

1. การเตรียมสถานที่สำหรับเพาะเลี้ยงหอยเลขหนึ่ง

โดยใช้ตู้กระจก ขนาดกว้าง x ยาวxสูง เท่ากับ 25x40x26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจกด้วยดินผสมขุยมะพร้าวให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร และวางกาบมะพร้าวไว้ในตู้กระจกสำหรับให้หอยเลขหนึ่งวางไข่ ให้ความชื้นโดยใช้สเปรย์ฉีดพ่นทุกวันๆละ 1 ครั้ง ในช่วงเย็น

2. การสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่ง

สำรวจ และเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่งจากสวนกล้วยไม้ ในเขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี นำมาเลี้ยงเพื่อให้หอยเลขหนึ่งปรับสภาพ ในตู้กระจกของห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

3. การศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ และการวางไข่ของหอยเลขหนึ่ง

3.1 สุ่มเลือกหอยเลขหนึ่งตัวเต็มวัย มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5x9.5x2 ซ.ม. จำนวน 1 ตัว/ กล่อง และเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 ซ.ม. จำนวน 10 ตัว/ กล่อง โดยให้อาหารปลาชนิดเม็ดและผักสดเป็นอาหาร และใช้สเปรย์ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้นทุกวัน

3.2 สังเกตผลการทดลองทุกวัน จนได้ระยะไข่ จึงวัดขนาดไข่ ขนาดของกลุ่มไข่ บันทึกจำนวน และสังเกตลักษณะของไข่หอย พร้อมถ่ายภาพไข่หอยภายใต้กล้อง stereo microscope

3.3 ศึกษาการฟักจากไข่ โดยแยกไข่หอยแต่ละกลุ่มมาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5x9.5x2 ซ.ม. ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าวสูง 1.5 ซ.ม. ใช้สเปรย์ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้น บันทึกระยะเวลาที่ตัวอ่อนหอยฟักออกจากไข่ พร้อมวัดขนาดตัวอ่อนหอยและถ่ายภาพภายใต้กล้อง stereo microscope

4. การศึกษาพฤติกรรมการกินของลูกหอย (juvenile feeding behavior)

4.1 แยกลูกหอยที่เพิ่งฟักออกจากไข่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง จำนวน 10 ตัว มาวัดขนาดและเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 ซ.ม. ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าวสูง 1.5 ซ.ม. มีผักสดหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ บรรจุอยู่ และ นำลูกหอยอีก 10 ตัว มาเลี้ยงในกล่องขนาดเดียวกัน ที่เพาะเมล็ดผักไว้ 3 วัน

4.2 สังเกต และบันทึกผลการทดลอง เป็นเวลานาน 5 วัน แล้วจึงนำลูกหอยจากทั้ง 2 กล่อง มาศึกษา intestinal content ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

5. การศึกษาวงจรชีวิต (life cycle) ของหอยเลขหนึ่ง

<u>วงจรชีวิต</u> : บันทึกวันที่เริ่มต้น ที่เริ่มสังเกตเห็นระยะไข่ → เก็บกลุ่มไข่หอยรุ่น F1 มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 ซ.ม. → บันทึกวันที่ ที่ลูกหอยรุ่น F1 ฟักออกมาจากไข่ → สังเกต และวัดขนาดลูกหอย → บันทึกวันที่ ที่เริ่มเห็นกลุ่มไข่ รอบใหม่ (รุ่น F2)→ บันทึกอายุ และวัดขนาดของตัวเต็มวัย (รุ่นF1)

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกขนาด อายุ และลักษณะของหอยที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์
2. บันทึกลักษณะ และจำนวนของไข่หอย/กลุ่ม ขนาดของไข่ และขนาดของกลุ่มไข่
3. บันทึกระยะเวลา ตั้งแต่หอยเริ่มวางไข่จนตัวอ่อนหอยฟักออกจากไข่ จำนวนและขนาดของตัวอ่อนหอยที่เพิ่งฟัก และพฤติกรรมการกินของตัวอ่อนหอยที่เพิ่งฟักจากไข่
4. บันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ในตู้กระจกเลี้ยงหอย เป็นช่วงๆ ตลอดการทดลอง

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2548 - กันยายน 2551 รวม 3 ปี

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

- สวนกล้วยไม้เกษตรกร จังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่ง

ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2549 ถึงเดือนสิงหาคม 2550 ได้ดำเนินการสำรวจและค้นหาแหล่งที่มีหอยเลขหนึ่ง พร้อมสำรวจและเก็บข้อมูลการระบาดของหอยทากศัตรูพืช จากสวนกล้วยไม้ในเขตจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี จำนวน 4 สวน พบว่ามีการระบาดของหอยทากบกศัตรูกล้วยไม้ 4 ชนิด คือ หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) หอยซัคซิเนีย (*Succinea* sp.) หอยเจดีย์เล็ก (*Lamellaxis* sp.) และหอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopeas walkeri* (Benson) ได้เก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่งจากสวนกล้วยไม้เกษตรกรมาเพาะเลี้ยง เพื่อให้หอยเลขหนึ่งปรับสภาพ ในตู้กระจกของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

2. การเตรียมสถานที่สำหรับเพาะเลี้ยงหอยเลขหนึ่งเพื่อศึกษาชีววิทยา

นำหอยเลขหนึ่งที่ได้ มาเพาะเลี้ยง โดยใช้ตู้กระจกใส ขนาด 25x40x26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจกด้วยดินผสมขุยมะพร้าว ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร และวางกาบมะพร้าวไว้ในตู้กระจกสำหรับให้หอยเลขหนึ่งวางไข่ ให้ความชื้นโดยใช้สเปรย์ฉีดพ่นทุกวันๆละ 1 ครั้ง ในช่วงเย็น เพื่อปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการมีชีวิตและให้หอยสามารถผสมพันธุ์ได้ ซึ่งในปี 2549 สามารถเพาะขยายพันธุ์หอยเลขหนึ่งได้สำเร็จ 1 รุ่น (%อยู่รอดไม่น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์) จากนั้นคัดหอยเลขหนึ่งที่แข็งแรง มาปรับสภาพในที่อยู่ใหม่ ซึ่งเป็นกล่องพลาสติกขนาดต่างๆ เพื่อศึกษาชีววิทยาต่อไป

3.การศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ และการวางไข่ของหอยเลขหนึ่ง

จากการสังเกตเบื้องต้น พบว่าหอยเลขหนึ่งมีพฤติกรรมไม่ชอบแสง และต้องการความชื้นสูง ตัวเต็มวัยอายุโดยเฉลี่ย 38 วัน (n=17) ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย มักไม่แสดงพฤติกรรมก่อนการผสมพันธุ์(เช่นการขึ้นขี่บนเปลือกของคู่ผสม) มีการปฏิสนธิข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืน โดยเฉพาะในสภาพที่มีความชื้นสูง โดยหอยจะวางไข่เป็นกลุ่ม ๆ ตั้งแต่ 3-10 ฟอง ครั้งละ 1-2 ฟองทุกๆวันใต้วัสดุปลูก หรือรอยแยกของดินที่มีความชุ่มชื้น โดยไม่มีวุ้นใสปกคลุมกลุ่มไข่ ซึ่งลักษณะดังกล่าวแตกต่างจากหอยซัคซิเนีย (*Succinea* spp.) ไข่หอยที่เกิดใหม่มีรูปร่างรีๆ ค่อนข้างใส เรียกว่า gelatinous egg หรือ semi-hydrated egg ซึ่งไข่หอยเกิดใหม่จะมีการดูดความชื้นจากสภาพแวดล้อม เรียกไข่หอยระยะนี้ว่า hydrated egg และจะพัฒนาเป็นเปลือกไข่สีขาวที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ รูปร่างของไข่ระยะนี้จะค่อนข้างกลม ขนาดไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1.22-1.78 มิลลิเมตร (เฉลี่ย=1.4 มม.) และระยะเวลาที่ตัวอ่อนฟักออกจากไข่ (eclosion time) ที่อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส ในห้องปฏิบัติการ = 10.7 วันโดยเฉลี่ย (Table1)

และจากตารางเปรียบเทียบ อัตราส่วนระหว่างความกว้างของเปลือกหอยตัวเต็มวัยและขนาดของไข่หอย ของหอยใน Order Stylommatophora พบว่าหอยที่มีขนาดเล็ก เช่น *Ovachlamys fulgens* และ *Punctum pygmaeum* มีขนาดของไข่ค่อนข้างใหญ่เมื่อเทียบกับความกว้างของหอยตัวเต็มวัย และมักจะวางไข่ปริมาณน้อยต่อครั้ง ซึ่งต่างจากหอยที่มีขนาดใหญ่มักจะวางไข่ปริมาณมากต่อครั้ง จึงทำให้ต้องวางไข่ที่มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับขนาดเปลือกของตัวเต็มวัย (Table 2) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเหตุผลเกี่ยวกับวิวัฒนาการ เพื่อให้ไข่หอยสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ซึ่งต้องหาข้อมูลและค้นคว้าต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณสมพงษ์ ผู้ประกอบการสวนกล้วยไม้ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี และคุณอนันต์สิริ เจ้าของสวนกล้วยไม้อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร ที่ให้ความร่วมมือด้วยดี และอนุญาตให้คณะวิจัยเข้าไปสำรวจการแพร่ระบาด และอนุญาตให้เก็บตัวอย่างหอยทากศัตรูพืชชนิดต่างๆ

Table 1 Observed data of *Ovachlamys fulgens* (Gude) under temperature 27±3 (°c)

Variable	Egg ø (mm.)		Eclosion Time (days)	Eggs/Clutch
	Semi-hydrated (immediately)	Hydrated (after 24 hrs)		
Minimum	0.96	1.22	9	3
Maximum	1.34	1.78	15	10
Average Value	1.08	1.40	10.68	27±3
N (Sample size)	33	39	23	17

Table 2 Adult shell diameter and egg width of some stylommatophora snails.

Species	Egg ø (mm.)	Adult Shell ø (mm)	Rate: Adult Shell
Helix aspersa	3.2	28.0	1/9
Anguispira alternata	2.8	20.0	1/7
Arianta arbustorum	2.7	18.5	1/7
Polymata muscarum muscarum	2.7	17.0	1/6
Ovachlamys fulgens (Barrientos,1998)	1.75	5.12	1/3
*Ovachlamys fulgens**	1.4	4.46	1/3
Punctum pygmaeum	0.44	1.39	1/3

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ.2538. หอยทากศัตรูพืช. เอกสารประกอบการบรรยาย การฝึกอบรมหลักสูตรอารักขาพืช สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 11 หน้า.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ธีรเดช เจริฐรักษ์ เสริมศักดิ์ หงส์นาค และปิยาณี หนูกาฬ์.2542. ชีววิทยา การแพร่กระจายและการป้องกันกำจัดหอยทากและทากในไม้ผลส่งออก. . รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2542 . กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Barrientos,Z. 1998. Life History of the Terrestrial snail *Ovachlamys fulgens* (Stylommatophora:Helicarionidae) Under Laboratory Conditions. Rev. Biol. Trop. Vol. 46.

Panha, S. 1996. A Checklist and Classification of the Terrestrial Pulmonate Snails of Thailand. Walkerana. 8 (19): p. 11-64.

Purchon, R.D.1977. The Biology of the Mollusca. 2nd edition. Pergamon Press, Oxford.

Solem, A. 1966.Some Non- Marine Mollusks from Thailand ,with Notes on Classification of the Helicarionidae. Spolia Zoologia Musei Hauniansis. P. 24 : 114 .

Tompa, A.S. 1979. Localized Egg Shell Dissolution During Development in Stenotrema Leai (Pulmonata: Polygyridae) Nautilus94(4): 136-137.

Tompa, A.S. 1984. Land Snails (Stylommatophora). In The Mollusca, Vol. 7: p. 48-140.

ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่

Biological studies of Land snail *Prosopeas walkeri* (Benson)

ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ได้ทำการสำรวจแปลงผักและแปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร ที่จังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดสมุทรสาครที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่ จึงเก็บตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่ จำนวน 100 ตัว มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาชีววิทยา โดยนำหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติในกล่องพลาสติกใสที่รองด้วยขุยมะพร้าวผสมดินและรดน้ำให้ชุ่มอยู่เสมอ ให้แตงกวาผักกาดหอมและอาหารปลาเป็นอาหาร พบว่าหอยสามารถปรับตัวและกินอาหารได้ดี หอยเจดีย์ใหญ่ที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการชอบหลบแสงอยู่ตามใต้เศษไม้ใบไม้ ใบผักอาหาร และวางไข่ไว้ตามบริเวณที่หลบแสง หอยเจดีย์ใหญ่วางไข่เป็นครอก ๆละ 2-7 ตัว โดยวางทีละฟองทุกๆ2-4วัน ไข่หอยมีขนาด1-1.5มม. การศึกษายังไม่สิ้นสุด

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopeas walkeri* (Benson) เป็นหอยทากบก(Land snail) ที่มีขนาดเล็ก ทักษิณและคณะ(2532) ได้สำรวจชนิดหอยทากและทากในพืชชนิดต่างๆ พบหอยทาก 11 ชนิด ที่เป็นศัตรูพืช ซึ่งมีหอยเจดีย์ใหญ่ด้วย หอยเจดีย์ใหญ่มีลักษณะเหมือนหอยเจดีย์เล็กมากแต่ต่างกันที่ขนาด หอยเจดีย์ใหญ่พบได้ทั้งในแปลงผัก แปลงไม้ดอก สวนกล้วยไม้ และสวนผลไม้ เป็นต้น ทำความเสียหายแก่เกษตรกรเป็นอย่างมาก โดยกัดรากและต้นอ่อนกล้วยไม้บางแปลงทำให้เสียหายได้ถึง100% โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีความชุ่มชื้นสูงจะพบหอยเจดีย์ใหญ่กัดกินทำลายต้นพืชทั้งลำต้น ใบ ดอก และราก ชมพูนุท(2532) รายงานว่าพบหอยเจดีย์ในแปลงผักกางมุ้งทำความเสียหายแก่เกษตรกรเป็นอย่างมากในแปลงผักที่มีความชื้นสูง เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีการปลูกพืชเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก อาจทำให้เกิดปัญหาตามมาหากพบหอยเจดีย์ใหญ่ติดไปกับพืชส่งออก จึงได้ศึกษาชีววิทยาของของหอยเจดีย์ใหญ่เพื่อเป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หอยเจดีย์ใหญ่
2. กล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงหอย
3. ขุยมะพร้าว
4. สเปรย์ฉีดน้ำ
5. แว่นขยาย
6. forcep
7. อาหารปลา ผักสด
8. วัสดุอื่นๆ เช่นกระดาษทิชชู

วิธีการ

1. สำรวจและค้นหาแหล่งที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่
2. เก็บรวบรวมหอยเจดีย์ใหญ่จากสวนกล้วยไม้และสวนผักของเกษตรกรมาศึกษาในห้องห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร
3. นำตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในบ่อพักที่เตรียมไว้
4. คัดเลือกหอยที่แข็งแรงไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกที่รองด้วยขุยมะพร้าวและรดน้ำจนชุ่ม
5. ให้อาหารปลาและผักสดเป็นอาหาร
6. สังเกต และบันทึกข้อมูล

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2548 - กันยายน 2553 รวม 5 ปี
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เกษตรกลาง บางเขน กรุงเทพฯ

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ. 2532. หอยเจดีย์ระบาดในแปลงผักกางมุ้ง. กสิกร 62(1). หน้า 57-60.

ชมพูนุท จรรยาเพศ , ทักษิณ อาชวาคม , ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และเกษม ทองทวี. 2537. หอยทากในประเทศไทย. การประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 9. 21-24 มิถุนายน 2537 โรงแรม แกรนด์ จอมเทียนพาเลซ จังหวัดชลบุรี. หน้า 495-522.

ชมพูนุท จรรยาเพศ , ปราสาททอง พรหมเกิด , ปิยาณี หนูกาฬ และธีรเดช เจริญรักษ์. 2542.การป้องกันกำจัดหอยทากศัตรูกล้วยไม้. รายงานผลการวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 244

สำรวจและศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่

Survey on Natural Enemies of Rats in Oil Palm Plantation Ecosystem

พวงทอง บุญทรง เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ปราสาททอง พรหมเกิด ปิยาณี หนูกาฬ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 9 เดือน ถึง2 ปี ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในเขตตำบลศรีชมภู อำเภอโซ่พิสัย จังหวัดหนองคาย ได้เหยี่ยวนกเขาชิครา(*Accipiter badius*_) และที่หมู่7 บ้านภูเขาทอง ตำบลบ้านม่วง อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย ได้นกแสก (*Tyto alba*) 1ตัว ข้างถนนสายหนองคาย-เมืองเลย หลักกิโลเมตรที่ 107เลียบแม่น้ำโขงห่างสวนปาล์มปลูกใหม่อายุ 13 เดือนประมาณ1กิโลเมตร และพังพอนธรรมดา (*Herpestes javanicus*) 1ตัว ในสวนลำใย ลิ้นจี่ และปาล์มปลูกใหม่อายุ13เดือน ส่วนที่ หมู่5 ตำบลอินทร์แปลง อำเภอวานรนิวาส จังหวัดสกลนครได้ งูเห่าหม้อ (*Naja kaouthia*_)

คำนำ

ในธรรมชาติมีสัตว์ที่กินหนูเป็นอาหารอยู่หลายชนิด สัตว์เหล่านี้เรียกว่าสัตว์ผู้ล่า จะทำหน้าที่ควบคุมประชากรหนูไม่ให้เพิ่มขึ้นมากเกินไป เมื่อจำนวนของสัตว์ผู้ล่ามีความสมดุลกับจำนวนหนูที่เป็นเหยื่อ กลไกการควบคุมกันเองตามธรรมชาติจะเกิดขึ้น ประชากรหนูศัตรูพืชจะไม่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ในระบบนิเวศของพื้นที่เกษตรกรรม กลไกการควบคุมกันเองตามธรรมชาติถูกรบกวน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพที่อยู่อาศัย การรบกวนหรือล่าโดยคน รวมทั้งการได้รับผลกระทบจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช จำนวนของสัตว์ผู้ล่าในพื้นที่เกษตรกรรมจึงเหลืออยู่น้อย ไม่เพียงพอที่จะควบคุมหนูซึ่งมีอยู่มากกว่า และเพิ่มจำนวนได้เร็ว แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีสัตว์ผู้ล่าอีกหลายชนิดที่อยากเข้ามาอยู่อาศัยในพื้นที่เกษตรกรรม และทำหน้าที่เป็นผู้คอยควบคุมหนูศัตรูพืชให้แก่เกษตรกร ถ้าหากได้รับความช่วยเหลือในด้านแหล่งอาศัย หลบภัยในที่ปลอดภัย สถานที่สร้างรังวางไข่ และเลี้ยงดูลูก รวมทั้งลดปัจจัยคุกคามที่เป็นอันตราย เช่น การล่าโดยคนและสัตว์เลี้ยง การใช้สารเคมีกำจัดหนูที่จะส่งผลกระทบไปถึงสัตว์ผู้ล่า สัตว์ผู้ล่าที่มีศักยภาพในการควบคุมประชากรหนูในพื้นที่เกษตรกรรม ได้แก่ นกแสก นกเค้าแมว เหยี่ยว นกกะปูด พังพอน ชะมด อีเห็น แมวดาว แมวป่า งูสิง และงูทางมะพร้าว เป็นต้น ได้มีการศึกษาบทบาทของสัตว์ศัตรู

รหัสโครงการ 09-02-49-01

ธรรมชาติในการควบคุมประชากรหนูในเกาะฮาวายโดยใช้พังพอนธรรมดา(*Herpestes javanicus*) ซึ่งพังพอนที่นำไปปล่อยสามารถกำจัดหนูจนหมด แต่เนื่องจากพื้นที่บนเกาะมีจำกัดเมื่อหนูซึ่งเป็นอาหารในธรรมชาติหมดไป พังพอนได้เข้าไปขโมยกินไก่ของเกษตรกร ทำให้เกิดปัญหาติดตามมา Lekagul(1977)ได้กล่าวว่าหากประชากรของหนูและพังพอนอยู่ในภาวะสมดุลตามธรรมชาติแล้วจะสามารถควบคุมประชากรหนูได้ดีและเกิดประโยชน์มากกว่าโทษ ส่วนในประเทศมาเลเซียเจ้าของสวนปาล์มน้ำมันสร้างรังให้นกแสกเข้ามาอาศัย วางไข่ และเลี้ยงดูลูก เพื่อให้นกแสกช่วยกำจัดหนูศัตรูของปาล์มน้ำมัน โดยเฉพาะหนูบ้านท้องขาวที่เป็นศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งในระยะปาล์มให้ผลผลิตแล้ว นกแสก 1 ตัว สามารถกำจัดหนูได้วันละ 1-2 ตัว ถ้าเป็นช่วงที่พ่อแม่เลี้ยงลูกนกแสกจะจับหนูเพิ่มมากขึ้นอีกตามจำนวนลูกที่มันเลี้ยงอยู่ขณะนั้น (Lenton, 1980) การศึกษาในประเทศไทยสุภาพ(2525)ได้จำแนกเศษอาหารที่นกแสกสำรอกออกมาในพื้นที่จังหวัดอ่างทองพบว่าร้อยละ95.34โดยน้ำหนักของเศษอาหารเป็นชิ้นส่วนของกระดูก กระโหลก และขนหนูชนิดต่างๆ ได้แก่ หนูนาใหญ่ร้อยละ 61.90 หนูท้องขาวร้อยละ 5.05หนูหริ่งร้อยละ 4.32หนูพุกเล็กร้อยละ 4.04และอื่นๆที่จำแนกไม่ได้อีกร้อยละ19.04 กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ได้เก็บข้อมูลในลักษณะเดียวกันในท้องที่จังหวัดสิงห์บุรีพบชิ้นส่วนของกระดูก กระโหลก และขนหนูหริ่งร้อยละ33.90 หนูท้องขาวร้อยละ6.70 หนูพุกเล็กร้อยละ1.70 ที่เหลือเป็น นกและค้างคาวอีกเล็กน้อย(พวงทองและคณะ,2540) บุษบง(2543)ได้ศึกษาการกินอาหารของชะมดแผงหางปล้องในสวนยางพารา จังหวัดสุราษฎร์ธานีระหว่างปี 2541-2542จากมูลของชะมดแผงหางปล้องจำนวน 158กองพบว่าประกอบด้วย ผลไม้ร้อยละ 44.2 สัตว์มีกระดูกสันหลังร้อยละ27.2สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังร้อยละ 19.8 หญ้าร้อยละ 8.0 และ อื่นๆ ร้อยละ 0.9 โดยเฉพาะ ในส่วนที่เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมร้อยละ77.02 คือ สัตว์จำพวกหนู กระรอก และ อ้น จุดประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อสำรวจ รวบรวมตัวอย่างสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในสภาพนิเวศปาล์มปลูกใหม่ของประเทศไทย เพื่อการศึกษาทางอนุกรมวิธานและชีววิทยาของสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในสภาพนิเวศปาล์มปลูกใหม่ ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์และนำมาใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดหนูต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. กรงดักสัตว์ ตาข่ายดักนก
2. เหยื่อดักสัตว์ เช่น เนื้อปลาสด ข้าวโพดหวานฯลฯ
3. สวนปาล์มน้ำมันปลูกใหม่ของเกษตรกรในเขตภาคตะวัน ออกเฉียงเหนือ

4. เครื่องชั่งน้ำหนักสนาม เชือก สำลี ลวด บอร์แร็ก เวอร์เนียร์ ไม้บรรทัด ไฟฉาย สายวัด ถุงผ้าดิบ สมุดบันทึกข้อมูล เครื่องมือผ่าตัด ขวดดองสัตว์ บิ๊กเกอร์ petridish ฟอร์เซ็บ
5. สารเคมี เช่น alcohol , formalin , diethyl ether
6. กล้องจุลทรรศน์ แว่นขยาย กล้องถ่ายรูป ฟิลม์สี และฟิลม์สไลด์
7. อุปกรณ์สำหรับสตั๊ฟสัตว์ เช่น ใบมีดผ่าตัด กรรไกรตัดกระดูก ผงบอแร็ก ลวด สำลี
8. ตู้เก็บตัวอย่างสัตว์

วิธีการ

สำรวจ รวบรวม เก็บตัวอย่างในพื้นที่ปลูกปาล์มที่เลือก โดยทำการดักสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูศัตรูปาล์มน้ำมันในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออก เช่น อำเภอเขาสมิง และอำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด และพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดหนองคาย จังหวัดอำนาจเจริญ โดยสุ่มวางกรงดักสัตว์ 100 กรงบริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมัน ต้นละ 1 กรง เดือนละ1 ครั้งๆละ3 วัน ทำการตรวจกรงทุกวัน วิธีการจับนกแสก นกเค้าโมง นกเค้ากู่ ใช้วิธีดักด้วยตาข่ายดักนก โดยดักตาข่ายขวางทิศทางการบินจากโพรง รัง หรือที่เกาะพักนอนของนกที่สำรวจพบและต้องการจับตัวมาเป็นตัวอย่างหรือนำมาเลี้ยงทดลอง จับนกที่ติดตาข่ายใส่ในถุงผ้าขนส่งกลับมายังห้องปฏิบัติการ บันทึกระบบนิเวศของพื้นที่ที่ดักสัตว์ศัตรูธรรมชาติได้ อายุปาล์มน้ำมันและจำนวนสัตว์ที่ดักได้ นำมาจำแนกชนิด เพศ น้ำหนัก และรายละเอียดของสัตว์ที่ดักได้ เพื่อนำมาวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะความแตกต่างตามระบบอนุกรมวิธานของสัตว์ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรและจัดเก็บตัวอย่างสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูพร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้นไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกจำนวน ชนิด เพศ น้ำหนัก ลักษณะสีขน ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวตีนหลัง ความยาวใบหู ของสัตว์ที่ดักได้
2. บันทึกสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ที่ทำการสำรวจสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนู
3. บันทึกลักษณะสำคัญของตัวอย่างที่เก็บรวบรวมมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ เช่นลักษณะกะโหลก ฟัน สีขน น้ำหนักและความยาวอวัยวะต่างๆ สภาพนิเวศวิทยาพื้นที่ที่ดักสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูได้ เพื่อจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเก็บเป็นตัวอย่างเพื่อการวิจัยต่อไปของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรและหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

เวลาและสถานที่ทดลอง

สถานที่ทดลอง

1.ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. พื้นที่สวนปาล์มน้ำมันที่ปลูกใหม่ในเขต ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก

เวลาที่ดำเนินการ ตุลาคม 2549 – กันยายน 2550

ผลการทดลอง

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนูในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 9 เดือนถึง2ปี ในภาคตะวันออกฉียงเหนือ ในเขตตำบลศรีชมภู อำเภอโซ่พิสัย จังหวัดหนองคาย ได้เหยี่ยวนกเขาชิครา(*Accipiter badius*) และที่หมู่7 บ้านภูเขาทอง ตำบลบ้านม่วง อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย ได้นกแสก (*Tyto alba*) 1ตัว ข้างถนนสายหนองคาย-เมืองเลย หลักกิโลเมตรที่ 107เลียบแม่น้ำโขงห่างสวนปาล์มปลูกใหม่อายุ 13 เดือนประมาณ1กิโลเมตร และพังพอนธรรมดา (*Herpestes javanicus*)ในสวนลำใย ลิ้นจี่ และปาล์มปลูกใหม่อายุ13เดือน 1ตัวส่วนที่หมู่5 ตำบลอินทร์แปลงอำเภอวานรนิวาส จังหวัดสกลนครได้งูเห่าหม้อ(*Naja kaouthia*)

เอกสารอ้างอิง

บุษบง กาญจนสาขา .2543.อาหารของชะมดแผงหางปล้องในสวนยางพารา จังหวัดสุราษฎร์ธานี. วารสารสัตว์ป่าเมืองไทย. 8(1) :133-143

พวงทอง บุญทรง.เสริมศักดิ์ หงส์นาค.เกรียงศักดิ์ หามะฤทธ์.ปราสาททอง พรหมเกิด.และธีระเดช เจริญรักษ์ .2540.การศึกษาพื้นที่หากินของนกแสก (*Tyto alba* Scopoli) ในพื้นที่เกษตรกรรม.รายงานผลการวิจัยปี 2540 กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 237:1-2

สุภาพ นิยมแสง .2525.อุปนิสัยการกินอาหารของนกแสก (*Tyto alba* Scopoli) วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

Lenton,G.M.1980. The ecology of barn owls (*Tyto alba*) in the Malay Penninsula with reference to their use in rodent control.Ph.D.thesis,University of Malaya,Kuala Lumpur.

Lekagul, B.and J.A.McNeely. 1977.Mammals of Thailand. Ladprao Press,Bangkok.758p.

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์

Study on the Rare and Endangered Insect Species

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2549-ตุลาคม 2550 โดยการออกสำรวจแมลงหายาก จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ ในประเทศไทย เช่น อุทยานแห่งชาติเขาสก จังหวัดสุราษฎร์ธานี อุทยาแห่งชาติทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี สถานีวิจัย-สิ่งแวดล้อมสะแกราช และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ เช่น นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ชุมพร นครราชสีมา ร้อยเอ็ด และเชียงใหม่ ได้ตัวอย่างแมลงหายากทั้งหมด 10 ชนิด ในอันดับ Coleoptera 2 ชนิด ได้แก่ ด้วงดินขอบชมพู *Mouhotia batesi* (Family Carabidae) จำนวน 1 ตัว และด้วงดินปีกแผ่น *Morlyce phyllodes* Hagenbach (Family Carabidae) จำนวน 5 ตัว และแมลงในอันดับ Lepidoptera 7 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อค้างคาว *Lyssa zampa* (Family Uraniidae) จำนวน 11 ตัว ผีเสื้อปารีส *Papilio paris* (Family Papilionidae) จำนวน 1 ตัว ผีเสื้อตาเคียวปีกลายตรง *Actias selene* Hubner (Family Saturniidae) จำนวน 23 ตัว ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก *Actias maenas* Doubleday Hubner (Family Saturniidae) จำนวน 3 ตัว ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด *Archacoattacus edwardsii* (Family Saturniidae) จำนวน 1 ตัว ผีเสื้อพระเสาร์ใหญ่ *Zeuxidia aurelius* (Family Nymphalidae) จำนวน 1 ตัว ผีเสื้อพราหมณ์ *Btahmaea wallichii wallichii* Gray (Family Brahmaeidae) จำนวน 1 ตัว และจักจั่นแม่ม่ายลองไน *Tosena fasciata* (Fabricius) (Family Cicadiidae) การศึกษายังไม่เสร็จสิ้นต้องดำเนินการต่อในปี 2551

โครงการวิจัย 09-02-49-01

คำนำ

แมลงเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายทั้งจำนวนและชนิด จากรูปร่างที่มีความสวยงามและแปลกตาของแมลงนั้นเองทำให้เป็นที่ต้องการของนักสะสมแมลง ก็ให้เกิดการล่าและการค้าขายแมลง ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาด้านความหลากหลายทางชีวภาพตามมา เนื่องจากมีแมลงบางชนิดที่สูญพันธุ์และอีกหลายชนิดที่ใกล้จะสูญพันธุ์ไปจากประเทศไทย องุ่น (2540) ได้รายงานว่าในประเทศไทยมีการค้าขายแมลงกันมาก จึงควรมีการอนุรักษ์แมลงที่หายากและสวยงาม และได้ร่วมกับกรมป่าไม้กำหนดชนิดแมลงที่ต้องมีการอนุรักษ์ 13 ชนิด เป็นแมลงด้วงปีกแข็ง 4 ชนิด และผีเสื้อ 9 ชนิด เข้าไว้ใน พ.ร.บ.สงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า ปี พ.ศ.2535 เพื่อป้องกันการล่าและค้าแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ และองุ่น (2543) รายงานว่า พบแมลงอนุรักษ์ 19 ชนิด ในประเทศไทย ในจำนวนนี้มี 13 ชนิด เป็นสัตว์คุ้มครอง ซึ่งประกาศอยู่ในบัญชีท้ายกฎกระทรวงฉบับที่ 4 (2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 และประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับกฤษฎีกา เล่ม 111 ตอนที่ 31 ก ลงวันที่ 16 พฤศจิกายน 2537 ดังนั้นการศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ รวมทั้งแหล่งที่อยู่อาศัยของแมลงหายากชนิดต่างๆ ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ให้สามารถดำรงอยู่ในธรรมชาติได้อย่างยั่งยืน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ขวดดองแมลง (Vial) กล่องรักษาความเย็น ขวดฆ่าแมลง ถุงพลาสติก กับดัก ตู้ควบคุมอุณหภูมิ สารเคมี ได้แก่ แอลกอฮอล์ 70-80 % ฯลฯ

2. อุปกรณ์สำหรับจัดรูปร่างแมลง เพื่อจัดรูปร่างแมลงเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ ปากคีบ เข็มปักแมลง ขวดฆ่าแมลง ตู้อบแมลง กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope พร้อมอุปกรณ์วาดภาพ

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสี ฟิล์มสไลด์สี

4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงแมลง ได้แก่ ต้นพืชและอุปกรณ์ในการปลูกเพื่อเป็นอาหารสำหรับแมลง กล่องพลาสติก โหลพลาสติก กรง สำลี กระดาษเนื้อเยื่อ

6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

7. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บ และรักษาแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ การบูร กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบใส่ตัวอย่างแมลง กล่องใส่สไลด์ถาวร

8. ตัวอย่างแมลง

วิธีการ

1. รวบรวมตัวอย่างแมลงทุกชนิดจากสภาพธรรมชาติ ซึ่งในสภาพธรรมชาติสามารถรวบรวมได้โดยวิธีการต่อไปนี้

- ใช้สวิงโฉบ (ผีเสื้อ ด้วงปีกแข็ง ฯลฯ) ใช้มือจับ (หนอนผีเสื้อ หนอนด้วง ฯลฯ) หรือใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่สัตว์เหล่านี้เข้าทำลาย

- นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ

- ตัวอย่างหนอนหรือตัวอ่อนแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโต เมื่อหนอนหรือตัวอ่อนแมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัย นำไปจัดรูปร่างและอบให้แห้ง

- นำแมลง ที่จัดรูปร่าง และอบแห้ง หรือทำสไลด์เรียบร้อยแล้วไป

2. ตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลงแต่ละชนิด

- บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และบันทึกรายละเอียดข้อมูลสำคัญของแมลงและชนิดของพืชที่พบตัวอย่าง ถ่ายภาพ แมลงที่ได้ศึกษา

3. จัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์

- นำตัวอย่างแมลง จัดใส่กล่อง เก็บเรียงใส่ในลิ้นชักและเรียงตามลำดับตัวอักษรภาษาอังกฤษ

4. การดูแลรักษาตัวอย่างแมลง

- ใส่สารป้องกันแมลง (การบูรหรือลูกเหม็น) เพื่อป้องกันแมลงขนาดเล็กที่สามารถเข้าทำลายตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ได้ทั้งในหีบไม้และในแต่ละลิ้นชักของแต่ละตู้เก็บ และเติมสารป้องกันแมลงเข้าทำลายตัวอย่างทุก 1 – 2 เดือน

- รมสารป้องกันกำจัดแมลง เช่น เมทิลโบร์ไมด์ (Methy bromide) ทุก 6 เดือน

เวลาและสถานที่

เวลา ตุลาคม 2549 ถึง กันยายน 2550

สถานที่ จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 ถึงกันยายน 2550 โดยการออกสำรวจแมลงหายาก จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ ในประเทศไทย เช่น อุทยานแห่งชาติเขาสก จังหวัดสุราษฎร์ธานี อุทยาแห่งชาติทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ เช่น นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ชุมพร นครราชสีมา ร้อยเอ็ด และเชียงใหม่ และสำรวจใน ได้ตัวอย่างแมลงหายากทั้งหมด 10 ชนิด ในอันดับ Coleopera 2 ชนิด ได้แก่ ด้วงดินขอบชมพู *Mouhotia batesi* (Family Carabidae) จำนวน 1 ตัว และด้วงดินปีกแผ่น *Morlyce phyllodes* Hagenbach (Family Carabidae) จำนวน 5 ตัว และแมลงในอันดับ Lepidoptera 7 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อค้างคาว *Lyssa zampa* (Family Uraniidae) จำนวน 11 ตัว ผีเสื้อปารีส *Papilio paris* (Family Papilionidae) จำนวน 1 ตัว ผีเสื้อตาเคียวปีกลายตรง *Actias selene* Hubner (Family Saturniidae) จำนวน 23 ตัว ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก *Actias maenas* Doubleday Hubner (Family Saturniidae) จำนวน 3 ตัว ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด *Archacoattacus edwardsii* (Family Saturniidae) จำนวน 1 ตัว ผีเสื้อพระเสาร์ใหญ่ *Zeuxidia aurelius* (Family Nymphalidae) จำนวน 1 ตัว ผีเสื้อพราหมณ์ *Btahmaea wallichii wallichii* Gray (Family Brahmaeidae) จำนวน 1 ตัว และจักจั่นแม่ม่ายลองไน *Tosena fasciata* (Fabricius) (Family Cicadiidae) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

แมลงในอันดับ Coleoptrea

1. Family Lucanidae

1.1 *Prosopocoilus (Cyclotropus) inquinatus nigripes* (Boileau, 1905)

Metopodontus nigripes Boileau, 1905

Metopodontus biplagiatus var. *nigripes*; Vanroon, 1910

Metopodontus biplagiatus subsp. *nigripes*; Gravely, 1915

Metopodontus biplagiatus var. *nigripes*; Didier & Seguy, 1953

Metopodontus biplagiatus var. *nigripes*; Bomans, 1967

Metopodontus biplagiatus var. *nigripes*; Bomans, 1968

Metopodontus biplagiatus var. *nigripes*; Bomans, 1970

Metopodontus biplagiatus var. *nigripes*; Delisle, 1975

Metopodontus biplagiatus var. *nigripes*; Bomans, 1991

Prosopocoilus (Cyclotropus) biplagiatus ssp. *nigripes*; Maes, 1992

Prosopocoilus biplagiatus; Ikeda, 1993

Prosopocoilus biplagiatus; Mizunuma & Nagai, 1994

Prosopocoilus (Cyclotropus) biplagiatus ssp. *biplagiatus*; Maes, 1992

สถานที่พบ : สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย : เชียงใหม่ ลำปาง แพร่ พิจิตร นครสวรรค์ ชัยภูมิ นครราชสีมา อุบลราชธานี ลพบุรี นครนายก กรุงเทพมหานคร สระบุรี กาญจนบุรี จันทบุรี ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา

เขตการแพร่กระจายต่างประเทศ : บังคลาเทศ เมียนมาร์ จีน ลาว กัมพูชา เวียดนาม มาเลเซีย

แมลงในอันดับ Lepidoptrea

1. Family Papilionidae

1.1 *Papilio paris paris* Linnaeus,1758

Papilio paris f.decorosa Fruhstorfer,1909

Papilio majestatis Fruhstorfer,1909

Papilio paris f.vern.splendorifer Fruhstorfe

Papilio angelicae Bryk,1939

Papilio reductoomaculata Bryk,1939

Papilio sumbingensis Toxopeus,1937

Papilio paris paris; Godfrey,1916

Papilio paris paris; Godfrey,1927

Papilio paris paris; Godfrey,1930

Papilio paris paris; Godfrey,1932a

Papilio paris; Reeves,1966

Papilio paris paris; Pinratana,1977

Papilio paris paris; Pinratana,1992

Papilio paris paris; Motono & Negishi,1989

Papilio paris paris; Osada, Uemura & Uehara,1999

Papilio paris f.indo-chinensis; Lemee,1950

Papilio paris paris f.vern.splendorifer; Metaye,1957

Papilio paris paris f.aest.paris; Metaye,1957

สถานที่พบ : สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย : เพชรบุรี ชุมพร นครนายก เชียงใหม่ จันทบุรี กาญจนบุรี ประจวบคีรีขันธ์

เขตการแพร่กระจายต่างประเทศ : เนปาล อินเดีย เมียนมาร์ ลาว เวียตนาม จีน ฮ่องกง

2. Family Saturniidae

2.1 *Actias maenas* Doubleday, 1847

Actias maenas Doubleday, 1847

Argema maenas; Allen, 1981

Actias maenas; Nassig & Peigler, 1984

Actias maenas; Lampe, 1985

♀

♂

สถานที่พบ : อ. วังชิ้น จ. ตาก

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย : เชียงราย เชียงใหม่ น่าน สระบุรี นครนายก กาญจนบุรี ระยอง จันทบุรี

เขตการแพร่กระจายต่างประเทศ : เนปาล อินเดีย จีน เมียนมาร์ ลาว กัมพูชา เวียดนาม มาเลเซีย อินโดนีเซีย

3. Family Brahmaeidae

Subfamily Brahmaeinae

3.1 ***Brahmaea wallichii wallichii*** Gray, 1831

Brahmaea conchifera Butler, 1880

Bombya spectabilis Hope,

Brahmaea rufescens Butler, 1880

สถานที่พบ: อุทยานแห่งชาติทองผาภูมิ อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย : ชัยภูมิ พิษณุโลก

เขตการแพร่กระจายต่างประเทศ : เนปาล อินเดีย เมียนมาร์

4. Family Uraniidae

Subfamily Uraniinae

4.1 *Lyssa zampa* (Butler,1869)

Nyctalemon zampa Butler, 1869

Nyctalemon crameri Boisduval, 1874

Nyctalemon najabula Moore, 1877

Nyctalemon docile Butler, 1877

Nyctalemon dilutus Röber, 1927

Lyssa zampa; Holloway, 1976

สถานที่พบ : อ. เมือง จ. เชียงใหม่

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย : เชียงใหม่ อุทัยธานี กรุงเทพมหานคร นครราชสีมา นครศรีธรรมราช

เขตการแพร่กระจายต่างประเทศ : เนปาล อินเดีย จีน เมียนมาร์ ลาว กัมพูชา เวียตนาม มาเลเซีย อินโดนีเซีย

แมลงในอันดับ Hemiptera

1. Family Cicadidae

1.1 ***Tosena fasciata*** **(Fabricius, 1787)**

Tettigonia fasciata Fabricius, 1787

Cicada fasciata; Olivier, 1791

Cicada fasciata; Germar, 1830

Cicada fasciata; Silbermann, 1834

Cicada fasciata; Blanchard, 1840

Tosena fasciata; Amyot & Serville, 1843

Tosena fasciata; Walker, 1850

Tosena fasciata; Distant, 1889

Tosena fasciata; Kirkaldy, 1907

Tosena fasciata; Moulton, 1910

Cicada melanoptera White, 1864

Tosena melonoptera; Atkinson, 1884

Tosena melonoptera; Distant, 1888

Tosena melonoptera; Ashton, 1914

Tosena melonoptera; Distant, 1917

Tosena melonoptera; Paiva, 1919

Tosena albata; Distant, 1878

Tosena albata; Waterhouse, 1884

Tosena albata; Atkinson, 1884

สถานที่พบ : อ. สันทราย จ. เชียงใหม่

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย : ลำปาง

เขตการแพร่กระจายต่างประเทศ : อินเดีย เมียนมาร์ มาเลเซีย อินโดนีเซีย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ รวมทั้งจากแมลงป่าไม้ที่มีความอุดมสมบูรณ์ในประเทศไทยนั้นพบแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์จำนวน 10 ชนิด และจากผลการศึกษาครั้งนี้ได้รายงานเพียง 6 ชนิด เนื่องจากแมลงที่เหลืออยู่ระหว่างการจัดเก็บรูปร่างรวมทั้งการสืบค้นข้อมูล และจากโครงการวิจัยครั้งนี้มีระยะสิ้นสุดงานวิจัยในปี 2553 แต่จากการศึกษาครั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการศึกษาเพียงแค่ 2 ปี จึงทำให้งานวิจัยยังไม่ครอบคลุม ซึ่งหากใช้เวลาในการสำรวจมากกว่านี้จะทำให้พบแหล่งที่อยู่อาศัย และพืชอาหารของแมลงหายาก และสามารถนำความรู้ที่ได้มาเป็นความรู้พื้นฐานเพื่อช่วยในการอนุรักษ์รักษาแหล่งที่อยู่อาศัย รวมทั้งแหล่งอาหารของแมลงหายากเหล่านี้ให้สามารถขยายจำนวน และดำรงชีวิตอยู่ในธรรมชาติได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545. **พิพิธภัณฑ์นิทรรศการแมลง**. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545 **พิพิธภัณฑ์แมลง**. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2547. **การเก็บตัวอย่างแมลงเพื่อการศึกษาวิจัย**. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด,กรุงเทพฯ. 32 หน้า

Arrow, G.J. 1949. **Coleoptera. Lamellicornia, Lucanidae and Passalidae, Vol. IV. The Fauna of British India including Pakistan, Ceylon, Burma and Malaya**. London: Taylor & Francis.

Barlow, H.S. 1982. **An Introduction to the Moths of South East Asia**. Kuala Lumpur: the author.

Godfrey, E.J. 1916. **The butterflies of Siam**. Jour. Nat. Hist. Soc. Siam. 2(2):106-147.

Godfrey, 1927. **A list of butterflies collected in northern Siam by Mr. M.B. Tennent**. Jour. Siam Soc. Nat. Hist. Suppl. 7(2):119-127.

Hampson, G.F. (1892). Moths vol. 1. **The Fauna of British India including Ceylon and Burma**.London: Taylor & Francis.

Lekagul, B., Askin, K., Nabhitabhata, J., and Samruadkit, A. 1997. **Field guide to the butterflies of Thailand**, Bangkok.

Pinratana, A. and Eliot, J.N. 1992. **Butterflies in Thailand. Vol. 7 Papilionidae and**

Danaidae. (3rd revised edition). Bosco offset. Bangkok.

Pinratna, A. and Lampe, R.E.S. 1990. **Moths of Thailand. Vol.1 Saturniidae**. Bosco Offset. Bangkok.

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอและความหลากหลายทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว

Genetic variability of *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* the causal agent of anthurium blight

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

Xanthomonas axonopodis pv. *dieffenbachiae* (Xad.)สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัวจัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศยุโรป สามารถติดไปกับต้นพันธุ์และแพร่ระบาดทำความเสียหายกับพืชในแหล่งปลูกใหม่ๆ ปัจจุบันมีการนำเข้าต้นหน้าวัวพันธุ์ใหม่ๆ จากต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศเนเธอร์แลนด์ การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรม จะเป็นฐานข้อมูลทางพันธุกรรมของแบคทีเรียเพื่อตรวจสอบการติดเข้ามาของเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ในการทดลองนี้ได้จัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* จำนวน 49 ไอโซเลท จากแหล่งปลูกหน้าวัวทั่วประเทศ ที่เก็บรวบรวมตั้งแต่ปี 2534 ถึง 2550 โดยเทคนิค Rep-PCR ไพรเมอร์ ERIC จากส่วน enterobacteria repetitive intergenic consensus พบรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 13 รูปแบบ โดยมีความต่างของแถบดีเอ็นเอ 56 แถบ มีช่วงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 20-100 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดย NTsys 2.01 จัดแบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 5 กลุ่มย่อย ไอโซเลทของเชื้อที่แยกหน้าวัวต่างพันธุ์ แต่จากสวนเดียวกันมีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกัน แต่ไม่พบกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อที่ชัดเจน เช่นกลุ่มย่อย B ที่ความเหมือนกันของลักษณะทางพันธุกรรมมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยเชื้อ Xad. จาก 10 จังหวัด คือ กระบี่ ชุมพร นนทบุรี สมุทรสงคราม ชลบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ ภูเก็ต ตรัง และ สุราษฎร์ธานี ส่วนลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ BOX จากส่วน interspersed repetitive Box sequence มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 9 รูปแบบ โดยมีความต่างของแถบดีเอ็นเอ 31 แถบ มีช่วงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่กว้างมากคือ 5-100 เปอร์เซ็นต์ จัดแบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 6 กลุ่มย่อย พบความต่างของข้อมูลทางพันธุกรรมจากรูปแบบดีเอ็นเอโดย Rep-PCR คือ ไอโซเลท จากสวนเดียวกันในจังหวัดสมุทรสงคราม แยกออกเป็น 2 กลุ่มที่มีความแตกต่างกัน จากการรูปแบบและการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

รหัสโครงการวิจัย 09-02-49-02

เทคนิค Rep-PCR โดยไพรเมอร์ Eric และ Box พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ค่อนข้างสูง

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* จำนวน 44 สายพันธุ์ โดยเทคนิค AFLP ด้วยไพรเมอร์ Eco+0/Mse+C และ Eco+C/Mse+G มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 4 และ 5 รูปแบบ ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างชัดเจนกับรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแบคทีเรียนอกกลุ่ม (outgroup) ได้แก่ *X. axonopodis* pv.*vesicatoria*, *X. axonopodis* pv.*citri*, *X. campestris* pv.*campestris* ขนาดแถบดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้ประมาณ 200-10,000 bp จำนวนประมาณ 45-60 แถบ ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ ทั้งนี้ไม่พบความสัมพันธุ์ของรูปแบบดีเอ็นเอกับแหล่งเชื้อ หรือความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย

คำนำ

แบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* (McCulloch & Pirone 1939) Vauterin et al. 1995 (Syn. *Xanthomonas campestris* pv. *diffenbachiae*) เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว และพืชในตระกูล Araceae เช่น อะโกรนีมา คาลาเดียม ฟิโลเดนดรอน และซินโกเนียม เชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* พบรายงานครั้งแรกในมลรัฐฮาวาย สหรัฐอเมริกา โดย Hayward (1972) ทำความเสียหายกับบริษัทผู้ผลิตพืชสกุลหน้าวัว (anthurium) ในปี 1989 เป็นมูลค่ากว่า 600,000 บาทต่อเฮกเตอร์ และมูลค่ารวมความเสียหายนับ 100 ล้านบาท เป็นเชื้อที่เป็นข้อจำกัดในการผลิตพืชในสกุลหน้าวัว ของอเมริกาเหนือและใต้ พบการแพร่ระบาดทำความเสียหายกับพืชในสภาพอากาศร้อนชื้น อุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส เข้าทำลายพืชทางบาดแผลและช่องเปิดธรรมชาติ นอกจากการเข้าทำลายพืชบนใบแล้ว (epiphytically) ยังสามารถเจริญแฝงอยู่ในท่อลำเลียงพืชได้ (latent infection) สามารถแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วไปในพื้นที่ปลูกใหม่ โดยติดไปกับส่วนขยายพันธุ์พืช และแพร่กระจายโดยการกระเด็นติดไปกับน้ำฝนหรือน้ำในระบบการปลูกพืช ปนเปื้อนไปกับเครื่องมือเครื่องใช้ทางการเกษตร ติดไปกับดิน และไส้เดือนฝอย ในขั้นตอนการตัดแต่งกิ่งหรือการเก็บเกี่ยวผลผลิต (Nishijima and Fujiyama, 1985) จัดแบ่งกลุ่มของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ได้อย่างน้อย 3 กลุ่ม ตามการเข้าทำลายพืชอาศัย กลุ่มที่ 1 เป็นสายพันธุ์เชื้อที่เข้าทำลายพืชอย่างรุนแรงในกลุ่มหน้าวัว (anthurium) มีพืชอาศัยกว้าง กลุ่มที่ 2 เป็นสายพันธุ์ที่เข้าทำลาย syngonium และเข้าทำลายรุนแรงพืชในกลุ่มหน้าวัว และมีความสัมพันธุ์ทางเซรุ่มวิทยากับเชื้อในกลุ่มหน้าวัว มีพืชอาศัยแคบกว่ากลุ่มแรก กลุ่มที่ 3 เป็นสายพันธุ์จากพืชตระกูล Araceae อื่นๆ รวมถึงสายพันธุ์จาก syngonium อื่นๆ นอกจากกลุ่มข้างต้น (CPC, 2003)

ในประเทศไทย พบการแพร่ระบาดของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *diffenbachiae* ในโรงเรือนที่มีความชื้นสูง การระบายน้ำและการถ่ายเทอากาศไม่ดี (นิยมรัฐ, 2544) การศึกษาปฏิกิริยาของหน้าวัว ต่อแบคทีเรีย *X. campestris* pv.*dieffenbachiae* พบว่าทุกพันธุ์อ่อนแอต่อการเกิดโรค และสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค คือสารประกอบคอปเปอร์ (นิยมรัฐ และคณะ, 2536ab) การศึกษาประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ จะเป็นข้อมูลสำหรับการเลือกสายพันธุ์แบคทีเรีย เพื่อคัดพันธุ์พืชต้านทานโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. **เชื้อ *Xanthomonas axonopidis* pv. *dieffenbachiae* และการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์**

แยกตัวอย่างอาการโรค บริเวณใบ (ใบจุด หรือใบไหม้) อาการท่อลำเลียงของก้านใบ หรือลำต้นช้ำเป็นสีน้ำตาล (อาการที่แสดงออก ใบเหี่ยวเนื้อใบเป็นสีเหลืองเส้นใบเขียว) อาการที่จานรองดอก เป็นจุดช้ำ และอาการไหม้

เลือกตัดชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการ โดยตัดบริเวณที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5x 0.5 มิลลิเมตร 1-2 ชิ้น จุ่มแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบชิ้นส่วนพืชดังกล่าว วางบนหยดน้ำ 10-20 ไมโครลิตร ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 3-5 นาที แล้วใช้ลูปที่ฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำ นำมาลาก (streak) บน Nutrient glucose agar (NGA) และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) วางจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก คว่ำจานลง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) 1-2 วัน จากนั้นเลือกโคโลนีของเชื้อที่เจริญ มีลักษณะนูนเยิ้มสีเหลือง เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหารจนได้เชื้อบริสุทธิ์

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

ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ครั้งนี้ได้ทำการแยกเก็บแบคทีเรียสาเหตุโรค จากการสำรวจรวบรวมจากแปลงของเกษตรกร และรวบรวมเชื้อจาก Culture collections ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. **การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *Xanthomonas axonopidis* pv. *dieffenbachiae***

ทำการสกัดดีเอ็นเอ โดยเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์แบคทีเรีย บนอาหาร YDC ใช้ลูปลนไฟฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยว ปลูกเชื้อลงในอาหารเหลว modified YP (3 กรัม yeast extract และ 5 กรัม

peptone ในน้ำกลั่น 1 ลิตร) ในหลอดทดลองปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อหลอด บ่มเชื้อไว้ข้ามคืนบนเครื่องเขย่า (Orbit shaker : LAB-Line Instruments Inc. , ILL) ความเร็ว 125 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ดูดเซลล์แขวนลอยเชื้อในอาหารเหลว ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ใน eppendorf tube ขนาด 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง Hettich (Universal 32, Gemnany) ที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ทิ้งส่วนใส ล้างตะกอนเซลล์ เพื่อกำจัดโพลีแซคคาไรด์ ด้วยน้ำเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85 เปอร์เซ็นต์ ดูดขึ้นลงให้เชื้อกระจายด้วยไปเปต ปั่นอย่างเร็วด้วยเครื่องผสมสาร 5 วินาที ปั่นตกตะกอนทิ้งส่วนใส ล้างเซลล์เช่นเดิม 3 รอบ เก็บตะกอนเซลล์ นำไปสกัดดีเอนเอ ด้วย ชุดสกัด Puregene kit (Invitrogen Inc., Minneapolis, MN) ตามวิธีของชุดสกัด และปรับขั้นตอนบางส่วน ดังนี้ เติมสารละลายเซลล์ (cell lysis solution) ปริมาณ 300 ไมโครลิตร ดูดขึ้นลงด้วยไปเปตให้ตะกอนเซลล์กระจาย นำไปบ่มที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียสลาย ทิ้งให้เย็น แล้วเติม 1.5 ไมโครลิตร Rnase A เพื่อกำจัด RNA บ่มหลอดไว้ในน้ำอุ่น 37 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ทิ้งให้เย็นลง ตกตะกอนโปรตีน โดยเติมสารละลาย protein precipitation 100 ไมโครลิตร ปั่นอย่างแรงด้วยเครื่องผสมสาร นาน 20 วินาที แล้วหมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที ตกตะกอนดีเอ็นเอ โดยดูดสารส่วนใส ใส่หลอดใหม่ที่บรรจุ isopropanol 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการพลิกหลอดกลับไปมา จากนั้นหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนดีเอ็นเอที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70 % เอทธานอล 3 ครั้ง อบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อระเหยแอลกอฮอล์ ละลายตะกอนดีเอ็นเอ ด้วยบัฟเฟอร์ Tris-EDTA (TE : 10 mM Tris-HCl, pH 7.0, 1 mM EDTA) ปริมาณ 30 ไมโครลิตร วัดปริมาณความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอ ที่ช่วงคลื่น A260/A280 ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA)

3. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ โดย BOX และ ERIC PCR

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

Box (BOXA1R) 5’-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3’

Eric (ERIC1R) 5’-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC-3’

(ERIC2) 5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'

ทำปฏิกิริยาพีซีอาร์เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิ PE 2400 thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA) ปริมาตรรวมของปฏิกิริยา 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 5x Gitschier Buffer[1] 5 ไมโครลิตร, 20 mg/ml BSA0.2 ไมโครลิตร, 100%DMSO 2.5 ไมโครลิตร, 25mM dNTP's 1.25 ไมโครลิตร, ไพรเมอร์ BOXA1R (25pM) 1 ไมโครลิตร (*เฉพาะ ERIC-PCR ไพรเมอร์ ERIC1R และ ERIC2 ชนิดละ 1 ไมโครลิตร) Taq DNA polymerase (5 U/ ul) 0.4 ไมโครลิตร ดีเอ็นเอต้นแบบของเชื้อ (50 นาโนกรัม) 0.5 ไมโครลิตร และ น้ำ เติมให้ครบ 25 ไมโครลิตร

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

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

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

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

บันทึกข้อมูลโดย และตรวจสอบแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ เป็น 1 และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ เป็น 0 นำผลมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Numerical Taxonomy and Multivariation Analysis System (NYSYS, version 2.01d) (Rohlf, 1994) วิเคราะห์ dendrogram จัดกลุ่มเชื้อ เปรียบเทียบความสัมพันธ์และความ

หลากหลายทางพันธุกรรม ระหว่างสายพันธุ์ species แหล่งที่มาของเชื้อ และความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรค

4. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. dieffenbachiae โดยเทคนิค Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

โดยการประยุกต์เทคนิค AFLP ของ Vos et al (1995) นำดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ที่ความเข้มข้น 500 นาโนกรัมละลายในน้ำ 5.5 ไมโครลิตร เติม restriction buffer ประกอบด้วย เอ็นไซม์ EcoRI (NEB) 5 units, MseI (NEB)1 units , 10X Ligase buffer with ATP 1.1 ไมโครลิตร, 0.5 M NaCl 1.1 ไมโครลิตร, 1 mg/ml BSA 0.55 ไมโคลิตร และน้ำ ปริมาตรรวม 9 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และหยุดปฏิกิริยาที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นทำการต่อ adaptor โดยเติม ligation buffer ประกอบด้วย 10X Ligase buffer 0.1 ไมโครลิตร, 0.5 M NaCl 0.1 ไมโครลิตร, 1 mg/ml BSA 0.05 ไมโครลิตร เอ็นไซม์ T4DNA ligase (regular conc.) 0.165 ไมโครลิตร 5 uM EcoRI adapter pair 1 ไมโครลิตร 50 uM MseI adapter pair 1 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรรวมสุดท้ายเท่ากับ 12 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

EcoRI adapter 5’ –CTCGTAGACTGCGTACC

CATCTGACGCATGGTTAA-5’

MseI adapter 5’ –GACGATGAGTCCTGAG

TACTCAGGACTCAT -5’

จากนั้นใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้เป็นต้นแบบ เพื่อสังเคราะห์สายดีเอ็นเอโดยสุ่มในปฏิกิริยาพีซีอาร์ ประกอบด้วย 10X PcR buffer with 15 mM $MgCl_2$ 2 ไมโครลิตร, 1.25 mM dNTPs 1.6 ไมโครลิตร 5 u/ul Taq DNA polymerase 0.125 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ Eco (+0, A, G, C, T) (5 uM) 1 ไมโครลิตร, ไพรเมอร์ Ms (+A, G, C, T) (5 uM) 1 ไมโครลิตร และน้ำ ให้มีปริมาตรสุดท้าย ผสมสารประกอบในปฏิกิริยาดังกล่าวข้างต้นให้เข้ากัน แล้วบ่มหลอดปฏิกิริยาในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ PE 9700 thermal cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA) โดยใช้อุณหภูมิ และเวลาในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอดังนี้

ปฏิกิริยา	**อุณหภูมิ** (°C)	**เวลา**
1.แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบเริ่มต้น (initial denaturation)	95	2 นาที
2.แยกสายดีเอ็นเอแม่แบบ (denaturation)	94	20 วินาที
3.เริ่มต้นจับคู่ไพเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ (annealing)	66	30 วินาที
4.สังเคราะห์สายดีเอ็นเอต่อจากดีเอ็นเอแม่แบบ(extension)	72	1 นาที

5.สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย (final extension) 72 5 นาที

ทำปฏิกิริยาซ้ำในขั้นตอนที่ 2-4 เป็นวงจรลูกโซ่ โดยปรับลดอุณหภูมิ annealing 1 องศาเซลเซียส ในทุกๆ รอบ จนอุณหภูมิลดลงเหลือ 56 องศาเซลเซียส แล้วสังเคราะห์ต่ออีก 19 รอบ สังเคราะห์ดีเอ็นเอรอบสุดท้าย นาน 5 นาที และหยุดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ขนาดของสายดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ โดยนำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาพีซีอาร์ 20 ไมโครลิตร ผสมกับ loading dye (Promega, Madison, WI) ปริมาตร 2 ไมโครลิตร แยกขนาดของสายดีเอ็นเอ ด้วย 5% polyacrylamide gel โดยใช้ sequencing apparatus ในบัฟเฟอร์ 1X Tris-borate EDTA (TBE)ใช้กระแสไฟฟ้าที่ค่าความต่างศักดิ์ 65 วัตต์ นาน 2.5 ชั่วโมง แล้วตรวจดูแถบและรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดย silver staining

จากนั้นจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* จำนวน 49 สายพันธุ์ โดยไพรเมอร์ 2 คู่ ได้แก่ Eco-0/ Ms-G และ Eco-C/MsG

การบันทำข้อมูลรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยตรวจสอบแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏ เป็น 1 และไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ เป็น 0 นำผลมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS เช่นเดียวกับข้างต้น วิเคราะห์ dendrogram จัดกลุ่มเชื้อเปรียบเทียบความสัมพันธ์และความหลากหลายทางพันธุกรรม ระหว่างสายพันธุ์ species แหล่งที่มาของเชื้อ และความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรค

ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2548– กันยายน 2550

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

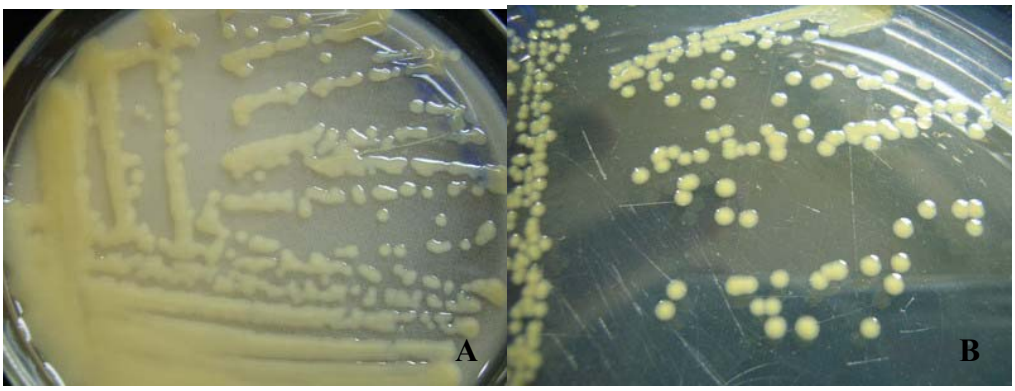
1. เชื้อ *Xanthomonas axonopidis* pv. *dieffenbachiae* และการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

ทำการแยกแบคทีเรียสาเหตุโรคจากตัวอย่างอาการโรคใบไหม้หน้าวัว ที่เก็บรวมรวมจากแปลงของเกษตรกร และรวบรวมเชื้อจาก Cultures collection จำนวนทั้งสิ้น 49 ไอโซเลท ซึ่งรวบรวมได้จากแหล่งปลูกหน้าวัวใน 18 จังหวัดทั่วประเทศ (ตารางที่ 1)

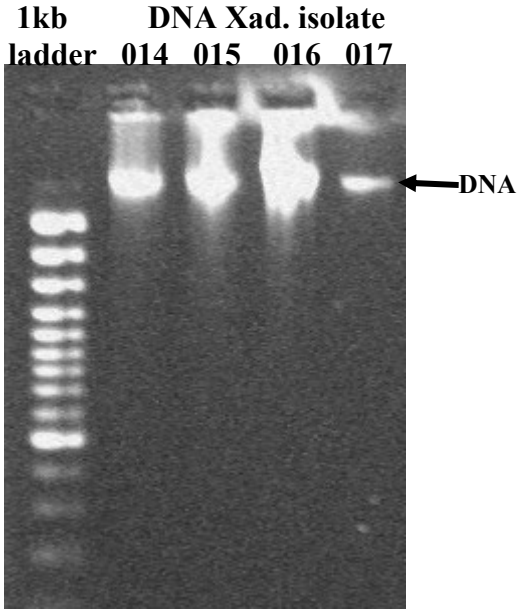
ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient glucose agar (NA) มีโคโลนีสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม โคโลนีกลมนูน ผิวมัน ลักษณะโคโลนีบนอาหาร Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ agar โคโลนีเจริญอย่างรวดเร็วสีเหลืองเข้มชัด รูปร่างกลมนูน ผิวมัน (ภาพที่ 1) ทั้งนี้แบคทีเรีย *X. axonopidis* pv. *dieffenbachiae* สามารถเจริญได้ดีและสร้างเมือกมากบนอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสสูง

2. การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อ *Xanthomonas axonopidis* pv. *dieffenbachiae*

ดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดมีปริมาณความเข้มข้น โดยเฉลี่ยตั้งแต่ 0.2-0.5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร (ภาพที่ 2) ปริมาตร 50 ไมโครลิตรต่อตัวอย่าง โดยคุณภาพของดีเอ็นเอ จากคำนวณด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ A260/A280 เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 1.6-1.7 ซึ่งมีคุณภาพดีเพียงพอสำหรับจัดทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ



ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนี ของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae*
A เจริญบนอาหาร Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ อายุ 36 ชั่วโมง
B เจริญบนอาหาร NA อายุ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 2 Genomic DNA ของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* บน agarose gel 0.8 % ย้อมด้วย Ethydium Bromide แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ด้วย UV transiluminator

3. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ โดย BOX และ ERIC PCR

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดย ERIC primer พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดตั้งแต่ 200-2000 bp มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน 13 รูปแบบ (ภาพที่ 3A) มีแถบดีเอนเอที่ปรากฏแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 56 แถบ ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบแถบดีเอ็นเอ แบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 5 กลุ่มย่อย (ภาพที่ 4) จัดแบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 5 กลุ่มย่อย ไอโซเลทของเชื้อที่แยกหน้าวัวต่างพันธุ์ แต่จากสวนเดียวกัน มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกัน แต่ไม่พบกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อที่ชัดเจน เช่นกลุ่มย่อย B ที่ความเหมือนกันของลักษณะทางพันธุกรรมมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยเชื้อ Xad. จาก 10 จังหวัด คือ กระบี่ ชุมพร นนทบุรี สมุทรสงคราม ชลบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ ภูเก็ต ตรัง และ สุราษฎร์ธานี เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับเชื้อใน pathovars อื่น แบคทีเรีย *X. axonpodis* pv.*dieffenbachiae* มีความแตกต่างพันธุกรรม และมีความสัมพันธ์ 30 -45 เปอร์เซ็นต์ กับแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *vesicatoria* สาเหตุโรคใบจุดมะเขือเทศ และพริก และ *X. campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคเน่าดำคะน้า

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ BOX พบว่าเชื้อแต่ละสายพันธุ์แสดงแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดตั้งแต่ 200-2000 bp มีรูปแบบแตกต่างกัน 9 รูปแบบ (ภาพที่ 3B) พบแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏแตกต่างกัน (polymorphic band) จำนวน 31 แถบ เมื่อนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของรูปแบบแถบดีเอนเอ สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ และ 6 กลุ่มย่อย (ภาพที่ 5) มีช่วงความสัมพันธ์กันกว้างตั้งแต่ 5-100 เปอร์เซ็นต์ มีข้อสังเกตว่าไอโซเลทของแบคทีเรีย ที่แยกจากหน้าวัวต่างพันธุ์ จากสวนหน้าวัว อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม มีรูปแบบลายพิมพ์และความแตกต่างกันทางพันธุกรรมเป็น 2 กลุ่ม แต่ไม่พบกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อที่ชัดเจนเช่นเดียวกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ Eric ทั้งนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งที่มาของเชื้อ และความรุนแรงในการเกิดโรค ไม่พบความสัมพันธ์ เช่นเดียวกับการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* โดยเทคนิค RAPD ซึ่งพบความหลากหลายทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างสูง ทั้งนี้มีการพบความสัมพันธุ์ของรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอกับการจัดกลุ่มโดยเซรุ่มวิทยาในบางกลุ่ม (Khoodoo และ Jaufeerally-Fakim, 2004)

จากการศึกษาของศุทธนา(2542) ในการจำแนกเชื้อ *Ralstonia solanacearum* พบว่าการจัดกลุ่มระดับพันธุกรรมด้วยเทคนิค Rep-PCR ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของเชื้อ แต่ต่างจากการศึกษาของ กุลชนา (2544) ซึ่งพบว่าเทคนิคดังกล่าวสามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อ *X. campestris* pv.*glycines* ที่มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการก่อให้เกิดโรค คือสามารถแบ่งกลุ่ม

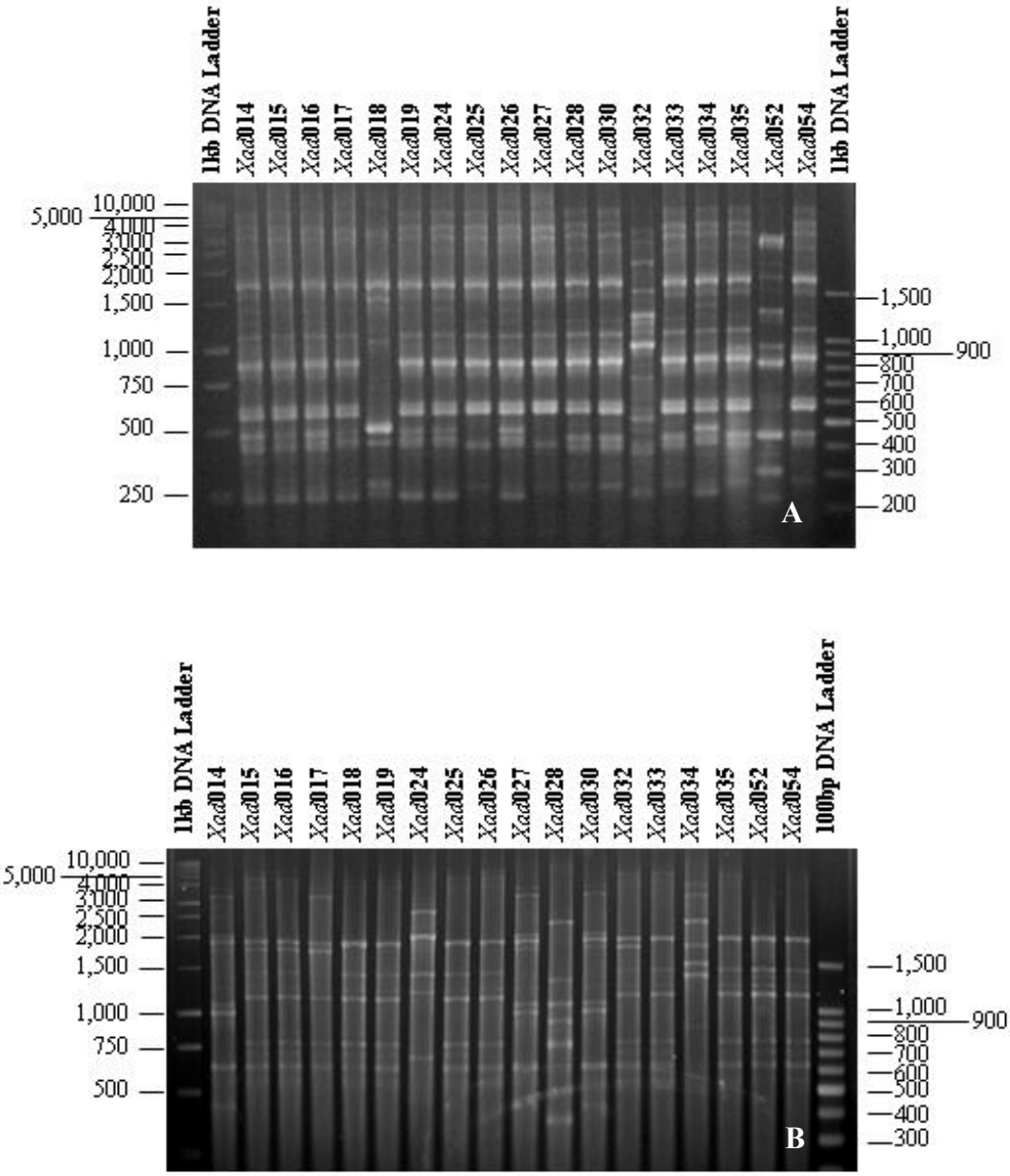
เชื้อที่เป็นสายพันธุ์อ่อนแอและสายพันธุ์ที่รุนแรงได้ แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่ มาของเชื้อ หรือพันธุ์ของถั่วเหลืองได้

ตารางที่ 1 สายพันธุ์และแหล่งที่มาของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* ใช้ในการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Rep-PCR

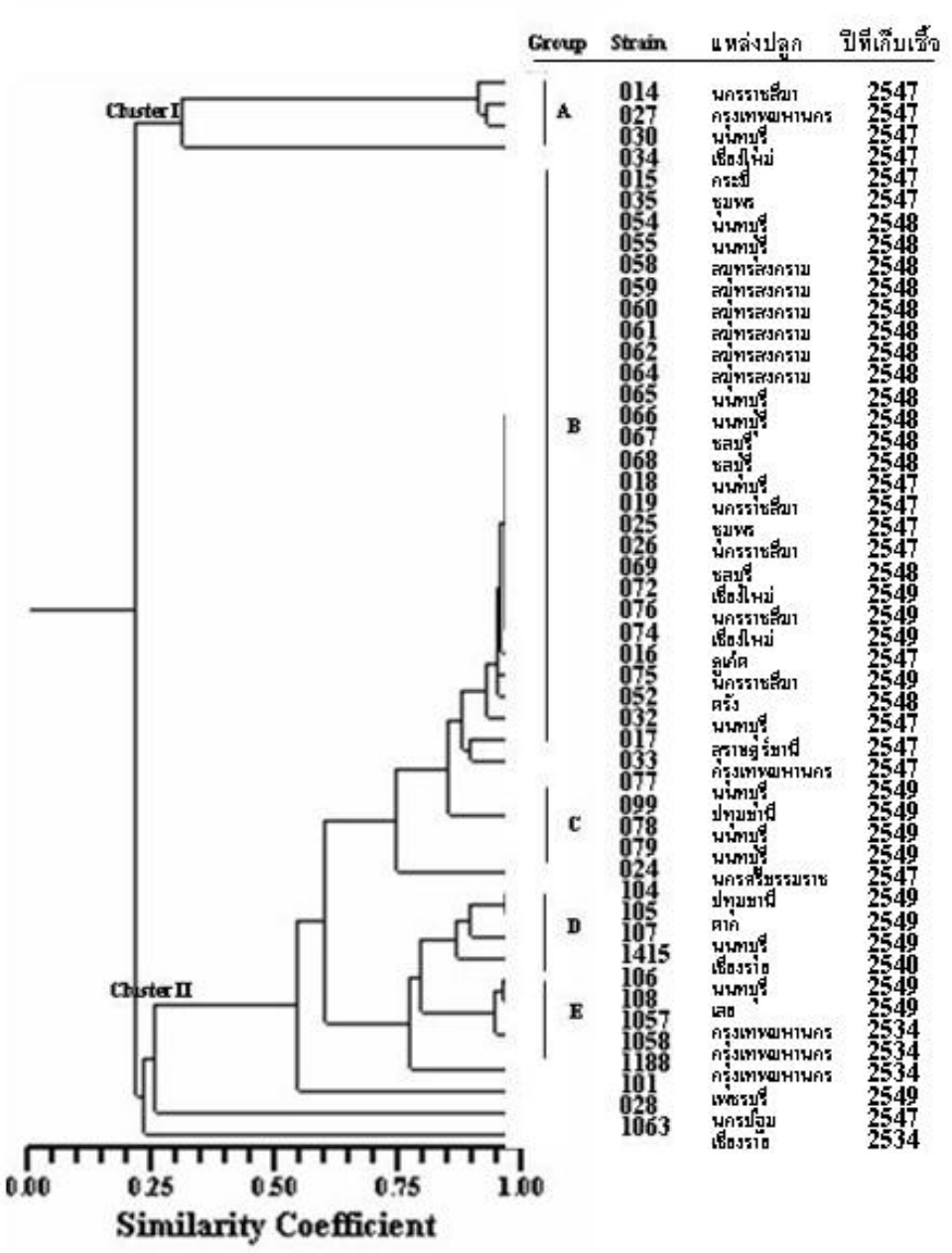
สายพันธุ์	พันธุ์พืช	สถานที่ปลูก	เดือน/ปีที่เก็บ	แหล่งที่มา[1]
014	unknown	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	04-2547	การศึกษานี้
015	unknown	ศูนย์ส่งเสริมพืชสวน จ.กระบี่	09-2547	การศึกษานี้
016	unknown	สถาบันวิจัยยาง จ.ภูเก็ต	09-2547	การศึกษานี้
017	unknown	สวนสุลภัส จ.สุราษฎร์ธานี	09-2547	การศึกษานี้
018	unknown	สวนสมพล อ.ปากเกร็ด จ.นนทบุรี	11-2547	การศึกษานี้
019	unknown	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	07-2547	การศึกษานี้
024	unknown	บ.สตาร์ฟลอร่า จ.นครศรีธรรมราช	07-2547	การศึกษานี้
025	unknown	อ.เมือง จ.ชุมพร	09-2547	การศึกษานี้
026	unknown	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	09-2547	การศึกษานี้
027	unknown	เขตหนองแขม กทม.	09-2547	การศึกษานี้
028	unknown	อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม	09-2547	การศึกษานี้
030	unknown	มหาสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2547	การศึกษานี้
032	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	11-2547	การศึกษานี้
033	unknown	คุณพงษ์เศวต เขตมีนบุรี กทม.	09-2547	การศึกษานี้
034	unknown	ดอยแม่สะป๊อก จ.เชียงใหม่	06-2547	การศึกษานี้
035	unknown	อ.สวี จ.ชุมพร	11-2547	การศึกษานี้
052	unknown	อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง	02-2548	การศึกษานี้
054	unknown	มหาสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	06-2548	การศึกษานี้
055	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	06-2548	การศึกษานี้
058	CHOCO	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
059	unknown	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
060	TROPICAL	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
061	ROSA	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
062	CHOCO	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
064	TROPICAL	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
065	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
066	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
067	unknown	สวนที่ 1 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้

068	unknown	สวนที่ 2 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
069	unknown	สวนที่ 2 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
072	unknown	อ.ปางดะ จ.เชียงใหม่	02-2549	การศึกษานี้
074	unknown	อ.ปางดะ จ.เชียงใหม่	02-2549	การศึกษานี้
075	unknown	คุณสุชาดา อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
076	TROPICAL	คุณสุชาดา อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
077	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
078	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
079	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
099	unknown	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
101	unknown	อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	06-2549	การศึกษานี้
104	unknown	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
Unknown	หางหมู	อ.พบพระ จ.ตาก	07-2549	การศึกษานี้
106	unknown	คุณสมชาย อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
107	unknown	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
108	TROPICAL	ไร่คลายกังวล อ.ภูเรือ จ.เลย	08-2549	การศึกษานี้
1057	unknown	เขตบางกอกน้อย กทม.	01-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1058	unknown	เขตบางกอกน้อย กทม.	01-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1063	unknown	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1188	unknown	เขตบางกอกน้อย กทม.	10-2535	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1415	unknown	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2540	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา

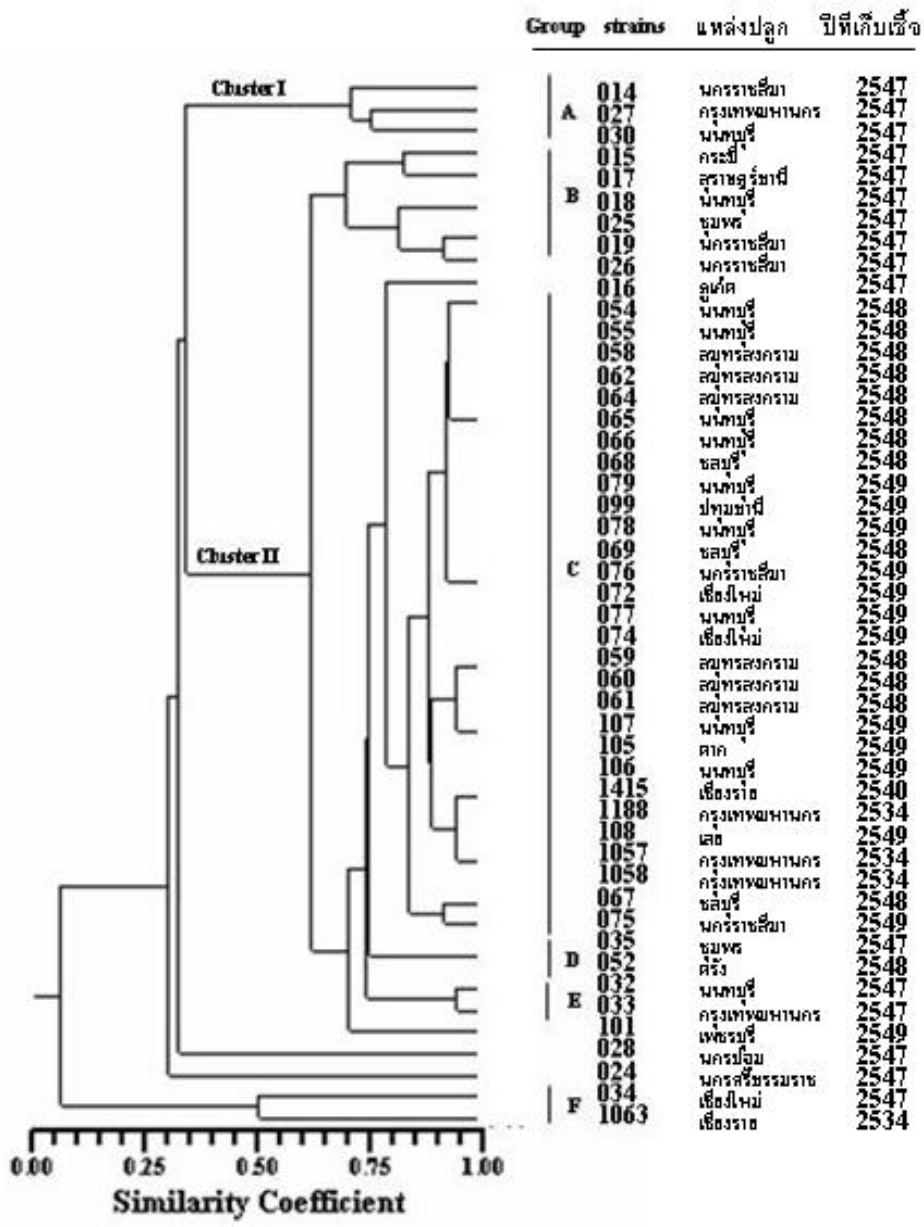
[1/] 1= เชื้อที่รวบรวมในการศึกษานี้ 2= กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 3 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ โดย ERIC-PCR 3A และ BOX-PCR 3B, เลนที่ 1 ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb ladder, เลนที่ 2-19 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อ *Xanthomonas axonpodis* pv. *dieffenbachiae* ไอโซเลทจากหน้าวัว



ภาพที่ 4 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (Xad.) ไอโซเลทจากหน้าวัว ใช้ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอนเอของ Rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ ERIC วิเคราะห์ด้วย NTSYS-pc,version 2.01



ภาพที่ 5 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* (Xad.) ไอโซเลทจากหน้าวัว ใช้ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอนเอของ Rep-PCR ด้วยไพรเมอร์ BOX วิเคราะห์ด้วย NTSYS-pc,version 2.01

4. **ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. dieffenbachiae โดยเทคนิค Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)**

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* จำนวน 44 สายพันธุ์ (ตารางที่ 2) โดยเทคนิค AFLP ด้วยไพรเมอร์ Eco+0/Mse+C และ Eco+C/Mse+G มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 4 และ 5 รูปแบบ ตามลำดับ (ภาพที่ 6 และ 7) โดยมีความแตกต่างอย่างชัดเจนกับรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแบคทีเรียนอกกลุ่ม (outgroup) ได้แก่ *X. axonopodis* pv.*vesicatoria*, *X. axonopodis* pv.*citri*, *X. campestris* pv.*campestris* ขนาดแถบดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้ประมาณ 200-10,000 bp จำนวนประมาณ 45-60 แถบ ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ ทั้งนี้ไม่พบความสัมพันธุ์ของรูปแบบดีเอ็นเอกับแหล่งเชื้อ หรือความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย

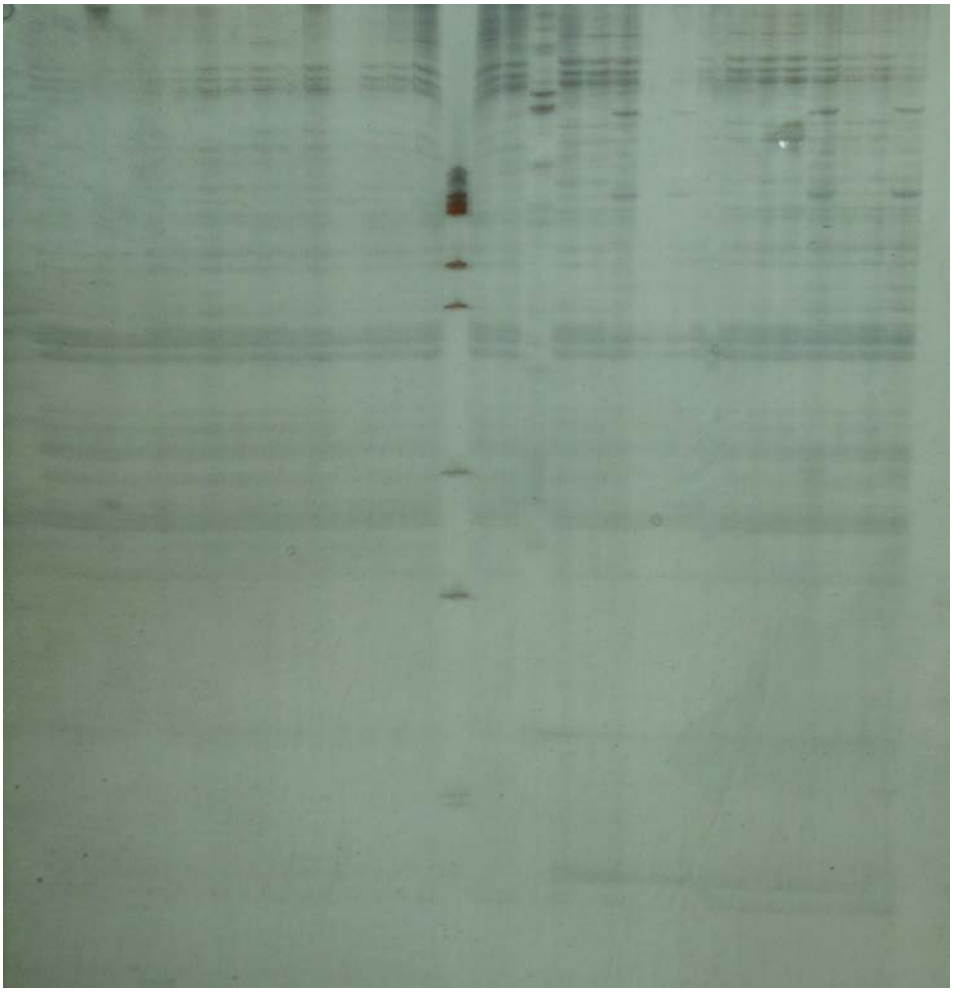
ตารางที่ 2 สายพันธุ์และแหล่งที่มาของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *diffenbachiae* ใช้ในการศึกษา

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค AFLP

สายพันธุ์	แหล่งเชื้อ	เดือน/ปีที่เก็บ	แหล่งที่มา[1]
014	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	04-2547	การศึกษานี้
015	ศูนย์ส่งเสริมพืชสวน จ.กระบี่	09-2547	การศึกษานี้
016	สถาบันวิจัยยาง จ.ภูเก็ต	09-2547	การศึกษานี้
017	สวนสุลภัส จ.สุราษฎร์ธานี	09-2547	การศึกษานี้
019	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	07-2547	การศึกษานี้
024	บ.สตาร์ฟลอร่า จ.นครศรีธรรมราช	07-2547	การศึกษานี้
026	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	09-2547	การศึกษานี้
027	เขตหนองแขม กทม.	09-2547	การศึกษานี้
030	มหาสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2547	การศึกษานี้
032	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	11-2547	การศึกษานี้
033	คุณพงษ์เศวต เขตมีนบุรี กทม.	09-2547	การศึกษานี้
035	อ.สวี จ.ชุมพร	11-2547	การศึกษานี้
052	อ.ย่านตาขาว จ.ตรัง	02-2548	การศึกษานี้
058	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
061	อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม	09-2548	การศึกษานี้
065	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
066	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	09-2548	การศึกษานี้
067	สวนที่ 1 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้

069	สวนที่ 2 จ.ชลบุรี	12-2548	การศึกษานี้
072	อ.ปางดะ จ.เชียงใหม่	02-2549	การศึกษานี้
075	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
076	อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา	02-2549	การศึกษานี้
077	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
078	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
079	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	03-2549	การศึกษานี้
099	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
101	อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี	06-2549	การศึกษานี้
104	อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	06-2549	การศึกษานี้
105	อ. พบพระ จ.ตาก	07-2549	การศึกษานี้
106	คุณสมชาย อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
107	คุณสมพงษ์ อ.บางกรวย จ.นนทบุรี	07-2549	การศึกษานี้
108	ไร่คลายกังวล อ.ภูเรือ จ.เลย	08-2549	การศึกษานี้
113	อ.สะเมิง จ. เชียงใหม่	09-2549	การศึกษานี้
114	อ.สะเมิง จ. เชียงใหม่	09-2549	การศึกษานี้
125	ดอยมูเซอ จ. ตาก	11-2549	การศึกษานี้
137	อ.บางกรวย จ. นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้
138	อ.บางกรวย จ. นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้
139	อ.บางกรวย จ. นนทบุรี	03-2550	การศึกษานี้
142	อ.สามโคก จ. ปทุมธานี	03-2550	การศึกษานี้
197	อ.ห้างฉัตร จ. ลำปาก	08-2550	การศึกษานี้
1057	เขตบางกอกน้อย กทม.	01-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1063	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2534	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1188	เขตบางกอกน้อย กทม.	10-2535	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
1415	อ.ดอยตุง จ.เชียงราย	03-2540	กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
xav 009	อ.ศรีเชียงใหม่ จ. หนองคาย	04-2547	การศึกษานี้
xav 048	อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี	01-2548	การศึกษานี้
xcc029	อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรี	07-2547	การศึกษานี้
xci031	อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี	09-2549	การศึกษานี้
Xc 013	อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	04-2547	การศึกษานี้

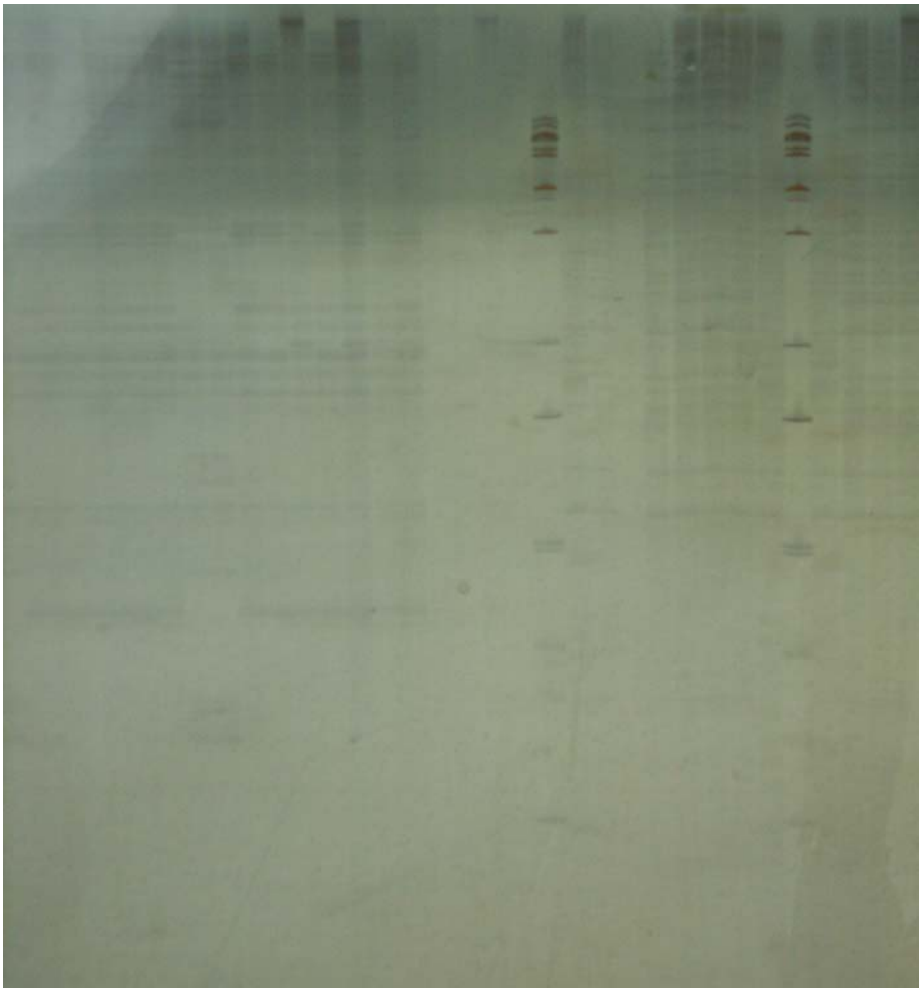
----------Xad.---------- M ----------Xad.---------- Xav.



ภาพที่ 6 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* โดยเทคนิค AFLP ด้วยไพรเมอร์ Eco+C/Mse+G

----------Eco+C/Mse+G---------- -------Eco+o/Mse+C----------

----------Xad.---------- -outgroup-M-----Xad.----------M—Xad.--



ภาพที่ 7 รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของ *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* โดยเทคนิค AFLP ด้วยไพรเมอร์ Eco+C/Mse+G และ Eco+0/Mse+C

สรุปผลการทดลอง

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยไพรเมอร์ ERIC และไพรเมอร์ BOX ให้ความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 13 และ 9 รูปแบบ ตามลำดับ ที่มีแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน (polymorphic) โดยไพรเมอร์ Eric 56 แถบ แบ่งเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มย่อย และ 5 กลุ่มย่อย และ โดยไพรเมอร์ Box 31 แถบ โดยแบ่งเชื้อออกเป็น 2 กลุ่มย่อย 6 กลุ่มย่อย และไม่พบกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะทางพันธุกรรมของแหล่งเชื้อ ความรุนแรงในการเกิดโรค หรือพันธุ์ของหน้าวัว ทั้งนี้การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ด้วย Rep-PCR สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างของสายพันธุ์เชื้อในระดับดีเอ็นเอ ไม่มีความผันแปรทางสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง แสดงถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* ที่ค่อนข้างสูง ซึ่งแตกต่างจาก

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยเทคนิค AFLP ด้วยไพรเมอร์ Eco+0/Mse+C และ Eco+C/Mse+G มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 4 และ 5 รูปแบบ ตามลำดับ ขนาดแถบดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้ประมาณ 200-10,000 bp จำนวนประมาณ 45-60 แถบ ซึ่งรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ ทั้งนี้ไม่พบความสัมพันธุ์ของรูปแบบดีเอ็นเอกับแหล่งเชื้อ หรือความรุนแรงของสายพันธุ์แบคทีเรีย รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* มีความแตกต่างอย่างชัดเจนกับรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของแบคทีเรียนอกกลุ่ม (outgroup) ได้แก่ *X. axonopodis* pv.*vesicatoria*, *X. axonopodis* pv.*citri*, *X. campestris* pv.*campestris*

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

Khoodoo, M.H.R. and Y. Jaufeerally-Fakim. 2004. RAPD-PCR fingerprinting and Southern analysis of *Xanthomonas axonopodis* pv.*dieffenbachiae* trains isolated from different aroid hosts and locations. Plant dis. 88:980-988.

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

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

การเก็บรักษาตัวอย่างโรคพืชในพิพิธภัณฑ์

Collecting Plant Disease Samples for Herbarium Collection

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช พรพิมล อธิปัญญาคม
ธารทิพย์ ภาสบุตร ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี
พจนา ตระกูลสุขรัตน์ ศรีสุข พูนผลกุล
วุฒิศักดิ์ บุตรธนู เพลินพิศ สงสังข์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างโรคราสนิมของลีลาวดี จากแหล่งปลูกในจังหวัดนครปฐม อัดตัวอย่างโรคราสนิมโดยใช้กระดาษ 5 ชนิด ได้แก่ กระดาษฟาง กระดาษแก้วลอกลาย กระดาษสา กระดาษขาว และกระดาษหนังสือพิมพ์ ดำเนินการทดลองที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550 ผลการทดสอบพบว่าความชื้นในตัวอย่างลดลงเป็นศูนย์ในทุกกระดาษที่ใช้อัดตัวอย่างเป็นเวลา 2 วัน ขนาดของสปอร์ของเชื้อสาเหตุราสนิมของลีลาวดีหลังการอัดแห้ง 4 อาทิตย์ไม่เปลี่ยนแปลงจากขนาดก่อนอัดแห้ง การเก็บตัวอย่างโรคพืชและทำเป็นตัวอย่างแห้งเพิ่มเติมเข้าพิพิธภัณฑ์ โดยสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืชเขตจังหวัดราชบุรี เพชรบุรี เชียงราย ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ กาญจนบุรี จันทบุรี และตราด ได้ตัวอย่างโรคพืช 113 ตัวอย่าง ได้จัดทำเป็นตัวอย่างแห้งตามกรรมวิธีและเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช การดูแลตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ที่มีอยู่โดยเปลี่ยนซองใส่ตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เก็บในพิพิธภัณฑ์จำนวน 800 ตัวอย่าง

รหัสโครงการ 09-02-49-02

คำนำ

พิพิธภัณฑ์โรคพืชเป็นสถานที่รวบรวมตัวอย่างโรคพืช เพื่อใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงการเกิดและการระบาดของโรคพืชในแต่ละประเทศ และใช้ตรวจสอบกลับเมื่อมีปัญหาเกี่ยวกับโรคพืช และเชื้อสาเหตุ ตลอดจนใช้เป็นข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อ เพื่อเสนอแก่ประเทศคู่ค้าต่อไป ปัจจุบันประเทศต่าง ๆ ได้จัดทำพิพิธภัณฑ์โรคพืชของตนเอง ดังเช่นในประเทศออสเตรเลียมีพิพิธภัณฑ์โรคพืชถึง 3 แห่ง คือ Indooroopolly QLD (BRIP) , Orange NSW (DAR) และ Knoxfield VIC (VPRI) ทั้ง 3 แหล่งมีตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรารวมทั้งหมด 180,000 ตัวอย่าง ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย ไวรัส ไส้เดือนฝอย และ Phytoplasma 10,000 ตัวอย่าง ในส่วนของ Plant Pathology Herbarium (BRIP) ในรัฐ Brisbane มีตัวอย่างโรคพืช 41,000 ตัวอย่าง (Beasley and Shivas, 2003) ในประเทศไทยมีการสำรวจและบันทึกตลอดจนรายงานถึงโรคของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทย จัดทำเป็นดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย (พัฒนา และคณะ, 2537) และมีเอกสารทางวิชาการรายงานถึงรายละเอียดของโรคพืชที่สำคัญมากมายจากกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และจากสถาบันการศึกษา เช่น คู่มือโรคพืชไร่ (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, 2545) โรคไม้ผลเขตกึ่งร้อน (นิพนธ์, 2542) เป็นต้น ทางด้านการเก็บตัวอย่างโรคพืชนั้น ทางกลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร ได้จัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชและเก็บรักษาบางส่วนไว้ตั้งแต่เริ่มก่อตั้งหน่วยงานโรคพืชวิทยา โดยเฉพาะตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ แต่ยังไม่ได้จัดตั้งเป็นพิพิธภัณฑ์

ในระหว่างปี 2001-2002 หน่วยงาน Australian Agency for International Development (AusAID) ได้จัดประชุม ASEANET LOOP ครั้งที่ 2 ขึ้นและมีการสนับสนุนให้มีการจัดตั้งศูนย์เก็บรักษาตัวอย่างแมลง และตัวอย่างโรคพืชขึ้นนประเทศภูมิภาคเอเชียหลายประเทศ เนื่องจากได้มีการตรวจสอบศูนย์เก็บรักษาตัวอย่างศัตรูพืชในประเทศภูมิภาคเอเชียและพบว่าไม่มีประเทศใดที่สามารถให้ข้อมูลสถานภาพศัตรูพืชได้อย่างครบถ้วน เนื่องจากการเก็บตัวอย่างโรคพืชมีจำนวนน้อยกว่าการเก็บตัวอย่างแมลง กรมวิชาการเกษตรได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากประเทศออสเตรเลีย (Thai-Australia Government Sector Linkages Program (TAGSLP), 2003) สำหรับการดำเนินการโครงการเสริมสร้างสมรรถนะด้านสุขอนามัยพืช : การพัฒนาพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืชและการรวบรวมเชื้อโรคพืชในประเทศ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชได้จัดทำห้องพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างโรคพืชขึ้นที่ตึกอิงคศรีกสิการ ชั้น 2 เพื่อเป็นเพื่อเป็นแหล่งรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่พบในประเทศ

ตัวอย่างแห้งโรคพืชหมายถึงชิ้นพืช และ/หรือราที่เก็บไว้ในซองหรือห่อที่มีการบันทึกข้อมูลตัวอย่างโรคพืชอาจรวมถึงราที่อัดแห้งไว้ สไลด์ตัวอย่าง ภาพถ่ายหรือภาพวาด ซึ่งซองและห่อของ

ตัวอย่าง จะต้องมีรายละเอียดต่าง ๆ ของตัวอย่างอย่างครบถ้วน ตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช สามารถใช้เป็นหลักฐานเพื่อการวินิจฉัยโรค หรือเพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ ตัวอย่างแห้งโรคพืชที่สมบูรณ์ควรเป็นตัวอย่างที่สามารถบ่งบอกอาการของโรคและสามารถแยกเชื้อสาเหตุได้ถึงแม้จะเก็บรักษาไว้เป็นเวลานานก็ตาม การที่จะได้ตัวอย่างแห้งที่สมบูรณ์ต้องเริ่มจากการเก็บตัวอย่างจากแปลง ตัวอย่างโรคพืชที่เก็บจากแปลงต้องเป็นตัวอย่างที่เริ่มแสดงอาการของโรค และเชื้อสาเหตุยังมีชีวิต ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคอย่างรุนแรงมักพบว่าไม่สามารถแยกเชื้อสาเหตุได้ เนื่องจากจะพบเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ขึ้นปะปนบนส่วนที่ถูกทำลาย ดังนั้นผู้เก็บตัวอย่างควรมีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับลักษณะอาการ และสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเพื่อความมั่นใจในการเลือกส่วนของพืชที่จะเก็บเป็นตัวอย่าง เช่น โรคเหี่ยวที่อาการปรากฏทางใบ แต่เชื้อสาเหตุเข้าทำลายในระบบท่อน้ำท่ออาหารและส่วนราก ต้องทราบชนิดพืชอาศัยอย่างถูกต้อง ถ้าไม่ทราบชนิดพืชต้องเก็บส่วนของดอกและผลของพืชปกติเพื่อนำไปจำแนกชนิด แต่ต้องมั่นใจว่าเป็นพืชชนิดเดียวกับพืชที่เป็นโรค

นอกจากการเก็บตัวอย่างที่สมบูรณ์จากแปลงแล้ว ขั้นตอนการทำตัวอย่างสดเป็นตัวอย่างแห้ง ตลอดจนการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งให้อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์ก็เป็นส่วนสำคัญเช่นกันที่จะได้ตัวอย่างแห้งที่ดีเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ การใช้กระดาษอัดตัวอย่างเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่จะทำให้ได้ตัวอย่างที่ดี โดยเฉพาะชนิดของกระดาษที่ใช้ในการอัดตัวอย่าง นอกจากจะได้ตัวอย่างที่ดีแล้ว ชนิดของกระดาษที่มีราคาถูก และหาได้ง่ายจะเป็นทางเลือกที่ให้ผู้ปฏิบัติงานได้เลือกใช้ได้อย่างเหมาะสมและประหยัดค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานในพิพิธภัณฑ์โรคพืช นอกจากนี้การดูแลตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์ และการเพิ่มจำนวนตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ก็เป็นสิ่งจำเป็นยิ่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างใบลีลาวดีเป็นโรคราสนิม (Rust)
2. กระดาษชนิดต่าง ๆ 5 ชนิด ได้แก่ กระดาษฟาง กระดาษแก้วลอกลาย กระดาษสา กระดาษขาว กระดาษหนังสือพิมพ์
3. กล้องจุลทัศน์ Light microscope
4. กรอบไม้อัดตัวอย่างโรคพืช
5. กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์

6. ซองกระดาษใส (กระดาษแก้วลอกลาย) ซองกระดาษแข็งใส่ตัวอย่าง และกล่องกระดาษ

7. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น กระดาษบันทึกข้อมูล ถุงพลาสติก กล่องเก็บความเย็น ปากกา กรรไกร ฯ

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบลีลาวดีที่เป็นโรคราสนิม (Rust) จากแหล่งปลูกในจังหวัดนครปฐม ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก และบรรจุลงในกล่องเก็บความเย็น บันทึกรายละเอียดชนิดพืช สถานที่ และวันที่เก็บ

2. การอัดทำตัวอย่างแห้งด้วยกระดาษชนิดต่าง ๆ

ตัดตัวอย่างใบลีลาวดีที่แสดงอาการโรคราสนิม โดยเลือกใบที่แสดงอาการของโรคอย่างสม่ำเสมอทั้งใบ ตัดใบลีลาวดีเป็นโรคราสนิมออกเป็นชิ้นขนาด 2 x 2 นิ้ว วางตัวอย่างระหว่างกระดาษที่ใช้ทดลองแต่ละชนิด ได้แก่ กระดาษฟาง กระดาษแก้วลอกลาย กระดาษสา กระดาษขาว และกระดาษหนังสือพิมพ์ จำนวนตัวอย่าง 10 ชิ้น ต่อกระดาษ 1 แผ่น และวางทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ อัดตัวอย่างในกระดาษแต่ละชนิด จำนวน 4 แผ่น วางตัวอย่างดังกล่าวในระหว่างไม้อัดตัวอย่างรัดให้แน่น

เปลี่ยนกระดาษที่ใช้อัดทุกวันเป็นเวลา 7 วัน

3. การบันทึกผล

วัดความชื้นของตัวอย่างก่อนการอัด นำตัวอย่างใบลีลาวดีที่แสดงอาการโรคราสนิมขนาด 1x1 นิ้ว ตัดตัวอย่างออกเป็นชิ้นเล็กนำไปวัดความชื้นโดยใช้เครื่องมือวัดความชื้น จำนวน 10 ตัวอย่าง

วัดขนาดของสปอร์ของราสนิมบนใบลีลาวดีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ก่อนการอัดตัวอย่างและหลังจากการอัดตัวอย่าง

4. การเก็บรักษาและเพิ่มจำนวนตัวอย่างโรคพืชในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

4.1 สำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืชในแหล่งปลูกต่าง ๆ

4.2 การอัดและเก็บรักษาตัวอย่าง

ตัดตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรคออกเป็นชิ้น วางบนกระดาษหนังสือพิมพ์หรือกระดาษฟาง พร้อมกับใบบันทึกข้อมูลของตัวอย่าง วางกระดาษหนังสือพิมพ์ทับลงบนตัวอย่าง วางตัวอย่างที่ทำเสร็จแล้วระหว่างไม้อัดตัวอย่างรัดให้แน่น เปลี่ยนกระดาษหนังสือพิมพ์หรือกระดาษฟางทุกวัน เป็นเวลา 5-7 วันขึ้นกับความหนาของตัวอย่าง เวลาในการอัดตัวอย่างจนกระทั่งตัวอย่างแห้งขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ความชื้นของสภาพแวดล้อม

นำตัวอย่างที่แห้งแล้วลงในซองกระดาษใส (กระดาษลอกลาย) สอดซองกระดาษใสที่บรรจุตัวอย่างลงในซองกระดาษแข็ง ติดใบบันทึกข้อมูลของตัวอย่างที่ด้านหน้าซองกระดาษแข็ง

นำตัวอย่างแห้งที่ได้ใส่ในตู้ –20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เพื่อฆ่าไข่แมลง และแมลงเสร็จแล้วนำไปเก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์

ให้หมายเลขตัวอย่างโรคพืชที่อัดแห้งแล้วเตรียมนำไปเก็บในตู้เก็บตัวอย่างโรคพืชในห้องที่มีความเย็นตลอดเวลา

จัดเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชที่มีสาเหตุจากเชื้อรา โดยจัดเรียงตาม Class ของเชื้อสาเหตุ เช่น Ascomycetes, Basidiomycetes และจัดเรียงตามอักษรของชื่อเชื้อสาเหตุ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2549
สิ้นสุด กันยายน 2550

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบลิ้นลาวดีที่แสดงอาการโรคราสนิม จากสวนเกษตรกร อ.สามพราน จ. นครปฐม โดยเก็บตัวอย่างใบที่แสดงอาการของโรค 50-75% ของพื้นที่ใบ และมีการกระจายตัวของโรคอย่างสม่ำเสมอบนใบ

2. การอัดทำตัวอย่างแห้งด้วยกระดาษชนิดต่าง ๆ

ผลการวัดความชื้นด้วยเครื่องมือวัดความชื้น พบว่าตัวอย่างใบลีลาวดีที่เป็นโรคราสนิมก่อนการอัดทำตัวอย่างแห้งมีความชื้นอยู่ที่ 24-33 % มีค่าเฉลี่ย 27.69 % หลังจากการอัดตัวอย่างเป็นเวลา 2 วัน ทำการวัดความชื้นของตัวอย่างที่อัดด้วยกระดาษชนิดต่าง ๆ ทั้ง 5 ชนิด พบว่า

ปริมาณความชื้นเป็นศูนย์ทั้ง 5 ชนิดกระดาษ แสดงว่ากระดาษทุกชนิดสามารถดูดซับความชื้นจากตัวอย่างใบลีลาวดีได้อย่างมีประสิทธิภาพเท่าเทียมกัน และทำให้ตัวอย่างแห้งได้ภายในเวลา 2 วัน ดังนั้นการเลือกใช้กระดาษในการอัดตัวอย่างเพื่อเป็นการประหยัดและหาใช้ได้ง่าย คือกระดาษหนังสือพิมพ์ ซึ่งสามารถใช้หนังสือพิมพ์เก่า หรือกระดาษฟางซึ่งมีราคาถูก และการใช้งานง่าย

วัดขนาดของสปอร์ของเชื้อราสนิมของลีลาวดีก่อนการอัดตัวอย่างจำนวน 100 สปอร์ มีขนาด ความกว้างของสปอร์อยู่ระหว่าง 15-25 μ ความยาวของสปอร์อยู่ระหว่าง 25-35 μ โดยมีค่าเฉลี่ย (กว้างxยาว) 20 x 30 μ หลังจากอัดตัวอย่างเป็นเวลา 4 อาทิตย์ วัดขนาดสปอร์ของเชื้อราสนิมในกระดาษแต่ละชนิดได้ผลดังนี้ กระดาษฟางความกว้างของสปอร์อยู่ระหว่าง 15-25 μ ความยาวของสปอร์อยู่ระหว่าง 22.5-37.5 μ โดยมีค่าเฉลี่ย (กว้างxยาว) 20 x 32.5 μ กระดาษแก้วลอกลายความกว้างของสปอร์อยู่ระหว่าง 12.5-30 μ ความยาวของสปอร์อยู่ระหว่าง 17.5-37.5 μ โดยมีค่าเฉลี่ย (กว้างxยาว) 20 x 32.5 μ กระดาษสาความกว้างของสปอร์อยู่ระหว่าง 15-22.5 μ ความยาวของสปอร์อยู่ระหว่าง 25-40 μ โดยมีค่าเฉลี่ย (กว้างxยาว) 20 x 32.5 μ กระดาษขาวความกว้างของสปอร์อยู่ระหว่าง 15-25 μ ความยาวของสปอร์อยู่ระหว่าง 22.5-40 μ โดยมีค่าเฉลี่ย (กว้างxยาว) 20 x 32.5 μ และกระดาษหนังสือพิมพ์ความกว้างของสปอร์อยู่ระหว่าง 15-27.5 μ ความยาวของสปอร์อยู่ระหว่าง 22.5-40 μ โดยมีค่าเฉลี่ย (กว้างxยาว) 20 x 32.5 μ จากผลการวัดขนาดสปอร์ของเชื้อสาเหตุราสนิมของลีลาวดีพบว่าค่าเฉลี่ยขนาดของสปอร์ราสนิมก่อนการอัดแห้งและหลังการอัดแห้งโดยใช้กระดาษ 5 ชนิด ขนาดของสปอร์ไม่แตกต่างกัน แสดงว่าชนิดของกระดาษที่ใช้ในการอัดตัวอย่างไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดสปอร์ของเชื้อราสนิมของลีลาวดี

3. การเก็บรักษาและเพิ่มจำนวนตัวอย่างโรคพืชในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

การเก็บตัวอย่างโรคพืชและทำเป็นตัวอย่างแห้งเพิ่มเติมเข้าพิพิธภัณฑ์ โดยสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืชเขตจังหวัดราชบุรี เพชรบุรี เชียงราย ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ กาญจนบุรี จันทบุรี และตราด ได้ตัวอย่างโรคพืช 113 ตัวอย่าง ได้ตัวอย่างโรคราน้ำค้างของคะน้า โรคราแป้ง ได้แก่ โรคราแป้งของถั่วเขียว กวางตุ้ง แค กุหลาบ เทียนดอก หญ้างวงช้าง ดาวกระจาย ยางพารา มะหวด บานชื่น เทียนบ้าน แสยก แคบ้าน และเงาะ โรคราสนิมของท้อ ขาไก่ดำ และข้าวฟ่าง โรคราเขม่าดำของหญ้า โรคแคงเคอร์ของมะนาว โรคราดำ ได้แก่ กาแฟอาราบิก้า ไทรด่าง เล็บครุฑด่าง ส้มสควด มังคุด มะกรูด เงาะ ส้มเขียวหวาน ลองกอง สละอินโดนีเซีย ฮอลลี่ฮ็อค มะลิซ้อน มะไฟ ลำไย มะม่วง กล้วย ข่อย กระถิน ตำลึง หญ้างวงช้าง หญ้าปากควาย หญ้าตีนติด และวัชพืชตระกูลหญ้าซึ่งไม่ทราบชนิด ได้เก็บตัวอย่างพืชปกติเพื่อส่งให้ทางนักพฤกษศาสตร์

จำแนกชนิด โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย 6 ตัวอย่าง ได้แก่ มะม่วงเขียวเสวย พริก คริสมาส โรค Tar spot ได้แก่ ประดู่ และพืช 2 ตัวอย่างไม่ทราบชื่อ ใบจุดสาหร่าย 7 ตัวอย่าง ได้แก่ สละ หม้อ เงาะ มังคุด ลูกู ขนุน เล็บครุฑ และทุเรียน นอกจากนั้นเป็นอาการโรคใบจุด โรคใบจุดของเพกา มะพร้าว สละ ชะพลู กล้วย (2 ตัวอย่าง) บานชื่น สะบู่ดำ มะกอกน้ำ บานไม่รู้โรย เทียน ฯลฯ ตัวอย่างโรคพืชจากที่นักวิชาการนำมาให้จำนวน 10 ตัวอย่าง คือ โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของผักกาดหัว พริก คริสมาส ผักบุ้ง มะกรูด โรคใบจุดของ พลู โรคราสนิมของลีลาวดี จากการศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุสามารถจำแนกชนิดสาเหตุได้ดังนี้ โรคใบจุดของพริกเกิดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. โรคใบจุดของเฟื่องฟ้าเกิดจากเชื้อรา *Phyllachora* sp. โรคราแป้งของมะขามและบานไม่รู้โรยเกิดจาก *Oidium* sp. โรคราสนิมของขาไก่ดำเกิดจากเชื้อ *Puccinia* sp. และโรคราสนิมของข้าวฟ่างเกิดจากเชื้อรา *Phyllachora sorghi* ตัวอย่างที่ได้จัดทำเป็นตัวอย่างแห้งตามกรรมวิธีและเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช การดูแลตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ที่มีอยู่โดยเปลี่ยนซองใส่ตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เก็บในพิพิธภัณฑ์จำนวน 800 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

อัดตัวอย่างโรคราสนิมของลีลาวดี จากแหล่งปลูกในจังหวัดนครปฐม อัดตัวอย่างโรคราสนิมโดยใช้กระดาษ 5 ชนิด ได้แก่ กระดาษฟาง กระดาษแก้วลอกลาย กระดาษสา กระดาษขาว และกระดาษหนังสือพิมพ์ ผลการทดสอบพบว่าความชื้นในตัวอย่างลดลงเป็นศูนย์ในทุกกระดาษที่ใช้อัดตัวอย่างเป็นเวลา 2 วัน ขนาดของสปอร์ของเชื้อสาเหตุราสนิมของลีลาวดีที่ใช้ทดสอบหลังการอัดแห้ง 4 อาทิตย์ไม่เปลี่ยนแปลงจากขนาดก่อนการอัดแห้ง การเก็บตัวอย่างโรคพืชและทำเป็นตัวอย่างแห้งเพิ่มเติมเข้าพิพิธภัณฑ์ โดยสำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืชเขตจังหวัดราชบุรี เพชรบุรี เชียงราย ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ กาญจนบุรี จันทบุรี และตราด ได้ตัวอย่างโรคพืช 113 ตัวอย่าง ได้จัดทำเป็นตัวอย่างแห้งตามกรรมวิธีและเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช การดูแลตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ที่มีอยู่โดยเปลี่ยนซองใส่ตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เก็บในพิพิธภัณฑ์จำนวน 800 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2545. คู่มือโรคพืชไร่. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 106 หน้า.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตกึ่งร้อน. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร “ หมอพืช-ไม้ผล” โครงการเพื่อบรรเทาผลกระทบทางสังคมเนื่องจากวิกฤตการณ์ทางเศรษฐกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 144 หน้า.

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

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2538. วัชพืชในประเทศไทย. สำนักพิมพ์แพร่พิทยา กทม. 200 หน้า

สะอาด บุญเกิด จเร สดากร และทิพย์พรรณ สดากร. 2523. ชื่อพรรณไม้ในเมืองไทย. บริษัทอนิเมท พริ้นท์ แอนด์ ดีไซน์ จำกัด กรุงเทพฯ. 672 หน้า.

Beasley, D. and R. Shivas . 2003. Plant Pathogenic Fungi. Department of Primary Industries Queensland Government. Australia.

Thai-Australia Government Sector Linkages Program (TAGSLP): 2003. Workshop on Developing a National Plant Disease Herbarium in Thailand . Pattaya and Bangkok, 4-8 August 2003

การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์

ศิริณี พูนไชยศรี เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธ์ ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บรวบรวมแมลงจากภูมิภาคต่างๆ ในประเทศไทย ระหว่างตุลาคม 2549 - กันยายน 2550 พบแมลงหลากหลายชนิด แต่สำหรับด้วงซึ่งเป็นแมลงที่มีจำนวนและชนิดมากที่สุดในกลุ่มแมลงด้วยกันนั้น มีวิธีการสำรวจ 2 วิธีการคือ สำรวจจากพื้นที่ต่างๆ ในสภาพธรรมชาติเพื่อเก็บแมลงที่ออกหากินในช่วงเวลากลางวัน โดยใช้สวิงจับแมลง (insect net) โฉบบริเวณใบไม้ ยอดไม้ต่างๆ ที่คาดว่ามีด้วงอาศัยอยู่ และวิธีการใช้กับดักแสงไฟ (light trap) เพื่อดึงดูดแมลงที่ออกหากินในเวลากลางคืน

จากกรรมวิธีในการสำรวจทั้ง 2 วิธีนั้น มีวิธีการในการเก็บรักษาด้วงระยะต่างๆ ดังนี้ ตัวหนอนเก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 80% ตัวเต็มวัยขนาดใหญ่ นำตัวเต็มวัยฆ่าในขวดฆ่า (killing jar) หลังจากด้วงตายแล้ว ให้จัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง (setting board) โดยใช้เข็มไร้สนิม (stainless steel) ปักที่มุมด้านหน้าของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) จัดขาทั้ง 3 คู่ให้อยู่ในลักษณะ เกาะหรือเดิน นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง (oven) ตัวเต็มวัยขนาดเล็กให้ติดบนกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก (card point) จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง หรือวางตะแคงข้าง แต่จัดให้ส่วนอกติดอยู่บนปลายแหลมของกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยม ซึ่งจะทำให้ส่วนท้องโค้งลงด้านล่าง นำไปอบให้แห้งใน ตู้อบตัวอย่างแมลง การทดลองนี้รวบรวมตัวอย่างด้วงได้ 556 ตัวอย่าง นำไปจำแนกตามวิธีทางอนุกรมวิธานแมลงได้ 15 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Buprestidae 44 ตัวอย่าง วงศ์ Elateridae 94 ตัวอย่าง วงศ์ Scarabaeidae 179 ตัวอย่าง วงศ์ Cerambycidae 46 ตัวอย่าง วงศ์ Curculionidae 12 ตัวอย่าง วงศ์ Carabidae 40 ตัวอย่าง วงศ์ Cicindelidae 5 ตัวอย่าง วงศ์ Lucanidae 17 ตัวอย่าง วงศ์ Chrysomelidae 49 ตัวอย่าง วงศ์ Dytiscidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Lympyridae 34 ตัวอย่าง วงศ์ Hydrophilidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Tenebrionidae 1 ตัวอย่าง วงศ์ Coccinellidae 18 ตัวอย่าง วงศ์ Meloidae 13 ตัวอย่าง

คำหลัก : อนุรักษ์ พิพิธภัณฑ์ การเก็บรักษา ฐานข้อมูลแมลง แมลงหายากและใกล้สูญพันธุ์

รหัสโครงการ 09-02-49-02

คำนำ

เทคโนโลยีการเก็บรักษาแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ เป็นกิจกรรมการรวบรวมและเก็บรักษาแมลงในรูปแบบของพิพิธภัณฑ์ ซึ่งนับว่าเป็นงานที่สำคัญและมีประโยชน์อย่างยิ่งเพราะโดยความหมายของพิพิธภัณฑ์แล้วจะหมายถึงแหล่งที่รวบรวมข้อมูลทั้งตัวอย่างและเรื่องราวต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับพิพิธภัณฑ์นั้นๆ ดังนั้นในกิจกรรมนี้จะเป็นกิจกรรมที่นำไปสู่ความเป็นรูปธรรมของแหล่งรวบรวมข้อมูลตัวอย่างแมลงที่เรียกว่าพิพิธภัณฑ์

พิพิธภัณฑ์แมลง มีความสำคัญอย่างมากสำหรับงานศึกษาวิจัยทั้งภายในและภายนอกหน่วยงานรวมทั้งในระดับประเทศด้วย พิพิธภัณฑ์จะเป็นแหล่งรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ โดยเฉพาะข้อมูลจากภาคสนาม ที่ได้จากการรวบรวมตัวอย่างในแต่ละครั้ง ซึ่งต้องบันทึก รายละเอียด พืช ส่วนของพืช/สัตว์ ถูกทำลาย สถานที่เก็บ วัน เดือน ปีและชื่อผู้เก็บ กำกับไว้กับตัวอย่างที่รวบรวมได้ ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับผู้ที่สนใจศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ แต่ไม่สามารถออกเก็บรวบรวมตัวอย่างได้ครอบคลุมทุกพื้นที่ ก็สามารถนำข้อมูลจากพิพิธภัณฑ์มาประกอบการศึกษาวิจัย โดยเฉพาะการศึกษาวิจัยในระดับชนิด (species) และกระบวนการเกิดชนิดใหม่ (speciation) จำเป็นต้องรวบรวมรูปร่างลักษณะหรือสัณฐานวิทยา (morphology) เขตการแพร่กระจาย (distribution area) รวมทั้งลักษณะความแปรปรวน (variation) ของตัวอย่างที่เป็นชนิดเดียวกัน และมีการเก็บรักษาอย่างดีให้ได้จำนวนมากที่สุด ทั้งนี้เพื่อจะได้นำข้อมูลเหล่านั้นมาเปรียบเทียบประกอบการศึกษาวิจัยโดยละเอียดจึงจะทำให้งานวิจัยด้านนี้ประสบความสำเร็จ

พิพิธภัณฑ์มีความสำคัญสำหรับผู้เชี่ยวชาญหรือนักอนุกรมวิธาน (taxonomist) ในแต่ละสาขาได้ใช้เป็นแหล่งศึกษาแลกเปลี่ยนความรู้และแลกเปลี่ยนตัวอย่างซึ่งกันและกัน เพราะผู้เชี่ยวชาญหรือนักอนุกรมวิธานเป็นผู้ที่ต้องการเก็บรวบรวมและเพิ่มจำนวนตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ให้มากยิ่งขึ้น ซึ่งนอกจากจะได้จากการเก็บรวบรวมด้วยตัวเองแล้ว ยังได้มาจากการแลกเปลี่ยนกับบุคลากรหรือหน่วยงานอื่นทั้งภายในและต่างประเทศ อีกทั้งพิพิธภัณฑ์ยังเป็นแหล่งบริการตรวจวิเคราะห์แมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ เพราะพิพิธภัณฑ์ส่วนมากมีนักอนุกรมวิธานเป็นผู้รับผิดชอบ ซึ่งนักอนุกรมวิธานเหล่านั้น นอกจากมีหน้าที่รวบรวม เก็บรักษาตัวอย่างและบำรุงรักษาพิพิธภัณฑ์แล้วยังให้บริการตรวจวิเคราะห์ชนิดของตัวอย่างแมลงเหล่านั้นด้วย

พิพิธภัณฑ์นอกจากจะให้ความรู้ด้านวิชาการแล้ว ปัจจุบันมีการจัดพิพิธภัณฑ์ในรูปแบบของพิพิธภัณฑ์-นิทรรศการ ทำให้เกิดเป็นพิพิธภัณฑ์รูปแบบใหม่ที่สามารถเข้าไปเยี่ยมชมเพื่อการพักผ่อนหย่อนใจ ได้สาระความรู้และความเพลิดเพลิน เพิ่มพูนพลังทางปัญหาและจิตใจได้เป็นอย่างดี

พิพิธภัณฑ์ประเภทนี้สามารถจัดแสดงรูปแบบให้สวยงาม เน้นจุดเด่นและความสำคัญของตัวอย่างที่นำมาจัดแสดงในพิพิธภัณฑ์ เพื่อชี้นำให้ผู้เข้าเยี่ยมชมได้เห็นคุณค่าของการเก็บรวบรวมตัวอย่างเหล่านั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการจัดแสดงให้เห็นว่าสรรพสิ่งทั้งหลายในโลกนี้ล้วนต้องพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน อันจะช่วยจูงใจให้ผู้เข้าเยี่ยมชมเกิดความประทับใจ และเกิดแรงบันดาลใจในการที่จะช่วยกันอนุรักษ์สิ่งเหล่านี้ให้อยู่ในธรรมชาติอย่างยั่งยืนต่อไป

กรมวิชาการเกษตรได้มีการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลง มาเป็นเวลานานกว่า 60 ปี ซึ่งเป็นการรวบรวมไว้ในลักษณะห้องเก็บแมลง ไม่ได้มีตึกพิพิธภัณฑ์เฉพาะแต่ผู้คนส่วนใหญ่ก็เรียกกันว่าพิพิธภัณฑ์แมลง พิพิธภัณฑ์แมลงแห่งนี้เป็นแหล่งที่รวบรวมและเก็บรักษาชนิดของแมลงไว้มากที่สุดในประเทศไทย มีแมลงที่วิเคราะห์ชนิดแล้วกว่า 8,000 ชนิด มีตัวอย่างแมลงทั้งหมดมากกว่า 500,000 ตัวอย่าง ปัจจุบันพิพิธภัณฑ์แมลงแบ่งเป็น 2 รูปแบบ คือ พิพิธภัณฑ์แมลง-วิชาการ และพิพิธภัณฑ์แมลง-นิทรรศการ ด้วยจำนวนตัวอย่างแมลงที่มีอยู่มากมหาศาล ตัวอย่างหลายชนิดไม่สามารถเก็บมาใหม่ได้อีก ทำให้นักอนุกรมวิธานและผู้ปฏิบัติงานประจำที่พิพิธภัณฑ์แมลงมีภาระรับผิดชอบอันยิ่งใหญ่ ที่จะต้องดูแลรักษาตัวอย่างแมลง ซึ่งผู้ปฏิบัติงานทุกคนตระหนักดีถึงคุณค่าของตัวอย่างเหล่านั้น ว่าเป็นทรัพยากรอันล้ำค่าของประเทศ จึงต้องมีการดูแลรักษาให้ดีที่สุด ไม่ให้เกิดการชำรุด สูญหาย ต้องจัดระเบียบปฏิบัติในการใช้ห้องพิพิธภัณฑ์เช่นเดียวกับระบบรักษาความปลอดภัยของอาคารทั่วๆ ไป รวมทั้งต้องจัดทำระบบวิธีการสืบค้นข้อมูลให้ทันสมัย ตรวจสอบได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว โดยจะต้องนำข้อมูลของตัวอย่างแมลง ตลอดจนข้อมูลวิธีการดูแลรักษามาจัดทำเป็นระบบฐานข้อมูลของตัวอย่างแมลงทั้งหมดที่มีอยู่ในพิพิธภัณฑ์แมลง

อย่างไรก็ตามการรวบรวมและเก็บรักษาตัวอย่างแมลง มีจุดมุ่งหมายที่จะเก็บรวบรวมตัวอย่างให้มากสุด เพื่อจุดประสงค์ดังที่กล่าวข้างต้นแล้ว และยังต้องการหาวิธีที่ถูกต้องเหมาะสม เพื่อทำให้ตัวอย่างเหล่านั้นคงสภาพสมบูรณ์ ไม่ชำรุดเสียหาย ปัจจัยสำคัญที่จะทำให้งานนี้ประสบความสำเร็จ นอกจากจะได้รับการสนับสนุนอย่างจริงจังจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องแล้ว บุคลากรที่ปฏิบัติงานงานด้านนี้ต้องมีใจรัก มุ่งมั่นที่จะพัฒนา รักและหวงแหนตัวอย่างทุกตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ มีความตื่นตัว ทันสมัย พร้อมที่จะปรับเปลี่ยนและยอมรับเทคโนโลยีด้านการดูแลรักษาตัวอย่าง เพื่อนำมาปรับปรุงให้เหมาะสมกับ วัน เวลา และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ทั้งนี้เพื่อจุดมุ่งหมายที่มั่งคงในการที่จะอนุรักษ์ตัวอย่างเหล่านั้นให้สมบูรณ์อย่างยั่งยืนสืบต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ สวิง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดดองแมลง ถุงพลาสติก และสารเคมี เช่น Ethyl acetate, AGA และ alcohol 70-80%

2. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดรูปร่างแมลงเพื่อจำแนกชนิด ได้แก่ ตู้อบแมลง ขวดฆ่าแมลง เข็มปักแมลง เข็มหมุดขนาดกลาง กระดาษแข็ง และอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดเก็บและรักษาแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ การบูร กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบใส่ตัวอย่างแมลง กล่องใส่สไลด์ถาวร กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

3. อุปกรณ์ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสไลด์ ฟิล์มสี แผ่นบันทึกข้อมูล

4. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

วิธีการ

1 รวบรวมตัวอย่างแมลง ทุกชนิดจากสภาพธรรมชาติรวมทั้งตัวอย่างที่ได้รับจากนักวิชาการและผู้มาขอรับบริการทั้งภายในและภายนอกประเทศ ซึ่งได้รับการจำแนกเบื้องต้นแล้ว ซึ่งในสภาพธรรมชาติสามารถรวบรวมได้โดยวิธีการต่อไปนี้

- ใช้สวิงโฉบ (ผีเสื้อ ด้วงปีกแข็ง ฯลฯ) ใช้มือจับ (หนอนผีเสื้อ หนอนด้วง ฯลฯ) หรือใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่สัตว์เหล่านี้เข้าทำลาย รวมทั้งบนผลผลิตการเกษตรในที่ต่างๆ
- ใช้มือจับ
- ใช้วิธีการเคาะจากต้นพืช (เพลี้ยไฟ) ตัดใบและกิ่งพืชที่มีแมลง (เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง แมลงหวี่ เพลี้ยอ่อน) ติดอยู่ นำดองในแอลกอฮอล์ หรือน้ำยาที่ใช้ดองเฉพาะชนิด เช่น AGA ใช้ดองเพลี้ยไฟ รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่มีชีวิตด้วย
- การบันทึกข้อมูล บันทึกรายละเอียดของแมลง บันทึกข้อมูลสำคัญ อาทิ พืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย เข้าทำลาย วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ
- นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ
- ตัวอย่างหนอนหรือตัวอ่อนแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโต ตัวเต็มวัย นำไปจัดรูปร่าง และอบให้แห้ง
- แมลงขนาดเล็กนำไปทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแต่ละชนิด ส่วนสัตว์ที่ยังมีชีวิตนำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและพฤติกรรมต่าง ๆ

- ถ่ายภาพแมลงที่ได้ศึกษา
- บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง
- นำเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์

2 จัดกลุ่มตัวอย่างแมลง โดยแยกเป็นประเภทดังนี้

- แมลงต้นแบบ (Type specimen)
- แมลงศัตรูพืช (Insect pests)
- แมลงศัตรูธรรมชาติ (Natural enemy)
- แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ (Rare and endanger)

3 จัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์

ตัวอย่างแมลงต้นแบบ จัดใส่กล่อง เก็บเรียงใส่ในลิ้นชักและเรียงตามลำดับตัวอักษรภาษาอังกฤษ

ตัวอย่างแมลงที่มีการจัดจำแนกแล้ว มีวิธีจัดเก็บดังนี้

- ตัวอย่างที่จัดทำเป็นสไลด์ถาวร ให้เรียงตามชนิดอักษรของตัวอย่างแมลงหรือเรียงตามชนิดพืชขึ้นกับผู้ดูแล จัดเก็บในกล่องเก็บสไลด์โดยวางแผ่นสไลด์ขนานกับพื้น
- ตัวอย่างแมลงที่จัดรูปร่างโดยวิธีอื่น ให้จัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว จัดเรียงตามอักษรของลำดับ วงศ์ สกุลและชนิด นำจัดเข้าลิ้นชักในตู้เก็บแมลง
- ตัวอย่างแมลงที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ชนิดได้ ให้นำเก็บในหีบไม้แยกอันดับ ตามอักษร

4 การดูแลรักษาตัวอย่างแมลง

- ใส่สารป้องกันแมลง (การบูรหรือลูกเหม็น) เพื่อป้องกันแมลงขนาดเล็กที่สามารถเข้าทำลายตัวอย่างแมลงได้ทั้งในหีบไม้และในแต่ละลิ้นชักของแต่ละตู้เก็บ และเติมสารป้องกันแมลงเข้าทำลายตัวอย่างทุก 1 – 2 เดือน
- รมสารป้องกันกำจัดแมลง เช่น เมทิลโบร์ไมด์ (Methy bromide) ทุก 6 เดือน
- ทำความสะอาดตัวอย่างแมลงหมุนเวียนต่อเนื่อง
- จัดทำกุญแจเพื่อล็อคตู้และพิพิธภัณฑ์
- ติดประกาศระเบียบและวิธีปฏิบัติการใช้ห้องพิพิธภัณฑ์ และการขอรับบริการจากพิพิธภัณฑ์

5 จัดทำฐานข้อมูลแมลง แมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่มีทั้งหมดในพิพิธภัณฑ์ด้วยระบบคอมพิวเตอร์

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2550

สิ้นสุด เดือนกันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล

1. แหล่งปลูกพืชไร่ พืชสวน ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ นาข้าว พื้นที่ป่า และแปลงปลูกพืชอื่นตลอดจนแหล่งเก็บผลผลิตทางการเกษตรทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

รวบรวมตัวอย่างด้วงได้ 556 ตัวอย่าง นำไปจำแนกตามวิธีทางอนุกรมวิธานแมลงได้ 15 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Buprestidae 44 ตัวอย่าง วงศ์ Elateridae 94 ตัวอย่าง วงศ์ Scarabaeidae 179 ตัวอย่าง วงศ์ Cerambycidae 46 ตัวอย่าง วงศ์ Curculionidae 12 ตัวอย่าง วงศ์ Carabidae 40 ตัวอย่าง วงศ์ Cicindelidae 5 ตัวอย่าง วงศ์ Lucanidae 17 ตัวอย่าง วงศ์ Chrysomelidae 49 ตัวอย่าง วงศ์ Dytiscidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Lympyridae 34 ตัวอย่าง วงศ์ Hydrophilidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Tenebrionidae 1 ตัวอย่าง วงศ์ Coccinellidae 18 ตัวอย่าง วงศ์ Meloidae 13 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลอง

สำรวจและเก็บรวบรวมแมลงจากภูมิภาคต่างๆ ในประเทศไทย พบแมลงหลากหลายชนิด แต่สำหรับด้วงซึ่งเป็นแมลงที่มีจำนวนและชนิดมากที่สุดในกลุ่มแมลงด้วยกันนั้น มีวิธีการสำรวจ 2 วิธีการ คือ การใช้สวิงจับแมลง (insect net) และวิธีการใช้กับดักแสงไฟ (light trap)

จากกรรมวิธีในการสำรวจทั้ง 2 วิธี นั้นมีวิธีการในการเก็บรักษาด้วงชนิดต่างๆ ดังนี้ ตัวหนอนเก็บรักษาในแอลกอฮอล์80% ตัวเต็มวัยขนาดใหญ่ นำตัวเต็มวัยฆ่าในขวดฆ่า (killing jar) หลังจากด้วงตายแล้ว ให้จัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง(setting board) โดยใช้เข็มไร้สนิม (stainless steel) ปักที่มุมด้านหน้าของปีกขวา (บริเวณมุมที่ปีกจรดกัน) จัดขาทั้ง 3 คู่ให้อยู่ในลักษณะเกาะหรือเดิน นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลง(oven) ตัวเต็มวัยขนาดเล็กให้ติดบนกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก (card point) จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง หรือวางตะแคงข้าง แต่จัดให้ส่วนอกติดอยู่บนปลายแหลมของกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยม ซึ่งจะทำให้ส่วนท้องโค้งลงด้านล่าง นำไปอบให้แห้งใน ตู้อบตัวอย่างแมลง

การจำแนกด้วงในระดับวงศ์ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2550 จำนวน 556 ตัวอย่าง 15 วงศ์ ได้แก่ Buprestidae 44 ตัวอย่าง วงศ์ Elateridae 94 ตัวอย่าง วงศ์ Scarabaeidae 179 ตัวอย่าง วงศ์ Cerambycidae 46 ตัวอย่าง วงศ์ Curculionidae 12 ตัวอย่าง วงศ์ Carabidae 40 ตัวอย่าง วงศ์ Cicindelidae 5 ตัวอย่าง วงศ์ Lucanidae 17 ตัวอย่าง วงศ์ Chrysomelidae 49 ตัวอย่าง วงศ์ Dytiscidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Lympyridae 34 ตัวอย่าง วงศ์ Hydrophilidae 2 ตัวอย่าง วงศ์ Tenebrionidae 1 ตัวอย่าง วงศ์ Coccinellidae 18 ตัวอย่าง วงศ์ Meloidae 13 ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545 ก. พิพิธภัณฑ์นิทรรศการแมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2545 ข. พิพิธภัณฑ์แมลง. แผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2547. การเก็บตัวอย่างแมลงเพื่อการศึกษาวิจัย. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ. 32 หน้า

องุ่น ลิ่ววานิช. 2540. การอนุรักษ์แมลงในประเทศไทย. ว.กีฏและสัตววิทยา. 19(2): 89 – 94.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2543. แมลงอนุรักษ์. เอกสารแผ่นพับ. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. พิมพ์ครั้งที่ 2.

การเก็บรักษาตัวอย่างไรในพิพิธภัณฑ์

Curation and Preservation of Mites in Museum

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน
เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การเก็บรักษาตัวอย่างไรไว้ในพิพิธภัณฑ์วิธีที่เหมาะสมคือการทำสไลด์ถาวรด้วย น้ำยา Hoyer's solution โดยจากการทดลองทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าในการทำสไลด์ถาวรในไรศัตรูพืชในวงศ์ Tetranychidae ในเพศผู้มี 2 วิธี ในวิธีแรกโดยการเมาท์สไลด์เพศผู้ด้วยวิธีตะแคงข้าง และการเมาท์สไลด์ถาวรด้วยวิธีของ Dr. Tetsuo Gotoh ด้วยการคว่ำไรตัวผู้แล้วกดด้วยปลายดินสอ สำหรับในเพศเมียนั้นใช้วิธีเมาท์สไลด์ด้วยการคว่ำหรือหงาย

จากการสำรวจและเก็บรวบไรศัตรูพืช ไรศัตรูธรรมชาติ ไรในผลิตผลการเกษตรเพื่อเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2549-ก.ย. 2550 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างไรบนพืชชนิดต่าง ๆ 51 ชนิด บนพื้นที่ 19 จังหวัด พบไรศัตรูรวมทั้งสิ้น 7 family ได้แก่ วงศ์ Acaridae จำนวน 1 ชนิด วงศ์ Eriophyidae 2 ชนิด Macrochelidae 1 ชนิด วงศ์ Phytoseiidae 4 ชนิด วงศ์ Tetranychidae จำนวน 9 ชนิด วงศ์Tenuipalpidae มี 1 ชนิด และ วงศ์ Stigmaeidae 1 ชนิด รวมทั้งสิ้น 18 ชนิด

รหัสโครงการ 09-02-49-02

คำนำ

การเก็บตัวอย่างไรให้เหมาะสมกับชนิดของไรแต่ละชนิด เป็นขั้นตอนแรกที่มีความสำคัญ เพราะถ้าหากการเก็บตัวอย่างไรไม่เหมาะสมกับชนิดของไรแล้ว อาจทำให้ตัวอย่างไรเสียหายทำให้การจำแนกชนิดเป็นไปด้วยความยากลำบาก Gupta (1985) ได้รายงานวิธีการเก็บไรในวงศ์ Eriophyidae โดยเก็บ ด้วย ethyl alcohol 70-80 % หยด glycerol ลงไปเล็กน้อยเพื่อไม่ให้ตัวอย่างแห้ง หรือจะใช้น้ำยาของ Oudeman (Oudeman's fluid) โดยมีส่วนผสมดังนี้ Alcohol 87 ส่วน Glyceral 5 ส่วน Glacial acetic acid 8 ส่วน นอกจากนี้ยังรายงานการทำสไลด์ไรไว้ 2 วิธีคือ การทำสไลด์ชั่วคราวด้วยน้ำยา lactic acid (50-100%) และการทำสไลด์ถาวรด้วยน้ำยา Modified's Hoyer medium Beer (1954) ได้อธิบายถึงวิธีการเก็บตัวอย่าง Tarsonemid mite หรือกลุ่มของไรขาว ไว้อย่างง่าย ๆ โดยการเก็บตัวอย่างที่มีไรขาวแล้วนำกลับมาแยกไรด้วยการใช้เข็มเขี่ยหรือพู่กันเขี่ยไรลงบนแอลกอฮอล์ 95 % ด้วยกล้องสเตอริโอภายใต้ห้องปฏิบัติการเนื่องจากไรมีขนาดเล็กไม่สามารถทำได้ด้วยตาเปล่าหรือจะใช้กรวยแยกไรในการแยกไรขาวก็ได้ สำหรับวิธีการเมาท์สไลด์ Beer (1954) ได้อธิบายวิธีการทำโดยหยดน้ำยา Berlese medium ลงบนสไลด์นำไรมาวางบนน้ำยาจากนั้นปิดด้วย cover slip แล้วลนด้วยไฟอ่อน ๆ Pritchard and Baker (1955) ได้รายงานว่าน้ำยาที่ใช้เมาท์ไรแดงศัตรูพืชประกอบด้วย Canada balsam, Euparol, Hyrax, Polyvinyl alcohol, Methyl cellulose และ Glycerine แต่โดยมากจะนิยมใช้น้ำยา Hoyer's modification ของ Berlese's mounting medium ซึ่งมีส่วนผสมดังนี้คือ น้ำกลั่น 50 กรัม, ผลึกกัม อราบิก 30 กรัม, คลอรอลไฮเดรต 200 กรัม และ กลีเซอรีน 20 กรัม สำหรับในประเทศไทยได้มีรายงานการเก็บตัวอย่างไรและการเมาท์สไลด์ไว้ดังนี้การเก็บตัวอย่างไรมีหลายวิธีเช่น การเก็บส่วนของใบ กิ่ง ผล หรือส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แสดงอาการผิดปกติโดยตรง การใช้พู่กันเขี่ยไรลงในขวดดองที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70 % การใช้กรวยแยก การใช้สวิงโฉบ การใช้ไม้ตีหรือเคาะตามกิ่งก้านหรือส่วนต่าง ๆ ของพืช การใช้เครื่องดูดแบบ Singer และการใช้เครื่องปัดไร ส่วนการทำสไลด์ทำได้โดยใช้น้ำยา Hoyer's solution ที่มีส่วนผสมดังนี้ น้ำกลั่น 30 มล., Gum Arabic 30 กรัม, Chloral hydrate 200 กรัม และ Glycerin 20 มล. โดยวิธีการหยดน้ำยาลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยไรลงบนน้ำยา กดไรให้จมจากนั้นจัดท่าทางไรตัวผู้ให้ตะแคงข้างปิดสไลด์ด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ นำสไลด์ขึ้นอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์จากนั้นเข้าตู้อบอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน แล้วทำความสะอาดปิดป้ายบันทึกรายละเอียด (วัฒนาและคณะ, 2543) สำหรับอังศุมาลย์ (2550) ยังได้รายงานวิธีการเก็บตัวอย่างไรไว้หลายวิธีดังนี้ การตรวจหาไรโดยตรง การใช้เครื่องปัดไร การใช้ไม้เคาะบนพืช การเก็บชิ้นส่วนพืชที่แสดงอาการผิดปกติ การเก็บไรบนพื้นดินโดยใช้กรวยแยกไร การเก็บไรในโรงเก็บด้วยใช้วิธี การลอย " Floatation" ส่วนการทำสไลด์ถาวรได้อธิบายวิธีการทำคล้ายกันกับวัฒนาและคณะ 2543

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บรักษาตัวอย่างไรแมงมุม ได้แก่ แว่นขยาย กล่องพลาสติกปิดฝาถุงกระดาษสีน้ำตาล พู่กัน สำลี alcohol 70% ขวดดอง กรรไกรตัดกิ่ง โคมไฟ กล่องพลาสติกรักษาความเย็น

2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound microscope ติดอุปกรณ์ช่วยในการวาดภาพ (camera lucida) key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรศัตรูพืช น้ำยาเมาท์สไลด์ Hoyer's solution ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตู้อบสไลด์ น้ำยาทาเล็บ และแป้นหมุนสำหรับใช้ผนึกขอบสไลด์

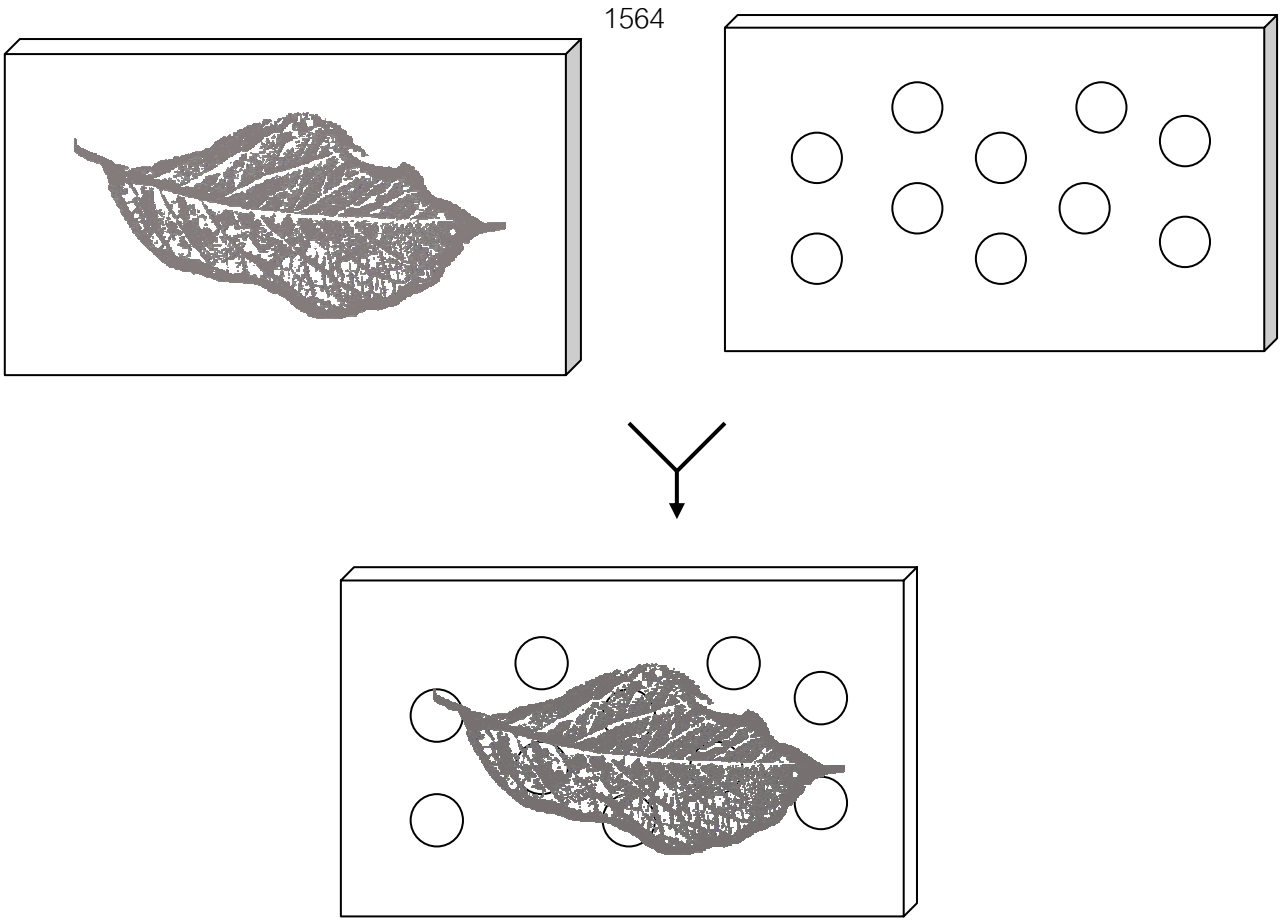
วิธีการ

การเก็บตัวอย่างไร

1. ออกสำรวจเพื่อเก็บตัวอย่างไรจากส่วนต่าง ๆ ของพืชได้แก่ ใบ กิ่ง ผล ที่แสดงอาการผิดปกติ ลงในกล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษพับปากถุง บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างไร เช่น ชื่อพืช ผู้เก็บ สถานที่ที่เก็บตัวอย่างไร จากนั้นนำตัวอย่างแช่ลงในกระติกน้ำแข็งก่อนนำกลับมายังห้องปฏิบัติการ

2. โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างไรออกจากส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แสดงอาการผิดปกติ ลงในขวดดองที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70% (ควรเติม glycerine ลงไปในขวดดอง 2-3 หยด เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างแข็ง) ซึ่งไรในสกุล *Tetranychus* จะใช้ ไรทั้งตัวผู้และตัวเมียในการจำแนก บันทึกข้อมูล ชื่อผู้เก็บ สถานที่เก็บ และวันที่ที่เก็บตัวอย่างไร วิธีนี้เหมาะสำหรับการเก็บตัวอย่างไร ในท้องที่ที่ห่างไกล

3. การเก็บไรโดยใช้แผ่นพลาสติก 2 แผ่นประกบกัน เป็นวิธีที่ของ Dr. Tetsuo Gotoh ประเทศญี่ปุ่นนำมาเผยแพร่ ทำได้โดยนำแผ่นพลาสติกที่ใช้แผ่นแรกไม่เจาะรู แผ่นที่ 2 เจาะรูให้มีขนาดที่สามารถปิดกระจกปิดไสลด์ได้ จำนวนรูที่เจาะประมาณ 10 รู วางกระดาษที่ชื้นพอหมาด ๆ ให้ติดกับพลาสติกที่ไม่เจาะรู ซึ่งกระดาษนี้จะช่วยให้ความชื้นกับใบพืช จากนั้นวางตัวอย่างใบพืชที่มีไรศัตรูพืชเข้าทำลายลงไปโดยวางด้านที่มีไรอาศัยอยู่ไว้ด้านบน จากนั้นนำพลาสติกที่เจาะรูวางทับลงไป นำกระจกปิดไสลด์ปิดที่รูพลาสติกทุกรูแล้วยึดกระจกปิดไสลด์ด้วยสก๊อตเทป จากนั้นใช้สก๊อตเทปยึดขอบพลาสติกทั้ง 2 แผ่นจนครบทั้ง 4 ด้าน เพื่อรักษาความชื้น และป้องกันไม่ให้ไรศัตรูพืชเดินลอดออกมาได้



การทำสไลด์ถาวรเพื่อเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์

การทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้ชัดเจน ในเพศเมียใช้คว่ำหรือหงาย ส่วนไรตัวผู้จัดทำสไลด์มี 2 วิธี คือให้จัดท่าทางในลักษณะตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ จากนั้นปิดสไลด์ด้วยกระจกปิดสไลด์ และวิธีของ Dr. Tetsuo Gotoh ประเทศญี่ปุ่นด้วยการคว่ำตัวผู้ลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ใช้ยางลบปลายดินสอนุ่ม ๆ กดไปที่กระจกปิดสไลด์เบา ๆ เพื่อให้อวัยวะเพศผู้ยืดออก นำสไลด์ขึ้นอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อนเพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ยืดออก และเพื่อไล่ฟองอากาศ เข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ coverglass ด้วยน้ำยาทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

การจำแนกชนิดไรเพื่อเก็บรักษาตัวอย่างไรไว้ในพิพิธภัณฑ์

นำตัวอย่างไรที่ทำสไลด์ถาวรแล้วมาศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง compound microscope จำแนก ชนิด จากตำราต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง ปิดป้ายบันทึกผลการจำแนกไว้ด้านซ้ายมือของแผ่นสไลด์ก่อนที่จะนำเข้าเก็บในพิพิธภัณฑ์ต่อไป

เวลาและสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน ตุลาคม 2549-ก.ย. 2550 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างไรบนพืชชนิดต่าง ๆ 51 ชนิด บนพื้นที่ 19 จังหวัดได้แก่ กรุงเทพ, กาญจนบุรี, ราชบุรี, เพชรบุรี, นครปฐม, นครสวรรค์, ลพบุรี, ระยอง, กระบี่, ชุมพร, นครราชสีมา,สระแก้ว, สระบุรี, เลย, อุบลราชธานี, ตาก, ลำปาง, เชียงใหม่, เชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเก็บตัวอย่างไร

การเก็บตัวอย่างไรนับเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ หากในการเก็บตัวอย่างไรไม่ถูกวิธีแล้วจะทำให้ตัวอย่างไรเสียหาย จนไม่สามารถทำสไลด์ถาวรได้ ทำให้การจำแนกชนิดเป็นไปด้วยความยากลำบาก หรือไม่สามารถที่จะจำแนกชนิดได้เลยซึ่งจากการทดลองการเก็บตัวอย่างไรมี 3 วิธี ได้ผลดังนี้

1. จากการทดลองเก็บส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แสดงอาการผิดปกติจากส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แสดงอาการผิดปกติได้แก่ ใบ กิ่ง ผล ลงในกล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษพับปากถุง บันทึกข้อมูล พบว่าวิธีนี้เหมาะสมกับการเก็บตัวอย่างไรศัตรูพืชที่ต้องนำกลับมาทำสไลด์ถาวรทันทีภายในระยะเวลา 1-2 วัน ในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ตัวอย่างไรยังคงสดสามารถทำสไลด์ถาวรได้ดี หากทิ้งไว้จนใบพืชเหี่ยวตัวอย่างไรจะเสียหายจนไม่สามารถทำสไลด์ถาวรได้

2. ผลจากการเก็บตัวอย่างไร ลงในขวดดองที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70% พบว่าวิธีนี้ เหมาะสมกับผู้ที่ไม่สะดวกที่จะทำสไลด์ถาวรได้ทันที หรือผู้ที่อยู่ท้องที่ห่างไกล ไม่สะดวกในการส่งตัวอย่างไรเพื่อให้นักอนุกรมวิธานจำแนกได้ทันที ซึ่งวิธีนี้ไม่ควรทิ้งตัวอย่างไว้นานเกิน 2 สัปดาห์ จะทำให้ตัวอย่างแข็งอาจทำให้ตัวอย่างเสียหายได้

3. การเก็บไรโดยใช้แผ่นพลาสติก 2 แผ่นประกบกัน วิธีนี้ไรศัตรูพืชจะตายไปบางส่วน จะเหลือไรที่มีชีวิตหรือไข่ไร อยู่บริเวณรูของพลาสติก เหมาะสมกับผู้ที่ไม่สะดวกที่จะทำสไลด์ถาวรได้ทันที และต้องการได้ตัวอย่างไรที่ยังมีชีวิตอยู่เพื่อนำไปทดลองต่อ โดยจะต้องนำไข่ไรหรือไรที่มีชีวิตรอดไปเลี้ยงขยายต่อภายในห้องปฏิบัติการ

การทำสไลด์ถาวรเพื่อเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์

น้ำยา Hoyer's solution มีสูตรน้ำยาดังนี้

น้ำกลั่น	30	มล.
Gum arabic	30	กรัม
Chloral hydrate	200	กรัม
Glycerine	20	มล.

จากการทดลองทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยน้ำยา Hoyer's solution พบว่าในการทำสไลด์ถาวร ในเพศผู้มี 2 วิธี ในวิธีแรกโดยการเมาท์สไลด์เพศผู้ด้วยวิธีตะแคงข้างเหมาะสมกับผู้ที่มีความชำนาญในการทำสไลด์ มีตัวอย่างสดในการทำสไลด์มากพอเพียง ในการเมาท์สไลด์จะใช้เพศผู้ 1 ตัวต่อ 1 สไลด์เท่านั้น ในขณะที่การเมาท์สไลด์ถาวรด้วยวิธีของของ Dr. Tetsuo Gotoh ด้วยการคว่ำไรตัวผู้แล้วกดด้วยปลายดินสอนั้น นั้นเป็นวิธีที่เหมาะกับไรเพศผู้ที่มีลำตัวแบนมากไม่สามารถทำสไลด์ด้วยวิธีตะแคงข้างได้ เช่นไรแดงแอฟริกัน และเหมาะกับการทำสไลด์ไรศัตรูพืชที่มีตัวอย่างน้อย สามารถใส่ไรเพศผู้มากกว่า 1 ตัวใน 1 สไลด์

การจำแนกชนิดไรเพื่อเก็บรักษาตัวอย่างไรไว้ในพิพิธภัณฑ์

จากการสำรวจและเก็บรวบไรศัตรูพืช ไรศัตรูธรรมชาติ ไรในผลิตผลการเกษตรเพื่อเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2549-ก.ย. 2550 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างไรบนพืชชนิดต่าง ๆ 51 ชนิด บนพื้นที่ 19 จังหวัด พบไรศัตรูรวมทั้งสิ้น 7 family ได้แก่ วงศ์ Acaridae จำนวน 1 ชนิดคือ *Caloglyphus rhizoglyphoides* (Zachvatkin) วงศ์ Eriophyidae 2 ชนิดคือ *Aceria tulipae* (Keifer) วงศ์ Macrochelidae 1 ชนิด วงศ์ Phytoseiidae 4 ชนิด คือ *Amblyseius longispinosus* (Evans) *Amblyseius nicholsi* Ehara and Lee, *Amblyseius cinctus* Corpuz and Rimando และ *Phytoseius hawaiiensis* Prasad วงศ์ Tetranychidae จำนวน 9 ชนิดคือ *Eutetranychus africanus* (Tucker), *Tetranychus kanzawai* Kishida, *Tetranychus gloveri* Banks , *Tetranychus neocaledonicus* Andre , *Tetranychus* sp. , *Tetranychus truncatus* Ehara , *Tetranychus piercei* McGregor, *Tetranychus urticae* Koch และ *Tetranychus macfarlanei* Baker and Pritchard วงศ์Tenuipalpidae มี 1 ชนิด คือ *Brevipalpus californicus* (Banks) และ วงศ์ Stigmaeidae 1 ชนิด รวมทั้งสิ้น 18 ชนิด

Table1. Mite pests found from different locations in Thailand. (Oct 2006-Sept 2007)

Scientific name of mite	Host plant	Location
Family Acaridae		
Caloglyphus rhizoglyphoides (Zachvatkin)	ผักโขม (*Amaranthus* sp.)	Bangkok
Family Eriophyidae	ใบชะพลู (Wildbetal leafbush)	Bangkok
Aceria tulipae (Keifer)	หัวหอม (Onion)	Chiang Rai
Family Macrochelidae	รากผัก (Vegetable root)	Bangkok
Family Phytoseiidae		
Amblyseius cinctus Corpuz and Rimando	แอปเปิ้ล (Apple)	Chiang Rai
	ส้มโอ (Pumelo)	Chiang Mai
	สะอึก (Morning glory)	Chiang Rai
	กุหลาบ (Rose)	Petchaburi
	มะละกอ (Papaya)	Sakaew, Petchaburi
Amblyseius longispinosus (Evans)	กุหลาบ (Rose)	Loei
	ทานตะวัน (Sunflower)	Lob Buri
	ผักโขม (*Amaranthus* sp.)	Bangkok
	กระเจี๊ยบ (Okra)	Kanchanaburi
	เขียวขี้กา(*Gymnopetalum integrifolium*)	NaKhon Ratchasima
	ฟักทอง (Pumpkin)	Nakhon Pathom and Ratchaburi
Amblyseius nicholsi Ehara & Lee	ผักโขม (*Amaranthus* sp.)	Bangkok
	องุ่น (Grape)	Saraburi
	ทับทิม (Pomegranate)	Bangkok
	มะขาม (Tamarind)	Lompang
	พริกขี้หนู (Bird Chili)	Kanchanaburi
Phytoseius hawaiiensis Prasad	*Gymnopetalum integrifolium*	NaKhon Ratchasima
	มะเขือยาว (Egg plant)	Nakhon Pathom
	พุทรา (Jujube)	Kanchanaburi

Scientific name of mite	Host plant	Location
Family Stigmaeidae	กุหลาบ (Rose)	Chiang Mai
	ฝรั่ง (Guava)	Nakhon Pathom
Family Tenuipalpidae		
Brevipalpus californicus	เขียวขี้กา (*Gymnopetalum integrifolium*) ,กระทกรกป่า (Redfruit passionflower)	NaKhon Ratchasima
Family Tetranychidae		
Eutetranychus africanus (Tucker)	บวบ (Angled rag gourd)	Nakhon Pathom
	นางกวัก (Brisbane lily)	Tak
	ใบแก้ว (China box tree),	Bangkok
	มะเฟือง (Carambola)	Bangkok
	ทุเรียน (Durian)	Rayong
	พุทราใต้หวัน (Jujube),	Chiang Rai
	ลีลาวดี (Pagoda tree)	Saraburi, NaKhon Ratchasima and Ratchaburi
	มะละกอ (Papaya)	Ubonrachathani,Phetchaburi and NaKhon Ratchasima
	ส้มโอ (Pumelo)	NaKhon Ratchasima
	ส้มเขียวหวาน (Tangerine)	NaKhon Ratchasima
	ฝ้ายคำ (Yellow silk cotton tree)	Saraburi,
Tetranychus gloveri Banks	ผักตบชวา (Hyacinth)	Bangkok,
	ผักโขม (*Amaranthus* sp.)	Bangkok
	แตงไทย (Musk melon)	Bangkok
	ผักชีฝรั่ง (Parsley),	NaKhon Sawan
Tetranychus kanzawai Kishida	พุทรา (Jujube)	Chiang Rai, Chiang Mai
	บวบ (Angled rag gourd)	Chiang Rai
	มะละกอ (Papaya)	Sakaew
	แอปเปิ้ล (Apple),เชอรี่ (Cherry)	Chiang Rai
	กุหลาบ (Rose)	Loei ,Chiang Mai, NaKhon Ratchasima

Scientific name of mite	Host plant	Location
	ต้อยติ่ง (Popping pod)	Bangkok
	แตงโม (Water melon)	Phetchaburi
	ดาวเรือง (Marigold)	Kanchanaburi
	ตำแยแมว (*Acalypha indica*)	Phetchaburi
Tetranychus macfarlanei	กระเจี๊ยบ (Okra)	Kanchanaburi
Baker & Pritchard	โสน (Sesbania)	Kanchanaburi
	เขียวขี้กา(*Gymnopetalum integrifolium*)	NaKhon Ratchasima
	มะเขือ (Egg plant)	Nakhon Pathom, Krabi & Ratchaburi
	บวบ (Angled rag gourd)	Nakhon Pathom, Lop Buri& Krabi
	แตงกวา (Cucumber)	Krabi
	ฟักทอง (Pumpkin)	Ratchaburi and Nakhon Pathom
Tetranychus neocaledonicus Andr'e	Black eyed susan	Chiang Mai
Tetranychus piercei	อัญชัญ (Mussel-shell creeper)	Bangkok,Chumphon
McGregor	ตำแยแมว (*Acalypha indica)*	Bangkok
	เล็บครุฑ (*Polyacias guilfoylei)*	Bangkok
	ผักโขม (*Amaranthus* sp.)	Bangkok
Tetranychus sp.	กุหลาบ (Rose)	Loei
	จิก (Indian oak)	Lop Buri
	ไก่ฟ้า (Pelican flower)	Chiang Mai
	ตำลึง (Ivy gourd)	Kanchanaburi
	ทานตะวัน (Sunflower)	Lop Buri
Tetranychus truncatus Ehara	มะรุม (Horse-Radish Tree)	Bangkok
	หม่อน (Mulberry)	Chiang Mai
	พุทรา (Jujube),สะอึก (Morning glory)	Chiang Rai
	สบู่เลือด (*Jatropha gossypifolia* L.)	Ratchaburi
	หญ้ายาง (Painted Spurge)	Chiang Rai

Scientific name of mite	Host plant	Location
Tetranychus taiwanicus Ehara	ส้มโอ (Pumelo)	Nakhon Pathom, Chiang Mai
Tetranychus urticae Koch	สตรอเบอรี่ (Strawberry)	Chiang Mai
	กุหลาบ (Rose)	Chiang Mai
	แตงกวายุโรป (Cucumber)	Bangkok
	คาร์เนชั่น (Carnation)	Bangkok air port plant quarantine

สรุปผลการทดลอง

การเก็บรักษาตัวอย่างไรไว้ในพิพิธภัณฑ์วิธีที่เหมาะสมคือการทำสไลด์ถาวรด้วย น้ำยา Hoyer's solution โดยจากการทดลองทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าในการทำสไลด์ถาวร ในไรศัตรูพืชในวงศ์ Tetranychidae ในเพศเมียใช้วิธีเมาท์สไลด์ด้วยการคว่ำหรือหงาย ส่วนในเพศผู้มี 2 วิธี ในวิธีแรกโดยการเมาท์สไลด์เพศผู้ด้วยวิธีตะแคงข้างเหมาะสมกับผู้ที่มีความชำนาญในการทำสไลด์ มีตัวอย่างสดในการทำสไลด์มากพอเพียง ในการเมาท์สไลด์จะใช้เพศผู้ 1 ตัวต่อ 1 สไลด์เท่านั้น ในขณะที่การเมาท์สไลด์ถาวรด้วยวิธีของของ Dr. Tetsuo Gotoh ด้วยการคว่ำไรตัวผู้แล้วกดด้วยปลายดินสอนั้น นั้นเป็นวิธีที่เหมาะกับไรเพศผู้ที่มีลำตัวแบนมากไม่สามารถทำสไลด์ด้วยวิธีตะแคงข้างได้ เช่นไรแดงแอฟริกัน และเหมาะกับการทำสไลด์ไรศัตรูพืชที่มีตัวอย่างน้อย สามารถใส่ไรเพศผู้มากกว่า 1 ตัวใน 1สไลด์

จากการสำรวจและเก็บรวบไรศัตรูพืช ไรศัตรูธรรมชาติ ไรในผลิตผลการเกษตรเพื่อเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2549-ก.ย. 2550 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างไรบนพืชชนิดต่าง ๆ 51 ชนิด บนพื้นที่ 19 จังหวัด พบไรศัตรูรวมทั้งสิ้น 7 family ได้แก่ วงศ์ Acaridae จำนวน 1 ชนิด วงศ์ Eriophyidae 2 ชนิด Macrochelidae 1 ชนิด วงศ์ Phytoseiidae 4 ชนิด วงศ์ Tetranychidae จำนวน 9 ชนิด วงศ์Tenuipalpidae มี 1 ชนิด และ วงศ์ Stigmaeidae 1 ชนิด รวมทั้งสิ้น 18 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

วัฒนา จารณศรี มานิตา คงชื่นสิน เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และพิเชฐ เชาว์วัฒนวงศ์. 2543. ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุม, กองกีฏและสัตววิทยา,กรมวิชาการเกษตร. 192น.

อังศุมาลย์ จันทราปัตย์. 2550. ไรการเกษตร. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.315น.

Beer, R. E. 1954. A. Revision of the Tarsonemidae of the Western Hemisphere(Order Acarina). The University of Kansas Science bulletin. 36(2):1091-1387.

Gupta,S.K. 1985. Handbook plant mites of India. Zoological survey of India. 520p.

Pritchard, A.E. and Baker, E. W. 1955. A Revision of the spider mite family Tetanychidae. The H. C. Fall Memorial Publication Fund. 472p.

การปรับปรุงพริกขี้หนูสดใหญ่เพื่อต้านทานโรค แอนแทรคโนส

ศิริพงษ์ คุ้มภัย นรินทร์ พูนเพิ่ม*
ณรงค์ แดงเปี่ยม* อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้คัดสายพันธุ์ (isolate) ที่รุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆที่พบระบาดในประเทศไทย โดยทดสอบความความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนส และได้ตัวแทนของเชื้อรา *Colletotrichum* 2 สายพันธุ์ (isolate) เป็นตัวแทนของ 2 species ที่ระบาดในแปลงปลูกพริก คือ isolate C-56 เป็นตัวแทนของ *C. gloeosporioides* และ isolate C-60 เป็นตัวแทนของ *C. capsici* และได้ทดสอบพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริก จำนวน 20 สายพันธุ์ ทั้งสายพันธุ์ในประเทศ และต่างประเทศ ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. capsici* ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรค โดยกรรมวิธีการปฏิบัติของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในระยะแรกไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทานเด่นชัดในเบื้องต้นพบว่าเกิดจากอุปกรณ์ปลูกเชื้อบกพร่อง และได้พัฒนาอุปกรณ์ปลูกเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส จากเดิมที่ไม่สามารถแยกแยะความต้านทานออกจากอาการอ่อนแอของพริกสายพันธุ์ต่างๆ ได้อย่างชัดเจน และได้ทดสอบอีกครั้ง พบพริกสายพันธุ์ PBC 81 และ PBC 932 มีปฏิกิริยาต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสได้ดีทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ เพื่อถ่ายลักษณะต้านทานโรคจากสายพันธุ์ต้านโรคแอนแทรคโนสให้กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ ผลการทดลองในสภาพโรงเรือน พบว่าสามารถกระทำได้เฉพาะสายพันธุ์ PBC 932 และได้จัดสร้างลูกผสม F1 ของสายพันธุ์ทั้งสอง และนำมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคแอนแทรกโนส พบว่าประชากรของ F1 ที่ได้อ่อนแอต่อโรค เหมือนสายพันธุ์แม่ และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อที่ต้านทาน และทำการผสมกลับ (back cross) กับลูกผสม F1 และจะทำการคัดเลือก ต่อไป

คำนำ

ในปัจจุบันพันธุ์พริกที่ปลูกในประเทศไทย สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พริกรับประทานฝักสด และพริกที่ใช้ในอุตสาหกรรม และเนื่องจากการผลิตพริกต้องประสบกับศัตรูพืชหลากหลายชนิด ทำให้จำเป็นต้องมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพริกทั้งโรคและแมลงในปริมาณ

รหัสโครงการ 01-16-49-01

ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร*

ที่สูงมาก ซึ่งสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจะมีผลตกค้างกับผลผลิตพริก สามารถที่จะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporoides* และ *Colletotrichum capsici* เป็นโรคที่สำคัญที่ทำความเสียหายอย่างมากกับการปลูกพริกและได้มีการใช้สารเคมีหลากหลายชนิดและในสภาพที่โรคระบาดสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงทำให้ที่ใช้ในป้องกันกำจัดไม่สามารถป้องกันกำจัดได้ การสร้างหรือพัฒนาพันธุ์พริกที่สามารถต้านทานโรคได้นั้น นอกจากจะเป็นวิธีการที่ปลอดภัยทั้งกับกสิกรผู้ปลูก และผู้บริโภคลดปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพริกให้ลดลง ยังสามารถที่จะลดต้นทุนการผลิตของผู้ผลิตอีกด้วย และการนำวิธีการทั้งการใช้พันธุ์ต้านทานโรคเข้าร่วมผสมผสานกับการใช้วิธีการอื่นๆ สามารถที่จะจัดการบริหารโรคโรคแอนแทรคโนสที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์
2. สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และให้ผลผลิตสูง 1 สายพันธุ์
3. อุปกรณ์ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส
4. เชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. Gloeosporioides* และ *C. Capsici* มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง
5. วัสดุปลูกพริก และเพาะกล้าพริก
6. พาชนะปลูก และถาดหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า
7. อุปกรณ์ ผสมดอก
8. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์
9. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

วิธีการ

1. การทดลองเพื่อคัดสายพันธุ์ isolate ที่รุนแรงของเชื้อสาเหตุ โรคแอนแทรกโนส

คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีการระบาดรุนแรงทำความเสียหายในแปลงปลูกพริก 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* เพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนส โดยทดสอบใช้ พริกสายพันธุ์ พิจิตร 06 ซึ่งพบในเบื้องต้นพบว่ามีความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนส *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ตามลำดับ จำนวน เพื่อใช้ในการทดลอง โดยวิธีการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ต่างๆ ที่มี ใน collectionปลูกพริกบนฝักพริก ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดลองเพื่อคัดสายพันธุ์พริก ที่ต้านทานโรคแอนแทรกโนส

1.ปลูกสายพันธุ์พริกที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

2. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

3. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริก บนฝักพริกที่ได้จากข้อ 2 จำนวน 20 สายพันธุ์ (ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4. ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) ซ้ำ อีก 1 ครั้งเพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรค เพื่อยืนยันและลดความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้น

5. คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่แสดงอาการ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส เป็นผลจากการทดลองข้อที่ 4 และ 5

3. การทดสอบการผสมข้ามสายพันธุ์พริกที่ต้านทานโรคแอนแทรกโนส และสร้างลูกผสม

6. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี โดยให้พันธุ์ที่ต้านทานแอนแทรคโนส จากข้อ 5 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ เป็นสายพันธุ์แม่

7. สายพันธุ์ที่สามารถผสมข้ามได้ จะนำมาใช้ในโครงการ โดยลูกสมที่ได้ จากข้อ 6 จะเป็น ชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1

8. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้าที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

9. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

10. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริกบนฝักพริกที่ได้จากต้น ข้อที่ 9 (ใช้วิธีการทดสอบ และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)]

ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

4. การสร้างลูกผสม BC1

11. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม F1

12. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

13. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

14. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์แม่เป็นเกณฑ์

15. ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสของลูกผสม BC1 ที่คัดเลือกจาก ข้อ 14 โดยใช้เชื้อราสาเหตุ 2 สายพันธุ์ (isolates) ข้อที่ 13 (ใช้วิธีการทดสอบ ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

16. ปลูกพริกที่ได้คัดเลือกจากข้อ 13 และ 14 ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1

17. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

5. การสร้างลูกผสม BC2

18. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC2โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1

19. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

20. คัดเลือกต้นพริกลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

21 ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส จากต้นที่คัดเลือก ตามข้อ 20 โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส

22. คัดเลือกต้นพริกลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

23. ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสจากต้นที่คัดเลือกจากข้อ 20 โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรคแอนแทรคโนส

20. ปลูกขยายพันธุ์ ลูกผสม BC2 ที่ผ่านการคัดเลือกจาก ข้อ 20 และ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส เพื่อตรวจสอบความสม่ำเสมอ ต่อไป เพื่อการทดสอบลักษณะต่างๆทางพืชสวนต่อไป

23. ปลูกทดสอบในแปลงทดสอบและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ ที่ได้ ด้านผลผลิตและต้านทานแอนแทรคโนส

24. ปลูกทดสอบในแปลงเกษตรกรและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิต และต้านทานแอนแทรคโนส

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการดำเนินการ ตุลาคม 2549-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีความรุนแรง 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่ระบาดในพื้นที่ปลูกพริกเพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนสเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรกโนส ที่ทดสอบโดยใช้ สายพันธุ์พิจิตร 06 (ซึ่งพบในการทดสอบเบื้องต้นว่าอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสอย่างมาก) เป็นสายพันธุ์ทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุ ผลการทดลองพบว่า isolate C-60 และ C-56 มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคเป็นตัวแทนของเชื้อราสาเหตุ *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดลองเพื่อหาทดสอบปฏิกิริยาของพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริกจากสายพันธุ์ที่ได้เป็นพันธุ์แนะนำที่มีในประทศและ สายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ ประเทศไต้หวัน (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์แนะนำที่มีในประทศ. พิจิตร 06, พิจิตร 05, พิจิตร 1, พิจิตร 007, 05-13-4-5-7, 17-6-10-3-3, 8-6-10-1-2, 14-6-4-4-4, 10-2-8-8-10, สายพันธุ์จาก AVRDC ประกอบด้วย BC3F6, CM 334, PBC 137, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 201232, PI 1201234, PI 1201238 PI 189550, CNPH 703 กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* (C60) *และ C. Capsici* (C56) ที่มีความรุนแรง ที่ได้จาก 1.1โดยใช้กรรมวิธีการประเมินความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริกในสภาพห้องปฏิบัติการ และทดลองซ้ำ 2 ครั้ง และเพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองพบว่ามี 2 สายพันธุ์ “PBC 932 และ PBC 81” ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส (ตารางที่ 2) สายพันธุ์ดังกล่าวได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)

3. ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทาน “PBC 932 และ PBC 81” กับ สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นพันธุ์แนะนำ ซึ่งใช้เป็นแม่พันธุ์ คือ พิจิตร 007 พบว่า PBC 932 เท่านั้นสามารถกระทำได้ และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับ พิจิตร 007

4. การทดสอบลูกผสม F1 ที่ได้จาก 1.3 ที่ได้ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ได้ผลพริก เพื่อใช้ในการทดสอบปฏิกิริยากับโรคแอนแทรคโนส 2 isolates ที่

รุนแรง *C. gloeosporioides* และ *C. Capsici* (isolate C-60 และ C-56) ของลูกผสม F1 จากการทดลองพบว่า พริกในช่วงการเจริญเติบโต F1 ไม่มีพริกต้นใดในช่วงการเจริญเติบโตนี้ แสดงคุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อ PBC 932 ผลการทดลอง ตามตารางที่ 3

5. การสร้างลูกผสม BC1 โดยผสมข้ามโดยใช้สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 007 ผสมกลับกับสายพันธุ์พริกลูกผสม F1 ที่ได้ เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่ พิจิตร 007 ลงในลูกผสม และปลูกลูกผสม BC1 ที่ได้ เพื่อให้เกิดการกระจายตัว และ ทำการคัดเลือกลูกผสม ในด้านคุณสมบัติทาง agronomic เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 007 และจะได้ทดสอบปฏิกิริยาของลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก กับโรคแอนแทรกโนส ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดเลือกต้นที่มีคุณสมบัติต้านทานโรคและ ทีคุณสมบัติทาง agronomic เทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 007 ในต้นปีงบประมาณ 2551

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ได้สายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดอาการรุนแรงของโรค 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides* (isolate ที่ C60) และ *C. capsici* (isolate ที่ C56) เพื่อใช้ในการคัดเลือกต้นต้านทานในโครงการ

2. ได้สายพันธุ์พริกที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส เพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์ในการถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคแอนแทรคโนสสู่สายพันธุ์ที่ดี คือ สายพันธุ์ PBC 932 และ PBC 81 แต่จากการทดลองความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคเพื่อสร้างลูกผสมนั้น พบว่า PBC 932 เพียงสายพันธุ์เดียว ที่สามารถผสมข้ามได้ และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับ สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 007

3. จากการทดสอบคุณสมบัติในการต้านทานต่อ โรคแอนแทรคโนส กับ ลูกผสม F1 พบว่าไม่พบลูกผสมต้นใดใน ชั่วการเจริญเติบโต F1 แสดงอาการต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส ซึ่งในเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่า ลักษณะต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ควรจะควบคุมด้วยยีนด้อย ซึ่งจะเป็นแนวทางในความเข้าใจการทำงานของระบบของพันธุกรรมได้ และเป็นแนวทางในการดำเนินงานในงานวิจัยต่อไป

4. ลูกผสม BC1 เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่เข้าไปในลูกผสม นอกเหนือจากที่ได้ถ่ายทอดลักษณะต้านทาน และจะทำการคัดเลือกทั้งลักษณะต้นและผลลิต เปรียบเทียบกับ สายพันธุ์แม่ และ ความต้านทานโรคแอนแทรกโนส เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อ ในปีงบประมาณ 2551

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส isolate ต่างๆ กับสายพันธุ์ พิจิตร 06 หลังบ่มไว้ 5 วัน

	หมายเลขเชื้อ	Species identify	สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบความรุนแรงของเชื้อสาเหตุ	ความสามารถในการทำให้เกิดโรค*
1	C1101	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
2	C1241	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
3	C1240	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
4	C 1185	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.2
5	**C 60**	***C. gleosporoides***	**พิจิตร 06**	**2.6**
6	C 065	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.9
7	C 1113	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
8	C 1088	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
9	C 082	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	1.0
10	C 1181	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
11	C56/1	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
12	C 024	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
13	C 078	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
14	**C 56**	***C. capsici***	**พิจิตร 06**	**2.1**
15	C 1184	*C. capsici*	พิจิตร 06	0.5

* ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ตารางที่ 2 ปฏิกิริยาตอบสนองของสายพันธุ์พริก ในการทดสอบความต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนสโดยใช้ฝักพริก กับ เชื้อราสาเหตุ *Colletotrichum. capsici* และ *C. gloeosporioides*

สายพันธุ์	*C. capsici*	*C. gloeosporioides*	แหล่งที่มาของสายพันธุ์
	C-56	C-60	
พิจิตร 06	1.7	2.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 05	1.4	1.6	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 1	2.3	1.9	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 007	1.9	2.0	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
05-13-4-5-7	0.5	1.1	กาญจนบุรี
17-6-10-3-3	0.7	1.3	กาญจนบุรี
8-6-10-1-2	0.4	0.9	กาญจนบุรี
14-6-4-4-4	0.6	0.6	กาญจนบุรี
10-2-8-8-10	0.8	1.2	กาญจนบุรี
BC3F6	0.3	0.5	AVRDC
CM 334	0.6	0.8	AVRDC
PBC 137	1.9	1.8	AVRDC
PI 201232	1.8	1.2	AVRDC
PBC 81	0.1	0.1	AVRDC
PI 1201234	0.5	0.9	AVRDC
PM 331	1.2	1.5	AVRDC
PI 189550	1.2	1.4	AVRDC
PBC 932	0.1	0.2	AVRDC
PI 1201238	0.8	0.5	AVRDC
CNPH 703	0.6	0.8	AVRDC

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. * ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส isolate และ ของพริกในช่วงการเจริญเติบโต F1

ต้นที่	F1 (พิจิตร 007x PBC 932)		PBC 932		พิจิตร 06		พิจิตร 007	
	C-56 cap	C-60	C-56	C-60	C-56	C-60	C-56	C-60
1	2.0	1.6	0.1	0.2	1.9	2.3	1.9	2.0
2	1.9	1.8	0.3	0.4	1.1	0.6	1.0	2.3
3	1.8	1.9	0.1	0.6	0.7	0.8	1.0	1.8
4	2.2	0.5	0.2	0.3	0.5	1.0	1.8	1.5
5	1.3	1.0	0	0.2	0.8	1.2	1.5	2.0
6	1.2	0.9	0.3	0.5	1.1	1.5	1.6	2.2
7	0.6	1.5	0.1	0.5	1.2	1.8	1.8	2.0
8	1.0	1.4	0.2	0.3	0.7	0.9	1.3	1.8
9	0.8	1.0	0.2	0.3	0.6	1.0	1.7	1.5
	0.5	0.9	0.1	0.3	1.1	1.0	2.0	1.7
	0.7	1.1	0.2	0.5	0.9	0.8	2.1	1.3
	1.4	1.8	0	0.4	1.1	1.7	1.7	2.1
	0.8	1.2	0.2	0.5	0.5	1.2	0.9	0.8
	0.9	1.8	0.3	0.6	0.8	1.0	0.9	1.2
	0.8	1.7	0	0.3	1.2	1.7	1.4	1.3
	0.9	1.2	0.3	0.3	1.0	1.5	1.6	1.5
	0.8	0.9	0	0.1	1.2	1.6	1.1	1.0
	1.0	1.5	0.1	0.3	0.8	1.1	1.0	2.1
	1.5	1.6	0	0	0.9	1.0	0.9	1.2
	0.8	2.0	0.1	0.1	1.5	2.0	0.5	1.8

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. * ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

คำขอบคุณ

การทดลองได้รับความร่วมมืออย่างดีในการให้คำแนะนำ สายพันธุ์ต้านทานโรค เทคนิค และเครื่องมือ ในการวิจัย และความช่วยเหลือแนะนำในการทดลองจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

บุญญวดี จิระวุฒิ 2540. การให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริกและการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช 66 หน้า

สมศิริ จิ๋วสกุล 2521. เซรุ่มวิทยา การถ่ายทอดทางเมล็ดของโรคแอนแทรคโนสของพริกและประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมโรคบนใบ

อรพรรณ วิเศษสังข์ จุมพล สาระนาค วิชิต จรัสเจษฎาและ ลักษณา วรรณภีร์ 2525. ปฏิกิริยาของพริกบางพันธุ์ต่อโรคแอนแทรคโนส รายงานผลการทดลอง สาขาโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

Gniffke P. 2003 Host resistance to antracnose, AVRDC. Progress Report 2002. Shanhua, Taiwan: AVRDC – the World Vegetable Center. pp. 29–30

Jae Bok Yoon 2003 Identification of Genetics Resources, Interspecific Hybridization and Inheritance Analysis for Breeding Pepper (*Capsicum annum*). Dessertation , Graduate School Seoul National University.

Pakdeevaraporn P., S. Wasee, P. W. J. Taylor, O. Mongkolporn 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in Capsicum Plant Breeding 124 (2), 206–208.

การปรับปรุงพริกขี้หนูสดใหญ่เพื่อต้านทานโรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย

ศิริพงษ์ คุ้มภัย นรินทร์ พูนเพิ่ม*
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล อำนวย อรรถลังรอง* บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้ทดสอบกล้าพริกจากสายพันธุ์พริก ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคเหี่ยวของพริก ที่เกิดจากเชื้อ แบคทีเรีย ที่ได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) และจากการเก็บรวบรวมจากสายพันธุ์พริกในประเทศ จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ จำนวน 3 isolates และในเรือนปลูกทดลอง ผลการทดลองพบว่ามีเชื้อแบคทีเรีย 1 isolate (RSS) มีความรุนแรงสูงมาก และยังไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทาน isolate ดังกล่าวมีความเฉพาะพื้นที่สูงมาก การทดลองได้ใช้ 2 isolate (1178 และ 1563) เป็นพื้นฐาน พบมีสายพันธุ์ 1 สายพันธุ์ คือ ที่ไม่แสดงอาการคือสายพันธุ์ PBC384 ซึ่งได้ปลูก และทดสอบอีก 2 ครั้งพบว่าไม่แสดงอาการของโรค ซึ่งได้ใช้สายพันธุ์ PBC384 เป็นสายพันธุ์พ่อในโครงการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยว เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานสู่สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ และได้ทดสอบความสามารถในการต้านทานโรค ในสภาพแปลงทดลอง ที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร ผลการทดลองความสามารถในการผสมข้ามของสายพันธุ์ PBC384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ พบว่ามีความเป็นไปได้ และได้สร้างลูกผสม F1 จากการผสมข้าม และเพาะกล้าลูกผสมที่ได้ปลูก ที่โรงเรือนทดลอง สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อนำกล้าพริกที่เกิดจากการผสมตัวเองมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และจะทำการผสมกลับ (back cross) ต่อไปในปีต่อไป 2550

รหัสโครงการ 01-16-49-01

ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร*

คำนำ

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวที่มีความสำคัญมากกับพริกโรคหนึ่ง เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคมีพืชอาศัยกว้างกับพืชมาก กว่า 200 ชนิดใน 44 วงศ์ ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืช ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย สภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ของเชื้อ (strain) ซึ่งในพื้นที่หนึ่งๆอาจพบสายพันธุ์ของเชื้อมีมากกว่า 1 สายพันธุ์ (Okabe and Goto,1952) แต่ละสายพันธุ์มีระดับความรุนแรงเฉพาะตัวต่างกัน (Digat,1968) การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยาก เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถที่จะคงอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง และที่สำคัญคือไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคนี้ การปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคเหี่ยว ควรจะเป็นเป็นวิธีหนึ่ง แต่จากรายงานผลงานวิจัยบางส่วนพบว่ามีความยุ่งยากและมีรายงานบางครั้งไม่ให้ผลในการควบคุมโรค ซึ่งเหตุผลเนื่องจากพืชพันธุ์ที่ต้านทานคัดเลือกมาจากแหล่งใดแหล่งหนึ่งเพียงแหล่งเดียวอาจจะไม่แสดงความต้านทานเมื่อนำไปปลูกในแหล่งอื่น ซึ่งเนื่อง มาจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุเป็นคนละสายพันธุ์ (Grimsley และ Wang, 1998) นอกจากนี้ยังพบปรากฏการของพริกที่แสดงปฏิกิริยาว่าต้านทานต่อโรคแต่จริงเป็นการทนโรค (tolerance) กล่าวคือเชื้อแบคทีเรียสาเหตุสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณในพืชได้ แต่ไม่ทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยว (นิพนธ์และคณะ ,2542) ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานต่อโรคเหี่ยวจะต้องเพิ่มความเข้าใจและความร่วมมือกันในการทดลองทุกขั้นตอนระหว่างนักวิจัยในสาขาวิชาต่างๆ

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรคเหี่ยวทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ PBC743, PBC535, PBC1347 PBC204, PBC473, PBC1367, PBC385, PBC375, PBC66, PBC631-A, CA 8, PBC631-B, CA8, PBC384, PBC67
2. สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และให้ผลผลิตสูง 1 สายพันธุ์
3. อุปกรณ์ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว
4. เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยว *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* 3 สายพันธุ์ (isolates) (11781, 563 และ RSS) ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง
5. วัสดุปลูก และเฉพาะสำหรับเพาะต้นกล้าพริก

6. พาชนะปลูก ถาดหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

7. อุปกรณ์ ผสมดอก

8. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์

9. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

วิธีการ

1 ปลูกสายพันธุ์พริกในประเทศ จากแหล่งเก็บพันธุกรรมพริกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพริก สถานีทดลองพืชสวนกาญจนบุรี และจากต่างประเทศที่มีประวัติต้านทานต่อโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้าพริก

2. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงในถ้วยปลูกในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชเพื่อ ให้กล้าพริกโตเต็มที่

3. ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* 3 สายพันธุ์ (isolates) 1178, 1563 และ RSS ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวระบาดในพื้นที่ปลูกพริก โดยปลูกเชื้อในดินรอบๆกล้าพริกจากข้อที่ 2 และตัดใบด้วยกรรไกรชุบเชื้อแบคทีเรียทั้ง 20 สายพันธุ์ [ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในสภาพโรงปลูกทดลอง

4. ได้ทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวทั้ง 3 สายพันธุ์ (isolates) ซ้ำ กับพันธุ์พริกทั้ง 20 สายพันธุ์ อีก 1 ครั้ง เพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคพริก ทั้ง 20 สายพันธุ์ เพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้น

5. คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่แสดงอาการต้านทานต่อโรคเหี่ยวที่ผ่านการทดสอบ ทั้ง 2 ครั้ง โดยดูจากอาการเหี่ยวที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบกับพันธุ์ที่อ่อนแอ ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรคเหี่ยว

6. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี โดยให้พันธุ์ที่ต้านทานเหี่ยวจากข้อ 5 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ เป็นสายพันธุ์แม่

7. สายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานโรค และสามารถผสมข้ามได้ จะนำมาใช้ในโครงการ โดยลูกผสมที่ได้ จากข้อ 6 จะเป็น ชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 และผสมตัวเอง (selfing)

8. ปลูกเมล็ดพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 จากข้อ 7 ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้าที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

9. เมื่อกล้าพริกที่มีอายุ 1 เดือน ส่วนหนึ่งแบ่งมาทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคเหี่ยว ตามข้อที่ 3 เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นทางพันธุกรรม และลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัย

พัฒนาการอารักขาพืช และที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต

10. ผสมตัวเอง และ ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม F1 จากข้อ 9

11. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ self F1 และ BC1 ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

12. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

13. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์แม่เป็นเกณฑ์

14. ทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวของลูกผสม BC1 ที่คัดเลือกจาก ข้อ 13 โดยใช้เชื้อราสาเหตุ 2 สายพันธุ์ (isolates) ข้อที่ 13 (ใช้วิธีการทดสอบ ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในสภาพเรือนปลูกพืช

15. ปลูกพริกที่ได้คัดเลือกจากข้อ 13 และ 14 ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1

16. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร

17. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC2โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1

18. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร

19. คัดเลือกต้นพริกในชั่ว BC2 ลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

20 ทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยว จากต้นที่คัดเลือก ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค เหี่ยว

21. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC2 ที่คัดเลือก จากข้อที่ 20 และต้านทานต่อโรคเหี่ยว โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC3

22. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC3 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือน ลงแปลงปลูกทดลองที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

23. คัดเลือกต้นพริกในชั่ว BC3 ลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

24 ทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวจากต้นที่คัดเลือกจากข้อ 20 ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรคเหี่ยว

25. ปลูกขยายพันธุ์ ลูกผสม BC3 ที่ผ่านการคัดเลือกจาก ข้อ 20 และ ต้านทานต่อโรคเหี่ยว เพื่อตรวจสอบความสม่ำเสมอ ต่อไป เพื่อการทดสอบลักษณะต่างๆทางพืชสวนต่อไป

26. ปลูกทดสอบในแปลงทดสอบและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิตและต้านทานต้นเหี่ยว

27. ปลูกทดสอบในแปลงเกษตรกรและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิต และต้านทานโรคเหี่ยว

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการดำเนินการ ตุลาคม 2549-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. ได้ทดสอบต้นกล้าพริกจากสายพันธุ์พริกต่างๆ จำนวน 20 สายพันธุ์ ที่ปลูกในประเทศไทย คือ พิจิตร 05, พิจิตร 06, พิจิตร 0047, พิจิตร 0015, พิจิตร 0019, พิจิตร 27-2-1-1, พิจิตร 26-1-1-1 และสายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากต่างประเทศ ศูนย์พืชผักระหว่างประเทศ (AVRDC) PBC743 PBC535 PBC1347, PBC204, PBC473, PBC1367, PBC385, PBC375, PBC66, PBC631-A CA 8, PBC631-B CA8, PBC384, PBC67 ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อ แบคทีเรีย ที่ได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ จำนวน 3 isolates (1178, 1563 และ R-SS) กับกล้าอายุ 1 เดือน ในสภาพเรือนปลูกทดลอง ผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรีย isolate (R-SS) มีทดสอบแล้วว่าความรุนแรงสูงมาก และยังไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทาน isolate ดังกล่าวได้เก็บมาจากพื้นที่ปลูกพริก จ. เชียงใหม่ isolate 1178 และ isolate 1563 ซึ่งเป็น isolate พื้นฐาน พบมีสายพันธุ์ 1 สายพันธุ์ ที่แสดงอาการต้านทาน คือสายพันธุ์ PBC384 ซึ่งได้ปลูก และทดสอบอีก 2 ครั้ง พบว่าไม่แสดงอาการเหี่ยว ซึ่งได้ใช้สายพันธุ์ PBC384 เป็นสายพันธุ์พ่อในโครงการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยว เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานสู่สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ สายพันธุ์ พจ 007 และการทดลองความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC 384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ สามารถกระทำได้ และได้สร้างลูกผสม F1 จากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ และเพาะกล้าลูกผสมที่ได้ปลูกที่โรงเรือนทดลอง ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และนำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และ ได้นำกล้าพริกที่ได้พริกลูกผสม F1 มาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ทั้งสอง isolates 1178, 1563 พบว่าไม่มีต้นใดแสดงอาการต้านทานต่อโรค

2. ในชั่วของ F2 ที่มีประชากรที่มีการกระจายตัว การคัดเลือก ลักษณะทาง agronomic ที่ดี (คัดเลือกต้นทีมีลักษณะที่ดี เช่น ลักษณะฝัก (ขนาด สี และความดกของฝัก) โดยเปรียบเทียบกับลักษณะของสายพันธุ์แม่ ที่ศูนย์วิจัยพืชสวน จ. พิจิตร และได้ทดสอบคุณสมบัติของความต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ของกล้าพริกลูกผสมที่คัดเลือกในสภาพโรงเรือนทดลอง ที่ห้องปฏิบัติการทดลอง อาคารปลูกทดลอง ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบว่า ปริมาณต้นที่ไม่แสดงอาการเหี่ยวหลังทดสอบ พบ 10 ต้น จากประชากรทดสอบ 250 ต้น

3. ได้สร้างลูกผสมกลับ (back cross) สำหรับชั่วการเจริญเติบโตของ BC1 ที่ใช้สายพันธุ์ พจ 007 ผสมกลับไปหาลูกผสม F1 เพื่อคัดเลือกลักษณะ agronomic ที่ดี (คัดเลือกต้นทีมีลักษณะที่ดี เช่น ลักษณะฝัก (ขนาด สี และความดกของฝัก) โดยเปรียบเทียบกับลักษณะของสายพันธุ์แม่ที่ศูนย์วิจัยพืชสวน จ.พิจิตร และจะนำต้นที่คัดเลือกไปทดสอบความต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อแบคทีเรีย 1 isolate (RS-S) มีความรุนแรงสูงมาก และยังไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทาน isolate ดังกล่าวได้เก็บมาจากพื้นที่ปลูกพริก จ. เชียงใหม่เชื้อ isolate ดังกล่าวมีความเฉพาะพื้นที่สูงมาก ถ้านำมาใช้ในการทดลองอาจจะทำให้ศูนย์เสีย germplasm สำหรับ isolate 1178 และ isolate 1563 ซึ่งเป็น isolate พื้นฐาน พบมีสายพันธุ์ 1 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ PBC384 และจากการทดลองพบว่าสามารถผสมข้าม กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ได้ สร้างลูกผสม F1 จากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ ได้ปลูกที่โรงเรือนทดลอง ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และนำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และพบว่ากล้าพริกที่ได้จากพริกลูกผสม F1 จากการผสมตัวเองมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย พบว่ามีต้นกล้าทั้งหมดที่ทดสอบ 200 ต้น เป็นโรค แต่ในประชากร F2 พบว่า 10 ต้น จากประชากรทดสอบ 250 ต้น ไม่แสดงอาการโรคเหี่ยว แสดงว่า ลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมความต้านทานโรคเหี่ยว น่าจะเป็นลักษณะด้อย และได้ทำการผสมกลับ (back cross) และจะได้ทำการคัดเลือกในปีงบประมาณ 2551

ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาตอบสนองของสายพันธุ์พริก ในการทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยว กับเชื้อสาเหตุ *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* 3 isolates

	Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum isolates			
สายพันธุ์	1178	1563	RS-S	แหล่งที่มา
พิจิตร 05	1.6	2.3	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 0019	2.2	1.4	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 0015	3.2	1.6	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 0047	2.4	2.0	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 06	2.7	1.8	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 27-2-1-1	1.5	1.0	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 26-1-1-1	1.1	1.4	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
PBC743	2.1	1.4	5	AVRDC
PBC535	2	1.5	5	AVRDC
PBC1347	1.2	1	5	AVRDC
PBC204	1.8	1.1	5	AVRDC
PBC473	1.5	1.5	5	AVRDC
PBC1367	3.8	3.6	5	AVRDC
PBC385	1.2	1	4.6	AVRDC
PBC375	2	1.9	5	AVRDC
PBC66	1.7	1	4.3	AVRDC
PBC631-A CA 8	1.8	1.2	5	AVRDC
PBC631-B CA 8	2.6	1.3	5	AVRDC
PBC384	1	1	4.4	AVRDC
PBC67	1.6	1.4	5	AVRDC

Note: . วิธีการประเมินการเป็นโรค ใช้ระบบการ rating :ของ AVRDC

คำขอบคุณ

การทดลองได้รับความร่วมมืออย่างดีในการให้คำแนะนำ สายพันธุ์ต้านทานโรค เทคนิคในการวิจัย และความช่วยเหลือในการทดลองจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ ทวีชัย,วิชัย โฆสิตรัตน และ ชลิดา เล็กสมบูรณ์ . 2542. ความต้านทานโรคต้นเหี่ยวของพริกและการเข้าทำลายพริกของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* น.45. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่37 สาขาพืช,3-5 กุมภาพันธ์ 2542. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วนิดา ฐิตะฐาน. 2542 . โรคต้นเหี่ยวของพืชที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* . กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ศุทธนา คล้ายมงคล 2543. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในประเทศไทย จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค REP-PCR. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตร์ศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Bassett, M. J. 1986. Breeding Vegetable Crops. AVI Pub. 584pp. Vegetable Breeding.

Buddenhagen, I. W., T.A. Elsasser. 1962. An insect-spread bacterial wilt epiphytotic of Bluggoe banana. Nature . 194:164-165.

Cláudia S. da C. Ribeiro1; Osvaldo B. de Souza 2; Daíse Lopes3; Francisco J. B. Reifschneidr, 2002. *Capsicum* Breeding at The Embrapa's Natinnal Research Center for Vegetable Crops Brazil. Proceedings of the 16th International Pepper Conference Tampico, Tamaulipas, Mexico. November 10 –12, 2002

Cook, D., E. Barlow, and L. Sequiera. 1989. Genetic Diversity of *Pseudomonas solanacearum* : detection of restriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and hypersensititive response. Mol Plant-Microbe Inter 2:113-121.

Cook, D., E. Barlow, and L. Sequiera. 1991. DNA probes as tools for the study of host pathogen evolution: the example of *Pseudomonas solanacearum*. In: Hennecke H. and D.P. Verma. (eds) Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions, Vol.1. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 103-108.

Digat, B. 1968. Why and how to distuguish the *Pseudomonas solanacearum* strins, causal agent of the bacterial wilt of Solanaceous and Musaceous crops in the caribbean Zone.6 th Ann. Conf. Caribbean Food Crops. Soc. 1968. Cited in Lum,K.Y. 1973. Cross binoculation studies of *Pseudomonas solanacearum* ginger. MARDI Research Bulletin. 1(1): 15-21.

Grimsley,N. and J.F. Wang. 1998. Chair's perspective:host resistance, pp. 197-199. *In* P.H.Prior, C. Allen and J. Elphinstone (eds.).Bacterial wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects . Springer-verlag, Germany.

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

Hayward, A.C. 1994. Sytemics and phylogeny of *Pseudmonas solanacearum* and related bacteria, pp. 123-135. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (eds.) .Bacterial Wilt; The Disease and Its Causative Agent, *Pseudmonas solanacearum* . CAB international , Wallingford, United Kingdom.

He, L.Y., L. Sequiera and A. Kelman. 1983. Characteristics of strains of *Pseudmonas solanacearum* from China. Plnt Disease. 67: 1357-1361.

Jaunet,T.X., J.F. Wang. 1999. Variation in genotype and aggressiveness of repetitive elements in the genome of Escherichia coli, Salmonella typhimurium and other eubacteria. Mol. Mocribiolol. 59:925-934.

Nelson,R.R.1977. Breeding Plant for Disease Resistance. Pennsylvania State University.398 pp.

Okabe, N. and M. Goto. 1952. Studies on *Bacterium solanacearum* with special reference to the kinds of strains and their classification and with special reference to the pathogenicity of strain, pp. 203-230. *In*, I. W . Buddenhagen and A. Kelman. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudmonas solanacearum* . Ann. Revev. Of Phytopath.2:203-230.

Russell, G. E. 1978. Plant Breeding for Pest and Disease Resistance. Butterworths and co. 485pp.

Welsh,J., M. McClelland. 1991. Genomic fingerprints produced by PCR with consensus t RNA gene primers. Nucleic Acids Res. 19:846-866.

Woese, C.R. 1987. Bacterial Evolution . Microbiological Reviews. 5: 221-271.

การผสมพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์พริกชี้ฟ้าเป็นซอสพริกเพื่อต้านทานโรคแอนแทรคโนส

ศิริพงษ์ คุ้มภัย นรินทร์ พูนเพิ่ม*
ณรงค์ แดงเปี่ยม* อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สายพันธุ์ (isolate) ที่รุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆที่พบระบาดในประเทศไทย โดยทดสอบความความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนส และได้ตัวแทนของเชื้อรา *Colletotrichum* 2 สายพันธุ์ (isolate) เป็นตัวแทนของ 2 species ที่ระบาดในแปลงปลูกพริก คือ isolate C-56 เป็นตัวแทนของ *C. gloeosporioides* และ isolate C-60 เป็นตัวแทนของ *C. capsici* และได้ทดสอบพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริก จำนวน 20 สายพันธุ์ ทั้งสายพันธุ์ในประเทศ และต่างประเทศ ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum gloeosporioides และ C. capsici* ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรค โดยกรรมวิธีการปฏิบัติของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในระยะแรกไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทานเด่นชัดในเบื้องต้นพบว่าเกิดจากอุปกรณ์ปลูกเชื้อบกพร่อง และได้พัฒนาอุปกรณ์ปลูกเชื้อสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส จากเดิมที่ไม่สามารถแยกแยะความต้านทานออกจากอาการอ่อนแอของพริกสายพันธุ์ต่างๆ ได้อย่างชัดเจน และได้ทดสอบอีกครั้ง พบพริกสายพันธุ์ PBC 81 และ PBC 932 มีปฏิกิริยาต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสได้ดีทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกชี้ฟ้า เพื่อถ่ายลักษณะต้านทานโรคจากสายพันธุ์ต้านโรคแอนแทรคโนสให้กับสายพันธุ์พริกชี้ฟ้า ผลการทดลองในสภาพโรงเรือน พบว่าสามารถกระทำได้เฉพาะสายพันธุ์ PBC 932 และได้จัดสร้างลูกผสม F1 ของสายพันธุ์ทั้งสอง และนำมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคแอนแทรกโนส พบว่าประชากรของ F1 ที่ได้อ่อนแอต่อโรค เหมือนสายพันธุ์แม่ และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อที่ต้านทาน และทำการผสมกลับ (back cross) กับลูกผสม F1 และจะทำการคัดเลือกต่อไป

รหัสโครงการ 01-16-49-01

ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร สถาบันวิจัยพืชไร่ *

คำนำ

ในปัจจุบันพริกมีการปลูกพริกพันธุ์ต่างๆ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พริกรับประทานฝักสด และพริกที่ใช้ในอุตสาหกรรม และเนื่องจากการผลิตพริกต้องประสบกับศัตรูพืชหลากหลายชนิดทำให้จำเป็นต้องมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพริก ทั้งสารกำจัดแมลง โรคพืช และวัชพืช ในปริมาณสูงมาก ซึ่งนอกจากกสิกรจะเสียค่าใช้จ่ายที่สุงมาในการผลิต และยังมีผลตกค้างและเป็นอันตรายทั้งต่อผู้ผลิตและบริโภค โรคพืชโดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporoides* และ *Colletotrichum capsici* มีความสำคัญและทำความเสียหายอย่างมากกับผลลิตพริก ปัจจุบันมีการใช้สารเคมีหลากหลายชนิดในการป้องกันกำจัดและไม่ได้ผลอย่างเต็มที่ในการป้องกันกำจัด การสร้างหรือพัฒนาพันธุ์ที่สามารถต้านทานโรค นอกจากจะเป็นวิธีการที่ปลอดภัยและสามารถลดปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดให้มีปริมาณลดลงแล้ว ยังสามารถที่จะลดต้นทุนการผลิตและเพื่อความปลอดภัย ลดอันตรายทั้งกับกสิกรปลูกพริกและผู้บริโภคอีกด้วย และถ้าจะนำวิธีการทั้งการใช้พันธุ์ต้านทานโรค ผสมผสานกับการใช้วิธีการบริหารโรควิธีอื่นๆที่เหมาะสม จะทำให้ได้เทคโนโลยีในการผลิตพริกที่สามารถแก้ปัญหาการผลิตของเกษตรกรได้ในที่สุด

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ พิจิตร 1, พิจิตร 06, พิจิตร 007, พิจิตร 25-1-2-1, พิจิตร 15-1-1-1, พิจิตร 0015, พิจิตร 0019, พิจิตร 18-1-1-1, 14-10-7-4-4, 17-15-9-1-8, BC3F6, CM 334, PBC 137, PI 201232, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 1201234, PI 189550, และ PI 1201238
2. สายพันธุ์พริกชี้ฟ้า พันธุ์พิจิตร 05 ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และให้ผลผลิตสูง 1 สายพันธุ์
3. อุปกรณ์ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส
4. เชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง
5. วัสดุปลูกพริก และเพาะกล้าพริก
6. พาชนะปลูก กะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า
7. อุปกรณ์ ผสมดอก

8. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์

9. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

วิธีการ

1. การทดลองเพื่อคัดสายพันธุ์ isolate ที่รุนแรงของเชื้อสาเหตุ โรคแอนแทรกโนส

คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีการระบาดรุนแรงทำความเสียหายในแปลงปลูกพริก 2 species คือ *C. gloeosporioides และ C. Capsici* เพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนส โดยทดสอบใช้ พริกสายพันธุ์ พิจิตร 06 ซึ่งพบในเบื้องต้นพบว่ามีความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนส *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ตามลำดับ จำนวน เพื่อใช้ในการทดลอง โดยวิธีการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส (isolates) *C. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ต่างๆ ที่มี ใน collectionปลูกพริกบนฝักพริก ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดลองเพื่อคัดสายพันธุ์พริก ที่ต้านทานโรคแอนแทรกโนส

1. ปลูกสายพันธุ์พริกที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

2. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

3. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริก บนฝักพริกที่ได้จากข้อ 2 จำนวน 20 สายพันธุ์ (ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4. ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) ซ้ำ อีก 1 ครั้งเพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรค เพื่อยืนยันและลดความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้น

5. คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่แสดงอาการ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส เป็นผลจากการทดลองข้อที่ 4 และ5

3. การทดสอบการผสมข้ามสายพันธุ์พริกที่ต้านทานโรคแอนแทรกโนส และสร้างลูกผสม

6. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ พิจิตร 05 ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี โดยให้พันธุ์ที่ต้านทานแอนแทรคโนส จากข้อ 5 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์พริกชี้ฟ้า พันธุ์พิจิตร 05 ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำเป็นสายพันธุ์แม่

7. สายพันธุ์ที่สามารถผสมข้ามได้ จะนำมาใช้ในโครงการ โดยลูกสมที่ได้ จากข้อ 6 จะเป็นชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1

8. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้าที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

9. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

10 ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริกบนฝักพริกที่ได้จากต้น ข้อที่ 9 (ใช้วิธีการทดสอบ และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

4. การสร้างลูกผสม BC1

11. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม F1

12. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

13. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

14. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์แม่เป็นเกณฑ์

15. ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสของลูกผสม BC1 ที่คัดเลือกจาก ข้อ 14 โดยใช้เชื้อราสาเหตุ 2 สายพันธุ์ (isolates) ข้อที่ 13 (ใช้วิธีการทดสอบ ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

16. ปลูกพริกที่ได้คัดเลือกจากข้อ 13 และ 14 ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1

17. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

5. การสร้างลูกผสม BC2

18. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC2โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1

19. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

20. คัดเลือกต้นพริกลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

21 ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส จากต้นที่คัดเลือก ตามข้อ 20 โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส

22. คัดเลือกต้นพริกลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

23. ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสจากต้นที่คัดเลือกจากข้อ 20 โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรคแอนแทรคโนส

20. ปลูกขยายพันธุ์ ลูกผสม BC2 ที่ผ่านการคัดเลือกจาก ข้อ 20 และ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส เพื่อตรวจสอบความสม่ำเสมอ ต่อไป เพื่อการทดสอบลักษณะต่างๆทางพืชสวนต่อไป

23. ปลูกทดสอบในแปลงทดสอบและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ ที่ได้ ด้านผลผลิตและต้านทานโรคแอนแทรคโนส

24. ปลูกทดสอบในแปลงเกษตรกรและประเมินศักยภาพของสายพันธุ์ด้านผลผลิต และต้านทานแอนแทรคโนส

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการดำเนินการ ตุลาคม 2549-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีความรุนแรง 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่ระบาดในพื้นที่ปลูกพริก เพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนสเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรกโนส ที่

ทดสอบโดยใช้ สายพันธุ์พิจิตร 06 (ซึ่งพบในการทดสอบเบื้องต้นว่าอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสอย่างมาก) เป็นสายพันธุ์ทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุ ผลการทดลองพบว่า isolate C-60 และ C-56 มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคเป็นตัวแทนของเชื้อราสาเหตุ *C. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดสอบปฏิกิริยาของพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริกจากสายพันธุ์ที่ได้เป็นพันธุ์แนะนำที่มีในประทศและ สายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ ประเทศไต้หวัน (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *C. gloeosporioides* (C60) *และ C. capsici* (C56) ที่มีความรุนแรง ที่ได้จาก 1.1โดยใช้กรรมวิธีการประเมินความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก ในสภาพห้องปฏิบัติการ และทดลองซ้ำ 2 ครั้ง และเพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองพบว่ามี 2 สายพันธุ์ “PBC 932 และ PBC 81” ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยสายพันธุ์ดังกล่าวได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)

3. ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทาน “PBC 932 และ PBC 81” กับ สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นพันธุ์แนะนำ ซึ่งใช้เป็นแม่พันธุ์ คือ พิจิตร 05 พบว่า PBC 932 เท่านั้นสามารถกระทำได้ และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับ พิจิตร 05

4. การทดสอบลูกผสม F1 ที่ได้จาก 1.3 ที่ได้ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ได้ผลพริก เพื่อใช้ในการทดสอบปฏิกิริยากับโรคแอนแทรคโนส 2 isolates ที่รุนแรง *C. gloeosporioides* และ *C. Capsici* (isolate C-60 และ C-56) ของลูกผสม F1 จากการทดลองพบว่า พริกในช่วงการเจริญเติบโต F1 ไม่มีพริกต้นใดในช่วงการเจริญเติบโตนี้แสดงคุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate เมื่อเปรียบเทียบกับ สายพันธุ์ พ่อ PBC 932 ผลการทดลอง ตามตารางที่ 3

5. การสร้างลูกผสม BC1 โดยผสมข้ามโดยใช้สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 05 ผสมกลับกับสายพันธุ์พริกลูกผสม F1 ที่ได้ เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่ พิจิตร 05 ลงในลูกผสม และปลูกลูกผสม BC1 ที่ได้ เพื่อให้เกิดการกระจายตัว และ ทำการคัดเลือกลูกผสม ในด้านคุณสมบัติทาง agronomic เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 05 และจะได้ทดสอบปฏิกิริยาของ ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก กับโรคแอนแทรกโนส ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดเลือกต้นที่มีคุณสมบัติต้านทานโรคและ ทีคุณสมบัติทาง agronomic เทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 05 ในต้นปีงบประมาณ 2551

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีความรุนแรง 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่ระบาดในพื้นที่ปลูกพริก เพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนสเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรกโนส ที่ทดสอบโดยใช้ สายพันธุ์พิจิตร 06 (ซึ่งพบในการทดสอบเบื้องต้นว่าอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสอย่างมาก) เป็นสายพันธุ์ทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุ ผลการทดลองพบว่า isolate C-60 และ C-56 มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคเป็นตัวแทนของเชื้อราสาเหตุ *C. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดลองเพื่อหาพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริกจากสายพันธุ์ที่ได้เป็นพันธุ์แนะนำที่มีในประทศและ สายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ ประเทศไต้หวัน (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์แนะนำที่มีในประทศ. พิจิตร 06, พิจิตร 05, พิจิตร 1, พิจิตร 007, 05-13-4-5-7, 17-6-10-3-3, 8-6-10-1-2, 14-6-4-4-4, 10-2-8-8-10, สายพันธุ์จาก AVRDC ประกอบด้วย BC3F6, CM 334, PBC 137, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 201232, PI 1201234, PI 1201238 PI 189550, CNPH 703 กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* (C60) และ *C. Capsici* (C56) ที่มีความรุนแรง ที่ได้จาก 1.1โดยใช้กรรมวิธีการประเมินความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก ในสภาพห้องปฏิบัติการ และทดลองซ้ำ 2 ครั้ง และเพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองพบว่ามี 2 สายพันธุ์ “PBC 932 และ PBC 81” ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส (ตารางที่ 2) สายพันธุ์ดังกล่าวได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)

3. ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทาน “PBC 932 และ PBC 81” กับ สายพันธุ์พริกชี้ฟ้า พันธุ์พิจิตร 05 ที่เป็นพันธุ์แนะนำ พบว่า PBC 932 เพียงสายพันธุเดียวที่สามารถผสมข้าม กับพิจิตร 05 และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับ พิจิตร 05

4. การทดสอบลูกผสม F1 ที่ได้จาก 1.3 ที่ได้ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ได้ผลพริก เพื่อใช้ในการทดสอบปฏิกิริยากับโรคแอนแทรคโนส 2 isolates ที่รุนแรง *C. gloeosporioides* และ *C. Capsici* (isolate C-60 และ C-56) ของลูกผสม F1 จากการทดลองพบว่า พริกในช่วงการเจริญเติบโต F1 ไม่มีพริกต้นใดในช่วงการเจริญเติบโตนี้ แสดงคุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate เมื่อเปรียบเทียบกับ สายพันธุ์ พ่อ PBC 932 ผลการทดลอง ตามตารางที่ 3

5. การสร้างลูกผสม BC1 โดยผสมข้ามโดยใช้สายพันธุ์พริกชี้ฟ้า พันธุ์พิจิตร 05 ผสมกลับกับสายพันธุ์พริกลูกผสม F1 ที่ได้ เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่ พิจิตร 05 ลงในลูกผสม และปลูก

ลูกผสม BC1 ที่ได้ เพื่อให้เกิดการกระจายตัว และ ทำการคัดเลือกลูกผสม ในด้านคุณสมบัติทาง agronomic เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 05 และจะได้ทดสอบปฏิกิริยาของ ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก กับโรคแอนแทรกโนส ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดเลือกต้นที่มีคุณสมบัติ ต้านทานโรคและ ทีคุณสมบัติทาง agronomic เทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 05 ในต้นปีงบประมาณ 2551

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ได้สายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดอาการรุนแรงของโรค 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides* (isolate ที่ C-60) และ *C. capsici* (isolate ที่ C-56) เพื่อใช้ในการคัดเลือกต้นต้านทานในโครงการ

2. ได้สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส เพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์ในการถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคแอนแทรคโนสสู่สายพันธุ์ที่ดี คือ สายพันธุ์ PBC 932 และ PBC 81 แต่จากการทดลองความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคเพื่อสร้างลูกผสมนั้นพบว่า PBC 932 เพียงสายพันธุ์เดียว ที่สามารถผสมข้ามได้ และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับสายพันธุ์พริกชี้ฟ้า พันธุ์พิจิตร 05

3. จากการทดสอบคุณสมบัติในการต้านทานต่อ โรคแอนแทรคโนส กับ ลูกผสม F1 พบว่าไม่พบลูกผสมต้นใดใน ชั่วการเจริญเติบโต F1 แสดงอาการต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส ซึ่งในเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่า ลักษณะต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ควรจะควบคุมด้วยยีนด้อย ซึ่งจะเป็นแนวทางในความเข้าใจการทำงานของระบบของพันธุกรรมได้ และเป็นแนวทางในการดำเนินงานในงานวิจัยต่อไป

4. ลูกผสม BC1 เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่เข้าไปในลูกผสม นอกเหนือจากที่ได้ถ่ายทอดลักษณะต้านทาน และจะทำการคัดเลือกทั้งลักษณะต้นและผลลิต เปรียบเทียบกับ สายพันธุ์แม่ และความต้านทานโรคแอนแทรกโนส เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อ ในปีงบประมาณ 2551

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส isolate ต่างๆ กับสายพันธุ์ พิจิตร 06 หลังบ่มไว้ 5 วัน

	หมายเลขเชื้อ	Species identify	สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบความรุนแรงของเชื้อสาเหตุ	ความสามารถในการทำให้เกิดโรค*
1	C1101	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
2	C1241	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
3	C1240	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
4	C 1185	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.2
5	**C 60**	***C. gleosporoides***	**พิจิตร 06**	**2.6**
6	C 065	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.9
7	C 1113	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
8	C 1088	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
9	C 082	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	1.0
10	C 1181	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
11	C56/1	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
12	C 024	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
13	C 078	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
14	**C 56**	***C. capsici***	**พิจิตร 06**	**2.1**
15	C 1184	*C. capsici*	พิจิตร 06	0.5

* ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ตารางที่ 2 ปฏิกิริยาตอบสนองของสายพันธุ์พริก ในการทดสอบความต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส โดยใช้ฝักเขียว กับ เชื้อราสาเหตุ *Colletotrichum. capsici* และ *C. gloeosporioides*

สายพันธุ์	*C. capsici*	*C. gloeosporioides*	Sources
	C56	C60	
พิจิตร 06	1.7	2.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 1	2.3	1.9	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 007	1.9	1.6	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 25-1-2-1	0.8	1.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 15-1-1-1	1.2	1.4	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 0015	1.5	0.9	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 0019	1.2	0.3	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
พิจิตร 18-1-1-1	1.5	2.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
14-10-7-4-4	0.9	0.7	พืชสวนกาญจนบุรี
17-15-9-1-8	0.9	1.3	พืชสวนกาญจนบุรี
BC3F6	0.9	1.3	AVRDC
CM 334	0.1	0.9	AVRDC
PBC 137	1.9	1.8	AVRDC
PI 201232	1.8	1.2	AVRDC
PBC 81	1.1	0.96	AVRDC
PM 331	1.4	0.8	AVRDC
PI 1201234	1.6	0.9	AVRDC
PI 189550	1.2	1.3	AVRDC
PI 1201238	1.5	1.2	AVRDC
PBC 932	0.3	0.2	AVRDC

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. ผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ยของแผลของโรคที่เกิดจากการปลูกเชื้อจาก การทดลองซ้ำ 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส isolate และ ของสายพันธุ์พริก ที่ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ และลูกผสมพริกในช่วงการเจริญเติบโต F1

F1 (พิจิตร 05x PBC 932)		PBC 932		พิจิตร 06	
C-56 cap	C-60	C-56	C-60	C-56	C-60
1.7	2.0	0. 3	0.1	2.1	2.5
2.0	2.0	0.1	0.4	1.6	2.0
1.7	2.0	0.2	0.1	1.6	1.8
1.9	2.0	0	0.2	1.4	2.0
1.9	2.5	0	0	1.7	2.0
2.0	1.8	0.1	0.2	1.2	1.9
1.8	2.2	0.1	0.3	1.9	2.6
2.0	2.4	0.2	0.4	1.5	1.2
1.8	1.5	0.1	0.1	1.3	2.0
2.6	1.9	0.1	0.3	1.7	1.6
1.8	2.0	0.1	0.2	1.0	1.8
2.5	2.5	0.2	0.1	2.2	1.9
2.2	2.1	0.1	0	2.4	2.0
1.7	2.0	0	0.2	1.8	1.5
2.4	2.5	0	0.1	1.7	1.9
1.8	1.6	0.1	0.4	2.0	2.5
1.7	2.0	0	0.3	1.4	1.6
2.2	2.5	0	0.1	1.2	1.5
0.9	2.0	0.2	0.1	0.9	1.5
1.6	2.4	0	0.1	1.1	2.0

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. * ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

คำขอบคุณ

การทดลองได้รับความร่วมมืออย่างดีในการให้คำแนะนำ สายพันธุ์ต้านทานโรค เทคนิคในการวิจัย และความช่วยเหลือในการทดลองจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

บุญญวดี จิระวุฒิ 2540. การให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริกและการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช 66 หน้า

สมศิริ จิ๋วสกุล 2521. เซรุ่มวิทยา การถ่ายทอดทางเมล็ดของโรคแอนแทรคโนสของพริกและประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมโรคบนใบ

อรพรรณ วิเศษสังข์ จุมพล สาระนาค วิชิต จรัสเจษฎาและ ลักษณา วรรณภีร์ 2525. ปฏิกิริยาของพริก บางพันธุ์ต่อโรคแอนแทรคโนส รายงานผลการทดลอง สาขาโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

Gniffke P. 2003 Host resistance to antracnose , AVRDC. Progress Report 2002. Shanhua, Taiwan: AVRDC – the World Vegetable Center. pp. 29–30

Jae Bok Yoon 2003 Identification of Genetics Resources, Interspecific Hybridization and Inheritance Analysis for Breeding Pepper (*Capsicum annum*). Dessertation , Graduate School Seoul National University.

Pakdeevaraporn P., S. Wasee, P. W. J. Taylor, O. Mongkolporn 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum* Plant Breeding 124 (2), 206–208.

การบริหารจัดการโรคใบหงิกเหลืองของพริก

Pest Management for Yellow Leaf Curl Disease on Chili

วันเพ็ญ ศรีทองชัย อำนวย อรรถลังรอง อุดม คำซา สมพงษ์ สุขเขตต์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ไอโซเลทของพริกใบหงิกเหลืองจาก จังหวัด ศรีสะเกษ สามารถถ่ายทอดโรคใบหงิกเหลืองไปยังพริกพันธุ์ห้วยสีทน พันธุ์จินดา และมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ โดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ และอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลังการถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-5 สัปดาห์ และผลการตรวจเชื้อด้วยวิธี ELISA พบว่า เป็นไวรัส *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) ซึ่งใช้เป็นแหล่งของเชื้อในทดสอบประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรค จากการทดลองพบว่าพืชอาศัยของโรคใบหงิกเหลืองพริก ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเทศ ฟักทอง มะเขือยาว cv. Pink Diana, Bonne และ ยาสูบใบเล็ก แต่ไวรัสไม่ถ่ายทอดไปยังแตงกวาบางพันธุ์ วัชพืชที่อยู่รอบแปลงปลูกพริก ได้แก่ สาบแร้งสาบกา ขี้กาขาว และเขียวไข่กา เป็นพืชอาศัยของไวรัสใบหงิกเหลืองพริก จากการทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองของสายพันธุ์/พันธุ์พริก พบว่า พริกหัวเรือ # 13 , 25 พริกพันธุ์ยอดสน ศก 110, 175 และพริกขี้หนูเลย ต้านทานต่อโรคได้ดีกว่า พริกห้วยสีทน พริกจินดา และ พริกขี้หนู # 5 และวางแผนทดสอบความต้านทานของพริกพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนทาน/ต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองในสภาพแปลงของฤดูถัดไป

รหัสโครงการ 01-16-49-01

คำนำ

โรคใบหงิกเหลืองของพริกที่เกิดจากไวรัส สังเกตพบในประเทศไทยมานานแล้ว เดิมเข้าใจว่าเกิดจากแมลงจำพวกเพลี้ยไฟ ไรขาว และเพลี้ยอ่อนเท่านั้น แต่จากการสำรวจโรคไวรัสของพริกในปี พ.ศ. 2534 (เครือพันธุ์ และ นวลจันทร์, 2534) และตรวจหาไวรัสจำนวน 8 ชนิด โดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) กลับไม่พบไวรัสเหล่านั้น ในตัวอย่างโรคที่แสดงอาการใบด่างขีดหรือหย่อมโปร่งแสงระหว่างเส้นใบ เส้นใบเหลือง ใบเล็ก โค้งงอ หดย่นบิดเบี้ยว ยอดเป็นกระจุกและต้นแคระแกร็น ซึ่งอาการของโรคดังกล่าวพบในทุกแหล่งปลูกแทบทุกแห่งในอัตรา 10-100 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจเอกสารพบว่า มีโรคใบหงิกของพริกแพร่ระบาดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียตะวันออก เช่น ในประเทศอินเดีย (Mishra *et al.,* 1963) และศรีลังกา (Sugiura *et al.,* 1975) โดยเฉพาะในหลายท้องที่ของอินเดียตอนเหนือ โรคนี้ทำให้ผลผลิตเสียหายถึง 80 % อาการของโรคนี้ ได้แก่ ต้นเตี้ยแคระแกรน ใบหงิกย่นม้วนงอและด่างเขียวอ่อนหรือเหลือง ใบแก่มีลักษณะเหมือนหนังและเปราะฉีกขาดง่าย โรคใบหงิกเหลืองพบระบาดในแหล่งปลูกพริกทั่วไปของประเทศ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดกาฬสินธุ์ สกลนคร ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี ซึ่งทำความเสียหายต่อการปลูกพริกอย่างรุนแรงถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะกล้า โดยพริกแสดงอาการใบด่างหงิกเหลือง ต้นแคระแกร็น และผลผลิตลดลงถึง 80% โรคนี้เกิดจากไวรัสใบหงิกเหลืองพริก (Pepper yellow leaf curl virus, PeYLCV) มีอนุภาคเป็นรูปทรงกลม อยู่ติดกันเป็นคู่ๆ ขนาดประมาณ 18 x 30 นาโนเมตร จัดอยู่ในสกุลบีโกโมไวรัส (*Begomovirus*) (เครือพันธุ์ และ วันเพ็ญ, 2545)

ในการบริหารจัดการโรคให้มีประสิทธิภาพสูง จำเป็นต้องอาศัยข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของพืชอาศัยทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจและวัชพืชของโรคนี้ ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของไวรัสและแมลงพาหะ และถ้าได้สายพันธุ์/พันธุ์พริกที่มีแนวโน้มว่าทนทานหรือต้านทาน จะยิ่งช่วยให้อัตราการแพร่ระบาดในแปลงปลูกลดลงอย่างมาก และทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพตามที่ตลาดต้องการ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงหวี่ขาวที่ปลอดไวรัส
2. ต้นมะเขือสำหรับเลี้ยงแมลงหวี่ขาว
3. พืชอาศัยในพืชผักและพืชไร่ตระกูลต่างๆ
4. พริกสายพันธุ์/พันธุ์ต่างๆจากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และพิจิตร
5. อุปกรณ์ในการถ่ายทอดไวรัสโดยแมลงหวี่ขาว

6. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

วิธีการ

1. แหล่งของเชื้อไวรัส

เก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการใบหงิกเหลืองจากแปลงเกษตรกร ในจังหวัด ศรีสะเกษ จากนั้นนำมาถ่ายทอดโรคลงบนพริก โดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ หลังจากพืชทดสอบแสดงอาการของโรคแล้ว จึงนำมาตรวจสอบชนิดของไวรัสโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา คือ ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) กับโมโนคลอนอลแอนติบอดี(Mab) ของเจมินีไวรัส 2 ชนิด ได้แก่ M1 (ทำปฏิกิริยาเฉพาะกับไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ, TYLCV) และ D2 (ทำปฏิกิริยากับเจมินีไวรัสทุกชนิด) ขั้นตอนการตรวจสอบไวรัสโดยวิธี ELISA มีดังนี้

1. เคลือบเพลท (microplate, Nunc) ด้วยโพลีคลอนอลแอนติบอดีของ pumpkin yellow leaf puckering virus (PYLPV) อัตรา 1:5,000 ใน 0.05 M carbonate buffer pH 9.6 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 2 ชั่วโมง

2. ล้างเพลทด้วย washing buffer (phosphate buffer saline, PBS + 0.05% Tween 20) 4 ครั้งๆละ 3 นาที

3. หยอด 2% BSA (Albumin, Bovine Fraction V) ใน washing buffer หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

4. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

5. หยอดน้ำคั้นพืชที่ต้องการตรวจสอบ (บดใบพืช 1 กรัมใน 2.5 มิลลิลิตรของ 0.05 M Tris-HCl, 0.06 M sodium sulphite, pH 8.5 ปั่นที่ 10,000 rpm นาน 5 นาที เก็บน้ำใส) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

6. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

7. หยอดโมโนคลอนอลแอนติบอดี (M1 & D2) อัตรา 1: 200 ใน 0.5% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

8. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

9. หยอด goat anti-mouse conjugate alkaline phosphatase อัตรา 1:2,000 ใน 0.05% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

10. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

11. หยอด substrate (p-nitrophenyl phosphate) ใน diethanolamine buffer อัตรา 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อ่านผลด้วยเครื่องอ่าน ELISA ที่ 405 nm

2. ศึกษาพืชอาศัยในพืชผักและพืชไร่ตระกูลต่างๆ โดยใช้แมลงหวี่ขาวในการถ่ายทอดโรค

เพาะเมล็ด พืชตระกูลแตง และ พืชตระกูลถั่ว หลังจากแตกใบจริงคู่แรก นำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลือง โดยให้แมลงหวี่ขาวรับเชื้อและถ่ายทอดเชื้อนาน 48 ชั่วโมง จำนวน 40 ตัว/ต้น 20 ต้น/พันธุ์ ถ้าต้นใดไม่แสดงอาการของโรค นำมาตรวจสอบด้วยวิธี ELISA กับโมโนคลอนอลแอนติบอดี M1

3. ตรวจหาเชื้อสาเหตุของวัชพืชที่แสดงอาการใบหงิกเหลืองที่เก็บมาจากแปลงปลูกพริกในแหล่งปลูกต่างๆ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

เก็บตัวอย่างวัชพืชชนิดต่างๆทั้งในและรอบแปลงปลูกพริกในแหล่งปลูกพริก จากนั้นนำมาตรวจสอบโดยเทคนิค ELISA โดยให้ทำปฏิกิริยากับโมโนคลอนอลแอนติบอดี M1

4. ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองของพริกพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้แมลงหวี่ขาวในการถ่ายทอดโรคในเรือนทดลอง

เพาะเมล็ดพริกพันธุ์ต่างๆ ที่นิยมปลูกเป็นการค้า หลังจากนั้นประมาณ 40 วัน นำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลือง โดยให้แมลงหวี่ขาวรับเชื้อและถ่ายทอดเชื้อนาน 48 ชั่วโมง จำนวน 40 ตัว/ต้น 20 ต้น/พันธุ์ ถ้าต้นใดไม่แสดงอาการของโรค นำมาตรวจสอบด้วยวิธี ELISA กับโมโนคลอนอลแอนติบอดี M1

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2549 - กันยายน 2551
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. แหล่งของเชื้อไวรัส

ไอโซเลทของพริกใบหงิกเหลืองจาก จังหวัดศรีสะเกษ (SSK2) สามารถถ่ายทอดโรคใบหงิกเหลืองไปยังพริกพันธุ์ห้วยสีทน โดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ และอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลังการถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-4 สัปดาห์ และผลการตรวจเชื้อด้วยวิธี ELISA พบว่าเป็นไวรัส *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV)

2. ศึกษาพืชอาศัยในพืชผักและพืชไร่ตระกูลต่างๆ โดยใช้แมลงหวี่ขาวในการถ่ายทอดโรค

จากการทดลองพบว่าพืชอาศัยของโรคใบหงิกเหลืองพริก ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเทศ ฟักทอง มะเขือยาว cv. Pink Diana, Bonne และ ยาสูบใบเล็ก แต่ไวรัสไม่ถ่ายทอดไปยังแตงกวา

พืชทดสอบ	ลักษณะอาการของโรค
- *Abelmoschus esculentus*	
cv. Pichit 03	CS , VY
Spring Pearl	CS
- *Capsicum annuum*	
cv. Chinda	LC, CK, YM
Huay Sithon	LC, GN, YM
Huareua	WM, LC
Superhot	LC, Mo
- *Cucumis sativus*	
cv. Pichit	CS
Plollek	-
- *Cucurbita moschata*	
cv. Rough skin	CS
Atsanee	-
-*Lycopersicon esculentum*	
T1	GN, YM, LC, LL
T2	YM, LC, LL
Sidatip II	YM, LC
Solanum melongena	
Pink Diana	CS
Bonne	CS
Machiaw	CS

CK = Crinkle leaf (ใบเป็นคลื่น)

CS = Chlorotic spot (จุดเหลือง)

GN = Green netting (เส้นใบสานเป็นร่างแห สีเขียวอ่อน)

LC = Leaf curl (ใบม้วนงอ)

LL = Little leaf (ขนาดใบเล็กลง)

Mo = Mottle (ด่างไม่ชัดเจน)

M = Mosaic (ด่างชัดเจน)

VB = Vein banding (แถบสีเขียวตามเส้นใบ)

VY = Vein yellowing (เส้นใบเหลือง)

YM = Yellow mosaic (ใบด่างเหลือง)

3. ตรวจหาเชื้อสาเหตุของวัชพืชที่แสดงอาการใบหงิกเหลืองที่เก็บมาจากแปลงปลูกพริกในแหล่งปลูกต่างๆ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

ผลการตรวจสอบวัชพืชโดยวิธี ELISA พบว่า สาบแร้งสาบกา ขี้กาขาว และเขียวไข่กา เป็นพืชอาศัยของไวรัสใบหงิกเหลืองพริก

4. ทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองของพริกพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้แมลงหวี่ขาวในการถ่ายทอดโรคในเรือนทดลอง

ตารางที่ 5. ปฏิกิริยาของพริกพันธุ์ต่างๆต่อไวรัสใบหงิกเหลืองพริก

พันธุ์พริก	ลักษณะอาการของโรค (จำนวนต้นเป็นโรค/จำนวนตันทั้งหมด)
พันธุ์จินดา	LC, CK, YM (16/20)
พันธุ์ห้วยสีทน	LC, GN, YM (19/20)
พันธุ์หัวเรือ	WM, LC (8/20)
พันธุ์ซุปเปอร์ฮอท	LC, Mo (14/19)
พริกหนุ่ม	LC (5/20)

พริกขี้หนู # 5 กาญจนบุรี	YM, LC, CK (18/20)
พริกหัวเรือ # 13	YV (1/19)
พริกหัวเรือ # 25	YV, YSp (2/19)
ยอดสน ศก. 9-4-1	YM (2/13)
ยอดสน ศก. 175-1	YM (3/19)
2-ศก 19-4-1	YM, LC (1/20)
1-ศก 10-2-2	YM (2/11)
ขี้หนูเลย 95-1	YV (1/16)

CK = Crinkle leaf (ใบเป็นคลื่น)

CS = Chlorotic spot (จุดเหลือง)

GN = Green netting (เส้นใบสานเป็นร่างแห สีเขียวอ่อน)

LC = Leaf curl (ใบม้วนงอ)

LL = Little leaf (ขนาดใบเล็กลง)

Mo = Mottle (ด่างไม่ชัดเจน)

M = Mosaic (ด่างชัดเจน)

VB = Vein banding (แถบสีเขียวตามเส้นใบ)

VY = Vein yellowing (เส้นใบเหลือง)

YM = Yellow mosaic (ใบด่างเหลือง)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไอโซเลทของพริกใบหงิกเหลืองจาก จังหวัด ศรีสะเกษ สามารถถ่ายทอดโรคใบหงิกเหลืองไปยังพริกพันธุ์ห้วยสีทน พันธุ์จินดา และมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ โดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ และอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลังการถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-5 สัปดาห์ และผลการตรวจเชื้อด้วยวิธี ELISA พบว่า เป็นไวรัส *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) ซึ่งใช้เป็นแหล่งของเชื้อในทดสอบประสิทธิภาพในการถ่ายทอดโรค จากการทดลองพบว่าพืชอาศัยของโรคใบหงิกเหลืองพริก ได้แก่ กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเทศ ฟักทอง มะเขือยาว cv. Pink Diana, Bonne และ ยาสูบใบเล็ก แต่ไวรัสไม่ถ่ายทอดไปยังแตงกวาบางพันธุ์ วัชพืชที่อยู่รอบแปลงปลูกพริก ได้แก่ สาบแร้งสาบกา ขี้กาขาว และเขียวไข่กา เป็นพืชอาศัยของไวรัสใบหงิกเหลืองพริก จากการทดสอบความต้านทานต่อ

โรคใบหงิกเหลืองของสายพันธุ์/พันธุ์พริก พบว่า พริกหัวเรือ # 13 , 25 พริกพันธุ์ยอดสน ศก 110, 175 และพริกขี้หนูเลย ต้านทานต่อโรคได้ดีกว่า พริกห้วยสีทน พริกจินดา และ พริกขี้หนู # 5 และวางแผนทดสอบความต้านทานของพริกพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนทาน/ต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองในสภาพแปลงของฤดูถัดไป

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ นวลจันทร์ ดีมา. 2534. การศึกษาโรคไวรัสของพริกในบางแหล่งปลูกของประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2534. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 36-41.

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

Mishra, M.D., S.P. Raychaudhuri and A. Jha.1963. Virus causing leaf curl of chilli (*Capsicum annuum* L.) *Indian J. Microbiol.2*: 73-76.

Sugiura, M, C.M. Bandaranayke and G.H. Hemashandra. 1975. Chilli virus diseases in Sri Lanka. Trop. Agric. Res. Cent. Ministry of Agric. And Forestry, Japn. Tech. Bull. 8: 62.

ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการควบคุมวัชพืชสำคัญในพริกขี้หนู

Efficacy of Herbicides on Control Serious Weeds in Bird Chilli..

เสริมศิริ คงแสงดาว รักชัย คุรุบรรเจิดจิตร[1]

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดลองดำเนินการที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 14 กรรมวิธี คือกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 9 ชนิดพ่นก่อนย้ายปลูก 1 วัน กรรมวิธีใช้วัสดุคลุมดิน 3 ชนิด เปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และการไม่กำจัดวัชพืช ใช้ต้นกล้าพริกขี้หนูพันธุ์จินดา อายุ 55 วันย้ายปลูก ทดลองในช่วงฤดูฝน เดือนเมษายน-กันยายน 2550 ผลการทดลองพบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ควบคุมวัชพืชได้ดีคือ metribuzin, clomazone, oxadiazon, dimethenamid และ trifluralin อัตรา 119, 240, 175, 270 และ 375 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ รองลงมาตามลำดับคือ oxyfluorfen, pendimethalin, alachlor และ s-metolachlor อัตรา 58.75, 330, 336 และ 148 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ วัชพืชที่พบมากในแปลงได้แก่ ผักเบี้ยหิน ผักเสี้ยนผี หงอนไก่ป่า สาบแร้งสาบกา หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา กกทราย ผักปุ้งและแห้วหมู การเจริญเติบโตและผลผลิตพริกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การใช้แผ่นชีวมวลคลุมดินควบคุมวัชพืชได้ดี ต้นพริกเจริญเติบโตดีได้ผลผลิตพริกสูงสุด 550 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาไม่แตกต่างกันคือการใช้แกลบดำคลุมดิน และการใช้ metribuzin พ่นก่อนย้ายปลูก 1 วัน พริกเจริญเติบโตดีได้ผลผลิตพริก 380.5 และ 357.8 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนการใช้พลาสติกเทา-ดำควบคุมวัชพืชได้ดีแต่ต้นพริกโตช้า ได้ผลผลิตพริก 240.8 กิโลกรัมต่อไร่ สารกำจัดวัชพืชที่ได้ผลผลิตรองลงมาคือ pendimethalin ได้ผลผลิตใกล้เคียงกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน การไม่กำจัดวัชพืชมีวัชพืชมากที่สุดและได้ผลผลิตต่ำสุด 50.2 กิโลกรัมต่อไร่

รหัสโครงการ 01-16-49-01

1 ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

คำนำ

พริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* L.) มีชื่อสามัญว่า Hot pepper หรือ Bird Chilli อยู่ในวงศ์ Solanaceae เป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของไทย ปลูกเป็นการค้าและส่งออกต่างประเทศมากจำหน่ายทั้งพริกสดและพริกแห้ง การผลิตพริกให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี วัชพืชเป็นศัตรูแก่งแย่งปัจจัยในการเจริญเติบโตตั้งแต่เริ่มปลูก วัชพืชยังเป็นแหล่งอาศัยของโรค แมลงศัตรูพืช ทำให้ผลผลิตด้อยคุณภาพ ต้องมีการวางแผนจัดการวัชพืชล่วงหน้า David (2005) แนะนำให้ใช้ clomazone และ trifluralin พ่นก่อนย้ายปลูก Smith (2005) แนะนำว่าในช่วงก่อนปลูก ควรพ่น oxyfluorfen เพื่อคุมการงอกของวัชพืช ผลงานที่ผ่านมา

ในปี 2547-2548 การทดลองของเสริมศิริ และคณะ ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนหนองคาย พบว่าการใช้ใบหญ้าคาหรือหญ้าแฝกคลุมดินร่วมกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานควบคุมวัชพืชได้ดี ในสภาพพื้นที่มีปัญหาวัชพืชใบกว้างมาก 95.3 เปอร์เซ็นต์ สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกที่ได้ผลดี คือ metribuzin และ oxyfluorfen อัตรา 84 และ 48 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่นก่อนย้ายปลูก 1 วันเมื่อใช้ต้นกล้าพริกขี้หนูพันธุ์ศรีสะเกษ 1 อายุ 62 วัน ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกชนิดเลือกทำลายวัชพืชวงศ์หญ้า พบว่า fluazifop-p-butyl, cyhalofop, fenoxaprop-p-ethyl, propaquizafop, cletodim, quizalofop-p-tefuryl และhaloxyfop-Rmethyl ester อัตรา 30, 25, 15, 14, 18, 15 และ 13.5 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ตามลำดับ ใช้พ่นหลังจากย้ายปลูก 20 วัน ไม่เป็นพิษต่อต้นพริก ใช้ต้นกล้าพริกขี้หนูพันธุ์ศรีสะเกษ 1 อายุ 56 วัน

ในปี 2549 การทดลองของเสริมศิริ และปัญญา ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี ใช้ต้นกล้าพริกขี้หนูพันธุ์ซูเปอร์ฮอท อายุ 55 วัน ตัดยอดก่อนย้ายปลูก พบว่าในสภาพพื้นที่มีปัญหาวัชพืชใบแคบมาก 98 เปอร์เซ็นต์ สาร paraquat พ่นกำจัดก่อนปลูก สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกที่ควบคุมวัชพืชได้ดี คือ dimethenamid และ clomazone อัตรา 243 และ 172.8 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน พบว่าการใช้ metribuzin อัตรา 105 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วัน การใช้ pendimethalin อัตรา 264 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่พ่นทันทีหลังย้ายปลูกเป็นพิษเล็กน้อยต่อต้นพริก พบว่าการใช้ pendimethalin อัตรา 264 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่พ่นก่อนย้ายปลูก 7 วันได้ผลผลิตพริกสูงสุด 1,631 กิโลกรัมต่อไร่

การทดลองของเสริมศิริ และรักชัย ปี2549 ที่แปลงทดลองศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตสุโขทัย2 (ท่าชัย) วัชพืชสำคัญในแปลงหลังเตรียมดินก่อนการทดลองคือแห้วหมูและผักปลาบ ใช้สาร glyphosate พ่นกำจัดก่อนปลูก ใช้ต้นกล้าพริกขี้หนูพันธุ์จินดา อายุ 97 วัน ตัดยอดก่อนย้ายปลูก วัชพืชสำคัญในแปลงขณะทดลองเป็นวัชพืชใบกว้างคือ Lindernia crustacean (L.) F. Muell พบ 62.4 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ ผลการทดลองพบว่า clomazone, oxadiazon,

oxyfluorfen, dimethenamid อัตรา 172.8, 160, 58.75, 243 กรัมai./ไร่ พ่นทันทีก่อนย้ายปลูก และ dimethenamid อัตรา 243 กรัมai./ไร่ พ่นทันทีหลังย้ายปลูก ไม่เป็นพิษต่อต้นพริก ส่วนวิธีการที่เป็นพิษต่อต้นพริกเล็กน้อยคือ metribuzin, pendimethalin, trifluralin และ alachlor อัตรา 119, 297, 384 และ 360 กรัมai./ไร่ พ่นทันทีก่อนย้ายปลูกและ pendimethalin, alachlor อัตรา 264, 360 กรัมai./ไร่ พ่นทันทีหลังย้ายปลูก ในด้านประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า dimethenamid พ่นทันทีก่อนย้ายปลูกและพ่นทันทีหลังย้ายปลูก ควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุด แปลงทดลองประสบปัญหาน้ำท่วมจึงไม่มีข้อมูลผลผลิตพริก

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อทดลองใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในพื้นที่ที่มีทั้งวัชพืชใบกว้างและวัชพืชใบแคบเป็นวัชพืชสำคัญ และปรับปรุงอัตราการใช้ให้มีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชดีขึ้น และปลอดภัยต่อต้นพริกเมื่อย้ายปลูกโดยไม่มีการตัดยอด และได้นำแผ่นชีวมวลวัสดุคลุมดินชนิดใหม่ ที่ผลิตจากเซลลูโลสมีคุณสมบัติที่น้ำและอากาศซึมผ่านได้มาทดลอง เพื่อเพิ่มทางเลือก ให้เกษตรกรในการจัดการวัชพืชในพริก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ใช้เมล็ดพริกขี้หนูพันธุ์จินดา สารกำจัดวัชพืช 9 ชนิด วัสดุคลุมดิน 3 ชนิด และเครื่องพ่นสารแบบถังโยกสะพายหลัง

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 14 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1-9 พ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกก่อนย้ายปลูก 1 วัน ได้แก่ trifluralin 48%EC, pendimethalin 33%EC, dimethenamid 90%EC, metribuzin70%WP, alachlor48%EC, s-metolachlor %EC, clomazone48%EC, oxyfluorfen 23.5%EC และ oxadiazon 25%EC อัตรา 375, 330, 270, 119, 336, 168, 240, 58.75 และ 175 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 10-12 ใช้วัสดุคลุมดิน ได้แก่ แผ่นชีวมวล พลาสติกเทา-ดำ และแกลบดำ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช

โดยทำการเพาะกล้าพริกลงในถุง ไถดะ ตากดิน พรวนย่อยหน้าดิน เก็บส่วนขยายพันธุ์ของวัชพืชออกให้หมด เตรียมแปลงย่อยขนาด 3.2x3.0 เมตร ขุดหลุมปลูก ระยะระหว่างแถว 80 เซนติเมตร ระหว่างต้น 50 เซนติเมตร กรรมวิธีที่ 1-9 พ่นสารกำจัดวัชพืชก่อนย้ายปลูก กรรมวิธีที่ 10-12 ใช้วัสดุคลุมดิน แผ่นชีวมวลต้องใช้ลวดยึดแผ่นกับผิวดิน พลาสติกเทา-ดำใช้ดินทับขอบ แกลบดำใช้จำนวน 40 ลิตรต่อตารางเมตร ใช้ต้นกล้าพริกอายุ 55 วัน ให้น้ำเข้าตามร่อง กรรมวิธีที่

13 กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 4 ครั้งเมื่อพริกอายุ 15, 30, 45 และ 60 วัน กรรมวิธีที่ 14 ไม่กำจัดวัชพืช บันทึกอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริก และประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชโดยประเมินด้วยสายตา สุ่มเก็บวัชพืชแปลงย่อยละ 2 จุดๆละ 0.5x0.5 เมตร ที่ 30 วัน บันทึกชนิด จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชกำจัดวัชพืชทั้งหมดออกจากแปลงที่ 40 วัน บันทึกเวลาที่ใช้ในการกำจัดวัชพืชแต่ละแปลงย่อย วัดการเจริญเติบโตต้นพริกที่ 45 วันหลังย้ายปลูก เริ่มเก็บเกี่ยวพริกที่อายุ 65 วัน บันทึกจำนวนผล น้ำหนักสดผลผลิตพริกสด และน้ำหนักต้นพริก

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือนเมษายน ถึง เดือนกันยายน 2550 ที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ชนิดและปริมาณวัชพืชที่ 30 วันหลังย้ายปลูก พบวัชพืช 326.6 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบกว้าง 60.81 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* L.) ผักเสี้ยนดอกม่วง (*Cleome rutidosperma* DC.) สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* Linn.) ผักเป็ด (*Alternanthera sessilis* L.DC) วัชพืชใบแคบ 34.72 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.) Link.) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gard.&Hubb.) วัชพืช กก 4.47 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ กกทราย (*Cyperus iria* Linn.) และแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)

อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นพริกเมื่อพ่น 1 วันก่อนย้ายปลูก พบว่าที่ 20 วันหลังย้ายปลูก trifluralin, pendimethalin, metribuzin, alachlor, clomazone oxadiazon อัตรา 375, 330, 119, 336, 240, 175 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ไม่เป็นพิษต่อต้นพริก เช่นเดียวกับการใช้แผ่นชีวมวลและแกลบดำคลุมดิน ส่วนการใช้ dimethenamid, oxyfluorfen และ s-metolachlor อัตรา 270, 58.75 และ 168 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่พิษต่อต้นพริกเล็กน้อย ซึ่งการใช้พลาสติกเทา-ดำคลุมดินในช่วงฤดูฝน ทำให้ต้นพริกเจริญเติบโตช้ากว่าการไม่คลุมดิน

ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ที่ 30 วันหลังย้ายปลูก ในสภาพพื้นที่ที่มีวัชพืชใบกว้างมากกว่าวัชพืชใบแคบ สารกำจัดวัชพืชที่ควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุดคือ metribuzin อัตรา 119 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ รองลงมาตามลำดับคือ pendimethalin, dimethenamid, clomazone, trifluralin อัตรา 330, 270, 240, 375 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 30 วันหลังจากปลูก (ตารางที่ 1) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ พบว่าการใช้แผ่นชีวมวลและพลาสติกเทา-ดำคลุมดินควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุดบริเวณที่คลุมไม่มีวัชพืชขึ้นเลย มีวัชพืชขึ้นเฉพาะในหลุมปลูก รองลงมาคือการใช้แกลบดำคลุมดิน ทุกกรรมวิธีที่กำจัดวัชพืชมีจำนวนต้นวัชพืชไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากการไม่กำจัดวัชพืชซึ่งมีจำนวนต้นวัชพืชสูงสุดและมีน้ำหนักแห้งสูงสุด 188.5 กรัมต่อตารางเมตร การ

กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 31.3 กรัมต่อตารางเมตร ซึ่งกรรมวิธีที่มีปริมาณวัชพืชไม่แตกต่างกันทางสถิติจากการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน คือ แกลบดำ pendimethalin, dimethenamid, clomazone, metribuzin, และ trifluralin มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 8.0, 15.1, 18.9, 29.7, 44.0 และ 45.6 กรัมต่อตารางเมตรตามลำดับ รองลงมาไม่แตกต่างกันคือ alachlor, s-metolachlor, oxadiazon และ oxyfluorfen มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 85.8, 85.8, 89.7 และ 131.5 กรัมต่อตารางเมตรตามลำดับ จากการบันทึกเวลาที่ใช้ ในการกำจัดวัชพืชที่เหลือในแปลง รวมกับเวลาที่ต้องขนวัชพืชออกมาทิ้งนอกแปลง ประกอบกับชนิดวัชพืชที่ต้องกำจัด พบว่าแปลงที่มีวัชพืชใบแคบหรือแห้วหมูมาก เวลาที่ใช้กำจัดก็จะเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 2)

การเจริญเติบโตของต้นพริกในด้านความสูงและทรงพุ่ม (ตารางที่ 3) พบว่าต้นพริกที่ใช้ metribuzin เจริญเติบโตดีที่สุดใกล้เคียงกับการใช้แผ่นชีวมวลคลุมดินและแกลบดำ แกลบดำจะช่วยบังแสงไม่ให้ส่องถึงผิวหน้าดินแล้ว และมีความพรุนช่วยระบายความชื้นได้ดี ซึ่งในช่วงฤดูฝนความเย็นช่วยลดความร้อนของแกลบดำได้ดี ส่วนการใช้พลาสติกเทา-ดำคลุมดินในช่วงฤดูฝน ทำให้ผิวหน้าดินระบายความชื้นไม่ได้ ทำให้พริกเตี้ยที่สุด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยที่การไม่กำจัดวัชพืชต้นพริกมีทรงพุ่มเล็กที่สุด

ผลผลิตพริกสด เก็บเกี่ยว 2 ครั้งคือ ที่ 65 และ 77 วัน พบว่าแผ่นชีวมวลได้ผลผลิตพริกสดสูงสุด 550 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือแกลบดำและ metribuzin ได้ผลผลิตพริกสดไม่แตกต่างกัน 380.5 และ 357.8 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน, pendimethalin, พลาสติกเทา-ดำ, dimethenamid, trifluralin, alachlor, oxadiazon, oxyfluorfen, s-metolachlor และ clomazone ได้ผลผลิตพริกสดไม่แตกต่างกัน 249.5, 240.8, 180.3, 177.3, 169.5, 166.3, 149.0, 106.7 และ 100.2 กิโลกรัมต่อไร่ การไม่กำจัดวัชพืชได้ผลผลิตพริกสดต่ำสุด 50.2 กิโลกรัมต่อไร่ เนื่องจากประสบปัญหาน้ำท่วมแปลง น้ำหนักต้นสดพริกแสดงถึงขนาดต้นพริกจึงถอนต้นพริกออกจากแปลง พบว่าเมื่อพริกอายุ 80 วัน พบว่าแผ่นชีวมวลมีน้ำหนักต้นพริกสูงสุด รองลงมาไม่แตกต่างกันคือ metribuzin และแกลบดำ การไม่กำจัดวัชพืชน้ำหนักต้นพริกน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลผลผลิต

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในสภาพพื้นที่ที่มีวัชพืชใบกว้างมากกว่าวัชพืชใบแคบ ใช้กับต้นกล้าพริกอายุ 55 วัน ไม่ต้องตัดยอดก่อนย้ายปลูก การใช้ metribuzin อัตรา 119 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่พ่นก่อนย้ายปลูก 1 วัน pendimethalin อัตรา 330 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่พ่นก่อนย้ายปลูก 1 วัน ได้ผลผลิตใกล้เคียงกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน 4 ครั้งที่ 15, 30, 45 และ 60 วันหลังย้ายปลูก รองลงมาคือ พลาสติกเทา-ดำ, dimethenamid หรือ trifluralin อัตรา 270 หรือ 375 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่พ่นก่อนย้ายปลูก 1 วัน การใช้แผ่นชีวมวลคลุมดินควบคุมวัชพืชได้ดี ต้นพริกเจริญเติบโตดีได้ผลผลิต

พริกสูงสุด รองลงมาคือการใช้แกลบดำคลุมดินจำนวน 40 ลิตรต่อตารางเมตร การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานค่าใช้จ่ายแพงกว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชและการใช้วัสดุคลุมดิน ควรเริ่มกำจัดวัชพืชขณะที่ต้นวัชพืชมีขนาดเล็ก และควรมีการกำจัดซ้ำและบ่อยครั้งเพราะกำจัดได้ง่ายและรวดเร็วกว่าและเป็นการไม่รบกวนรากและทรงพุ่มและการติดดอกของพริก เวลาที่เหมาะสมในการกำจัดวัชพืชคือ 15, 30, 45 และ 60 วันหลังจากนั้นตามกำจัดเพื่อรักษาสุขอนามัยของแปลงพริกเดือนละครั้ง

เอกสารอ้างอิง

เสริมศิริ คงแสงดาว, รักชัย คุรุบรรเจิดจิตร และ จีรพรรณ พนาลิกุล. 2548. การศึกษาการใช้สารกำจัดวัชพืชในพริก. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพ. หน้า 653-668.

เสริมศิริ คงแสงดาว และ ปัญญา พุกสุ่น. 2549. การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการควบคุมวัชพืชสำคัญในพริกขี้หนูพันธุ์ซูเปอร์ฮอท. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2549. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพ. (กำลังพิมพ์)

David, M. 2005. Weed free pepper fields. American Vegetable Grower. Feb. 2005. 4p.

Smith, R.F. 2005. Peppers integrated weed management. UC IPM Online, Statewide, University of California, Agriculture and Natural Resources. 5 p.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 จำนวนต้น และน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 30 วันหลังย้ายปลูกพริกขี้หนู

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai/ไร่)	จำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตร.ม.)			น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตร.ม.)		
		ใบแคบ	ใบกว้าง	กก	ใบแคบ	ใบกว้าง	กก
1.trifluralin	375	39.4 ab	74.6 ab	31.4 bc	18.5 a	23.7 ab	3.4 ab
2.pendimethalin	330	32.6 ab	30.6 a	15.4 ab	8.0 a	6.1 a	4.0 ab
3.dimethenamid	270	10.6 ab	13.4 a	3.6 a	12.1 a	6.4 a	0.5 a
4.metribuzin	119	16.6 ab	25.4 a	0.6 a	27.3 ab	21.2 ab	0.1 a
5.alachlor	336	12.6 ab	109.4 ab	3.4 a	29.9 ab	54.6 ab	1.3 a
6.s-metolachlor	168	7.4 a	116.0 ab	5.4 ab	14.3 a	70.1 ab	1.4 a
7.clomazone	240	0	17.4 a	45.4 c	0	21.8 ab	7.8 b
8.oxyfluorfen	58.75	55.4 b	88.6 ab	13.4 ab	38.4 ab	88.8 ab	4.5 ab
9.oxadiazon	175	26.6 ab	51.4 ab	4.0 a	15.6 a	73.7 ab	0.4 a
10.แผ่นชีวมวล		0	0	0	0	0	0
11.พลาสติกเทาดำ		0	0	0	0	0	0
12.แกลบดำ		1.4 a	2.6 a	6.0 ab	1.4 a	2.4 a	4.3 ab
13.กำจัดด้วยแรงงาน		41.4 ab	20.6 a	8.6 ab	21.5 a	8.4 a	1.4 a
14.ไม่กำจัด		113.4 c	198.6 b	14.6 ab	61.1 b	125.0 b	2.4 ab
C.V.(%)/F-test		57.9/* *	99.2/* *	81.0/* *	71.9/* *	132.2/*	118.9/*

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 ชนิดวัชพืชและปริมาณที่พบเมื่อ 40 วันหลังย้ายปลูกและเวลาที่ใช้กำจัด

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai/ไร่	ผักเบี้ยหิน	ผักเสี้ยนดอกม่วง	ใบกว้างอื่นๆ	หญ้าตีนนก	แห้วหมู	% วัชพืชที่พบ	เวลาที่ใช้กำจัด นาที/9.6 ม.
1.trifluralin	375	1	3	3	2*	1	50.0	14.3
2.pendimethalin	330	-	1	2	1	2	23.3	10.0
3.dimethenamid	270	2*	3*	1	-	1	36.7	8.0
4.metribuzin	119	2	-	-	3	1	26.7	9.3
5.alachlor	336	3*	1	3	2*	-	60.0	13.3
6.s-metolachlor	168	3*	-	2	1	1	56.7	12.7
7.clomazone	240	-	3	1	-	3	46.7	10.0
8.oxyfluorfen	58.75	2	2	1	2**	1	70.0	17.7
9.oxadiazon	175	1	3	1	3	1	56.7	14.0
10.แผ่นชีวมวล		-	-	-	-	-	-	2.7
11.พลาสติกเทา-ดำ		-	-	-	-	-	-	2.3
12.แกลบดำ		1	-	-	-	-	5.0	3.7
13.กำจัดด้วยแรงงาน		2	2	2	2	2	60.0	12.0
14.ไม่กำจัด		-	-	-	-	-	-	-

ตัวเลขแสดงถึงจำนวนแปลงย่อยที่พบ * แสดงว่ามีปริมาณมาก

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของพริกที่อายุ 45 วัน และผลผลิตพริกขี้หนู

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai/ไร่)	ความสูง (ซม.)	ทรงพุ่ม (ซม.)	น้ำหนักต้น (กรัม/ต้น)	จำนวนผล (ผล/ต้น)	ผลผลิต (กก./ไร่)
1.trifluralin	375	47.2 a	28.7 abcd	75.5 cd	18.5 bc	177.3 bc
2.pendimethalin	330	44.9 ab	34.1 ab	99.6 abcd	27.0 bc	249.5 bc
3.dimethenamid	270	40.3 ab	29.6 abc	76.7 cd	20.0 bc	180.3 bc
4.metribuzin	119	50.4 a	38.1 a	158.0 ab	38.9 ab	357.8 ab
5.alachlor	336	41.7 ab	27.8 abcd	84.3 bcd	18.2 bc	169.5 bc
6.s-metolachlor	168	41.0 ab	26.6 bcd	63.3 cd	11.6 bc	106.7 bc
7.clomazone	240	42.4 ab	27.6 abcd	63.3 cd	10.8 bc	100.2 bc
8.oxyfluorfen	58.75	49.2 a	28.7 abcd	107.2 abcd	16.8 bc	149.0 bc
9.oxadiazon	175	48.8 a	34.5 ab	125.4 abc	18.0 bc	166.3 bc
10.แผ่นชีวมวล		50.1 a	37.6 ab	165.8 a	60.1 a	550.0 a
11.พลาสติกเทา-ดำ		34.9 b	22.0 cd	64.0 cd	27.2 bc	240.8 bc
12.แกลบดำ		44.8 ab	35.8 ab	157.2 ab	41.5 ab	380.5 ab
13.กำจัดด้วยแรงงาน		48.2 a	34.8 ab	126.6 abc	29.0 bc	270.5 bc
14.ไม่กำจัด		45.7 ab	18.2 d	32.6 d	5.5 c	50.2 c
C.V.(%)/F-test		10.4/* *	14.2/* *	31.6/* *	47.6/* *	48.3/* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMR

การควบคุมโรครากปมในกระเจี๊ยบเขียวโดยวิธีเขตกรรม

Controlling of Root Gall Disease of Okra by Cultural Practice

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การใช้วิธีเขตกรรมควบคุมโรครากปมสาเหตุจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. ในกระเจี๊ยบเขียว โดยทำการเปรียบเทียบกรรมวิธีทางเขตกรรม 5 แบบ คือ 1) ปลูกปอเทืองถึงระยะออกดอกและไถกลบก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว 2) ปลูกถั่วลิสงและทำการไถกลบก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว 3) พลิกดินตากแดด 1 เดือน และปลูกกระเจี๊ยบเขียว 4) ไขน้ำท่วมดิน 1 เดือน ก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว และ 5) ใช้พลาสติกคลุมดิน 1 เดือน ก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว โดยมีกรรมวิธีปลูกกระเจี๊ยบเขียวในดิน infested soil และปลูกกระเจี๊ยบเขียวในดินปลอดไส้เดือนฝอย เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control) ทำการทดสอบในบล็อกวงซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. ในสภาพดินปลูกเป็น infested soil ผลการทดสอบพบว่า การปลูกปอเทืองถึงระยะออกดอกและไถกลบก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. สามารถลดการเกิดปมได้มากกว่า 75 % ของระบบราก และการปลูกถั่วลิสงและทำการไถกลบก่อนปลูกและวิธีใช้พลาสติกคลุมดิน 1 เดือน ก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว ลดการเกิดปมได้ 25-50 % ของระบบราก สำหรับการใช้วิธีพลิกดินตากแดดและไขน้ำท่วมดินเป็นเวลา 1 เดือน ก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว ไม่สามารถลดการเกิดปมได้เมื่อเปรียบเทียบกับ inoculated control

---

รหัสโครงการ 01-16-49-02

คำนำ

โรครากปม มีสาเหตุจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการปลูกพืชผักและไม้ผลที่สำคัญได้แก่ ขิง พริก กระเจี๊ยบเขียว มันฝรั่ง และฝรั่ง พบแพร่ระบาดทั่วทุกภาคของประเทศ โดยความรุนแรงของโรครากปมมีผลให้ต้นพืชเกิดอาการเหี่ยวเฉา แคระแกร็น และผลผลิตลงลด รวมถึงคุณภาพของผลผลิตที่ไม่ได้มาตรฐานตามความต้องการ ความสูญเสียนี้เป็นผลมาจากระบบรากถูกทำลายอย่างรุนแรงเกิดเป็นปุ่มปม ทำให้พืชไม่สามารถดูดน้ำและแร่ธาตุอาหารไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ได้ (นุชนารถ และคณะ, 2540) รวมถึงส่วนของหัวมันฝรั่งและแง่งขิงเสียรูปทรง (มนตรี, 2538) นอกจากนั้นไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปมมีพืชอาศัยกว้าง สามารถทำความเสียให้กับพืชอื่นๆ ได้หลายชนิดอีกด้วย โดยเฉพาะในพืชผัก-พืชหัว และไม้ดอก ได้แก่ แครอท มะเขือเทศ ผักชีฝรั่ง เยอบีร่า และปทุมมา เป็นต้น (Netscher and Sikora, 1990)

การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย (*Meloidogyne* spp.) สาเหตุโรครากปม มีหลายวิธีที่จะปฏิบัติ แต่การจะเลือกวิธีใดวิธีหนึ่งมาใช้ในการป้องกันกำจัดนั้น จำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย ซึ่งจุดสำคัญก็คือ การคุ้มค่ากับการลงทุน ในปัจจุบันการนำสารเคมีมาใช้การควบคุมโรคนั้นมีกันแพร่หลายมาก เกษตรกรยอมรับการใช้สารเคมีเนื่องจากรวดเร็ว สะดวกและเห็นผลทันที โดยไม่คำนึงถึงสภาพแวดล้อมและความเป็นพิษ ดังนั้น การหาวิถีทางเลือกอื่นๆ เช่น การเขตกรรมหรือวิธีการทางกายภาพ ก็เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ควรศึกษาและนำมาปรับใช้ให้เหมาะสมกับพืช เพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย (Nematicide) และเพิ่มทางเลือกในการป้องกันกำจัดโรครากปมในมะเจี๊ยบเขียวและพืชสำคัญทางเศรษฐกิจอื่นๆ ทั้งในระบบการปลูกพืชปลอดภัยจากสารพิษและพืชอินทรีย์

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.)
2. บล็อกซีเมนต์+ดินปลูกพืชทดลองและเมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
3. วัสดุ-อุปกรณ์ในการปลูกพืช

วิธีการ

1. แผนการทดลอง แบบ CRD มี 7 กรรมวิธี 3 ซ้ำ

2. กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ปลูกปอเทืองถึงระยะออกดอกและไถกลบก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว

กรรมวิธีที่ 2 ปลูกถั่วลิสงทำการไถกลบก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว

กรรมวิธีที่ 3 พลิกดินตากแดด 1 เดือน และปลูกกระเจี๊ยบเขียว

กรรมวิธีที่ 4 ไขน้ำท่วมดิน 1 เดือน ก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว

กรรมวิธีที่ 5 ใช้พลาสติกคลุมดิน 1 เดือน ก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว

กรรมวิธีที่ 6 ปลูกกระเจี๊ยบเขียวในดิน infested soil (control)

กรรมวิธีที่ 7 ปลูกกระเจี๊ยบเขียวในดินปลอดเชื้อ Mi (control)

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง 1) เตรียมบล็อกวงซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. จำนวน 21 วง บรรจุดินและปลูกพืชอาศัย (กล้ามะเขือเทศ) 5 ต้น/วง และใส่กลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 5 กลุ่ม/ต้น รวม 18 วงซีเมนต์ เพื่อแพร่พันธุ์และเพิ่มปริมาณประชากรของไส้เดือนฝอยในวงซีเมนต์ เป็นเวลา 3 เดือน ตัดต้นพืชอาศัยทิ้งเหลือส่วนรากที่มีปุ่มปมไว้ในวง 2) เตรียมพืชทดลอง (กระเจี๊ยบเขียว) 3) ปฏิบัติตามกรรมวิธีกำหนด 4) ดูแลพืชปลูกตามวิธีการปลูกพืชจนถึงเก็บเกี่ยว

4. 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> กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองปลูกปอเทืองถึงระยะออกดอกและทำการไถกลบก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียวลดการเกิดปมที่ระบบราก โดยพบว่าดัชนีการเกิดปมที่รากกระเจี๊ยบเขียวเท่ากับระดับ 1.67 (=เกิดปมน้อยกว่า 25%) เมื่อเทียบกับกรรมวิธีปลูกกระเจี๊ยบเขียวในดิน infested soil หรือมีไส้เดือนฝอยรากปมระบาด เกิดปมระดับ 4.67 (= เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก) รองลงมาคือ การ

ปลูกถั่วลิสงและไถกลบ และการใช้พลาสติกคลุมดิน 1 เดือน ก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว มีดัชนีการเกิดปมเท่ากับระดับ 2.67 (=เกิดปม 25-50%) และแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีปลูกกระเจี๊ยบเขียวใน infested soil เช่นกัน สำหรับวิธีการไขน้ำท่วมดินนาน 1 เดือน และพลิกดินตากแดด พบดัชนีการเกิดปมที่รากกระเจี๊ยบเขียวระดับ 3.67 และระดับ 4.00 (=เกิดปม 50-75%) ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ดัชนีการเกิดปมที่ระบบรากกระเจี๊ยบเขียว ควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp. สาเหตุของโรครากปม โดยวิธีเขตกรรม

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดปมที่ราก[1/]
1. ปลูกปอเทืองถึงระยะออกดอกและไถกลบก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว	1.67 a[2/]
2. ปลูกถั่วลิสงทำการไถกลบก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว	2.67 c
3. พลิกดินตากแดด 1 เดือน และปลูกกระเจี๊ยบเขียว	4.00 ab
4. ไขน้ำท่วมดิน 1 เดือน ก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว	3.67 b
5. ใช้พลาสติกคลุมดิน 1 เดือน ก่อนปลูกกระเจี๊ยบเขียว	2.67 c
6. ปลูกกระเจี๊ยบเขียวในดิน infested soil (control)	4.67 a
7. ปลูกกระเจี๊ยบเขียวในดินปลอดเชื้อ Mi (control)	0 e
CV. (%)	17.67

[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

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การนำปอเทืองมาใช้ปลูกสลับกับพืชหลัก (กระเจี๊ยบเขียว) ในพื้นที่ที่มีการระบาดของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. สาเหตุของโรครากปม สามารถลดการเกิดปมได้มากกว่า 75 % ของระบบราก

จากผลงานวิจัยสามารถแนะนำเกษตรกรใช้ปอเทืองปลูกสลับกับพืชหลัก ควบคุมโรครากปมในแปลงปลูกกระเจี๊ยบเขียวได้ และปอเทืองยังเป็นพืชที่ใช้ปรับปรุงบำรุงดินที่ดีอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด บัญชา ชิณศรี อนันต์ สุนทรเกษมสุข และบัณฑิต จันทร์งาม. 2540. ผลของเมล็ดสะเดาบดอัตราต่างๆ ต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne incognita*) ของมะเขือเทศในสภาพไร่. ผลงานวิจัยกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 13 หน้า.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา. 2538. ผลของสารเคมีและเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในแง่งพันธ์ขิง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

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.

การจัดการวัชพืชในการผลิตกระเจี๊ยบเขียวฝักสด

Weed Management in Fresh Okra Production

คมสัน นครศรี
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการปลูกกระเจี๊ยบเขียว วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 13 กรรมวิธี ประกอบด้วย การใช้สาร pendimethalin, dimethanamid, alachlor, alachlor+glyphosate, fluazifop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl, fluazifop-butyl+fenoxaprop-p-ethyl, fluazifop-butyl+glyphosate, fenoxaprop-p-ethyl+glyphosate, การถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง, การคลุมดินด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง , การคลุมดินด้วยฟางข้าว 2 ครั้ง และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่แปลงเกษตรกร อ. ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี ระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ - กรกฎาคม 2550 พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช pendimethalin, fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว ส่วนสาร alachlor และ dimethanamid มีพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวเพียงเล็กน้อย สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชได้ดี กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชและการคลุมดินด้วยฟางข้าวมีน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกมีแนวโน้มให้ความสูงของกระเจี๊ยบเขียวสูงกว่า การถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้งกระเจี๊ยบเขียวให้ผลผลิตมากที่สุด คือ 2937.0 กก./ไร่ สารกำจัดวัชพืช pendimethalin ให้ผลผลิต 2,376.3 กก./ไร่ ไม่แตกต่างกับการใช้สารกำจัดวัชพืช fluazifop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl, fluazifop-butyl+fenoxaprop-p-ethyl , fluazifop-butyl+glyphosate, fenoxaprop-p-ethyl+glyphosate, การคลุมดินด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง ให้ผลผลิต 2,477.7, 2,488.7, 2,508.7 2,351.0, 2,451.7, 2,501.0 และ 2,726.7 กก./ไร่ ตามลำดับ ส่วนวิธีไม่กำจัดวัชพืชกระเจี๊ยบเขียวมีผลผลิต 1,466.7 กก./ไร่ ตามลำดับ และการใช้สารประเภทคุมวัชพืชหรือฆ่าวัชพืชแล้วตามด้วยการใช้สารประเภทฆ่าวัชพืชให้ผลผลิตน้ำหนักของกระเจี๊ยบเขียวไม่แตกต่างกับการใช้สารประเภทคุมวัชพืชหรือประเภทฆ่าแบบเดี่ยวๆ

รหัสโครงการ 01-16-49-02

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชผักส่งออกชนิดหนึ่งที่ทำรายได้เข้าประเทศ กระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชอายุสั้น แปลงปลูกต้องมีความชื้นมาก ซึ่งสภาพดังกล่าวจะช่วยส่งเสริมให้เมล็ดวัชพืชบางชนิดงอกและเจริญเติบโตได้เร็ว วัชพืชเหล่านี้จะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตตลอดจนเป็นที่อยู่อาศัยของโรคและ แมลงที่จะเข้าทำลายกระเจี๊ยบเขียวในระยะการเจริญเติบโต และระยะติดฝักมีผลเสียหายกับกระเจี๊ยบเขียว ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของฝักกระเจี๊ยบเขียวด้วย การจัดการวัชพืชด้วยแรงงานคนอาจทำได้ช้าและต้นทุนสูง (นิรนาม, 2538) ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชจะทำได้รวดเร็วกว่าและใช้แรงงานน้อยกว่าซึ่งการใช้สารกำจัดวัชพืชจะมีทั้งการใช้ก่อนวัชพืชงอกและการใช้หลังวัชพืชงอก (พรชัย, 2540) เช่น การใช้ alachlor ในคะน้า กว้างตุ้ง ผักกาดหัว และถั่วลันเตา พ่นคลุมดินก่อนปลูกและก่อนวัชพืชงอก หรือการใช้ fluazifop – butyl พ่นหลังวัชพืชงอกแล้วในระหว่างแถวของหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนในปอแก้ว และปอแก้วคิวบา เป็นพืชในวงศ์ Malvaceae ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกันกับกระเจี๊ยบเขียวนั้น จะใช้สาร alachlor, fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ในการควบคุมวัชพืช (นิรนาม, 2538) อย่างไรก็ตาม การใช้สารกำจัดวัชพืชสามารถควบคุมวัชพืชได้ในระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น ซึ่ง เสริมศิริและคณะ(2528) รายงานว่า การใช้สาร oxyfluorfen และ oxadiazon สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีในช่วงแรก แต่หลังจากปลูกกะหล่ำปลี 4 สัปดาห์ ความสามารถในการควบคุมวัชพืชจะลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีวัชพืชงอกขึ้นมาใหม่อีก ดังนั้นจึงได้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ก่อนและหลังวัชพืชงอกกับวิธีการคลุมดิน และการถอนวัชพืชด้วยมือ เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการควบคุมวัชพืชในกระเจี๊ยบเขียว และใช้เป็นคำแนะนำให้กับเกษตรกรผู้ปลูกกระเจี๊ยบเขียวเป็นการค้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์การทดลองประกอบด้วย

1. เมล็ดพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว
2. สารกำจัดวัชพืช pendimethalin, dimethanamid, alachlor, fluazifop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl และglyphosate
3. ฟางข้าว
4. ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15
5. สารป้องกันกำจัดโรคและแมลง

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ ประกอบด้วยกรรมวิธี 13 วิธี คือ

1. pendimethalin อัตรา 320 กรัม ai/ไร่
2. dimethanamid อัตรา 225 กรัม ai/ไร่
3. alachlor อัตรา 360 กรัม ai/ไร่
4. alachlor + glyphosate อัตรา 360+240 กรัม ai/ไร่
5. fluazifop-butyl อัตรา 50 กรัม ai/ไร่
6. fenoxaprop-p-ethyl อัตรา 30 กรัม ai/ไร่
7. fluazifop-butyl+fenoxaprop-p-ethyl อัตรา 50+30 กรัม ai/ไร่
8. fluazifop-butyl+glyphosate อัตรา 50+240 กรัม ai/ไร่
9. fenoxaprop-p-ethyl+glyphosate อัตรา 30+240 กรัม ai/ไร่
10. กำจัดวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง
11. คลุมด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง
12. คลุมด้วยฟางข้าว 2 ครั้ง
13. วิธีไม่กำจัดวัชพืช

การปฏิบัติการทดลองภายหลังการเตรียมดินทำการยกร่องห่างกัน 50 ซม. ปลูกกระเจี๊ยบเขียว 2 เมล็ดต่อหลุมบริเวณไหล่ร่อง ระยะปลูก 50x50 ซม. หลังปลูกกระเจี๊ยบเขียวพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกทันที ได้แก่ alachlor, pendimethalin และ dimethanamid ตามอัตราที่กำหนด และให้น้ำตามร่อง สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกครั้งที่ 1 ได้แก่ fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl หลังปลูกกระเจี๊ยบเขียว 15 วัน และสารกำจัดวัชพืชที่พ่นครั้งที่ 2 ได้แก่ fluazifop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl และ glyphosate หลังจากปลูกกระเจี๊ยบเขียว 50 วัน กำจัดวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง หลังปลูกที่ 20 และ 45 วัน และใช้ฟางข้าวคลุมดินครั้งที่ 1 หลังปลูกทันที และครั้งที่ 2 หลังปลูก 45 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กก./ไร่ ที่ระยะหลังปลูก 20 วัน

บันทึกข้อมูลความเป็นพิษและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสารกำจัดวัชพืชหลังพ่นสาร 15 วัน เก็บตัวอย่างวัชพืชหลังปลูก 45 วัน และบันทึกความสูงของกระเจี๊ยบเขียวหลังปลูก 30 วัน และผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ – กรกฎาคม 2550 ที่ แปลงเกษตรกร อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชหลังการพ่น 15 วัน พบว่า สาร alachlor และ dimethanamid เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวเล็กน้อย ขณะที่สาร pendimethalin ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวเลย เช่นเดียวกับสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก ได้แก่ fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ที่ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว เนื่องจากสารทั้ง 2 ชนิด เป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทเลือกทำลายวัชพืชใบแคบในพืชปลูกใบกว้าง (พรชัย, 2540) ส่วนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชหลังพ่นสาร 15 วัน พบว่า สารกำจัดวัชพืชทั้งประเภทใช้พ่นก่อนวัชพืชงอกและประเภทใช้พ่นหลังวัชพืชงอก ให้การควบคุมวัชพืชส่วนใหญ่ได้ดี(ตารางที่ 1)

การสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืชหลังปลูก 45 วัน พบว่า กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชและการคลุมดินด้วยฟางข้าวมีน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน ซึ่งการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกหรือประเภทคุมวัชพืชได้แก่ สาร pendimethalin และ dimethanamid มีแนวโน้มให้น้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยที่สุด คือ 2.0 และ 2.7 กรัม/ตร.ม. ตามลำดับ ส่วนการใช้สารประเภทใช้หลังวัชพืชงอกหรือประเภทฆ่าวัชพืช ได้แก่ สาร fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl เป็นสารกำจัดวัชพืชใบแคบ (พรชัย, 2540) วัชพืชที่สุ่มเก็บตัวอย่างได้ จึงเป็นวัชพืชใบกว้าง มีน้ำหนักแห้งวัชพืชอยู่ระหว่าง 11.3 – 46.0 กรัม/ตร.ม. ขณะการคลุมดินด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 41.3 และ 26.0 กรัม/ตร.ม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2) วัชพืชที่พบ ประเภทใบแคบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Nees) หญ้าตีนติด (*Brachiria reptans* (L.) Gard.& Hubb.) และ หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) ประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้ายาง (*Euphorbia geniculata* Qrt.) ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schumach & Thinn.) และ ผักเสี้ยนผี (*Cleome vicosa* Linn.)

ส่วนความสูงของต้นกระเจี๊ยบเขียวที่ระยะอายุ 30 วัน พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอก ได้แก่ dimethanamid มีผลให้การเจริญเติบโตด้านความสูงน้อยกว่า (ตารางที่ 2) อาจเนื่องมาจากสารกำจัดวัชพืช dimethanamid มีความเป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว (ตารางที่ 1) ส่วนสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก ได้แก่ fenoxaprop-p-ethyl และ fluazifop-butyl พ่นหลังปลูกกระเจี๊ยบเขียว 15 วัน สามารถกำจัดวัชพืชประเภทใบแคบได้ดี ที่เหลือส่วนใหญ่เป็นวัชพืชใบกว้าง ได้แก่ หญ้ายาง ลูกใต้ใบ และ ผักเสี้ยนผี กระเจี๊ยบเขียวจึงมีการแข่งขันกับวัชพืชเหล่านี้ ทำให้กระเจี๊ยบเขียวมีการเจริญเติบโตโดยภาพรวมด้านความสูงมีแนวโน้มสูงกว่า เช่นเดียวกับวิธีการถอนวัชพืชด้วยมือ และการคลุมดินด้วยฟางข้าวที่มีการแข่งขันระหว่างกระเจี๊ยบเขียวและวัชพืชเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 2)

สำหรับผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียว พบว่า การถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง ให้ผลผลิตมีน้ำหนักมากที่สุด คือ 2,937.0 กก./ไร่ ซึ่งไม่แตกต่างกับการคลุมดินด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง มีผลผลิตมีน้ำหนัก 2,501.0 และ 2,726.7 กก./ไร่ ตามลำดับ สำหรับสารประเภทคุมวัชพืช ได้แก่ สาร pendimethalin และ dimethanamid ให้ผลผลิตน้ำหนัก 2,376.3 และ 2,014.3 กก./ไร่ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าการใช้สาร alachlor ที่มีผลผลิตเพียง 1,997.0 กก./ไร่ สำหรับการใช้สารประเภทฆ่าวัชพืช ได้แก่ fenoxaprop-p-ethyl และ fluazifop-butyl พบว่า ผลผลิตน้ำหนักของกระเจี๊ยบเขียวโดยภาพรวมอยู่ระหว่าง 2,351.0-2,508.7 กก./ไร่ มากกว่าการใช้สารประเภทคุมวัชพืช สำหรับการใช้สารกำจัดวัชพืช 2 ครั้ง เช่น การใช้สารประเภทคุมวัชพืชแล้วตามด้วยสารประเภทฆ่า พบว่า การใช้สาร alachlor+glyphosate มีผลผลิตน้ำหนักกระเจี๊ยบเขียวไม่แตกต่างกับการใช้สาร alachlor เดี่ยวๆ ในทำนองเดียวกันสำหรับสารประเภทฆ่าวัชพืช พบว่า การใช้สาร fluazifop-butyl+fenoxaprop-p-ethyl, fluazifop-butyl+ glyphosate, และfenoxaprop-p-ethyl+ glyphosate มีผลผลิตน้ำหนักกระเจี๊ยบเขียวไม่แตกต่างกับการใช้สาร fluazifop-butyl หรือ fenoxaprop-p-ethyl เดี่ยวๆ ส่วนวิธีไม่กำจัดวัชพืชกระเจี๊ยบเขียวมีผลผลิต 1,466.7 กก./ไร่ (ตารางที่ 2)

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการปลูกกระเจี๊ยบเขียว พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช pendimethalin, fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl ไม่เป็นพิษต่อกระเจี๊ยบเขียว ส่วนสาร alachlor และ dimethanamid มีพิษต่อกระเจี๊ยบเขียวเพียงเล็กน้อย สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชได้ดี กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชและการคลุมดินด้วยฟางข้าวมีน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกหรือประเภทฆ่าวัชพืชมีแนวโน้มให้ความสูงของกระเจี๊ยบเขียวสูงกว่า การใช้ฟางข้าวคลุมดินให้ผลผลิตน้ำหนักกระเจี๊ยบเขียวไม่แตกต่างกับการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทฆ่าวัชพืช ได้แก่สาร fluazifop-butyl และ fenoxaprop-p-ethyl แต่ก็ไม่แตกต่างกับการใช้สารประเภทคุมวัชพืช ได้แก่สาร pendimethalin การใช้สารกำจัดวัชพืช 2 ครั้ง คือ การใช้สารประเภทคุมวัชพืชหรือประเภทฆ่าวัชพืชแล้วตามด้วยสารประเภทฆ่าวัชพืชให้ผลผลิตน้ำหนักของกระเจี๊ยบเขียวไม่แตกต่างกับการใช้ประเภทคุมวัชพืชหรือประเภทวัชพืชแบบเดี่ยวๆ

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2538. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองกพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 144 หน้า.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540. วัชพืชศาสตร์. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 585 หน้า.

เสริมศิริ คงแสงดาว เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์ และ ชัยวัฒน์ วัฒนไชย. 2528. การศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชแบบก่อนงอกในกะหล่ำปลี. หน้า 473-479. *ใน* : รายงานผลการค้นคว้าวิจัยกองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร.

ตารางที่ 1 คะแนนความเป็นพิษและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชในการปลูกกระเจี๊ยบเขียว 15 วัน หลังพ่นสารกำจัดวัชพืช ปี 2550

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัมai/ไร่)	ความเป็นพิษ (คะแนน) 1/	ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (คะแนน) 2/
pendimethalin	320	0.0	9.0
dimethanamid	225	3.5	8.5
alachlor	360	2.0	6.5
alachlor+glyphosate	360+240	2.8	7.0
fluazifop –butyl	50	0.0	7.5
fenoxaprop-p-ethyl	30	0.0	7.2
fluazifop + fenoxaprop	50+30	0.0	7.0
fluazifop + glyphosate	50+240	0.0	6.9
fenoxaprop + glyphosate	30+240	0.0	7.0
ถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง	-	-	10.0
คลุมด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง	-	-	6.5
คลุมด้วยฟางข้าว 2 ครั้ง	-	-	7.0
ไม่กำจัดวัชพืช	-	-	0.0

1/ 0 = ไม่เป็นพิษ
1-3 = เป็นพิษเพียงเล็กน้อย
4-6 = เป็นพิษปานกลาง
7-9 = เป็นพิษรุนแรง
10 = พืชตายหมด

2/ 0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้
1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย
4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง
7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี
10 = ควบคุมวัชพืชได้อย่างสมบูรณ์

ตารางที่ 2 น้ำแห้งวัชพืช (45 วันหลังปลูก) ความสูง(อายุ 30 วัน) และผลผลิตกระเจี๊ยบเขียว ปี 2550

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัมai/ไร่)	น.น.แห้งวัชพืช[2/] (กรัม/ตร.ม.)	ความสูง (ซม.)	ผลผลิต (กก./ไร่)
pendimethalin	320	2.0a[1/]	41.0abc	2,376.3bcd
dimethanamid	225	2.7a	31.3d	2,014.3cde
alachlor	360	61.3a	42.0abc	1,997.0de
alachlor+glyphosate	360+240	13.3a	37.6cd	1,780.3ef
fluazifop –butyl	50	11.3a	43.2abc	2,477.7abc
fenoxaprop-p-ethyl	30	17.3a	40.6bc	2,488.7abc
fluazifop + fenoxaprop	50+30	31.3a	41.0abc	2,508.7ab
fluazifop + glyphosate	50+240	46.0a	41.9abc	2,351.0bcd
fenoxaprop + glyphosate	30+240	30.7a	48.1ab	2,451.7bcd
ถอนวัชพืชด้วยมือ 2 ครั้ง	-	0.0a	43.4abc	2,937.0a
คลุมด้วยฟางข้าว 1 ครั้ง	-	41.3a	48.2ab	2,501.0ab
คลุมด้วยฟางข้าว 2 ครั้ง	-	26.0a	49.4a	2,726.7ab
ไม่กำจัดวัชพืช	-	674.0b	49.5a	1,466.7f
CV (%)		74.4	10.2	10.8

1/ ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งวัชพืช ความสูงและผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียวที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

2/ วัชพืชที่พบ

หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link..)

หญ้าตีนติด (*Brachiria reptans* (L.) Gard.& Hubb.)

หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.)

หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* Linn.)

ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schumach & Thinn.)

ผักเสี้ยนผี (*Cleome vicosa* Linn.)

การประเมินสายพันธุ์เห็ดขอนขาวที่เหมาะสมกับการเพาะในพื้นที่ภาคกลาง

Evaluation on *Lentinus squarrosulus* Strains Suitable for Production in Central Region

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากเชื้อเห็ดขอนขาวจำนวน 10 สายพันธุ์ นำมาทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ดบนอาหารวุ้น 4 ชนิด และบนเมล็ดข้าวฟ่าง ที่อุณหภูมิ 25, 30, 35 และ40 °ซ พบว่า เส้นใยเชื้อเห็ดทดลองทั้ง 10 สายพันธุ์ เจริญได้บนอาหารวุ้น 4 ชนิดที่อุณหภูมิทั้ง 4 ระดับ แต่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 และ 35°ซ บนเมล็ดข้าวฟ่างเส้นใยเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35°ซ และเจริญช้ามากที่อุณหภูมิ 40°ซ เส้นใยเชื้อเห็ดทดลองเจริญได้ดีบนก้อนอาหารเพาะและสามารถออกดอกให้ผลผลิตได้ทั้ง 10 สายพันธุ์ โดยการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว ผลผลิตเห็ดในฤดูฝนดีกว่าฤดูร้อนและฤดูหนาว และจากเชื้อเห็ดขอนขาวที่ได้คัดเลือก 5 สายพันธุ์ยังสามารถออกดอกได้ในฤดูร้อนและ ฤดูฝน และพบว่าเชื้อเห็ดขอนขาวสายพันธุ์ LS1 มีผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ด เหมาะสมในการผลิต

คำนำ

เห็ดขอนขาว (*Lentinus squarrosulus* Mont.) เป็นเห็ดที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย เห็ดชนิดนี้จะพบมากในช่วงต้นฝนหรือในช่วงที่ฝนตกชุก ตามธรรมชาติเห็ดขอนขาวจะขึ้นอยู่บนขอนไม้ตระกูลเต็งรัง ไม้มะม่วง หรือไม้ผุ บางครั้งอาจเรียกว่าเห็ดมะม่วง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเห็ดชนิดนี้เป็นที่นิยมบริโภคมาก อาจกล่าวได้ว่าเป็นเห็ดประจำถิ่นหรือเห็ดพื้นบ้าน ทำให้เห็ดชนิดนี้มีมูลค่าทางเศรษฐกิจค่อนข้างสูงในภูมิภาคนี้ ปัจจุบันแม้มีการศึกษาและพัฒนาการเพาะเลี้ยงเห็ดชนิดนี้ (วสันณ์,2538 ; สมพงษ์และคณะ,2535) และมีการเพาะเลี้ยงทั่วทุกภาคของประเทศแล้วก็ตาม เนื่องจากมีความต้องการมากขึ้นในตลาดและเป็นเห็ดที่มีราคาดี แต่การพัฒนาการผลิตเห็ดปัจจัยสำคัญคือการมีสายพันธุ์เห็ดที่ดีและเหมาะสมกับพื้นที่ ซึ่งการผลิตเห็ดขอนขาวยังคงมีข้อจำกัดในเรื่องเชื้อพันธุ์ที่เหมาะสมกับการผลิต และเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมภายในท้องถิ่น การทดสอบสายพันธุ์เห็ดเป็นวิธีการหนึ่งที่จะทำให้ได้สายพันธุ์เห็ด

รหัสโครงการ 01-16-49-03

ที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้กว้างขึ้น และเป็นวิธีที่ทำให้ได้สายพันธุ์เห็ดที่เหมาะสมโดยใช้เวลาไม่นานเท่ากับการผสมหรือปรับปรุงพันธุ์วิธีอื่น ที่จะนำไปสู่การได้สายพันธุ์เห็ดที่ให้ผลผลิตสูง มีคุณภาพ และเหมาะสมกับพื้นที่ในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์

ลำดับที่	รหัสการทดลอง	แหล่งที่มา
1	LS1	อ.เมือง จ.นครราชสีมา
2	LS2	อ. วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี
3	LS3	อ. เดชอุดม จ.อุบลราชธานี
4	LS4	อ. เดชอุดม จ.อุบลราชธานี
5	LS5	อ. ตระการพืชผล จ.อุบลราชธานี
6	LS6	อ. ม่วงสามสิบ จ.อุบลราชธานี
7	LS7	อ. เมือง จ.อุบลราชธานี
8	LS8	อ. วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี
9	LS9	อ.โขงเจียม จ.อุบลราชธานี
10	LS10	อ.เมือง จ.อุบลราชธานี

2. วัสดุและสารเคมีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และวัสดุเพาะเห็ด ได้แก่ขี้เลื่อย, รำ,น้ำตาลทราย และ ปูนขาวหรือยิบซั่ม

3. หม้อนึ่งความดัน, หม้อนึ่งไม่อัดความดัน, เทอร์โมมิเตอร์ , เครื่องชั่งไฟฟ้า, ตู้ควบคุมอุณหภูมิ, ตู้เขี่ยเชื้อ, ตู้อบฆ่าเชื้ออุณหภูมิสูง, อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อพันธุ์เห็ด , สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูเห็ด

4. โรงเรือนบ่มก้อนเชื้อ และโรงเรือนเปิดดอกเห็ด

วิธีการ

1. ศึกษาปัจจัยด้านอาหารและอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด วางแผนการทดลองแบบ CRD

1.1 ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ด 10 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 25, 30, 35 และ 40°ซ บนอาหารวุ้นชนิดต่างๆ ได้แก่ อาหาร PDA, อาหาร PDAสำเร็จรูป (Difco), อาหารสังเคราะห์ (สูตร peptone 2 กรัม, yeast 2 กรัม, glucose 20 กรัม, $MgSo_4 \cdot 7HO_2$ 0.5 กรัม, KH_2PO_4 0.46 กรัม, K_2HPO_4 1 กรัม, วุ้นผง 20 กรัมและน้ำกลั่น 1 ลิตร) และอาหารรำข้าว 5% เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใย โดยวัดการเจริญของเส้นใยในแนวระดับ

1.2 ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ด 10 สายพันธุ์บนเมล็ดข้าวฟ่างในแนวดิ่ง ที่อุณหภูมิ 30°ซ โดยใช้ cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 มม. เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเห็ดเจริญอยู่บนอาหารพีดีเอ เลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อสูงประมาณ ¾ ของหลอดทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 มม. เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใย โดยวัดการเจริญของเส้นใยในแนวดิ่ง

2. ศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน ฤดูฝนและฤดูหนาว วางแผนการทดลองแบบ RCB

2.1 เตรียมวัสดุอุปกรณ์และโรงเรือนทดลอง เตรียมขยายเชื้อเห็ดในอาหารวุ้นและในเมล็ดข้าวฟ่างใช้เป็นหัวเชื้อทดลอง

2.2 เตรียมถุงก้อนอาหารเพาะ ประกอบด้วยขี้เลื่อย 100 กก. :รำละเอียด 3 กก. : ดีเกลือ 0.2 กก. :ยิบซั่ม 0.5 กก.: น้ำตาล 2 กก.โดยน้ำหนักแห้งปรับความชื้นด้วยน้ำให้มีความชื้น 75% บรรจุลงในถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 6 ½ x 13 นิ้ว ถุงละ 900 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งชนิดไม่อัดความดันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ใส่เชื้อเห็ด 10 เชื้อพันธุ์ที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่างฆ่าเชื้อ นำถุงก้อนอาหารเพาะบ่มในโรงเรือนในสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ เมื่อเส้นใยเจริญเต็มถุงนำไปเปิดดอกในโรงเรือน รักษาอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ด้วยการให้น้ำและระบายอากาศ บันทึกข้อมูลระยะเวลาการเจริญของเส้นใยเต็มถุงอาหาร น้ำหนักผลผลิต อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือน

3. ทดสอบผลผลิตสายพันธุ์เห็ดในโรงเรือนของหน่วยงานและของเกษตรกร

จากสายพันธุ์เห็ดที่คัดเลือก เพาะทดสอบในโรงเรือนของหน่วยงานและของเกษตรกร

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้นตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2550

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรในพื้นที่ภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. **<u>ศึกษาปัจจัยด้านอาหารและอุณหภูมิต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด</u>** พบว่าเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์เจริญได้ต่างกันในแต่ละอุณหภูมิ

บนอาหาร PDA เส้นใยสายพันธุ์ LS10 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25°ซ, สายพันธุ์ LS8 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30°ซ, สายพันธุ์ LS5 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35°ซ และ สายพันธุ์ LS2 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40°ซ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 4 วันบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25,30,35 และ 40°ซ

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย (มม.)			
	อุณหภูมิ 25°ซ	อุณหภูมิ 30°ซ	อุณหภูมิ 35°ซ	อุณหภูมิ 40°ซ
LS1	39.88 bc	79.50 ab	70.75 bc	13.75 fg
LS2	41.00 bc	73.00 abc	81.00 a	89.38 a
LS3	36.88 cd	58.88 e	74.75 b	74.75 c
LS4	38.25 cd	67.63 cd	82.38 a	11.50 g
LS5	40.50 bc	76.25 ab	85.88 a	15.13 ef
LS6	39.75 bc	64.50 de	69.00 c	73.50 c
LS7	42.88 ab	72.13 bc	69.38 c	75.00 c
LS8	42.63 ab	80.00 a	82.50 a	17.00 e
LS9	34.88 d	58.88 e	85.25 a	56.00 d
LS10	45.25 a	76.50 ab	72.00 bc	79.88 b
ค่าเฉลี่ย	40.19	70.72	77.29	50.59
CV (%)	6.4	6.6	4.1	4.1

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

บนอาหาร PDA สำเร็จรูป เส้นใยสายพันธุ์ LS2 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25°ซ, สายพันธุ์ LS4 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30°ซ, สายพันธุ์ LS5 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35°ซ และ สายพันธุ์ LS2 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40°ซ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 4 วันบนอาหาร PDA สำเร็จรูป ที่อุณหภูมิ 25,30,35 และ 40°ซ

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย (มม.)			
	อุณหภูมิ 25°ซ	อุณหภูมิ 30°ซ	อุณหภูมิ 35°ซ	อุณหภูมิ 40°ซ
LS1	45.00 de	72.13 ab	72.63 bc	11.50 d
LS2	56.18 a	75.63 a	77.88 b	86.88 a
LS3	44.38 de	70.25 ab	77.13 b	68.50 b
LS4	48.50 bcd	76.38 a	69.38 cd	12.13 d
LS5	47.25 cd	72.75 ab	84.63 a	17.25 d
LS6	48.50 bcd	68.50 ab	68.50 cd	66.38 b
LS7	53.63 ab	76.13 a	73.25 bc	71.25 b
LS8	53.75 ab	75.75 a	75.25 b	14.50 d
LS9	41.38 e	64.88 b	67.00 d	38.38 c
LS10	52.25 abc	73.75 a	66.63 d	68.38 b
ค่าเฉลี่ย	49.08	72.61	73.22	45.51
CV (%)	7.1	7.4	4.5	8.7

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

บนอาหารสังเคราะห์ เส้นใยสายพันธุ์ LS10 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25°ซ, สายพันธุ์ LS9 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30°ซ, สายพันธุ์ LS8 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35°ซ และ สายพันธุ์ LS2 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40°ซ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 4 วันบนอาหารสังเคราะห์ ที่อุณหภูมิ 25,30,35 และ 40°ซ

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย (มม.)			
	อุณหภูมิ 25°ซ	อุณหภูมิ 30°ซ	อุณหภูมิ 35°ซ	อุณหภูมิ 40°ซ
LS1	45.00 ab	63.25 abc	85.25 ab	11.38 d
LS2	42.63 abc	60.00 bc	74.75 c	75.63 a
LS3	46.38 ab	66.75 a	88.38 ab	69.63 a
LS4	42.75 abc	63.75 ab	85.00 ab	11.63 d
LS5	43.88 abc	65.00 ab	87.50 ab	26.75 c
LS6	38.88 c	58.38 c	85.25 ab	72.75 a
LS7	45.75 ab	66.13 a	82.00 b	71.13 a
LS8	42.88 abc	63.75 ab	89.38 a	18.50 cd
LS9	42.00 bc	68.63 a	85.75 ab	52.13 b
LS10	48.13 a	66.25 a	89.13 a	73.50 a
ค่าเฉลี่ย	43.83	64.19	85.24	48.30
CV (%)	8.3	5.2	4.9	14.9

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

และบนอาหารรำข้าว 5% เส้นใยสายพันธุ์ LS2 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 และ 30°ซ, สายพันธุ์ LS5 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35°ซ และสายพันธุ์ LS2 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40°ซ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 4 วันบนอาหารรำข้าว 5%ที่อุณหภูมิ 25,30,35 และ 40°ซ

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใย (มม.)			
	อุณหภูมิ 25°ซ	อุณหภูมิ 30°ซ	อุณหภูมิ 35°ซ	อุณหภูมิ 40°ซ
LS1	49.50 abc	63.00 cd	68.50 c	16.63 ef
LS2	51.00 a	68.38 a	77.38 b	88.75 a
LS3	45.75 e	61.38 de	68.75 c	61.38 c
LS4	48.50 cd	66.75 ab	75.25 b	11.75 g
LS5	46.50 de	59.50 e	84.00 a	14.50 f
LS6	50.63 ab	63.63 cd	68.88 c	72.63 b
LS7	48.88 bc	64.00 bcd	69.50 c	74.75 b
LS8	46.13 e	65.63 abc	83.25 a	18.38 e
LS9	35.38 f	47.38 f	63.50 d	50.08 d
LS10	48.38 cd	62.50 d	70.38 c	74.75 b
ค่าเฉลี่ย	47.06	62.21	72.94	48.36
CV (%)	2.8	3.1	2.7	3.5

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

ส่วนการเจริญของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์บนเมล็ดข้าวฟ่างพบว่า เจริญได้ต่างกันในแต่ละอุณหภูมิเช่นเดียวกัน เส้นใยสายพันธุ์ LS2 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25°ซ, สายพันธุ์ LS4 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30°ซ, สายพันธุ์ LS1 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35°ซ และ สายพันธุ์ LS2 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40°ซ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 การเจริญในแนวดิ่งของเส้นใยเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ อายุ 5 วันบนเมล็ดข้าวฟ่าง ที่อุณหภูมิ 25,30,35 และ 40°ซ

เส้นใยเห็ดขอนขาว	ค่าเฉลี่ยการเจริญในแนวดิ่งของเส้นใย (มม.)			
	อุณหภูมิ 25°ซ	อุณหภูมิ 30°ซ	อุณหภูมิ 35°ซ	อุณหภูมิ 40°ซ
LS1	27.63 ab	32.56 ab	59.63 a	7.25 c
LS2	29.63 a	36.06 ab	51.56 b	47.63 a
LS3	21.19 bc	35.50 ab	54.88 b	40.81 a
LS4	27.00 ab	39.44 a	53.88 b	1.44 c
LS5	26.00 ab	34.31 ab	53.00 b	4.50 c
LS6	28.88 a	35.31 ab	52.63 b	44.69 a
LS7	25.88 ab	32.69 ab	51.31 b	42.00 a
LS8	25.63 ab	36.94 a	50.38 b	7.06 c
LS9	7.19 d	29.25 b	50.63 b	30.63 b
LS10	16.69 c	29.38 b	51.44 b	40.69 a
ค่าเฉลี่ย	23.57	34.14	52.93	23.57
CV (%)	17.2	12.5	5.9	20.3

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

2 ศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน ฤดูฝนและฤดูหนาว พบว่า

การเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน (ช่วงการเพาะ กุมภาพันธ์-พฤษภาคม 2549) พบว่าเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ที่เพาะออกดอกให้ผลผลิตเฉลี่ยต่อก้อนอาหารเพาะและค่าBiological Efficiency (B.E.%) ดังนี้ LS1 55.02 กรัม/ก้อน: B.E.24.45% , LS2 30.75 กรัม/ก้อน: B.E.13.67%, LS3 49.16 กรัม/ก้อน: B.E.21.85%, LS4 34.08 กรัม/ก้อน: B.E.15.15% , LS5 65.04 กรัม/ก้อน: B.E.28.91% , LS6 45.39 กรัม/ก้อน: B.E.20.17%, LS7 52.74 กรัม/ก้อน: B.E.23.44%, LS8 50.46 กรัม/ก้อน: B.E.22.43%, LS9 47.34 กรัม/ก้อน: B.E.21.04% และ LS10 58.18 กรัม/ก้อน: B.E.25.86% (ตารางที่ 6)

การเพาะให้ออกดอกในฤดูฝน (ช่วงการเพาะ มิถุนายน-กันยายน 2549) พบว่าเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ที่เพาะออกดอกให้ผลผลิตเฉลี่ยต่อก้อนอาหารเพาะและค่าBiological Efficiency (B.E.%) ดังนี้ LS1 78.73 กรัม/ก้อน: B.E.34.99%, LS2 49.77 กรัม/ก้อน: B.E.22.12%, LS3 41.43 กรัม/ก้อน: B.E.18.41%, LS4 44.83 กรัม/ก้อน: B.E.19.92%, LS5 85.02 กรัม/ก้อน:

B.E.37.79%, LS6 48.08 กรัม/ก้อน: B.E.21.37%, LS7 60.20 กรัม/ก้อน: B.E.26.76%, LS8 57.80 กรัม/ก้อน: B.E.25.66%, LS9 59.47 กรัม/ก้อน: B.E.26.43% และ LS10 50.78 กรัม/ก้อน: B.E.22.57% (ตารางที่ 6)

การเพาะให้ออกดอกในฤดูหนาว (ช่วงการเพาะ พฤศจิกายน 2549-มีนาคม 2550) พบว่าเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ที่เพาะออกดอกให้ผลผลิตเฉลี่ยต่อก้อนอาหารเพาะและค่าBiological Efficiency (B.E.%) ดังนี้ LS1 61.69 กรัม/ก้อน: B.E.27.42%, LS2 40.93 กรัม/ก้อน: B.E.18.19%, LS3 38.47 กรัม/ก้อน: B.E.17.10%, LS4 35.94 กรัม/ก้อน: B.E.15.97%, LS5 71.04 กรัม/ก้อน: B.E.31.57%, LS6 50.08 กรัม/ก้อน: B.E.22.26%, LS7 54.76 กรัม/ก้อน: B.E.24.34%, LS8 49.03 กรัม/ก้อน: B.E.21.79%, LS9 45.68 กรัม/ก้อน: B.E.20.30% และ LS10 53.57 กรัม/ก้อน: B.E.23.81% (ตารางที่ 6)

ขนาดดอก ลักษณะดอกและก้านดอกเห็ด ตลอดจนคุณภาพดอกเห็ดมีความหลากหลายในสายพันธุ์เห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ที่เพาะ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 ผลผลิตดอกเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ จากการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน ฤดูฝน และ ฤดูหนาว ที่กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

เห็ดขอนขาว	ผลผลิตดอกเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์					
	ฤดูร้อน		ฤดูฝน		ฤดูหนาว	
	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง)	ค่า Biological Efficiency, B.E. (%)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง)	ค่า Biological Efficiency, B.E. (%)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง)	ค่า Biological Efficiency, B.E. (%)
LS 1	55.02 ab	24.45	78.73 ab	34.99	61.69 ab	27.42
LS 2	30.75 c	13.67	49.77 c	22.12	40.93 cd	18.19
LS 3	49.16 abc	21.85	41.43 c	18.41	38.47 cd	17.10
LS 4	34.08 bc	15.15	44.83 c	19.92	35.94 d	15.97
LS 5	65.04 a	28.91	85.02 a	37.79	71.04 a	31.57
LS 6	45.39 abc	20.17	48.08 c	21.37	50.08 bcd	22.26
LS 7	52.74 ab	23.44	60.20 bc	26.76	54.76 abc	24.34
LS 8	50.46 abc	22.43	57.73 c	25.66	49.03 bcd	21.79
LS 9	47.34 abc	21.04	59.47 bc	26.43	45.68 bcd	20.30
LS 10	58.18 a	25.86	50.78 c	22.57	53.57 bcd	23.81
ค่าเฉลี่ย	48.82		57.60		50.12	
CV (%)	26.0		22.6		21.4	

ค่า Biological Efficiency, B.E. (%) = ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ดสด / น้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ X 100

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง) จาก 4 ซ้ำๆ ละ 25 ถุง /รอบการเก็บดอก 75 วัน

ตารางที่ 7 ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ จากการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน และ ฤดูฝน ที่กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

เห็ดขอนขาว	ขนาดดอกเฉลี่ย (ซม.)				ลักษณะหมวกดอก				ความยาก/ง่ายในการเก็บ	การบานของดอกตูม
	ออกดอกฤดูร้อน		ออกดอกฤดูฝน							
	หมวกดอก	ก้านดอก	หมวกดอก	ก้านดอก	สี	เกล็ด	เนื้อดอก	เนื้อก้าน		
LS1	2.42	3.96	1.93	3.57	ขาวนวล	มีเกล็ดสีน้ำตาลอ่อน	หนา/ไม่เหนียว	หนา	ปานกลาง	ช้า
LS2	2.11	4.40	2.72	4.34	ขาวนวล	มีเกล็ดลักษณะเป็นขนสีน้ำตาล	บาง/เหนียว	บาง	ง่าย	เร็ว
LS3	2.96	3.91	3.68	4.97	ขาวนวล	มีเกล็ดสีน้ำตาลอ่อน	หนา/เหนียว	หนา	ยาก	ช้า
LS4	3.69	3.84	3.42	3.61	ขาว	มีเกล็ดสีขาวเทา	บาง/เหนียว	หนา	ง่าย	ช้า
LS5	1.84	3.99	1.72	4.15	ขาว	มีเกล็ดสีขาวเทา	หนา/ไม่เหนียว	หนา	ง่าย	เร็ว
LS6	3.74	3.27	3.67	5.15	ขาวนวล	มีเกล็ดสีน้ำตาลอ่อน	หนา/ไม่เหนียว	หนา	ง่าย	ช้า
LS7	3.68	2.88	4.38	3.32	ขาวนวล	มีเกล็ดสีน้ำตาล	หนา/ไม่เหนียว	หนา	ง่าย	เร็ว
LS8	2.56	4.00	3.66	5.57	ขาว	มีเกล็ดสีน้ำตาลอ่อน	บาง/เหนียว	บาง	ยาก	เร็ว
LS9	3.27	3.16	3.42	4.34	ขาวนวล	มีเกล็ดสีน้ำตาล	บาง/เหนียว	บาง	ยาก	เร็ว
LS10	3.96	3.10	3.75	3.32	ขาวนวล	มีเกล็ดสีน้ำตาลอ่อน	หนา/ไม่เหนียว	หนา	ง่าย	เร็ว

3. ทดสอบผลผลิตสายพันธุ์เห็ดในโรงเรือนของหน่วยงานและของเกษตรกร

จากสายพันธุ์เห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ที่เพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว แล้ว ได้คัดเลือกมา 5 สายพันธุ์ เพาะทดสอบในโรงเรือนของหน่วยงานและของเกษตรกรพบว่า เห็ดขอนขาวเกิดดอกได้ทั้ง 5 สายพันธุ์ ยกเว้นที่ฉะเชิงเทราสายพันธุ์ LS5 ไม่สร้างดอก โดยการเพาะที่กรุงเทพฯในโรงเรือนของเกษตรกร (มีนาคม-กรกฎาคม 2550) สายพันธุ์ LS5 ให้ผลผลิตเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ดสูงสุด 86.56 กรัม/ถุง เมื่อเปรียบเทียบกับอีก 4 สายพันธุ์แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการเพาะที่กรุงเทพฯในโรงเรือนของกรมวิชาการเกษตร (มิถุนายน-กันยายน 2550) สายพันธุ์ LS1 ให้ผลผลิตเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ดสูงสุด 104.58 กรัม/ถุง เมื่อเปรียบเทียบกับอีก 4 สายพันธุ์ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสายพันธุ์ LS5 ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ยดีรองลงมา(101.41 กรัม/ถุง) และการเพาะในโรงเรือนของเกษตรกรที่ฉะเชิงเทรา(กรกฎาคม-กันยายน 2550)สายพันธุ์ LS1ให้ผลผลิตเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ดสูงสุด 103.84 กรัม/ถุง เมื่อเปรียบเทียบกับอีก 3 สายพันธุ์ อย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 ผลผลิตดอกเห็ดขอนขาวที่คัดเลือกได้ 5 สายพันธุ์ เพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน และ ฤดูฝน ที่กรุงเทพฯ และ ฉะเชิงเทรา

สายพันธุ์เห็ดขอนขาว	ผลผลิตดอกเห็ดขอนขาวจากการคัดเลือก 5 สายพันธุ์					
	ฤดูร้อน		ฤดูฝน			
	รามอินทรา กทม. (มีนาคม-กรกฎาคม 2550)		กรมวิชาการเกษตร กทม. (มิถุนายน-กันยายน 2550)		ฉะเชิงเทรา (กรกฎาคม-กันยายน 2550)	
	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง)[1]	ค่า Biological Efficiency (%)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง)[2]	ค่า Biological Efficiency (%)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง)[3]	ค่า Biological Efficiency (%)
LS 1	75.83 a	33.70	104.58 a	46.48	103.84 a	46.15
LS 3	58.23 a	25.88	79.94 c	35.53	60.81 c	27.03
LS 5	86.56 a	38.47	101.41 ab	45.07	-	-
LS 7	75.14 a	33.40	94.00 b	41.78	72.98 bc	32.44
LS 10	82.11 a	36.49	84.53 c	37.57	78.36 b	34.83
ค่าเฉลี่ย	75.57		92.89		78.99	
CV (%)	23.5		6.6		11.0	

ค่า Biological Efficiency, B.E. (%) = ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ดสด / น้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ X 100

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณโดยใช้วิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

[1] ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง) จาก 4 ซ้ำๆ ละ 35 ถุง /รอบการเก็บดอก 75 วัน

[2] ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง) จาก 4 ซ้ำๆ ละ 40 ถุง /รอบการเก็บดอก 75 วัน

[3] ค่าเฉลี่ยน้ำหนักดอกเห็ด (กรัม/ถุง) จาก 4 ซ้ำๆ ละ 45 ถุง /รอบการเก็บดอก 40 วัน

จากผลการทดลองเพาะเห็ดขอนขาว 10 สายพันธุ์ให้ออกดอกในฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว พบว่าสายพันธุ์ LS1 ให้ผลผลิตสูงในการเพาะให้ออกดอกทั้ง 3 ฤดู ขนาดดอกเฉลี่ยปานกลาง มีเนื้อดอกหนา ไม่เหนียว การเก็บผลผลิตไม่ยากและรวมทั้งการบานของดอกตูมช้า ส่วนสายพันธุ์ LS5 ซึ่งให้ผลผลิตสูงในการเพาะให้ออกดอกทั้ง 3 ฤดูเช่นกัน ขนาดดอกเฉลี่ยเล็กกว่า มีเนื้อดอกหนา ไม่เหนียว การเก็บผลผลิตไม่ยาก แต่การบานของดอกตูมเร็ว และสายพันธุ์ LS7 ซึ่งให้ผลผลิตค่อนสูงในการเพาะเช่นกัน ขนาดดอกเฉลี่ยใหญ่ มีเนื้อดอกหนา ไม่เหนียว การเก็บผลผลิตไม่ยาก แต่การบานของดอกตูมเร็ว และเมื่อเพาะทดสอบในโรงเรือนของหน่วยงานและของเกษตรกร ผลยังคงเป็นไปในแนวเดียวกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เส้นใยเชื้อเห็ดทดลองทั้ง 10 สายพันธุ์ เจริญได้บนอาหารวุ้น 4 ชนิดที่อุณหภูมิทั้ง 4 ระดับ แต่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 และ 35°ซ บนเมล็ดข้าวฟ่างเส้นใยเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35°ซ และเจริญช้ามากที่อุณหภูมิ 40°ซ เส้นใยเชื้อเห็ดทดลองเจริญได้ดีบนก้อนอาหารเพาะและสามารถออกดอกให้ผลผลิตได้ทั้ง 10 สายพันธุ์ โดยการเพาะให้ออกดอกในฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว ผลผลิตเห็ดในฤดูฝนดีกว่าฤดูร้อนและฤดูหนาว และจากเชื้อเห็ดขอนขาวที่ได้คัดเลือก 5 สายพันธุ์ยังสามารถออกดอกได้ในฤดูร้อนและ ฤดูฝน และพบว่าเชื้อเห็ดขอนขาวสายพันธุ์ LS1 มีผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ด เหมาะสมในการผลิต

เอกสารอ้างอิง

วสันณ์ เพชรรัตน์. 2538. การเพาะเห็ดป่า : I เห็ดขอนขาว *(Lentinus squarrosulus* Mont) ว. สงขลานครินทร์ วทท. 17(1) :43-56

สมพงษ์ อังโขรัมย์ พิมพ์กานต์ อร่ามพงษ์พันธุ์ และสัญชัย ตันตยาภรณ์. 2535. การเพาะเห็ดขอนขาวในวัสดุต่างชนิด. หน้า 113-117. ใน รายงานผลงานวิจัยปี 2535 กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

รวบรวม คัดเลือกพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่าง ๆ เพื่อเป็นพันธุ์ ทางการค้า

Collection and Selection on Strains of *Macrocybe crassum* from Various Sources for Commercial Production

อัจฉรา พยัพพานนท์ [1/]นันทินี ศรีจุมปา
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้ทำการสำรวจ และเก็บรวบรวมเห็ดตีนแรด (*Macrocybe crassum*)ได้ 15 สายพันธุ์ จากภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกและภาคใต้ โดยสามารถ จัดได้เป็น 3กลุ่มตามลักษณะของขนาดของหมวกดอก ความยาวของก้านดอก เส้นใยของทั้ง15 สายพันธุ์เจริญได้ดีบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิระหว่าง 20-30°ซ เจริญช้าที่15°ซ ไม่เจริญที่ 35°ซ และที่สูงกว่า ผลการเพาะเปรียบเทียบผลผลิตของเห็ดตีนแรด 10สายพันธุ์ (DOA-1 - DOA-10) ครั้งที่1 ระหว่างเดือน มี.ค.-ต.ค. 2549 พบว่าสายพันธ์ DOA-1,DOA-4,DOA-7และDOA-10ให้ผลผลิตระหว่าง 178.5-195.4 กรัมต่อถุง วัสดุเพาะ 800 กรัม ซึ่งสูงกว่าอีก 6 สายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผลของการเพาะเปรียบเทียบผลผลิตครั้งที่2 ระหว่างเดือน พ.ย.2549-มิ.ย.2550 พบว่าสายพันธุ์ DOA-1, DOA-2, DOA-3,DOA-4,DOA-5และDOA-10 ให้ผลผลิตสูงระหว่าง112.5-127.8 กรัมต่อถุงวัสดุเพาะ 800 กรัม การเพาะเปรียบเทียบผลผลิตครั้งที่3 ระหว่างเดือน ก.ค.-พ.ย.2550 พบว่าสายพันธุ์ DOA-4, DOA-,5 DOA-6, DOA7, DOA-1และ DOA-2ให้ผลผลิตสูงระหว่าง 168.25-243.25 กรัมต่อถุง นอกจากนี้ยังพบว่าขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหมวกดอกและความยาวก้านดอกของสายพันธุ์ต่างๆยังมีความแตกต่างกันไปค่อนข้างมาก ความแตกต่างทางด้านผลผลิตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหล่านี้จะมีคุณค่าต่อโครงการปรับปรุงพันธุ์เห็ดตีนแรดต่อไปในอนาคต

รหัสโครงการ 01-16-49-03

[1/] ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

คำนำ

เห็ดตีนแรด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tricholoma crassum* (Berk.) sacc.ซึ่งปัจจุบันเปลี่ยนเป็น *Macrocybe crassum* เป็นเห็ดที่พบได้ทุกภาคของประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้านใกล้เคียงจึงมีชื่อเรียกตามแต่ละท้องถิ่นต่าง ๆ กัน เช่นชื่อ เห็นตับเต่าขาว (ภาคกลาง) เห็ดจั่น (ภาคเหนือ) เห็ดตีนแฮดหรือเห็ดใหญ่ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) แหล่งที่พบมักเกิดบนพื้นดินที่มีใบไม้ผุทับถม, ตามทุ่งหญ้าป่าเขา, ป่าโปร่ง, ป่าละเมาะ และเกิดมากในช่วงฤดูฝนจะเกิดดอกได้ดี แต่ถ้าอากาศเย็นจะชะงักการเจริญเติบโต มีการศึกษาทดลองเกี่ยวกับเห็ดตีนแรด ตั้งแต่ปี พ.ศ.2501 (ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ,2519; พิมพ์กานต์และคณะ, 2529) เห็ดตีนแรดมีคุณค่าทางโภชนาการสูงเช่นเดียวกับเห็ดหลายชนิด และมีคุณค่าทางสมุนไพรที่น่าสนใจแม้ว่ายังไม่มีการศึกษากับเห็ดตีนแรดโดยตรง แต่ในตระกูลเดียวกันเช่น *T. gambosum* และ *T. matsutake* พบว่ามีสารที่มีผลต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็ง ควบคุมระบบการหมุนเวียนของโลหิต ลดไข้ และอื่น ๆ (Saosong *etal*.,2003) เห็ดตีนแรดสามารถเก็บรักษาความสดไว้ในตู้เย็นได้ไม่น้อยกว่า3วันมีแนวโน้มแปรรูปเป็นเห็ดแห้งและดองน้ำเกลือไว้จำหน่ายทั้งในประเทศและต่างประเทศ เห็ดตีนแรดที่เกิดอยู่ทั่วไปในประเทศไทยย่อมมีความหลากหลาย ตามสิ่งแวดล้อมหรือทางพันธุกรรม นับเป็นผลดี ต่อการที่จะรวบรวมคัดเลือก เพื่อนำมาขยายให้เป็นประโยชน์กับหน่วยงาน องค์กรต่างๆหรือให้กับเกษตรกร แต่ ปัจจุบันสายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่จะบริการดังกล่าวยังไม่มี ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้พันธุ์เห็ดแนะนำที่เหมาะสมกับ พื้นที่เพาะและฤดูกาล และมีลักษณะตามความต้องการของตลาดไว้เป็นสายพันธุ์บริการ และใช้ปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1.เก็บรวบรวมคัดเลือกตัวอย่างดอกเห็ดตีนแรด

ในธรรมชาติจากภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ บันทึกลักษณะดอกเห็ดและแหล่งเก็บดอกเห็ด ทำการแยกและเก็บเชื้อบริสุทธิ์ โดยวิธีตัดเนื้อเยื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA และเก็บรักษาเส้นใยไว้บน PDA

2.ศึกษาการเจริญของเส้นใยดอกเห็ด

คัดเลือกสายพันธุ์เห็ด รหัสDOA-1-DOA-10 เป็นสายพันธุ์ทดสอบการเจริญของเส้นใย ที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30, 35 และ 40^{O}ซ บนอาหาร PDA วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 10 กรรมวิธี (เห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์)

3. ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดดอกเห็ด

ศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะใน ฤดูหนาว ฤดูร้อนและ ฤดูฝน

3.1 เตรียม ก้อนอาหารเพาะ

สูตร 1 ฟางข้าว : มูลวัว :รำละเอียด : ปูนขาว ในอัตราส่วน 100: 25 : 5 :1 โดยน้ำหนัก

สูตร 2 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา:รำละเอียด:ดีเกลือ:ปูนขาว ในอัตราส่วน 100:3:0.2:1 โดยน้ำหนักบรรจุถุงละ 800 กรัม

3.2 การเปิดดอก

3.2.1 เมื่อเส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าว เปิดให้เกิดดอกโดยเปลือยถุงลงตะกร้า จำนวน 10 ก้อน/ตะกร้า และปิดหน้าก้อนเชื้อด้วยดิน ให้เกิดดอกในโรงเรือนสภาพธรรมชาติที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพานจังหวัดสกลนคร

3.2.2 เมื่อเส้นใยเจริญ เต็มก้อนอาหารขี้เลื่อย ย้ายถุงก้อนเชื้อไปเปิดให้เกิดดอกโดยเปิดปากถุงแล้วปิดหน้าก้อนเชื้อแต่ละถุงด้วย ดิน ให้เกิดดอกใน โรงเรือนสภาพธรรมชาติ กำหนดสายพันธุ์ละ 55 ซ้ำ (ถุง) ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 กรรมวิธี (เห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์)

4.วิเคราะห์ คุณค่าทางโภชนาการของดอกเห็ดตีนแรด

ดอกเห็ดตีนแรดสดที่เกิดจากการเพาะ 1 สายพันธุ์ ส่งวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการจำนวน 17 รายการ โดยส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร (LCFA)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.รวบรวมคัดเลือก เชื้อพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่าง ๆ

รวบรวมเห็ดตีนแรดระหว่างปีพ.ศ.2548-2549ได้10ตัวอย่างและในปีพ.ศ.2550ได้5 ตัวอย่าง(Table1) โดยเก็บจากโคนต้นไม้ต่างๆมักเกิดเป็นกลุ่มเล็กมีเพียง 2-3 ดอกและดอกมีขนาดเล็ก จากกองใบสนทะเลเป็นกลุ่มดอกขนาดใหญ่มีมากกว่า 10 ดอก น้ำหนักมากกว่า 1 กิโลกรัม แสงมณี (2522) ได้ รายงานไว้ว่าสายพันธุ์จาก จ.กาญจนบุรี เชียงใหม่ ดอกเห็ดส่วนมากเกิดเป็นกลุ่ม ขนาดหมวกและก้านมีขนาดปานกลาง เมื่อเทียบกับสายพันธุ์จากชลบุรีและตาก ดอกมักเกิดเป็นดอกเดี่ยวและสายพันธุ์จากชลบุรี ให้ดอกที่มีขนาดใหญ่ที่สุดส่วนสายพันธุ์จากตากให้ดอกที่มีขนาดเล็กที่สุด เส้นใยเห็ดตีนแรด15สายพันธุ์ ให้รหัสเป็นสายพันธุ์DOA-1 - DOA-15 เลี้ยงบนPDA แล้วเก็บในน้ำกลั่นนึ่ง ซึ่งผ่าน การนึ่งที่อุณหภูมิ121°ซ แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง(24-32°ซ.)

2. ศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดตีนแรดบนอาหาร PDA

เส้นใย เจริญได้ดีระหว่างอุณหภูมิ 20-30 °ซ เจริญเต็ม PDA ในจานแก้ว ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางกว้าง 9 ซม.ภายใน9-19วันไม่เจริญที่ 35 และ40 °ซ (**Table** 2) แต่เมื่อย้ายไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง(24-35°ซ) เห็ดตีนแรดทุกสายพันธุ์สามารถเจริญได้ปกติ

3.การจำแนกกลุ่มเห็ดตีนแรด

จากรูปร่าง ขนาด ของหมวกและก้านดอกเห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์(DOA-1-DOA-10) ตาม **Table**1 ที่เพาะทดสอบระหว่าง พ.ศ.2549-2550 สามารถจัดได้ 3กลุ่ม โดยกลุ่มที่1 ได้แก่ DOA-1, DOA- 3, DOA- 5, DOA-6, DOA-7, DOA-8, DOA-9 DOA-10 ซึ่งหมวกรูปร่าง ทรงกลม มีขนาดค่อนข้างใหญ่ ระหว่าง8.5-11 ซม.เฉลี่ย4.87-6.35 ซม. ก้านยาว 20-24ซม.เฉลี่ย12.63-16.55 ซม.กลุ่มที่2 DOA-2 หมวกรูปร่างทรงกลมมีขนาดเล็ก–ปานกลาง 3-8 ซม. ก้านยาว 20-26.3 ซม.เฉลี่ย19.23 ซม. และกลุ่มที่3 DOA-4 หมวกรูปร่างคล้ายกระจกนูนตรง กลางหมวกดอกนุ่มเป็นแอ่ง มีขนาด แคบ 3.4 -6.13 ซม. ก้านสั้นขนาด 8.7-11.8 ซม.เฉลี่ย 8.73 ซม. (**Table** 3) ส่วนสายพันธุ์ DOA-11-DOA-15 จะได้ศึกษาครั้งต่อไป

สปอร์ของเห็ดตีนแรด ที่เพาะทั้ง10 สายพันธุ์มี สีขาว รูปไข่ขนาด 8.25-10.5X6-7.5 ไมโครเมตร ซึ่งต่างกับที่ Pegler(1986)รายงานว่าสปอร์ของ *Tricholoma crassum* มีขนาด4.7-6X3.5-4.5ไมโครเมตร เบซิเดียม(basidium)รูปกระบอง เบซิดิโอร (basidiole) รูปกระบอง ขนาด 22.5- 50X2.5-10 ไมโครมิเตอร์ เส้นใยเนื้อครีบเรียงตัวกันแบบขนาน ผนังบางใส เส้นใยเนื้อหมวกผนังบาง พันกันหนาแน่น มี clamp connection และเส้นใยผิวหมวกมีลักษณะเช่นเดียวกับเส้นใยเนื้อหมวก ไม่พบเซลล์หมัน(cystidium) ที่เนื้อครีบ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวปรากฏเช่นเดียวกับข้อมูล ของ Pegler (1986)ที่บันทึกว่ามักไม่พบเซลล์หมัน โดยเฉพาะ cheilocystidium.

4. ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดดอกเห็ด

ผลศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะในฤดูร้อน ฤดูฝน และ ฤดูหนาว

4.1 ดำเนินการที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพาน จ. สกลนคร ระหว่าง มีนาคม-กันยายน 2549

เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมัก ภายใน 60 วัน (มี.ค.-พ.ค. 2549) และเกิดดอกช่วง มิ.ย.-ก.ย.2549 ซึ่งอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 26-30 °ซ เห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-1,DOA-4,DOA-7 และDOA-10ให้ผลผลิตสูงระหว่าง 178.5-195.4 กรัมต่อถุง สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (**Table** 4)

4.2 ดำเนินการที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพาน จ. สกลนคร ระหว่าง พฤศจิกายน 2549-มิถุนายน 2550 เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมักภายใน 67-70 วัน (พ.ย. 2549-ม.ค.

2550) เกิดดอกและเก็บผลผลิตได้ช่วง มี.ค.-มิ.ย. 2550 เห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-1,DOA-2,DOA-3, DOA-4,DOA-5 และ DOA-10 ให้ผลผลิตสูง ระหว่าง112.5-127.8 กรัมต่อถุง (**Table**4) จากการเพาะช่วงฤดูร้อน-ฝน (มี.ค.-ก.ย.2549) เห็ดเกิดดอกหลังจากเส้นใยเจริญเต็มถุงได้เร็วกว่า การเพาะ ช่วงฤดูหนาว ซึ่งเส้นใยจะพักตัวนานไม่เกิดดอกช่วง ม.ค.-ก.พ. 2550 เนื่องจากขณะนั้นอุณหภูมิค่อนข้างต่ำ ไม่เหมาะต่อการเกิดดอก ส่งผลให้ปริมาณผลผลิตลดลง

4.3 ดำเนินการที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพาน จ. สกลนคร ระหว่าง พฤษภาคม - กันยายน 2550 เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมักภาย ใน43-46วัน (พ.ค.- มิ.ย.2550) ซึ่งเวลา8.00 น. อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25-30°ซ และช่วง13.00-16.00น.อยู่ระหว่าง28-34 °ซ ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิเหมาะต่อการเจริญของเห็ดตีนแรดระยะเส้นใยเกิดดอกและเก็บผลผลิตได้ช่วง (ก.ค.-ก.ย. 2550) ซึ่งอุณหภูมิ ช่วง 8.00น.อยู่ระหว่าง19-27°ซ และช่วง13.00-16.00น. อยู่ระหว่าง24-29 °ซ ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิเหมาะต่อการเจริญของเห็ดตีนแรด สายพันธุ์ DOA-4, DOA-,5 DOA-6, DOA7, DOA-1และ DOA-2ให้ผลผลิตสูงระหว่าง168.25-243.25กรัมต่อถุง (Table 4)

4.4 ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กทม. ระหว่างเมษายน-ตุลาคม 2549 เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารขี้เลื่อย ภายใน 90 วัน (อุณหภูมิห้องบ่ม 29-32 °ซ ระหว่าง เม.ย.-ก.ค.2549) ซึ่งใช้เวลายาวกว่าเพาะด้วยฟางข้าวหมัก สายพันธุ์ DOA-3 ให้ผลผลิต 134.5 กรัมต่อถุง สูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ (**Table** 4) และให้ผลผลิตเร็วกว่าด้วยเป็นสายพันธุ์ที่เส้นใยเจริญได้รวดเร็วที่อุณหภูมิ 25-30 °ซ (**Table** 2)

5.ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการเห็ดตีนแรด (Table 5 **)**

ผลการวิเคราะห์ ดอกเห็ดตีนแรดสด สายพันธุ์DOA-4 พบว่า มีไขมัน 0.33 g/100g สูงกว่าเห็ดนางฟ้า นางรม เป๋าฮื้อ เห็ดฟาง เห็ดหอม หูหนู และเห็ดเข็มทอง ซึ่งมีอยู่ 0.03-0.21 g/100g มีปริมาณน้ำตาล 1.17g/100g สูงกว่าเห็ดทั้ง 7ชนิดที่มีอยู่ 0.00-0.77g/100g (ค่าวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ของเห็ดนางฟ้า นางรม เป๋าฮื้อ เห็ดฟาง เห็ดหอม หูหนู และเห็ดเข็มทอง จาก LCFA.,2549 ในรายงานการศึกษา ฉบับสมบูรณ์ โครงการศึกษาดัชนีชี้วัด คุณลักษณะสำคัญที่ใช้เป็นเกณฑ์ ในการบ่งชี้คุณภาพการแบ่งชั้นคุณภาพและการกำหนดรหัสขนาด ของเห็ด เสนอสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ โดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) เช่นเดียวกับ โซเดียม ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าในเห็ดทั้ง 7 ชนิดดังกล่าวแต่ปริมาณ แคลเซียมและ ใยอาหารจะต่ำกว่า แต่สูงกว่าจากตัวอย่างวิเคราะห์ของ สุนันท์และคณะ (2529) เห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-4 มีสารซีลีเนียม (selenium) ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นส่วนหนึ่งของระบบต้านอนุมูลอิสระมีอยู่ 0.179 mg/kg สูงกว่า DOA-1,DOA-2,DOA-3และDOA-5ซึ่งมี 0.036, 0.057, 0.03 และ 0.04mg/kg ทั้งสูงกว่า เห็ดฟางที่มีอยู่0.123 mg/kg และเห็ดถั่ว (*Coprinus cinereus*) ซึ่งมีเพียง 0.012mg/kg (อัจฉรา 2549) กล่าวได้ว่าเห็ดตีนแรดDOA-4 มีความสามารถดูดซับสารซีลีเนียมที่

มีอยู่ในวัสดุปลูก ซึ่งสนับสนุนงานวิจัยของ Stajic *et al*. (2005)ว่าแต่ละสายพันธุ์ของเห็ด *Pleurotus ostreatus* ดูดซับสารซีลีเนียมได้มากน้อยแตกต่างกันตามความเข้มข้นและชนิดซีลีเนียมเช่น สายพันธุ์HAI 387 ดูดซับโซเดียมซีลีไนท์ (Na_2SeO_3)และซีลีเนียมไดออกไซด์ (SeO_2)ได้สูง นอกจากนั้นยังมี สังกะสี (zinc)ซึ่งมีรายงานว่าทำหน้าที่เป็นส่วนหนึ่งของระบบต้านอนุมูลอิสระด้วย เห็ดชนิดนี้จึงน่าจะได้มีการส่งเสริมให้รู้จักบริโภคมากขึ้นเพื่อสุขภาพที่ดี และช่วยให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้นจากการเพาะเป็นการค้า

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการรวบรวมคัดเลือกพันธุ์เห็ดตีนแรด *M. crassum* จากแหล่งต่าง ๆระหว่าง ตุลาคม 2549-มิถุนายน 2550 ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดดอก ได้สายพันธุ์ที่มีแนวโน้มสามารถ ใช้เพาะช่วงฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว ไม่น้อยกว่า จำนวน 4 สายพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตสูงคุณภาพดี สำหรับเป็นพันธุ์แนะนำแก่เกษตรกร ไว้เพาะเป็นการค้า และความแตกต่างทางด้านผลผลิตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหล่านี้จะมีคุณค่าต่อโครงการปรับปรุงพันธุ์เห็ดตีนแรดต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2519. การทดลองเพาะเห็ดตีนแรดในถุงพลาสติก.เห็ดวิทยา.ปีที่:1 ฉบับที่ 1 หน้า.1-25.

พิมพ์กานต์ อร่ามพงษ์พันธุ์ สมพงษ์ อังโขรัมย์ อุทัย ทองมี และพันธุ์ทวี ภักดีดินแดน. 2529. การเพาะ เห็ดตีนแรดในโรงเรือนและนอกโรงเรือน. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2529 กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ,กรุงเทพฯ. หน้า 140-145.

สุนันท์ พงศ์สามารถ สุรางค์ อัศวมั่นคง นรานิล มารคแมน ปิยะวรรณ สุรินทร์รัฐ ธิติรัตน์ ปานม่วงจงดี ว่องพินัยรัตน์และประเสริฐ์วุฒิคัมภีร์. 2529. การประเมินทางชีวเคมีและทางชีวภาพของคุณค่าทางโภชนาการของเห็ด.. *ใน* รายงานการวิจัยได้รับการสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติปี2524-2526 ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. หน้า31.

แสงมณี ชิงดวง สัญชัย ตันตยาภรณ์ และประเสริฐ วุฒิคัมภีร์. 2529. การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดตับเต่าขาว. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2529. กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. หน้า 105-111.

อัจฉรา พยัพพานนท์. 2549. ซีลีเนียม ในเห็ดป้องกันมะเร็งต่อมลูกหมาก ข่าวสารเพื่อเพาะผู้เห็ด. ปีที่ 11ฉบับที่ 3, หน้า1-6.

Pegler,D.N.1986. Agaric Flora of Sri Lanka Kees Bulletin Additional Series. p.357-372.

Saosoong ,P. , S. Simma, W. Butlak and C. Pukahuta . 2003. Antioxidant activity of some Thai edible mushroom. p. 57. *In* Abstract Bio Thailand for Life. 17-20 July 2003.

Stajic,M.,I.Brceki,S. Duletic-Lausevic,J.Vukojecvic,S.P.Wasser and E.Nevo.2005.Effect of selenium source on selenium absorption by mycelium of nine *Pleurotus ostreatus* strains. p.135-139. *In* Proceedings of the 5th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products 8-12 April 2005, Shanghai, China.

Table 1 *Macrocybe crassum* strains from various sources

Scientific name	Strain No.	Source	Site / Location
Macrocybe crassum	DOA-1	On ground close to Pra du tree	Bangkhan Bangkok
M. crassum	DOA-2	On ground close to Pra du tree	Ratchburana Bangkok .
M. crassum	DOA-3	On ground close to Khoi tree	Kachonvit Farm Lop Buri Province
M. crassum	DOA-4	On ground near stump	Bansrisaimul ChiangRai Province
M. crassum	DOA-5	On ground of field crop	Supun Buri Province
M. crassum	DOA-6	On ground close to Chomphu pun tip tree	Bangkhan Bangkok
M. crassum	DOA-7	On ground close to Planted bamboo	Bandenyai ,Hunka, Chai Nat Province
M. crassum	DOA-8	On ground close to Tamarene tree	Nongkae, Sara buri Province
M. crassum	DOA-9	On ground close to Chom phu pun tip tree	Bangkhan Bangkok
M. crassum	DOA-10	pine leaves compost	Prachuap Khiri Khan Province
M. crassum	DOA-11	On ground close to Hang nok yung tree	Bangkhan Bangkok
M. crassum	DOA-12	On ground in wood	Surat Thani Province
M. crassum	DOA-13	On ground of pastures	Chantha buri Province
M. crassum	DOA-14	On ground close to Hu kwang tree	Bangkhan Bangkok
M. crassum	DOA-15	On ground	Varinchumrab Ubon Ratchathani Province

Table 2 Mycelial growth of *M. crassum* strains grown on PDA (diameter= 9 cm) at various temperature

M. crassum strains	Full colonization (days)					
	15°c	20°c	25°c	30°c	35°c	40°c
DOA-1	>90	17	12	18	Non	Non
DOA-2	>90	20	13	11	Non	Non
DOA-3	>90	23	11	10	Non	Non
DOA-4	>90	42	15	14	Non	Non
DOA-5	>90	28	14	11	Non	Non
DOA-6	>90	40	12	9	Non	Non
DOA-7	>90	39	16	10	Non	Non
DOA-8	>90	44	19	19	Non	Non
DOA-9	>90	19	12	14	Non	Non
DOA-10	>90	34	12	11	Non	Non

Table 3 Appraisal of fruit body of *M. crassum* strains

M. crassum strains	Av.wt.(g)/ fruit body	Av.pileus diameter(cm)	Av.stipe length (cm)	Stipe diameter(cm)
DOA-1	21.333 b	5.63 a	14.13 b	2.3
DOA-2	33.03 ab	4.70 ab	19.23 a	2.1
DOA-3	39.603 ab	5.43 a	13.73 b	2.2
DOA-4	22.813 b	3.38 b	8.73 c	2.0
DOA-5	33.08 ab	4.63 ab	16.55 ab	1.93
DOA-6	59.15 a	6.35 a	14.05 b	3.03
DOA-7	42.28 ab	5.57 a	13.83 b	2.23
DOA-8	56.14 a	6.18 a	15.85 ab	2.5
DOA-9	38.677 ab	4.87 ab	12.63 bc	2.17
DOA-10	28.543 b	5.73 a	15.05 b	2.68
C.V.	43.8%	20%	18%	31.4%

Table 4 Yields (g) /bag of *M. crassum* strains grown at different time and method

M. crassum strains	[1/]June-September 2006	[2/]July-October 2006	[3/] March-June 2007	[4/]July-Novembe 2007
DOA-1	195.38 a	33	115.00 ab	177.00 bcd
DOA-2	142.25 ab	25	126.75 a	168.25 bcd
DOA-3	62.88 b	134.5	113.17 ab	126.25 cd
DOA-4	185.93 a	85	118.00 ab	243.25 a
DOA-5	117.38 ab	47.5	127.75 a	203.13 ab
DOA-6	134.38 ab	49	88.00 abc	188.88 ab
DOA-7	178.50 a	33	72.33 bc	186.00 abc
DOA-8	95.45 ab	70	60.00 c	156.25 bcd
DOA-9	98.88 ab	41	68.00 bc	124.63 d
DOA-10	184.13 a	48	112.75 bc	157.63 bcd
C.V.	39.2%	-	28.3%	21.5%

[1/]June-September 2006 at Sakon Nakhon Province

[2/]July-October 2006 at Department of Agriculture Bangkok

[3/] March-June 2007 at Sakon Nakhon Province

[4/] July-Novembe 2007 at Sakon Nakhon Province

[5/] Means followed by a common letter are not significantly different at the 95% level by DMRT

Table 5 Nutritive value, mineral, trace element and vitamin of *M .crassum* DOA-4

Test items	Test Result	Units
Protein	2.96	g/100g
Carbohydrate	6.48	g/100g
Dietary Fiber	2.04	g/100g
Sugar	1.17	g/100g
Fat	0.33	g/100g
Phosphorus	93.44	mg/100g
Zinc	0.45	mg/100g
Sodium	30.9	mg/kg
Calcium	6.726	mg/kg
Iron	11.840	mg/kg
Vitamin B1	0.01	mg/kg
Vitamin B2	0.09	mg/100 g
Selenium	0.018	mg/100g
Calories	40.73	Kcal /100g
Calories from Fat	2.97	Kcal /100g
Moisture	89.02	g/100g
Ash	1.21	g/100g

Source : Laboratory Center for Food and Agricultural Products (LCFA), 2007

การจัดระบบการลิตที่มีผลต่อการให้ผลผลิตเห็ดฟาง

Production Process on the Straw Mushroom for the Central Part Cultivation

อัจฉรา พยัพพานนท์ [2/]พุฒนา รุ่งระวี [1/]เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ อภิรัชต์ สมฤทธิ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การผลิตเห็ดฟางในโรงเรือนสามารถดำเนินการได้ตามเทคโนโลยีที่มีอยู่ แต่ยังขาดข้อมูลการจัดระบบที่สามารถกำหนดปริมาณผลผลิตต่อวันให้ได้ตามความต้องการอย่างต่อเนื่อง จึงได้ทำการวิจัย จัดระบบการผลิตในโรงเรือนของเกษตรกรที่ผลิตเห็ดฟางเป็นการค้าโดยมีเป้าหมายว่าจะผลิตเห็ดให้ได้อย่างน้อยวันละ30กก.ทำการเพาะทดลองในโรงเรือนของเกษตรกร ขนาด 5.8x6.8x3.6 เมตร พื้นที่ชั้นประมาณ 0.8x5 ตารางเมตร จำนวน 8 ห้อง อย่างต่อเนื่อง หมุนเวียนรอบละ 8 ห้องแต่ละห้องเพาะห่างกัน 2- 3 วัน เป็น จำนวน18รอบ แต่ละห้องใช้เวลา 8-12 วัน แต่ละรอบใช้เวลา 22-31 วัน เก็บผลผลิตทุกวันโดยได้ทำการทดลองสองช่วงเวลา คือระหว่างมกราคม-กันยายน 2549 และตุลาคม2549-กันยายน2550 ที่ฟาร์มเพาะเห็ดฟางเกษตรกร อำเภอภาชี จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ผลการทดลองช่วงที่1เดือนมกราคม-กันยายนพ.ศ.2549:รวบรวมข้อมูลผลผลิตเห็ดฟางทุกวันเป็นเวลา 239 วัน พบว่าการเพาะในระบบแปดห้องหมุนเวียน สามารถเก็บเห็ดได้ 5ห้องพร้อมกันมี 5 วัน 4ห้องพร้อมกัน มี 48วัน 3ห้องพร้อมกัน มี 122วัน 2ห้องพร้อมกันมี 60วันและเก็บผลผลิตได้เพียง1ห้องมี เพียง5 วัน การให้ผลผลิตแต่ละวันพบว่ามี จำนวนวัน 218 วัน ที่ให้ผลผลิตมากกว่า 30 กก.ขึ้นไป และที่เก็บผลผลิตได้น้อยกว่า 30กก.มี 21วัน จำนวนวันที่เก็บผลผลิตได้สูงกว่า 30 กก.ต่อวัน พบว่ามีอยู่ 70 วันที่มาจากผลผลิต 3ห้องรวมกัน มี 12 วันที่มาจากผลผลิต 4 ห้อง มี37วันที่มาจาก 2 ห้อง และมีเพียง1 วันที่มาจาก 1ห้อง จำนวนวันที่เก็บผลผลิตได้สูงกว่า 50 กก.ต่อวัน พบว่ามี อยู่48วัน ที่มาจากผลผลิต 3ห้องรวมกัน มี 36 วัน ที่มาจากผลผลิต 2ห้อง มี 9 วัน ที่มาจากผลผลิต 5ห้อง มี 3 วัน ที่มาจากผลผลิต 1ห้อง และมีเพียง1วันที่มาจากผลผลิตเพียง 1ห้อง ถ้ามีเห็ดเกิดเพียง 1 ห้อง โอกาสได้ผลผลิต ต่ำกว่า 30 กก.ต่อวัน มีอยู่ 10 วัน และเช่นเดียวกันหากมีเห็ดเกิดจาก2 ห้อง ยังเสี่ยง ที่จะมี10 วัน ได้เห็ดน้อยกว่า 30 กก.

รหัสโครงการ 01-16-49-03

[1/] กลุ่มวิจัยกีฏะและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/] กลุ่มวิจัย และวิเคราะห์สถิติการเกษตร ศูนย์สารสนเทศ

ผลการทดลองช่วงที่2เดือนตุลาคม2549-กันยายน2550:รวบรวมข้อมูลผลผลิตเห็ดฟางทุกวัน เป็นเวลา 297 วัน พบว่า สามารถเก็บเห็ดได้ 5ห้องพร้อมกัน มี 2 วัน 4ห้องพร้อมกันมี 66วัน 3ห้องพร้อมกันมี 148 วัน 2 ห้องพร้อมกัน มี 69วัน และเก็บผลผลิตได้เพียง1ห้องมี 12 วัน การให้ผลผลิตแต่ละวัน: พบว่ามี จำนวนวัน 280วัน ที่ให้ผลผลิตมากกว่า 30 กก.ขึ้น จำนวนวันที่ให้ผลผลิตสูงกว่า 30 กก.ต่อวัน พบว่ามีอยู่ 94วันที่ มาจากผลผลิต 3ห้องรวมกัน มี 25 วัน ที่มาจากผลผลิต 4ห้องรวมกัน มี 55วันที่มาจากผลผลิต 2ห้องรวมกัน และมี 4วันที่มาจากผลผลิต 1ห้องรวมกันจำนวนวันที่ให้ผลผลิตสูงกว่า 50 กก.ต่อวัน พบว่า มี 54วันที่มาจากผลผลิต 3ห้องรวมกัน มี 41 วันที่มาจากผลผลิต 2ห้องรวมกัน มี 5วันที่มาจากผลผลิต2ห้องรวมกัน มี2วันที่มาจากผลผลิต 5 ห้องรวมกัน และ 1ห้องที่ให้ผลผลิตมากกว่า 50กก.ไม่มี

คำนำ

ความนิยมบริโภคเห็ดฟางในประเทศไทยมีมานานกว่า 60 ปี และความต้องการได้เพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับ เป็นเห็ดที่มีศักยภาพการผลิตสูงในเขตร้อนชื้น ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ผลิตเห็ดฟางเป็นอันดับหนึ่งของโลกได้ 150,000 ตันรองลงมา คือประเทศไทยผลิตได้ 63,000 ตัน (Chang, 1993 ; 1996) การเพาะเห็ดฟางในประเทศไทย ยังคงใช้วิธีการเพาะทั้งเพาะนอกโรงเรือนและในโรงเรือน ซึ่งการเพาะในโรงเรือนจะให้ผลผลิตได้สูงกว่าการเพาะแบบกองเตี้ยต่อพื้นที่เพาะ และได้มีการเพาะกันอย่างกว้างขึ้น ผลงานวิจัยสำคัญที่ผ่านมา ได้มีการรวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดฟางไว้เป็นเชื้อพันธุ์บริการของศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์แห่งประเทศไทย โดยจำนวนไม่น้อยกว่า 6 สายพันธุ์ สำหรับจำหน่าย เป็นสายพันธุ์ที่คงลักษณะพันธุ์เดิมด้วยมีวิธีการเก็บรักษาที่มีประสิทธิภาพ เช่น เก็บรักษาไว้ระยะสั้นไม่น้อยกว่า 2 ปี ไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (อัจฉรา และคณะ, 2540) หรือเก็บรักษาเชื้อเห็ดฟางไว้เป็นเวลายาวนาน จะเก็บไว้ในถังไนโตรเจนเหลว อาหารที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเห็ดฟาง อัจฉรา และสัญชัย (2531) ได้ศึกษาวิธีการหมักปุ๋ยขั้นสุดท้าย รายงานว่า ก่อนการอบไอน้ำอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในระดับ 45 –50 องศาเซลเซียส ซึ่ง *Fermor, et al* . (1985) ได้รายงานว่าระดับอุณหภูมิ 50 – 55 ^{O}ซ จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อราร้อน หรือแอคติโนมายซิท กลุ่มที่เป็นประโยชน์ในการหมักขั้นสุดท้าย *Straastma et al.* (1994) รายงานไว้ว่าจะมีราร้อน *Scytalidium thermophilum* ในปุ๋ยหมัก ผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแชมปิญอง Payapanon *et al* (2003) ได้ใช้เชื้อ *S. thermophilum* ที่แยกจากกองปุ๋ยหมักเติมในกองฟางจะช่วยขบวนการหมัก และเมื่อนำปุ๋ยหมักไปเพาะเห็ดฟางจะได้ผลผลิตมากกว่าการใช้ฟางข้าวที่หมัก โดยไม่เติมราร้อนประมาณ 1- 4% อัจฉรา และสัญชัย

(2531 ; 2535) ได้ศึกษาสูตรปุ๋ยเพาะเห็ดฟางจากการใช้วัสดุเพาะต่าง ๆกัน เป็นฟางข้าว ขี้เลื้อยไม้ยางพารา ทะลายปาล์มน้ำมัน ขี้ฝ้าย ซึ่งให้ผลผลิตแตกต่างกัน การอบไอน้ำปุ๋ยหมัก ปุ๋ยหมักเป็นวัตถุที่ผ่านการหมักโดยขบวนการทางชีวเคมีจะเป็นกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่างๆ ซึ่งมีทั้งที่เป็นประโยชน์ และที่เป็นศัตรูเห็ด นอกจากนั้นอาจมีแมลงหรือไข่แมลงปะปนในปุ๋ยหมักจึงต้องใช้ความร้อนจากไอน้ำอบปุ๋ยหมัก Hu *et al.* (1974) ได้รายงานว่าการอบไอน้ำปุ๋ยหมักเพื่อเพาะเห็ดฟางของประเทศไต้หวัน ใช้ความร้อน อุณหภูมิ 60 ^{O}ซ อบปุ๋ยหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ส่วนในประเทศไทย อัจฉรา และคณะ (2532) ได้ศึกษาการอบไอน้ำปุ๋ยหมักโดยหมักฟางข้าวผสมขี้ฝ้าย รำ และปูนเปลือกหอย ในอัตราส่วน 50:45:5:2 เป็นเวลา 10 วัน แล้วอบไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิที่ 60 – 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2,4,6 และ 8 ชั่วโมง ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง เมื่ออุณหภูมิในปุ๋ยหมักลดลงที่ 36–38 ^{O}ซ ใส่เชื้อเห็ดฟางจะได้ผลผลิต 23.57, 25.11, 26.52 และ 24.30% B.E. อย่างไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และเมื่อตรวจสอบจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักหลังอบไอน้ำพบเชื้อแบคทีเรีย (endospore – forming bacteria) เช่น *Bacillus* sp. ในปุ๋ยหมักทุกกรรมวิธีและพบ *Bacillus* sp. และราร้อน *Humicola* sp. ปริมาณมากเมื่ออบไอน้ำได้ 2 ชั่วโมง และลดน้อยลงตามลำดับ เมื่ออบไอน้ำนาน 4, 6 และ 8 ชั่วโมง และพบแอคติโนมายซีทบ้าง จากการผลทดลองนี้ อัจฉรา และคณะ (2532) ได้แนะนำให้เกษตรกร อบปุ๋ยหมักด้วยไอน้ำร้อน อุณหภูมิ 60 – 62 ^{O}ซ เป็นเวลา 3 – 4 ชั่วโมง โดยเน้นการเตรียมปุ๋ยหมักให้ดี จะได้ปุ๋ยหมักที่เหมาะต่อการเจริญของเส้นใยและเกิดดอกของเห็ดฟาง เทคโนโลยีดังกล่าว ได้มีการถ่ายทอดสู่เกษตรกรนำไปพัฒนาใช้ได้ผลผลิตมากขึ้น ประกอบกับวัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้เพาะมีหลากหลายชนิด เช่น เปลือกฝักถั่วเขียว เปลือกมันสำปะหลัง ซึ่งในปี พ.ศ. 2546 จะมีพื้นที่เก็บเกี่ยวมันสำปะหลังประมาณ 6.76 ล้านไร่ ผลผลิตเพิ่มเป็น 18.74 ล้านตันมากกว่าปี พ.ศ. 2544 ซึ่งก็จะมี เปลือกมันสำปะหลังใช้เพาะเพิ่มขึ้นทำนองเดียวกันทะลายปาล์มน้ำมันก็จะมีมากเช่นกัน โอกาสที่จะเพิ่มปริมาณการผลิตเพื่อเป็นสินค้าส่งออก ย่อมมีโอกาสเกิดขึ้นได้ แต่มีปัญหาความจำกัดในเรื่อง จำนวนปริมาณเห็ดฟางที่ต้องการยังไม่มีความต่อเนื่องอย่างสม่ำเสมอทุกวัน จึงควรต้องมีข้อมูลของ ระบบการเพาะที่จะกำหนดปริมาณผลผลิตได้ว่าต้องประกอบกันอย่างไร หากได้ทดสอบการเพาะในพื้นที่ของเกษตรกร ด้วยจำนวนหลาย ๆ โรงเรือนในสภาพเพาะเพื่อเป็นการค้าและ ผลที่เกิดขึ้นเกษตรกรอาจจะนำไปใช้ได้ทันทีหรือต้องมีการแก้ไขในด้านเทคนิควิธีการผลิต เพื่อเป็นประโยชน์กับเกษตรกรมากยิ่งขึ้น วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อให้ได้เทคโนโลยีในระบบการผลิตเห็ดฟางที่สามารถกำหนดปริมาณผลผลิตได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดฟาง อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดฟาง
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 °ซ
3. วัสดุสำหรับใช้เพาะเห็ดฟาง ฟางข้าว ขี้ฝ้าย อาหารเสริม รำ แป้ง ข้าวเหนียว ปูนขาว
4. หม้อต้มน้ำพร้อมอุปกรณ์ใช้กับโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง
5. โรงเรือนเพาะเห็ดฟาง 8 โรงเรือน

วิธีการ

1 จัดระบบในการผลิต

1.1 เตรียมเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ ทางการค้าเป็นเชื้อเพาะ

1.2 เตรียมหมักปุ๋ย และอบไอน้ำวัสดุเพาะ

โดยหมักวัสดุเพาะ ในสัดส่วนฟางข้าว:ยิปซัม:ปูนเปลือกหอย:ปูนขาว:ยูเรีย:แป้งข้าวเหนียว:รำ ละเอียด อัตราส่วน 300 : 108 : 1,250 : 12 : 12 : 2 : 2 5 : 40 : 150 โดยน้ำหนัก แล้ว นำขึ้นชั้นเพาะอบไอน้ำอุณหภูมิ 60-65 °ซ นาน 3 ชั่วโมง เมื่ออุณหภูมิลดลงอยู่ที่ 35 °ซ ใส่เชื้อเห็ดฟางเพาะในระบบโรงเรือน

1.3 โดยจัดช่วงเวลาทำการผลิตด้วยการดำเนินขั้นตอนตามข้อ1.1 และ 1.2 แล้วเพาะในโรงเรือนจำนวน 8 โรงเรือน อย่างต่อเนื่อง เพาะให้เวลาห่างกัน ทุก 2 วัน

1.4 ปีพ.ศ.2549 ตั้งแต่ เดือนมกราคม-ตุลาคม 2549 โดยรอบที่1 เพาะระหว่าง ม.ค.-ก.พ.49 รอบที่2 ก.พ.-มี.ค.49 รอบที่3 มี.ค.-เม.ย.49 รอบที่4เม.ย.-พ.ค.49 รอบที่5 พ.ค.-มิ.ย.49 รอบที่6 ก.ค.-ส.ค.49 รอบที่7 ส.ค.-ก.ย.49 รอบที่8 ก.ย.-ต.ค.49

1.5 ปีพ.ศ.2550 ตั้งแต่ เดือน ตุลาคม2549-กันยายน 2550 โดยรอบที่1 เพาะระหว่าง ต.ค.-พ.ย.49 รอบที่2 พ.ย.-ธ.ค.49 รอบที่3 ธ.ค.49 -ม.ค.50 รอบที่4 ก.พ.-มี.ค.50 รอบที่5 มี.ค.-เม.ย.50 รอบที่6 เม.ย.-พ.ค. รอบที่7 พ.ค.-มิ.ย.50 รอบที่8 มิ.ย.-ก.ค.50 รอบที่9 ก.ค.-ส.ค.50 รอบที่10 ส.ค.-ก.ย.50

1.6 เก็บผลผลิตทุกวัน นำผล ตัวเลขวิเคราะห์ทางสถิติ

2. ศึกษาแมลง และจุลินทรีย์ ในขั้นตอนเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน

2.1 ใช้แผ่นกับดักกาวเหนียวดักแมลง

2.2 ใช้ Potato Dextose Agar ,Czapek Dox Agar , Malt Extract Agar ดักสปอร์ แต่ละชั้นเพาะภายในโรงเพาะเห็ดฟาง

3. การบันทึกข้อมูล บันทึก แมลง จุลินทรีย์ ในปุ๋ยหมัก ในโรงเรือนหลังอบไอน้ำ อุณหภูมิในโรงเรือน การเจริญเติบโต การให้ผลผลิตทุกวัน

เวลาและสถานที่ : ตุลาคม 2548- กันยายน 2550

: กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

: ฟาร์มเกษตรกร อำเภอภาชี จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.ผลการจัดระบบการเพาะเห็ดฟาง 8 ห้องต่อรอบ

1.1 ผลผลิตเห็ดฟางต่อวัน

ปีพ.ศ.2549 ตั้งแต่ เดือนมกราคม-ตุลาคม 2549 จากที่ได้รวบรวมข้อมูลผลผลิตเห็ดฟางทุกวันเป็นเวลา 239 วัน ในปีพ.ศ.2549 :

เมื่อ**วิเคราะห์จำนวนวันที่เก็บผลผลิต**: พบว่าจำนวนวันที่สามารถเก็บเห็ดได้ 5ห้องพร้อมกัน มี 5 วัน จำนวนวันที่สามารถเก็บเห็ดได้4ห้องพร้อมกันมี 48วัน จำนวนวันที่สามารถเก็บเห็ดได้3ห้องพร้อมกัน มี 122วัน จำนวนวันที่สามารถเก็บเห็ดได้2ห้องพร้อมกันมี 60วัน และจำนวนวันที่เก็บเห็ดได้เพียง1ห้องมี เพียง5 วัน การให้ผลผลิตแต่ละวันพบว่ามี จำนวนวัน 218 วัน ที่ให้ผลผลิตมากกว่า 30 กก.ขึ้นไป และที่เก็บผลผลิตได้น้อยกว่า 30กก.มี 21วัน (ตารางที่ 1)

เมื่อวิเคราะห์จำนวนวันที่เก็บผลผลิต ได้ตามเป้าหมายที่ได้วางไว้ พบว่าการให้ผลผลิตมากกว่า 30 กก.ขึ้นไปมีจำนวน 218 วัน คิดเป็นร้อยละ91.2 และจำนวนวันที่เก็บผลผลิตได้น้อยกว่า 30กก.มี 21วัน คิดเป็นร้อยละ8.8 (ตารางที่ 1,2)

ปีพ.ศ.2550 ตั้งแต่ เดือน ตุลาคม2549-กันยายน 2550 จากที่ได้รวบรวมข้อมูลผลผลิตเห็ดฟางทุกวันเป็นเวลา 297วัน ในปีพ.ศ.2550 : พบว่า

เมื่อวิเคราะห์จำนวนวันที่เก็บผลผลิต: พบว่าจำนวนวันที่สามารถเก็บเห็ดได้ 5ห้อง พร้อมกันมี 2 วัน จำนวนวันที่สามารถเก็บเห็ดได้ 4ห้องพร้อมกันมี 66วัน จำนวนวันที่สามารถเก็บเห็ดได้ 3ห้องพร้อมกันมี148 วัน จำนวนวันที่สามารถเก็บเห็ดได้ 2 ห้องพร้อมกันมี 69วันและจำนวนวันที่เก็บเห็ดได้เพียง1ห้องมีจำนวน12วัน

เมื่อวิเคราะห์จำนวนวันที่เก็บผลผลิต ได้ตามเป้าหมายที่ได้วางไว้ พบว่าการให้ผลผลิตมากกว่า 30 กก.ขึ้นไป มีจำนวน280วันต่อวัน คิดเป็นร้อยละ94.2 และที่เก็บผลผลิตได้น้อยกว่า 30 กก.มี17วันคิดเป็น ร้อยละ5.8 (ตารางที่ 4)

1.2 ผลของจำนวนห้องที่เก็บผลผลิตได้ต่อวัน

ผลการรวบรวม และวิเคราะห์ ข้อมูลผลผลิตเห็ดฟางทุกวันเป็นเวลา 239 วันในปี2549:

พบว่า**จำนวนห้องที่ให้ผลผลิตสูงกว่า 30 กก.ต่อวัน**มีความแตกต่างกัน เช่น ได้จากผลผลิตเห็ดรวมกัน 3 ห้องมีทั้งหมด 70 วัน จาก4ห้องมี 12 วัน 2ห้องมี 37วัน และ1ห้องมี 1 วัน

จำนวนห้องที่ให้ผลผลิตสูงกว่า 50กก.ต่อวัน: โดยรวมกัน 3ห้องมี 48วัน รองลงไป 4 ห้องมี 36 วัน 2ห้องมี 9วัน 5ห้องมี 3 วัน และ1ห้องที่ให้ผลผลิตมากกว่า 50กก.มีเพียง 1วันเกิดขึ้นช่วงเดือน ก.ค.- ส.ค. (ตารางที่ 4)

ถ้ามีเห็ดเกิดเพียง 1 ห้อง โอกาสได้ผลผลิต ต่ำกว่า 30 กก.ต่อวัน มีอยู่ 3 วัน 2 ห้องได้ผลผลิต ต่ำกว่า 30 กก.ต่อวัน จะมี14 วัน และ3 ห้อง ยังเสี่ยงมี 4วันที่ ได้เห็ดน้อยกว่า 30 กก. ดังนั้นจะให้ได้ผลผลิตสูงกว่า 30 กก.ต่อวัน พบว่า ควรต้องมีเห็ดเกิดดอกมากกว่า 3ห้องต่อวัน

ผลการรวบรวม และวิเคราะห์ ข้อมูลผลผลิตเห็ดฟางทุกวันเป็นเวลา 297 วันในปี2550:

พบว่า**จำนวนห้องที่ให้ผลผลิตสูงกว่า 30 กก.ต่อวัน**: พบว่ามีความแตกต่างกัน เช่น ได้จากการเก็บเห็ดที่เกิดขึ้นรวมกัน 3 ห้องมีอยู่ 94วัน จาก4ห้องมี 25 วัน 2ห้องมี 55วัน และ1ห้องมี 4 วัน

จำนวนห้องที่ให้ผลผลิตสูงกว่า 50กก.ต่อวัน: โดยรวมกัน 3ห้องมี 54วัน รองลงไป 4 ห้องมี 41 วัน 2ห้องมี 5วัน 5ห้องมี 2 วัน และ1ห้องที่ให้ผลผลิตมากกว่า 50กก.ไม่มี

ถ้ามีเห็ดเกิดเพียง 1 ห้อง โอกาสได้ผลผลิต ต่ำกว่า 30 กก.ต่อวัน มีอยู่ 8 วัน และเช่นเดียวกันหากมีเห็ดเกิดจาก2 ห้อง ยังเสี่ยง ที่จะมี 9 วัน ได้เห็ดน้อยกว่า 30 กก.ดังนั้นจะให้ได้ผลผลิต 30 กก.หรือมากว่า 30 กก.ต่อวัน ควรต้องมีห้องมากกว่า 2 ห้องเก็บดอกพร้อมกัน ซึ่งต่างกับผลการทดลองเมื่อปีพ.ศ.2549 ที่ต้อง มีห้องมากกว่า 3 ห้อง เช่นเดียวกัน ที่ปี พ.ศ. 2550 สามารถดำเนินการให้ได้ผลผลิต 30กก./สูงกว่า 30กก. ต่อวัน คิดเป็นร้อยละ 94.27 ซึ่งสูงกว่าปี พ.ศ.2549 ที่ ดำเนินการได้ผลผลิต 30กก./สูงกว่า 30กก. ต่อวัน ได้ร้อยละ 91.27

ดังนั้นจะให้ได้ผลผลิตสูงกว่า 30 กก.ต่อวัน พบว่า ควรต้องมีเห็ดเกิดดอกมากกว่า 3ห้องต่อวัน

2.ผลการศึกษา แมลงและจุลินทรีย์ ในโรงเรือนเพาะเห็ด

2.1 การระบาดของแมลง ช่วง เดือน มกราคม 2549 เมื่อใช้แผ่นพลาสติกทากาวเหนียวดักจับสามารถควบคุมแมลงได้ภายใน 1-2วัน และไม่ปรากฏ การระบาดมาจน ณ ปัจจุบัน แมลงดังกล่าวจำแนกได้ เป็นแมลงวัน(Diptera) กลุ่มแมลงหวี่เห็ด แมลงวันเซียริด (Sciarids) ฟลอริด (Phorids)

2.2 เชื้อจุลินทรีย์ พบเชื้อราซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม *Aspergillus,Penicillium, Mucor, Monilia* และ*Trichoderma* และพบเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่สามารถยับยั้งการเจริญราสีส้ม *Monilia* บน PDA แต่ไม่ปรากฏเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเห็ดฟางระหว่างการเจริญของเส้นใยและตลอดช่วงการเกิดดอก

จากการจัดระบบการผลิตเพื่อกำหนดปริมาณผลผลิตเห็ดให้ได้อย่างน้อยวันละ 30กก. กล่าวได้ว่า เมื่อมีปัจจัยที่คงที่ เช่น สูตรขี้ฝ้ายหมัก หลังจากผ่านการหมัก จะมีไนโตรเจน 1.99 % ฟอสฟอรัส 0.66 % พีเอช อยู่ที่ระดับ 7.7 (ตารางที่5) ซึ่งเหมาะต่อการเจริญของเห็ดฟาง เมื่อผ่านการอบด้วยไอน้ำร้อนแล้วแม้ ยังคงพบ จุลินทรีย์ หลายชนิดเมื่อ ดักสปอร์ ด้วย อาหาร MEA, PDA และ Czapek Dox Agar แต่ ไม่พบการแพร่กระจายของเชื้อราบนแปลงเพาะจากการมองด้วยตาเปล่า และเห็ดฟางคงให้ผลผลิตปกติ ผลผลิตจะมีความแปรปรวนเนื่องจาก โรงเรือนตั้งอยู่ตำแหน่งที่ แสงผ่าน และมีการถ่ายเทอากาศได้ดีหรือไม่ เช่นโรงเรือนเพาะหมายเลข 3 และหมายเลข 5 ให้ผลผลิตเฉลี่ย179.38 กก. และ 177.78กก. ต่อห้องใน ปี พ.ศ. 2549 และ พ.ศ.2550 ซึ่งไม่ต่างกัน สภาพอากาศมีอิทธิพลสูงต่อการให้ผลผลิต ของแต่ละช่วงเวลาเพาะ เช่นมี.ค.-เม.ย. ,และ ก.ค.-ส.ค.49 และรอบของช่วง เม.ย.-พ.ค. และมิ.ย.-ก.ค.50 โดย ช่วง มี.ค.-พ.ค. อุณหภูมิต่ำสุด อยู่ระหว่าง 22-25^{O}ซ สูงสุดอยู่ระหว่าง37-39^{O}ซ ส่วนช่วงมิ.ย.-ก.ค. อุณหภูมิต่ำสุดอยู่ระหว่าง23-27^{O}ซ สูงสุดอยู่ระหว่าง36-37 ^{O}ซ(ข้อมูล: สถานีอุตุวิทยาจ.พระนครศรีอยุธยา) ซึ่งเหมาะต่อการเจริญของเห็ดฟางและให้ได้ผลผลิตสูงกว่าช่วงเวลาเพาะอื่นๆ เช่นการเพาะครั้งครั้งที่6 พ.ศ.2549และครั้งที่4 พ.ศ.2550ได้ผลผลิตสูงกว่า30กก.ทุกวัน (ตารางที่ 3,6)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ข้อมูลการทดลองเพาะเห็ดฟางให้ได้ผลผลิตมากกว่า 30 กก.ต่อวัน ปีพ.ศ.2549-50 เห็นว่าควรมีโรงเรือนเพาะมากกว่า 8 ห้องต่อรอบและเพาะห่างกันห้องละ2 วัน เพื่อช่วยการบริหารจัดการได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

อัจฉรา พยัพพานนท์ และสัญชัย ตันตยาภรณ์.2531. ปรับปรุงคุณภาพของวัสดุที่มีอยู่โดยเพิ่มลดปริมาณธาตุอาหารในวัสดุผลิตเห็ดฟาง.หน้า 10-21 *ใน* รายงานผลงานวิจัย.กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2531 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อัจฉรา พยัพพานนท์ สัญชัย ตันตยากรณ์ และพรศักดิ์ สังข์ศักดา. 2535. การใช้มูลหมูเป็นแหล่งไนโตรเจนผลิตปุ๋ยหมักเพาะเห็ดฟางโรงเรือน.หน้า 47-61 *ใน* รายงานผลการวิจัยกองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2535 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 47-61.

อัจฉรา พยัพพานนท์ และสัญชัย ตันตยาภรณ์. 2535.การใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราและขี้ฝ้ายเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน. หน้า 73-84 *ใน* รายงานผลงานวิจัย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2535 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อัจฉรา พยัพพานนท์ สัญชัย ตันตยาภรณ์ และปิยฉัตร ธนพฤฒิบดี. 2539 . ศึกษาระยะเวลาในการหมักเศษเหลือปาล์มน้ำมันเพื่อเพาะเห็ดฟางในโรงเรือน.หน้า 86-101 ใน เห็ดไทย 2539.สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย กรุงเทพฯ.

อัจฉรา พยัพพานนท์. 2541. เอกสารวิชาการเทคโนโลยีการผลิตเห็ดฟางในโรงเรือนกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 65 หน้า.

อัจฉรา พยัพพานนท์. 2541. การเก็บเชื้อเห็ดฟางในน้ำ.หน้า 24-28 ใน เห็ดไทย 2540-41. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร.

Chang,S.T., 1993. Mushroom Biology: the impact on mushroom production and mushroom products. P 3-20. In Mushroom Biology and Mushroom Products, ed. By S.T. Chang, J.A. Buswell and S.W. Chiu, The Chinese University Press, Hong Kong.

Hu, K.J , S.f. Song and P.G. Miles. 1976. The camparison of compost made of different raw materials for *Volvariella volvacea* *Mushroom sci.* 9(1) : 687-90

Payapanon , A. and P. Pitukpriwan. 2003. Innoculation of *Scytalidium thermophilum* in Straw mushroom compost for promoting the production of *Volvariella volvacea* P. 41 *In* Abstracts Bio Thailand 2003 Technology for life 17-20 July 2003 PEACH, Pattaya ,Thailand

Straatsma, G., R.A. Samson, T.W. Olijinsma, H.J.M. Op Den Camp, J.P.G. Gerrits and L.J.D. Van Griensven. 1994. Ecology of thermophilic fungi in mushroom compost with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* mycelium. Appl. Environ. Microbiol. 60:454-458.

ตารางที่ 1 จำนวนห้องที่เก็บดอกเห็ดฟางได้พร้อมกัน ต่อการให้ผลผลิต (กิโลกรัม) ต่อวัน ระหว่างมกราคม-ตุลาคม2549

จำนวนห้องเกิดดอก	**<29.9 กิโลกรัม**	**30-50 กิโลกรัม**	**>50 กิโลกรัม**	**รวม (วัน)**
1	3	1	1	5
2	14	37	9	60
3	4	70	48	122
4	0	12	36	48
5	0	1	3	4
รวม	**21**	**121**	**97**	**239**

ตารางที่ 2 จำนวนห้องที่เก็บดอกเห็ดฟางได้พร้อมกัน ต่อการให้ผลผลิต (กิโลกรัม) ต่อวัน ช่วง ม.ค.-ต.ค.49

ครั้งที่	จำนวนห้อง	<29.9 กก.	30-50 กก.	>50.1 กก.	รวม(วัน)
1	2	7	4	0	11
	3	2	7	1	10
	4	0	4	3	7
	5	0	1	0	1
2	2	2	5	2	9
	3	0	5	7	12
	4	0	0	7	7
3	1	1	0	0	1
	2	0	5	3	8
	3	0	8	9	17
	4	0	0	8	8
4	2	4	3	1	8
	3	2	10	6	18
	4	0	4	3	7
	5	0	0	1	1
5	1	1	0	0	1
	2	1	7	1	9
	3	0	11	3	14
6	1	1	0	1	2
	2	0	4	1	5
	3	0	6	8	14
	4	0	1	4	5
	5	0	0	1	1
7	2	0	5	0	5
	3	0	13	6	19
	4	0	1	5	6
	5	0	0	1	1
8	1	0	1	0	1
	2	0	4	0	5
	3	0	9	5	18
	4	0	1	4	8
รวม	-	**21**	**121**	**97**	**239**

ตารางที่ 3 ผลผลิตเห็ดฟางของแต่ละห้องเพาะต่อรอบระหว่าง มกราคม-ตุลาคม 2549

รอบที่ / เดือน	ผลผลิต(กิโลกรัม) / ห้องที่								ผลผลิต/ห้อง
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1 / ม.ค.-ก.พ. 2549	106.2	98.2	102.5	121.5	148.1	74.4	252.1	121.2	134.77
2 / ก.พ.-มี.ค. 2549	242.7	218.1	195.2	187.2	143.1	287.3	116.4	184.9	196.86
3 / มี.ค.-เม.ย. 2549	169.3	169.5	279.9	248.9	191.7	200.6	215	174.5	206.175
4 / เม.ย.-พ.ค. 2549	134	196.3	119.8	173.8	158.8	203.6	298.5	143	178.475
5 /พ.ค.-มิ.ย. 2549	102.5	193.5	159.9	159.4	188.3	148.5	185.6	137.7	159.425
6 / ก.ค.-ส.ค. 2549	261.8	156.5	214.9	177.6	197.7	184.5	163.5	196.1	194.075
7 / ส.ค.- ก.ย. 2549	177.6	143.9	176.4	127.1	195.2	193.9	187.2	144.8	168.26
8 / ก.ย.-ต.ค. 2549	177.5	159.6	186.5	138.6	177.3	170.9	143.1	116.2	158.713
ผลผลิต / ห้อง	171.45	166.95	179.38	166.76	175.02	182.96	195.17	152.3	174.59

ตารางที่ 4 จำนวนห้องที่เก็บดอกเห็ดฟางได้พร้อมกัน ต่อการให้ผลผลิต (กิโลกรัม) ต่อวัน ระหว่างตุลาคม2549-กันยายน2550

จำนวนห้องเกิดดอก	<29.9 กิโลกรัม	30-50 กิโลกรัม	>50 กิโลกรัม	รวม (วัน)
1	8	4	0	12
2	9	55	5	69
3	0	94	54	148
4	0	25	41	66
5	0	0	2	2
รวม	**17**	**178**	**102**	**297**

ตารางที่ 5 ผลผลิตเห็ดฟางของแต่ละห้องเพาะต่อรอบ ระหว่าง ตุลาคม 2549-กันยายน2550

ครั้งที่	จำนวนห้อง	<29.9	30-50	>50.1	รวม(วัน)
1	1	2	1	0	3
	2	1	9	0	10
	3	0	2	6	8
	4	0	1	2	3
2	2	0	4	0	4
	3	0	10	7	17
	4	0	1	5	6
3	1	3	3	0	6
	2	0	8	0	8
	3	0	5	3	8
	4	0	3	2	5
4	2	0	7	4	11
	3	0	1	5	6
	4	0	3	6	9
	5	0	0	1	1
5	1	3	0	0	3
	2	4	1	0	5
	3	0	5	1	6
	4	0	9	7	16
6	2	0	6	0	6
	3	0	14	5	19
	4	0	2	4	6
7	2	0	3	0	3
	3	0	11	11	22
	4	0	2	4	6
8	2	0	6	0	6
	3	0	8	12	20
	4	0	1	4	5
	5	0	0	1	1
9	2	1	2	0	3
	3	0	16	1	17
	4	0	0	3	3
10	2	2	4	0	6
	3	0	11	0	11
	4	0	2	4	6
11	2	1	5	1	7
	3	0	11	3	14
	4	0	1	0	1
รวม	-	**17**	**178**	**102**	**297**

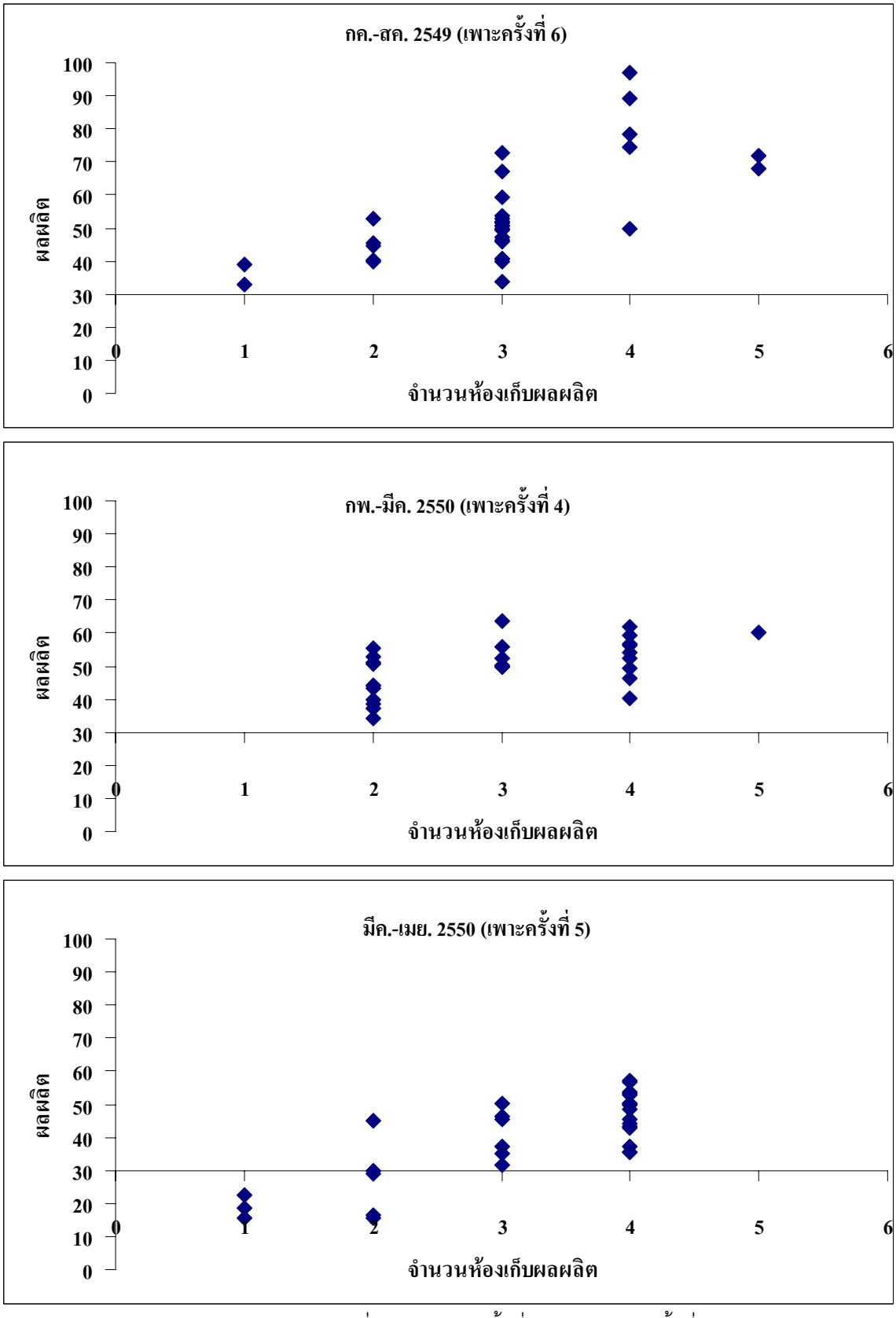
ตารางที่ 6 ผลผลิตเห็ดฟางของแต่ละห้องเพาะต่อรอบ ระหว่าง ตุลาคม 2549-กันยายน 2550

รอบที่ / เดือน	ผลผลิต(กิโลกรัม) / ห้องที่								ผลผลิต/ห้อง
	1	2	3	4	5	6	7	8	
1/ ต.ค.-พ.ย.2549	181.9	109.1	154.5	128.6	193.5	164.8	126.8	180.2	154.9
2/ พ.ย.-ธ.ค.2549	94.9	151.8	213.5	157.5	229.2	141.6	126.4	139.6	156.81
3/ ธ.ค.49-ม.ค.50	162	240	108.1	213.8	155.8	146.1	144.7	145	184.69
4/ ก.พ.-มี.ค.50	113.3	131.8	188	162	153.1	122.3	188.5	130.4	148.68
5/ มี.ค.-เม.ย.50	133.4	155.6	127.6	150.8	146.8	166.9	139.3	181.5	150.24
6/ เม.ย.-พ.ค.50	189.3	161.2	218.7	196.7	202.2	209.7	188.6	196.9	195.41
7/ พ.ค.-มิ.ย.50	193.2	172.3	163.3	189.4	181.8	143.6	194.9	149.3	173.48
8/ มิ.ย.-ก.ค.50	192.6	208.4	191	198.1	155.3	173	180.7	240.9	192.5
9/ ก.ค.-ส.ค.50	134	142.1	171	174.6	147.8	159	156.9	128.1	151.69
10/ ส.ค.-ก.ย.50	160.9	134.5	242.1	149.9	169.6	173.3	168.4	131.1	166.22
ผลผลิต/ห้อง	**155.55**	**160.68**	**177.78**	**172.14**	**173.51**	**160.03**	**161.52**	**162.3**	**167.46**

ตารางที่ 7 ค่าวิเคราะห์ ในส่วนประกอบของวัสดุหมักเพาะเห็ดฟาง

รายการ	**ค่าวิเคราะห์ / หน่วย**
1 ไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen)	1.99 %
2 ฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total Phosphate)	0.66 %
3 พอแตส เซี่ยม ทั้งหมด (Total Potassium)	1.19 %
4 แคลเซี่ยม ทั้งหมด (Total Calcium)	1.94 %
5 แมกนีเซี่ยม ทั้งหมด (Total Magnesium)	0.30 %
6 เหล็ก ทั้งหมด (Total Iron)	0.084 %
7 โซเดียม (Sodium)	0.22 %
8 ออร์แกนิคคาร์บอน (Organic Carbon)	46.95 %
9 ความชื้น (Moisture Content) ที่ 75 ^{O}ซ 20 ชม.	5.52 %
10 พีเอช (pH)	7.7

แหล่งวิเคราะห์ : ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร



ภาพ: ผลผลิตเห็ดฟาง จากจำนวนห้องที่เก็บพร้อมกันครั้งที่ 6 พ.ศ.2549 ครั้งที่ 4 , 5 พ.ศ.2550

การจัดระบบการผลิตที่มีผลต่อการให้ผลผลิตของเห็ดนางรม (ภาคกลาง)

Yield Assessment of Pleurotus Mushroom Grown Under Different Production Regimes

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ[1] เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์[2] อภิรัชต์ สมฤทธิ์[1]
กลุ่มวิจัยโรคพืช[1] กลุ่มกีฏและสัตววิทยา[2]
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การจัดระบบการผลิตที่มีผลต่อการให้ผลผลิตของเห็ดนางรม (ภาคกลาง) ดำเนินการในพื้นที่ฟาร์มเพาะเห็ดเกษตรกรจังหวัดราชบุรี กรุงเทพมหานคร และจังหวัดฉะเชิงเทรา พื้นที่ละ 1 ราย โดยทำการทดสอบวิธีการผลิตเห็ด แบ่งออกเป็น 2 โรงเรือนเพาะเห็ด เพื่อดำเนินการ 2 กรรมวิธี คือ การผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย (วิธีทดลอง) และการผลิตเห็ดตามวิธีเกษตรกร (วิธีเกษตรกร) พบว่าผลผลิตเฉลี่ยจากวิธีทดลองสูงกว่าเล็กน้อย พบการปนเปื้อนของวัสดุเพาะน้อยกว่าและปริมาณแมลงศัตรูเห็ดน้อยกว่า โดยการทดสอบที่ราชบุรี วิธีทดลองได้ผลผลิตเฉลี่ย 182.08 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 218.5 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือน) วิธีเกษตรกรได้ผลผลิตเฉลี่ย 181.25 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 217.5 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือน) ไม่มีการบันทึกข้อมูลการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ดและไม่ได้วิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิตเห็ด การทดสอบที่กรุงเทพมหานคร วิธีทดลองได้ผลผลิตเฉลี่ย 165.61 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 186.81 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) มีการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด 6 เปอร์เซ็นต์ วิธีเกษตรกรได้ผลผลิตเฉลี่ย 165.14 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 179.51 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) มีการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด 9.42 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบสารตกค้างในผลผลิตเห็ดทั้งสองแบบการผลิต การทดสอบที่ฉะเชิงเทรา วิธีทดลองได้ผลผลิตเฉลี่ย 170.67 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 204.30 กก./รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) พบสารตกค้างกลุ่ม carbaryl <0.02 mg/kgในผลผลิตเห็ด มีค่าต่ำกว่าค่า MRLs(ppm) ของสารกลุ่ม carbaryl ในเห็ดกระดุม, เห็ดหอม ซึ่งเท่ากับ 3 วิธีเกษตรกรได้ผลผลิตเฉลี่ย 168.43 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 201.62 กก./รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) พบการปนเปื้อนในก้อนอาหารเพาะระหว่างการเก็บผลผลิต และพบแมลงหวี่

รหัสโครงการ 01-16-49-03

คำนำ

เห็ดสกุลนางรมเป็นเห็ดที่นิยมเพาะทั่วทุกภาคของประเทศไทย ทั้งเพื่อบริโภคในครัวเรือนและผลิตเป็นการค้า ซึ่งสามารถทำรายได้ให้ผู้ผลิตเป็นอย่างดี จึงเป็นอาชีพที่มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจอาชีพหนึ่ง และยังก่อให้เกิดธุรกิจหมุนเวียนเพิ่มขึ้น ได้แก่ การจำหน่ายเห็ด วัสดุอุปกรณ์ ธุรกิจบริการ และธุรกิจแปรรูป เป็นต้น ในการเพาะเห็ดให้ประสบผลสำเร็จได้จะต้องประกอบด้วยเชื้อพันธุ์ดี อาหารเพาะที่เหมาะสมมีคุณภาพ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและการจัดการที่ดี มีงานค้นคว้า วิจัย เกี่ยวกับการเพาะเห็ดสกุลนางรม ทั้งการปรับปรุงพันธุ์ การเขตกรรมเกี่ยวกับสูตรอาหารเพาะที่ให้ผลิตสูงเหมาะสมกับเห็ดสกุลนางรม (พิมพ์กานต์,2544) รวมทั้งงานวิจัยเกี่ยวกับการอารักขาเพื่อจัดการโรคและแมลงซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการเพาะเห็ดโดยเฉพาะเห็ดนางฟ้า และนางรม ที่ต้องประสบกับปัญหาการระบาดเข้าทำลายของแมลงและไร ส่งผลกระทบโดยตรงต่อคุณภาพและน้ำหนักของผลผลิต การเข้าทำลายของแมลงวันศัตรูเห็ด ทำให้ผลผลิตของเห็ดลดลง ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการจัดการและบริหารแมลงศัตรูเห็ดหลายๆ วิธีเข้ามาผนวกเข้าด้วยกันเพื่อให้ได้ระบบของวิธีการปฏิบัติที่มีประสิทธิภาพคุ้ม-ค่าในเชิงพาณิชย์ เช่นการจัดการสุขอนามัยพืชก่อนการนำเห็ดเข้าโรงเรือนเพื่อเปิดดอก โดยการคัดเลือกก้อนเชื้อเห็ด การใช้กับดักกาวเหนียว เป็นต้น (กอบเกียรติ์, 2544 ; กอบเกียรติ์ และคณะ,2544 ; กอบเกียรติ์ และคณะ,2545 และ ประไพศรี, 2544) ซึ่งหากได้มีการติดตามเกี่ยวกับการผลิต ปัญหาอุปสรรคต่างๆ ในการใช้ผลงานศึกษาวิจัยเพื่อการผลิตโดยการดำเนินการทดสอบในแต่ละพื้นที่ ก็จะได้ข้อมูลไปปรับใช้ในการพัฒนางานวิจัย หรือต้องมีการแก้ไขในด้านเทคนิควิธีการผลิต จะช่วยให้งานวิจัยสมบูรณ์ถูกต้องยิ่งขึ้น เพื่อเป็นประโยชน์กับเกษตรกรและประเทศชาติต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

เชื้อเห็ดนางรม / วัสดุและอุปกรณ์เพาะเห็ด / สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูเห็ด

วิธีการ

1. การคัดเลือกพื้นที่และเกษตรกรเป้าหมาย ในเขตจังหวัดภาคกลาง

2.การวิเคราะห์สภาพพื้นที่ และประเด็นโดยรวมของการเพาะเห็ดของเกษตรกรในพื้นที่เป้าหมาย

3.กำหนดปัจจัยการผลิตเพื่อเปรียบเทียบวิธีการผลิตเห็ด แบ่งออกเป็น 2 โรงเรือน เพื่อดำเนินการ 2 กรรมวิธี คือ วิธีการผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย และวิธีการผลิตของเกษตรกร ในการเตรียมโรงเรือนเพาะเห็ด/ การเตรียมหัวเชื้อเพาะเห็ด / การเตรียมก้อนอาหารเพาะ

เห็ด / การใส่เชื้อในก้อนอาหารเพาะเห็ด/ การดูแลในระยะบ่มเส้นใย/การเปิดดอก/ การดูแลในระยะเปิดดอก/ การเก็บผลผลิต

4. ทดสอบในพื้นที่เกษตรกร เป็นการดำเนินการทดสอบตามแผนที่วางไว้

5. การบันทึกข้อมูล น้ำหนักผลผลิต/ อุณหภูมิ / ความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือน / วิเคราะห์สารพิษตกค้างในผลผลิต เก็บตัวอย่างผลผลิตเห็ดครั้งแรก สุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 1 ตัวอย่างต่อกรรมวิธีต่อโรงเรือน

ระยะเวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2550

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรในพื้นที่ภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u> ดำเนินการทดสอบในฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรจังหวัดราชบุรีจำนวน 1 รายพื้นที่ที่คัดเลือกมีสภาพดังนี้

1. ชนิดเห็ดที่เพาะ:- เห็ดสกุลนางรม / เห็ดหูหนู เพาะเห็ดมาแล้วไม่น้อยกว่า 10 ปี
2. โรงเรือน :- โรงเรือนเตรียม/บรรจุก้อน ลักษณะโรงเรือน : พื้นปูนซีเมนต์ / หลังคาสังกาสี / ผนัง
   อิฐโรงเรือนเพาะเห็ด :- ไม่แยกโรงเรือนบ่มก้อน และ เปิดดอก
   ขนาด : (กว้าง X ยาว) 4 X 9 เมตร จำนวน 5 โรง
   ขนาด :(กว้าง X ยาว) 6 X 12 เมตร จำนวน 5 โรง
   ลักษณะโรงเรือน : พื้นดิน / หลังคาแฝก / ผนังแฝก
3. การผลิตเห็ด :- ผลิตก้อนอาหารเพาะเห็ดเอง แหล่งหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างจากร้านค้า
4. การป้องกันกำจัดศัตรูเห็ด
   ระยะพักโรงเรือน :- ประมาณ 1 เดือน ก่อนใช้มีการฉีดพ่นสารเคมี
   ระยะบ่มก้อน :- ฉีดพ่นสารเคมี 1 ครั้งหลังเข้า และ ฉีดพ่นสารเคมี 1 ครั้งก่อนเปิดดอก
   ระยะเปิดดอก :- บางครั้ง
   สารเคมีที่ใช้ :- กลุ่ม abamectin, dichlorvos และ carbendazim
   ลักษณะการใช้ :- ฉีดพ่น
5. ระยะเวลาในการเก็บผลผลิตในแต่ละรุ่น :- ไม่น้อยกว่า 4 เดือน
6. เก็บผลผลิตช่วง 03.00-04.00 น. ส่งขายช่วงเวลา 8.00 น.

7. การจำหน่ายผลผลิต : - พ่อค้ามารับซื้อที่ฟาร์ม ราคา 25 บาท/กิโลกรัม

จากการกำหนดปัจจัยการผลิตเพื่อเปรียบเทียบวิธีการผลิตเห็ด แบ่งออกเป็น 2 โรงเรือนเพาะเห็ด เพื่อดำเนินการ 2 กรรมวิธี คือ วิธีการผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย และวิธีการผลิตของเกษตรกรดังนี้

วิธีการ	วิธีการผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย	วิธีการผลิตของเกษตรกร
การเตรียมโรงเรือนเพาะเห็ด	- พ่นสารคาร์บาริล (Carbaryl) อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร / สารอามีทราซ (Amitraz) อัตรา 30 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร / แคปแทน (Captan) อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นในโรงเรือนก่อน10-15 วัน - โรยปูนขาวพื้นโรงเรือน	- มีการพ่นสารเคมี กลุ่ม abamectin, dichlorvos, carbendazim และ Carbaryl
การเตรียมหัวเชื้อเพาะเห็ด	-หัวเชื้อเพาะ ใช้เมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อเป็นอาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ด/บ่มเส้นใยที่ 25°ซ อายุ 7-10 วัน	ใช้จากหน่วยงาน
การเตรียมก้อนอาหารเพาะเห็ด / การใส่เชื้อในก้อนอาหารเพาะเห็ด	- ดำเนินตามกรรมวิธีที่เกษตรกรปฏิบัติ	- ดำเนินตามกรรมวิธีที่เกษตรกรปฏิบัติ
การดูแลในระยะบ่มเส้นใย	-การใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง - พ่นสารคาร์บาริล (Carbaryl) อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร / สารอามีทราซ (Amitraz) อัตรา 30 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร / ผสมสารจับใบ ฉีดพ่นทุกๆ 7-10 วัน	- มีการพ่นสารเคมี กลุ่ม abamectin, dichlorvos, carbendazim และ Carbaryl ฉีดพ่นทุกๆ 7-10 วัน
การเปิดดอก	-มีการคัดเลือกก้อนอาหารเพาะเห็ดก่อนเปิดดอก -รูปแบบชั้นวางถุงเพาะเห็ด / ชั้นแบบตัวเอ - รูปแบบการเปิดก้อน เปิดจุกสำลีออก/เขี่ยผิวหน้าก้อนอาหารนำหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างออก	-ไม่มีการคัดเลือกก้อนอาหารเพาะเห็ดก่อนเปิดดอก - รูปแบบชั้นวางถุงเพาะเห็ด / ชั้นแบบตัวเอ - รูปแบบการเปิดก้อน :- เปิดจุกสำลีออกและนำคอขวดออก
การดูแลในระยะเปิดดอก	-ใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง -ให้น้ำ 2-3 ครั้ง / วัน	-ให้น้ำ 2-3 ครั้ง / วัน
การเก็บผลผลิต	- เก็บดอกอ่อน หรือยังไม่บาน - เก็บก่อนให้น้ำ	- เก็บดอกบาน - เก็บก่อนให้น้ำ
การวิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิตเห็ด	-	-

พบว่าการผลิตเห็ดตามวิธีเกษตรกร เห็ดออกดอกได้ผลผลิตเฉลี่ย 181.25 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 217.5 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือน) ไม่มีการบันทึกข้อมูลการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด และ วิธีทดลอง เห็ดออกดอกได้ผลผลิตเฉลี่ย 182.08 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 218.5 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือน) ไม่มีการบันทึกข้อมูลการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด ราคาขาย 25 บาท/กก.(ขายส่ง) และไม่ได้วิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิตเห็ดทั้งสองแบบการผลิต

<u>การทดลองที่ 2</u> ดำเนินการทดสอบในฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรจังหวัดกรุงเทพฯ จำนวน 1 ราย พื้นที่ที่คัดเลือกมีสภาพดังนี้

1. ชนิดเห็ดที่เพาะ:- เห็ดนางฟ้า/ เห็ดเป๋าฮื้อ/ เห็ดยานางิ (หมุนเวียน) เพาะเห็ดมาแล้ว 3 ปี
2. โรงเรือน :- โรงเรือนเพาะเห็ด :- ไม่แยกโรงเรือนบ่มก้อน และ เปิดดอก
   ขนาด : (กว้าง X ยาว) 4 X 6 เมตร จำนวน 1 โรง
   ลักษณะโรงเรือน : พื้นทราย / หลังคาจาก / ผนังแสลนสีดำ
3. การผลิตเห็ด :- ผลิตดอก แหล่งก้อนอาหารเพาะเห็ดจากร้านค้า
4. การป้องกันกำจัดศัตรูเห็ด
   ระยะพักโรงเรือน :- ประมาณ 15 วัน ก่อนใช้ไม่มีการฉีดพ่นสารเคมี
   ระยะบ่มก้อน :- ไม่มีการฉีดพ่นสารเคมี
   ระยะเปิดดอก : ไม่มีการฉีดพ่นสารเคมี
5. ระยะเวลาในการเก็บผลผลิตในแต่ละรุ่น :- ไม่น้อยกว่า 4 เดือน
6. เก็บผลผลิตช่วง 8.00 น. ส่งขายช่วงเวลา 10.00 น.
7. การจำหน่ายผลผลิต : - ขายเองราคา 50 บาท/กิโลกรัม

จากการกำหนดปัจจัยการผลิตเพื่อเปรียบเทียบวิธีการผลิตเห็ด แบ่งออกเป็น 2 โรงเรือนเพาะเห็ด เพื่อดำเนินการ 2 กรรมวิธี คือ วิธีการผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย (ใช้โรงเรือนของกลุ่มวิจัย) และวิธีการผลิตของเกษตรกร(ใช้โรงเรือนของเกษตรกร)ดังนี้

วิธีการ	วิธีการผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย	วิธีการผลิตของเกษตรกร
การเตรียมโรงเรือนเพาะเห็ด	- โรงเรือนของกลุ่มวิจัย - พ่นสารคาร์บาริล (Carbaryl) อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร / สารอามีทราซ (Amitraz) อัตรา 30 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร / แคปแทน (Captan) อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นในโรงเรือนก่อน10-15 วัน - โรยปูนขาวพื้นโรงเรือน	- โรงเรือนของเกษตรกร - ไม่มีการพ่นสารเคมี - โรยปูนขาวพื้นโรงเรือน
การเตรียมหัวเชื้อเพาะเห็ด	-หัวเชื้อเพาะ ใช้เมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อเป็นอาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ด/บ่มเส้นใยที่ 25°ซ อายุ 7-10 วัน	ใช้จากหน่วยงาน
การเตรียมก้อนอาหารเพาะเห็ด / การใส่เชื้อในก้อนอาหารเพาะเห็ด	แหล่งก้อนอาหารเพาะเห็ดจากร้านค้า	แหล่งก้อนอาหารเพาะเห็ดจากร้านค้า
การดูแลในระยะบ่มเส้นใย	-การใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง - พ่นสารคาร์บาริล (Carbaryl) อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร / สารอามีทราซ (Amitraz) อัตรา 30 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร/ผสมสารจับใบ ฉีดพ่นทุกๆ 7-10 วัน	- ไม่มีการพ่นสารเคมี
การเปิดดอก	-มีการคัดเลือกก้อนอาหารเพาะเห็ดก่อนเปิดอก -รูปแบบชั้นวางถุงเพาะเห็ด / ชั้นแบบตัวเอ - รูปแบบการเปิดก้อน เปิดจุกสำลีออก/เขี่ยผิวหน้าก้อนอาหารนำหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างออก	-มีการคัดเลือกก้อนอาหารเพาะเห็ดก่อนเปิดอก - รูปแบบชั้นวางถุงเพาะเห็ด / ชั้นแบบตัวเอ - รูปแบบการเปิดก้อน เปิดจุกสำลีออก/เขี่ยผิวหน้าก้อนอาหารนำหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างออก
การดูแลในระยะเปิดดอก	-ใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง -ให้น้ำ 2-3 ครั้ง / วัน	-ให้น้ำ 3 ครั้ง / วัน
การเก็บผลผลิต	- เก็บดอกอ่อน หรือยังไม่บาน - เก็บก่อนให้น้ำ	- เก็บดอกอ่อน หรือยังไม่บาน - เก็บก่อนให้น้ำ
การวิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิตเห็ด	ไม่พบสารตกค้างในผลผลิตเห็ด	ไม่พบสารตกค้างในผลผลิตเห็ด

พบว่าการผลิตเห็ดตามวิธีเกษตรกร เห็ดออกดอกได้ผลผลิตเฉลี่ย 165.14 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 179.51 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) มีการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด 9.42 เปอร์เซ็นต์ และ วิธีทดลอง เห็ดออกดอกได้ผลผลิตเฉลี่ย 165.61 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 186.81 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) มีการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด 6 เปอร์เซ็นต์ ราคาขาย 50 บาท/กก.(ขายเอง) การวิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิตเห็ดทั้งสองแบบการผลิตไม่พบสารตกค้าง

<u>การทดลองที่ 3</u> ดำเนินการทดสอบในฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรจังหวัดฉะเชิงเทราจำนวน 1 ราย พื้นที่ที่คัดเลือกมีสภาพดังนี้

1. ชนิดเห็ดที่เพาะ:- เห็ดสกุลนางรม เพาะเห็ดมาแล้ว 2 ปี
2. โรงเรือน :- โรงเรือนเตรียม/บรรจุก้อน
   ลักษณะโรงเรือน : พื้นปูนซีเมนต์ / หลังคากระเบื้อง / ผนังแสลน
   โรงเรือนบ่มก้อน :- ขนาด : (กว้าง X ยาว) 4 X 4.5 เมตร จำนวน 1 โรง
   ลักษณะโรงเรือน : พื้นปูนซีเมนต์ / หลังคากระเบื้อง / ผนังแสลน
   โรงเรือนเปิดดอก:- ขนาด :(กว้าง X ยาว) 4 X 4.5 เมตร จำนวน 1 โรง
   ลักษณะโรงเรือน : พื้นปูนซีเมนต์ / หลังคากระเบื้อง / ผนังแสลน
3. การผลิตเห็ด :- ผลิตก้อนอาหารเพาะเห็ดเอง แหล่งหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างจากร้านค้า
4. การป้องกันกำจัดศัตรูเห็ด
   ระยะพักโรงเรือน :- ประมาณ 15 วัน ก่อนใช้มีการฉีดพ่นสารเคมี กลุ่มcarbaryl
   ระยะบ่มก้อน :- ใช้สารเคมีกลุ่มcarbaryl และ amitraz ฉีดพ่นสลับกัน
   ระยะเปิดดอก :- ไม่มีการฉีดพ่นสารเคมี
   สารเคมีที่ใช้ :- กลุ่มcarbaryl และ amitraz
   ลักษณะการใช้ :- ฉีดพ่น
5. ระยะเวลาในการเก็บผลผลิตในแต่ละรุ่น :- ไม่น้อยกว่า 4 เดือน
6. เก็บผลผลิตช่วง 7.00 และ 16.00 น. ส่งขายช่วงเวลา 10.00 และ 18.00 น.
7. การจำหน่ายผลผลิต : - พ่อค้ามารับซื้อที่ฟาร์ม ราคา 35 บาท/กิโลกรัม /ขายส่ง
   ขายเองราคา 50 บาท/กิโลกรัม/ ขายตามบ้าน

จากการกำหนดปัจจัยการผลิตเพื่อเปรียบเทียบวิธีการผลิตเห็ด แบ่งออกเป็น 2 โรงเรือนเพาะเห็ด เพื่อดำเนินการ 2 กรรมวิธี คือ วิธีการผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย และวิธีการผลิตของเกษตรกรดังนี้

วิธีการ	วิธีการผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย	วิธีการผลิตของเกษตรกร
การเตรียมโรงเรือนเพาะเห็ด	- พ่นสารคาร์บาริล (Carbaryl) อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร / สารอามีทราซ (Amitraz) อัตรา 30 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร / แคปแทน (Captan) อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นในโรงเรือนก่อน10-15 วัน	- พ่นสารคาร์บาริล (Carbaryl)
การเตรียมหัวเชื้อเพาะเห็ด	-หัวเชื้อเพาะ ใช้เมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อเป็นอาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ด/บ่มเส้นใยที่ 25°ซ อายุ 7-10 วัน	ใช้จากหน่วยงาน
การเตรียมก้อนอาหารเพาะเห็ด / การใส่เชื้อในก้อนอาหารเพาะเห็ด	- ดำเนินตามกรรมวิธีที่เกษตรกรปฏิบัติ	- ดำเนินตามกรรมวิธีที่เกษตรกรปฏิบัติ
การดูแลในระยะบ่มเส้นใย	-การใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง - พ่นสารคาร์บาริล (Carbaryl) อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร / สารอามีทราซ (Amitraz) อัตรา 30 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร/ผสมสารจับใบ ฉีดพ่นทุกๆ 7-10 วัน	- พ่นสารคาร์บาริล (Carbaryl) สลับ สารอามีทราซ (Amitraz) ฉีดพ่นทุกๆ 7-10 วัน
การเปิดดอก	-มีการคัดเลือกก้อนอาหารเพาะเห็ดก่อนเปิดอก -รูปแบบชั้นวางถุงเพาะเห็ด / ชั้นแบบตัวเอ - รูปแบบการเปิดก้อน เปิดจุกสำลีออก/เขี่ยผิวหน้าก้อนอาหารนำหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างออก	-มีการคัดเลือกก้อนอาหารเพาะเห็ดก่อนเปิดอก - รูปแบบชั้นวางถุงเพาะเห็ด / ชั้นแบบตัวเอ - รูปแบบการเปิดก้อน เปิดจุกสำลีออก
การดูแลในระยะเปิดดอก	-ใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง -ให้น้ำ 3 ครั้ง / วัน	-ให้น้ำ 3 ครั้ง / วัน
การเก็บผลผลิต	- เก็บดอกอ่อน หรือยังไม่บาน - เก็บก่อนให้น้ำ	- เก็บดอกอ่อน หรือยังไม่บาน - เก็บก่อนให้น้ำ
การวิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิตเห็ด	- พบสารตกค้างกลุ่ม carbaryl <0.02 mg/kg	ไม่พบสารตกค้างในผลผลิตเห็ด

พบว่าการผลิตเห็ดตามวิธีเกษตรกร เห็ดออกดอกได้ผลผลิตเฉลี่ย 168.43 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต201.62 กก./รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) พบการปนเปื้อนในก้อนอาหารเพาะระหว่างการเก็บผลผลิต และพบปริมาณแมลงหวี่ในโรงเรือนเพาะเห็ดซึ่งผลิตตามวิธีเกษตรกรมากกว่าเมื่อ

เปรียบเทียบกับโรงเรือนผลิตตามวิธีทดลอง การผลิตตามวิธีทดลองได้ผลผลิตเฉลี่ย 170.67 กรัม / ถุง เห็ดออกดอกได้ผลผลิต 204.30 กก./รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) ราคาขาย 35 บาท/กก.(ขายส่ง) การวิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิตเห็ด พบสารตกค้างกลุ่ม carbaryl <0.02 mg/kg ในผลผลิตเห็ดจากการผลิตตามวิธีทดลอง

จากการผลิตเห็ดแบบผสมผสานงานวิจัย เปรียบเทียบกับการผลิตของเกษตรกรในแต่ละฟาร์ม ผลผลิตเฉลี่ยจากวิธีทดลองสูงกว่าเล็กน้อย พบการปนเปื้อนของวัสดุเพาะน้อยกว่าและปริมาณแมลงศัตรูเห็ดน้อยกว่า เนื่องด้วยการป้องกันตั้งแต่การเตรียมโรงเรือน ที่ฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรค แมลง-ไรศัตรูเห็ด รวมทั้งการป้องกันศัตรูเห็ดชนิดอื่น เช่น มด ด้วยการใช้ปูนขาวโรยพื้น ตลอดจนมีการป้องกันกำจัดศัตรูเห็ดต่อเนื่องมาถึงในระยะบ่มเส้นใยด้วยการฉีดพ่นสารเคมีและใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลือง ในระยะเปิดดอกมีการคัดเลือกก้อนเชื้อเห็ดก่อน รวมทั้งรูปแบบการเปิดก้อนซึ่งเปิดจุกสำลีออก/เขี่ยผิวหน้าก้อนอาหารนำหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างออกอันเป็นการกระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ด และป้องกันแหล่งก่อเชื้อราปนเปื้อนและลดแหล่งสะสมด้วย สำหรับหัวเชื้อเพาะซึ่งเตรียมโดยหน่วยงานนั้นแสดงให้เห็นว่าหากเกษตรกรเลือกใช้จากแหล่งผลิตจำหน่ายที่มีคุณภาพ ปราศจากการปนเปื้อนจากโรค แมลง-ไรศัตรู ก็จะไม่ประสบปัญหาในการผลิตได้ ส่วนการเตรียมก้อนอาหารเพาะเห็ด / การใส่เชื้อในก้อนอาหารเพาะเห็ด เกษตรกรที่เตรียมวัสดุเพาะและใส่เชื้อต้องมีการจัดการพื้นที่ปฏิบัติงานให้เหมาะสม จัดหาวัสดุที่มีคุณภาพ การเก็บผลผลิตโดยเก็บดอกอ่อน/ดอกตูม หรือยังไม่บาน เป็นขนาดเหมาะสมที่จะได้ผลผลิตที่มีคุณภาพช่วยให้ได้ราคาดี การวิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิตเห็ดไม่พบสารตกค้างในการทดลองที่ 2 และในการทดลองที่ 3 พบสารตกค้างกลุ่ม carbaryl <0.02 mg/kg ในผลผลิตเห็ดจากการผลิตตามวิธีทดลอง แต่มีค่าต่ำกว่าค่า MRLs(ppm) ของสารกลุ่ม carbaryl ในเห็ดกระดุม, เห็ดหอม ซึ่งเท่ากับ 3 (จากThe Japan Food Chemical ResearchFoundation: http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/fooddtl.php?f_inq=7700 และ http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/fooddtl.php?f_inq=7800)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การผลิตเห็ดแบบผสมผสานจากงานวิจัย (วิธีทดลอง) และการผลิตเห็ดตามวิธีเกษตรกร (วิธีเกษตรกร) พบว่าผลผลิตเฉลี่ยจากวิธีทดลองสูงกว่าเล็กน้อย พบการปนเปื้อนของวัสดุเพาะน้อยกว่าและปริมาณแมลงศัตรูเห็ดน้อยกว่า โดยการทดสอบที่ราชบุรี วิธีทดลองได้ผลผลิตเฉลี่ย 182.08 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 218.5 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือน) วิธีเกษตรกรได้ผลผลิตเฉลี่ย 181.25 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 217.5 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือน) ไม่มีการบันทึกข้อมูลการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด

และไม่ได้วิเคราะห์สารตกค้างในผลผลิตเห็ด การทดสอบที่กรุงเทพมหานคร วิธีทดลองได้ผลผลิตเฉลี่ย 165.61 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 186.81 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) มีการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด 6 เปอร์เซ็นต์ วิธีเกษตรกรได้ผลผลิตเฉลี่ย 165.14 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 179.51 กก. / โรงเรือน (1,200 ถุง/โรงเรือน) / รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) มีการปนเปื้อนของก้อนอาหารเพาะเห็ด 9.42 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบสารตกค้างในผลผลิตเห็ดทั้งสองแบบการผลิต การทดสอบที่ฉะเชิงเทรา วิธีทดลองได้ผลผลิตเฉลี่ย 170.67 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 204.30 กก./รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) พบสารตกค้างกลุ่ม carbaryl <0.02 mg/kgในผลผลิตเห็ด มีค่าต่ำกว่าค่า MRLs(ppm) ของสารกลุ่ม carbaryl ในเห็ดกระดุม, เห็ดหอม ซึ่งเท่ากับ 3 วิธีเกษตรกรได้ผลผลิตเฉลี่ย 168.43 กรัม / ถุง ได้ผลผลิต 201.62 กก./รอบการผลิต (2 เดือนครึ่ง) พบการปนเปื้อนในก้อนอาหารเพาะระหว่างการเก็บผลผลิต และพบแมลงหวี่

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์. 2544. แมลง-ศัตรูเห็ด และการป้องกันกำจัด. ใน เอกสารการเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. 89-102 น.

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2544. การบริหารแมลงศัตรูเห็ดที่ปลูกเป็นการค้า (บทคัดย่อ). รายงานผลงานวิจัยประจำปีงบประมาณ 2542 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น สัจจะ ประสงค์ทรัพย์ และอุราพร หนูนารถ. 2545. ศึกษาการใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลืองในการดักจับแมลงวันศัตรูเห็ดที่เพาะในถุงพลาสติก (บทคัดย่อ). รายงานผลงานวิจัยประจำปีงบประมาณ 2545 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2544. โรคเห็ด. ใน เอกสารการเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. 73-80 น.

พิมพ์กานต์ อร่ามพงษ์พันธ์. 2544. การเพาะเห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดตีนแรด และเห็ดยานางิ. ใน เอกสารการเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. 13-18 น.

http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/fooddtl.php?f_inq=7700

http://www.m5.ws001.squarestart.ne.jp/foundation/fooddtl.php?f_inq=7800)

การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิโดยการใช้สารฆ่าไร

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
อัจฉรา พยัพพานนท์[1/] มานิตา คงชื่นสิน
พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง
กลุ่มกีฏและสัตวิทยา [1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชีววิทยาของไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิ ดำเนินงานในห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่าง ตุลาคม 2549 - กันยายน 2550 โดยทำการศึกษาเห็ดชนิดต่างๆ ที่ไรลูกโป่งสามารถดูดกินเส้นใยได้ พบว่า ไรลูกโป่งสามารถดูดกินเส้นไยเห็ดยานางิ เห็ดแคลงและเห็ดหูหนู แต่เนื่องจากในปีที่ผ่านมา มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนกับเชื้อเห็ด ทำให้ไม่สามารถเพิ่มปริมาณไรลูกโป่งเพื่อดำเนินการศึกษาชีววิทยาได้ จึงต้องดำเนินการวิจัยในปีถัดไป

รหัสโครงการ 01-16-49-03

คำนำ

เห็ดถูกนำมาใช้เป็นอาหารของมนุษย์เป็นเวลานานแล้ว มีหลักฐานว่าเห็ดเกิดขึ้นบนโลกมานานกว่า 130 ล้านปี ก่อนที่มนุษย์จะเกิดขึ้นบนโลก (พิมพ์กานต์, 2543) ในปี พ.ศ. 2544/2545 ผลผลิตเห็ดมีมูลค่าประมาณ 5,446 ล้านบาท (ชาญยุทธ์, 2544) จัดว่ามีมูลค่าการผลิตสูงอย่างหนึ่ง และส่วนใหญ่บริโภคภายในประเทศ โดยเฉพาะเห็ดยานางิเป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่เกษตรกรนิยมเพาะ เนื่องจากได้ราคาดีและเป็นที่ต้องการของตลาด แต่การเพาะเห็ดชนิดนี้มีศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งคือ ไรลูกโป่ง *D. indica* ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความยาวของลำตัวเฉลี่ย 132.81 ไมครอน กว้างเฉลี่ย 52.97 ไมครอน ลำตัวแคบ ด้านท้ายมน ลำตัวด้านหน้าจะแคบ ส่วนกว้างที่สุด จะอยู่ตรงบริเวณกึ่งกลางลำตัว ตัวมีสีขาวใส ผนังลำตัวเรียบ บนลำตัวด้านหลังส่วนหน้ามีขน ซึ่งมีลักษณะพิเศษคือ bothrydium 1 คู่ ตัวเต็มวัยเพศผู้มีรูปร่างลักษณะโดยทั่วไปคล้ายเพศเมีย แต่ลำตัวอ้วนและสั้นกว่าเพศเมียเล็กน้อย ความยาวของลำตัวเฉลี่ย 114.06 ไมครอน กว้างเฉลี่ย 64.06 ไมครอน ตัวใสไม่มีสี บนหลังบริเวณลำตัวด้านหลังส่วนหน้าไม่มีขน bothrydium ไรชนิดนี้สามารถเคลื่อนไหวได้รวดเร็วมาก และจะเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา เพศเมียเมื่อออกจากท้องแม่และได้รับการผสมพันธุ์จากเพศผู้แล้ว ส่วนท้องบริเวณที่อยู่ถัดจากขา 2 คู่แรกลงมา (hysterosoma) จะค่อยๆขยายพองออกคล้ายลูกโป่งและหยุดการเคลื่อนไหว เกาะตัวติดแน่นอยู่กับวัสดุที่ใช้เพาะเห็ด ส่วนท้องของไรเพศเมียที่ขยายพองออกนี้ จะมีขนาดโตขึ้นจนสามารถมองเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า มีลักษณะเป็นเม็ดกลม ใส หัวท้ายแหลม ภายในมีไข่และตัวอ่อนเจริญอยู่ ขนาดตัวของเพศเมียขณะท้อง ไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับจำนวนตัวอ่อนภายในท้องและอาหารที่เพศเมียกินเข้าไป เมื่อตัวอ่อนใกล้จะฟักจากท้องแม่ เม็ดกลมๆเหล่านี้จะมีสีขาวขุ่นหรือขาวอมเหลือง เป็นศัตรูสำคัญของเห็ดที่เพาะเป็นการค้าหลายชนิด เช่น เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดนางรม เห็ดนางรมภูฏาน เห็ดหูหนู และเห็ดหอม (วัฒนาและคณะ, 2529) ไรชนิดนี้ยังเป็นศัตรูสำคัญของเห็ดยานางิ โดยทำลายเส้นใยเห็ดยานางิทั้งในระยะที่เส้นใยกำลังเจริญอยู่ในขวดหัวเชื้อ ซึ่งทำด้วยเมล็ดข้าวฟ่าง และในก้อนเชื้อเห็ดที่กำลังบ่มเส้นใย จะทำลายส้นใยที่อยุ่ในขวด ทำให้เส้นใยบาง และยังทำให้ปนเปื้อนมาสู่ก้อนเชื้อเห็ด เมื่อถ่ายใส่ก้อนเชื้อเห็ด ไรเพิ่มจำนวนมากขึ้น จะทำลายเส้นใยเห็ดที่กำลังเจริญเติบโตเป็นสีขาวรอบๆก้อนเชื้อเห็ดหายไป เหลือแต่วัสดุที่ใช้เพาะเป็นสีน้ำตาล ทำให้ไม่สามารถเจริญให้ดอกดังเช่นปกติได้

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับชีววิทยาและสารฆ่าไรที่จะนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง *D. indica* เพื่อใช้เป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในเห็ดยานางิและเห็ดชนิดอื่นที่ไรชนิดนี้ทำลาย เพื่อลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ไร *D. indica*
- พู่กัน, เข็มเขี่ย, จานรอง, กล้อง stereomicroscope, น้ำกลั่น, procep, hand lens
- เชื้อเห็ดหูหนูและอื่นๆ
- อุปกรณ์ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ, อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, ตู้เขี่ยเชื้อ, แอลกอฮอล์, สำลี
- โรงเพาะเห็ด
- ขวดฝาเกลียวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. สูง 8.5 ซม.
- ขวดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. สูง 4 ซม.
- เครื่องพ่นขนาดเล็ก
- สารจับใบ
- สารฆ่าไร
  - pyridaben (Sanmite 20% WP)
  - amitraz (Mitac 20% EC)
  - propargite (Omite 30 30% WP)
  - fenbutatin oxide (Fenbutatin Oxide 50% WP)
- ขวดเชื้อเห็ดยานางิ
- ก้อนเชื้อเห็ดยานางิ

วิธีการ

<u>ศึกษาวิธีการเลี้ยงไรให้ได้ปริมาณมาก</u>

1. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCD มี 6 ซ้ำ
2. กรรมวิธี 3 กรรมวิธี
3. วิธีปฏิบัติการทดลอง เตรียมการปล่อยไร *D. indica* ในระยะก่อนท้องจำนวน 20 ตัว/ขวด บนเมล็ดข้าวฟ่างสูง 1.5, 3.0 และ 4.5 ซม. ทิ้งไว้ 15 วัน ทำการตรวจนับปริมาณไรดีดในระยะก่อนท้อง โดยสุ่มเมล็ดข้าวฟ่างซ้ำละ 10 เมล็ด
4. การบันทึกข้อมูล (Observation or Measurements)

   บันทึกปริมาณไรดีด/เมล็ดในแต่ละกรรมวิธี และนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

<u>การศึกษาชีววิทยาของไร *D. indica*</u>

1. แผนการทดลอง -
2. กรรมวิธี -

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง เริ่มทำการทดลองโดยใส่ไร *D. indica* ระยะก่อนท้องที่พึ่งออกจากท้องแม่จำนวน 1 ตัว/ขวด (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม.) บนเส้นใยเห็ดยานางิ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตจนกระทั่งเข้าสู่ระยะท้อง เช็คผลทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวเต็มวัยออกจากท้องแม่

4. บันทึกระยะตัวเต็มวัยเพศเมียระยะก่อนท้อง ระยะท้อง และจำนวนลูกที่ได้ และวัดขนาดของตัวเต้มวัยทั้ง 2 ระยะ

ศึกษาการทำลายเห็ดยานางิของไร *D. indica*

1. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองโดยใช้ T-test มี 7 ซ้ำ

2. กรรมวิธี มี 2 กรรมวิธี

1) ไม่ใส่ไร *D. indica* ในก้อนเชื้อ

2) ใส่ไร *D. indica* ในก้อนเชื้อ

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง เตรียมถุงก้อนเชื้อโดยมีส่วนผสมของขี้เลื่อยและอาหารเสริม นึ่งฆ่าเชื้อโดยไม่อัดความดัน แล้วเติมหัวเชื้อเห็ดยานางิลงไปในถุง บ่มก้อนเชื้อ มี 2 กรรมวิธีการทดลอง 7 ซ้ำ จำนวน 10 ก้อน/ซ้ำ กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ไร *D. indica* กรรมวิธีที่ 2 ใส่ไร *D. indica* 200 ตัว/ก้อน ระยะบ่มเส้นใย

ศึกษาชนิดเห็ดชนิดต่าง ๆ ที่เป็นอาหารของไร *D. indica*

1. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCD มี 3 ซ้ำๆละ 3 ขวด

2. กรรมวิธี มี 11 กรรมวิธี

1) เห็ดนางรม

2) เห็ดเป๋าฮื้อ

3) เห็ดเข็มเงิน

4) เห็ดนางรมฮังการี

5) เห็ดขอนขาว

6) เห็ดหูหนู

7) เห็ดนางฟ้า

8) เห็ดแครง

9) เห็ดกระด้าง

10) เห็ดหลินจือ

11) เห็ดหอม

12) เห็ดยานางิ

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง เริ่มทำการทดลองโดยใส่ไร *D. indica* ระยะก่อนท้องที่พึ่งออกจากท้องแม่จำนวน 3 ตัว/ขวด (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. สูง 4ซม.) บนเส้นใยเห็ดทั้ง 11 ชนิด

เพื่อให้เจริญเติบโตจนกระทั่งเข้าสู่ระยะท้อง เช็คผลทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวเต็มวัยออกจากท้องแม่

4. บันทึกระยะตัวเต็มวัยเพศเมียระยะก่อนท้อง ระยะตั้งท้องและจำนวนลูกที่ได้นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไร *D. indica* ระยะก่อนท้องในสภาพโรงเรือน

1. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCD มี 4 ซ้ำ
2. กรรมวิธี มี 5 กรรมวิธี
    1) pyridaben 0.015% (15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร)
    2) amitraz 0.040%(40มล./น้ำ 20 ลิตร)
    3) propargite 0.045% (30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร)
    4) fenbutatin oxide (10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร)
    5) ไม่พ่นสารฆ่าไร (พ่นน้ำเปล่า)

วิธีปฏิบัติการทดลอง เริ่มทำการทดลองโดยการเติมหัวเชื้อข้าวฟ่างจำนวน 24 ขวด แล้วปล่อยไร *D. indica* ระยะก่อนท้องลงในขวดหัวเชื้อข้าวฟ่างจำนวน 200 ตัว/ขวด เก็บไว้นาน 15 วัน นำเอาเชื้อเห็ดบนเมล็ดข้าวฟ่างที่มีไรดีดจำนวน 200 ตัว/เมล็ด วางบนจานแก้ว 1 ขวด/1 จานแก้ว ใช้ forcep แยกเมล็ดข้าวฟ่างแต่ละเมล็ดออกจากกัน พ่นสารฆ่าไรแต่ละชนิด และไม่พ่นสารฆ่าไร (พ่นน้ำเปล่า) แต่ละกรรมวิธีผสมสารจับใบ 250 ppm ใส่เมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงก้อนเชื้อจำนวน 5 เมล็ด/ก้อน ทำซ้ำละ 15 ก้อน บ่มก้อนเชื้อไว้ในโรงเรือนเป็นเวลา 15 วัน เช็คผลโดยตรวจนับปริมาณไร *D. indica* โดยวิธีการให้คะแนน โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Horsfall and Barratt(1945) ดังนี้คือ

คะแนน		ตัว/พท. ถุงพลาสติก 1 ตร.ซม.	
0	=	0	ตัว/เมล็ด
1	=	1-3	ตัว/เมล็ด
2	=	4-6	ตัว/เมล็ด
3	=	7-12	ตัว/เมล็ด
4	=	13-25	ตัว/เมล็ด
5	=	26-50	ตัว/เมล็ด
6	>	50	ตัว/เมล็ด

บันทึกปริมาณไรดีด/พท.ถุงพลาสติก 1 ตร.ซม. โดยการสุ่มถุงละ 4 จุด ในแต่ละกรรมวิธี และนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2552

ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาชีววิทยาของไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิ ดำเนินงานในห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่าง ตุลาคม 2549 - กันยายน 2550 โดยทำการศึกษาเห็ดชนิดต่างๆ ที่ไรลูกโป่งสามารถดูดกินเส้นใยได้ พบว่า ไรลูกโป่งสามารถดูดกินเส้นไยเห็ดยานางิ เห็ดแคลงและเห็ดหูหนู แต่เนื่องจากในปีที่ผ่านมามีเชื้อราเขียวปนเปื้อนกับเชื้อเห็ด ทำให้ไม่สามารถเพิ่มปริมาณไรลูกโป่งเพื่อดำเนินการศึกษาชีววิทยาได้ จึงต้องดำเนินการวิจัยในปีถัดไป

เอกสารอ้างอิง

ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, อัญชลี เชียงกูล และ วัฒนา จารณศรี. 2543. ไรไข่ปลา, น. 23-42. *ใน* แมลงและสัตว์ศัตรูพืช. เอกสารวิชาการประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการ ครั้งที่ 13 ประจำปี 2543. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

ชาญยุทธ์ ภาณุฑัต. 2544. ข้อมูลประกอบการตัดสินใจเพาะเห็ด,น.1-12. *ใน* : เห็ดไทย 2544. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วิภาดา วังศิลาบัตร, มานิตา คงชื่นสิน, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2548. การป้องกันกำจัดไรดีดในเห็ดนางรม. รายงานเรื่องเต็มปี 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. น.57-81.

พิมกานต์ อร่ามพงษ์พันธ์. 2543. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเห็ด, น. 1-8. *ใน* การเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน และ นวลศรี วงษ์ศิริ. 2529. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรศัตรูเห็ดในประเทศไทย. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2529. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. น. 1-35.

Horsfall, J.G. and R.W. Barratt. 1945. An improved grading system for measuring plant disease. *Cited* by J.S. Rogers, C.W. McCoy and M.M. Manners. Standardized Visual Comparison Keys for Rapid Estimations of Citrus Rust Mite (Acari : Eriophyidae) Populations. J. Econ. Entomol. 87(6) : 1507-1512 (1994).

การป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิโดยการใช้สารรมฟอสฟีน

Control of Dolichocybid Mite, *Dolichocybe indica* Mahunka on the Black Poplar Mushroom, *Agrocybe cylindracea* (DC.Ex Fr.) Maire by Application of Phosphine Fumigant

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
อัจฉรา พยัพพานนท์[1/] มานิตา คงชื่นสิน
พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง
กลุ่มกีฏและสัตวิทยา [1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ดำเนินการศึกษาการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunkaในเห็ดยานางิ โดยการใช้สารรมฟอสฟีนที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยาและกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – กันยายน 2550 ศึกษาการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะก่อนท้องและระยะตั้งท้องด้วยสารรมฟอสฟีนที่อัตรา1และ 2 เม็ดต่อปริมาตรที่รม 0.5 ลูกบาสก์เมตร ระยะเวลารมที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และผลของสารรมฟอสฟีนที่อัตรา1และ 2 เม็ดต่อปริมาตรที่รม 0.5 ลูกบาสก์เมตร และระยะเวลารมที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ที่มีต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด โดยทุกการทดลองวางแผนการทดลองแบบ RCBD จัดสิ่งทดลองแบบ Factorial (2x3)+1 จำนวน 3 ซ้ำ ผลการศึกษาพบว่าสารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ดต่อปริมาตรที่รม 0.5 ลูกบาศก์เมตร รมนาน 48 และ 72 ชั่วโมง และอัตรา 2 เม็ดรมนาน 24,48 และ 72 ชั่วโมง ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในระยะก่อนท้อง ส่วนสารรมฟอสฟีนอัตรา 1เม็ดรมนาน 72 ชั่วโมง และอัตรา 2 เม็ด รมนาน 48 และ 72 ชั่วโมง ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในระยะตั้งท้อง โดยที่สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ดต่อปริมาตรที่รม 0.5 ลูกบาศก์เมตร รมนาน 72 ชั่วโมง และอัตรา 2 เม็ด รมนาน 48 ชั่วโมง ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งทั้งในระยะก่อนท้องและระยะตั้งท้อง และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดยานางิ เห็ดแครงและเห็ดหูหนู

รหัสโครงการ 01-16-49-03

คำนำ

เห็ดถูกนำมาใช้เป็นอาหารของมนุษย์เป็นเวลานานแล้ว มีหลักฐานว่าเห็ดเกิดขึ้นบนโลกมานานกว่า 130 ล้านปี ก่อนที่มนุษย์จะเกิดขึ้นบนโลก (พิมพ์กานต์, 2543) ในปี พ.ศ. 2544/2545 ผลผลิตเห็ดมีมูลค่าประมาณ 5,446 ล้านบาท (ชาญยุทธ์, 2544) จัดว่ามีมูลค่าการผลิตสูงอย่างหนึ่ง และส่วนใหญ่บริโภคภายในประเทศ โดยเฉพาะเห็ดยานางิเป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่เกษตรกรนิยมเพาะ เนื่องจากได้ราคาดีและเป็นที่ต้องการของตลาด แต่การเพาะเห็ดชนิดนี้มีศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งคือ ไรลูกโป่ง *D. indica* ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความยาวของลำตัวเฉลี่ย 132.81 ไมครอน กว้างเฉลี่ย 52.97 ไมครอน ลำตัวแคบ ด้านท้ายมน ลำตัวด้านหน้าจะแคบ ส่วนกว้างที่สุด จะอยู่ตรงบริเวณกึ่งกลางลำตัว ตัวมีสีขาวใส ผนังลำตัวเรียบ บนลำตัวด้านหลังส่วนหน้ามีขน ซึ่งมีลักษณะพิเศษคือ bothrydium 1 คู่ ตัวเต็มวัยเพศผู้มีรูปร่างลักษณะโดยทั่วไปคล้ายเพศเมีย แต่ลำตัวอ้วนและสั้นกว่าเพศเมียเล็กน้อย ความยาวของลำตัวเฉลี่ย 114.06 ไมครอน กว้างเฉลี่ย 64.06 ไมครอน ตัวใสไม่มีสี บนหลังบริเวณลำตัวด้านหลังส่วนหน้าไม่มีขน bothrydium ไรชนิดนี้สามารถเคลื่อนไหวได้รวดเร็วมาก และจะเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา เพศเมียเมื่อออกจากท้องแม่และได้รับการผสมพันธุ์จากเพศผู้แล้ว ส่วนท้องบริเวณที่อยู่ถัดจากขา 2 คู่แรกลงมา (hysterosoma) จะค่อยๆขยายพองออกคล้ายลูกโป่งและหยุดการเคลื่อนไหว เกาะตัวติดแน่นอยู่กับวัสดุที่ใช้เพาะเห็ด ส่วนท้องของไรเพศเมียที่ขยายพองออกนี้ จะมีขนาดโตขึ้นจนสามารถมองเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า มีลักษณะเป็นเม็ดกลม ใส หัวท้ายแหลม ภายในมีไข่และตัวอ่อนเจริญอยู่ ขนาดตัวของเพศเมียขณะท้อง ไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับจำนวนตัวอ่อนภายในท้องและอาหารที่เพศเมียกินเข้าไป เมื่อตัวอ่อนใกล้จะฟักจากท้องแม่ เม็ดกลมๆเหล่านี้จะมีสีขาวขุ่นหรือขาวอมเหลือง เป็นศัตรูสำคัญของเห็ดที่เพาะเป็นการค้าหลายชนิด เช่น เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดนางรม เห็ดนางรมภูฏาน เห็ดหูหนู และเห็ดหอม (วัฒนาและคณะ, 2529) ไรชนิดนี้ยังเป็นศัตรูสำคัญของเห็ดยานางิ โดยทำลายเส้นใยเห็ดยานางิทั้งในระยะที่เส้นใยกำลังเจริญอยู่ในขวดหัวเชื้อ ซึ่งทำด้วยเมล็ดข้าวฟ่าง และในก้อนเชื้อเห็ดที่กำลังบ่มเส้นใย จะทำลายส้นใยที่อยุ่ในขวด ทำให้เส้นใยบาง และยังทำให้ปนเปื้อนมาสู่ก้อนเชื้อเห็ด เมื่อถ่ายใส่ก้อนเชื้อเห็ด ไรเพิ่มจำนวนมากขึ้น จะทำลายเส้นใยเห็ดที่กำลังเจริญเติบโตเป็นสีขาวรอบๆก้อนเชื้อเห็ดหายไป เหลือแต่วัสดุที่ใช้เพาะเป็นสีน้ำตาล ทำให้ไม่สามารถเจริญให้ดอกดังเช่นปกติได้

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาการใช้สารรมฟอสฟีนทั้งอัตราและเวลารมที่เหมาะสม อีกทั้งไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในเห็ดยานางิ และเห็ดชนิดอื่นที่ไรชนิดนี้ทำลาย เพื่อลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไรลูกโป่ง *D. indica*
2. พู่กัน, เข็มเขี่ย, จานรอง, กล้อง stereomicroscope, forcep, hand lens
3. เชื้อเห็ดยานางิ เห็ดแครง และเห็ดหูหนู บนเมล็ดข้าวฟ่างในขวด
4. อุปกรณ์ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ, อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, ตู้เขี่ยเชื้อ, แอลกอฮอล์, สำลี
5. ภาชนะรมที่มีปริมาตร 0.5 ลูกบาศก์เมตร
6. สารรมฟอสฟีน (Aluminium phosphide 56.8% AIP)
7. โรงเพาะเห็ด
8. ขวดฝาเกลียวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. สูง 8.5 ซม.

วิธีการ

1. **ศึกษาการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในระยะก่อนท้องในขวดเชื้อเห็ดด้วยสารรมฟอสฟีน**

วางแผนการทดลองแบบ RCBD โดยจัดสิ่งทดลองแบบ Factorial (2x3)+1 จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขวด ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 อัตราของสารรมฟอสฟีนที่ใช้ในการรม คือ 1 และ 2 เม็ด

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาในการรม คือ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่รมสารรมฟอสฟีน (control) ได้กรรมวิธีรวม 7 กรรมวิธี เตรียมหัวเชื้อเห็ดยานางิในเมล็ดข้าวฟ่างอายุ 4 วันในขวด ใส่ไรลูกโป่งระยะก่อนท้องลงในขวดขวดละ 100 ตัว และนำไปเก็บไว้นาน 15 วัน จึงนำเอาเข้าไว้ในภาชนะรมที่มีปริมาตร 0.5 ลูกบาศก์เมตร เพื่อทำการรมด้วยสารรมฟอสฟีนอัตรา 1 และ 2 เม็ด รมนาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และไม่รมสารรมฟอสฟีน (control) ใช้ถุงทรายวางทับชายผ้าพลาสติกเพื่อป้องกันแก๊สซึมออกมา ตรวจนับจำนวนไรลูกโป่งตัวเป็นระยะก่อนท้องที่อยู่บนเมล็ดข้าวฟ่างแต่ละเมล็ด จำนวน 5 เมล็ดต่อ 1 ขวด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยวิธีการให้คะแนน โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Horsfall and Barratt (1945) ดังนี้

คะแนน		**ตัว/เมล็ด**
0	=	0
1	=	1-3
2	=	4-6
3	=	7-12
4	=	13-25

5 = 26-50

6 = > 50

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2. **ศึกษาการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในระยะตั้งท้องในขวดเชื้อเห็ดด้วยสารรมฟอสฟีน**

วางแผนการทดลองแบบ RCBD โดยจัดสิ่งทดลองแบบ Factorial (2x3)+1 จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ขวด ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 อัตราของสารรมฟอสฟีนที่ใช้ในการรม คือ 1 และ 2 เม็ด

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาที่ใช้ในการรมคือ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่รมสารฟอสฟีน (control) ได้กรรมวิธีรวม 7 กรรมวิธี เตรียมหัวเชื้อเห็ดยานางิในเมล็ดข้าวฟ่างอายุ 4 วันในขวด ใส่ไรลูกโป่งระยะก่อนท้องลงในขวดขวดละ 100 ตัว และนำไปเก็บไว้นาน 7 วัน จนกระทั่งไรดีดเข้าระยะตั้งท้อง จึงนำเอาเข้าไปไว้ในภาชนะที่มีปริมาตร 0.5 ลูกบาศก์เมตร เพื่อทำการรมด้วยสารรมฟอสฟีนอัตรา 1 และ 2 เม็ด โดยใช้ระยะเวลารมนาน 24 , 48 และ 72 ชั่วโมง และไม่รมสารรมฟอสฟีน (control) ใช้ถุงทรายวางทับชายผ้าพลาสติกเพื่อป้องกันแก๊สซึมออกมา จากนั้นก็นำเอาขวดหัวเชื้อที่รมด้วยสารรมฟอสฟีนแล้วนำมาเก็บไว้อีกเป็นเวลา 7 วัน

ตรวจนับจำนวนไรดีดตัวเป็นระยะก่อนท้องที่อยู่บนเมล็ดข้าวฟ่างแต่ละเมล็ด จำนวน 5 เมล็ดต่อ 1 ขวด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยวิธีการให้คะแนนดังนี้

คะแนน		**ตัว/เมล็ด**
0	=	0
1	=	1-3
2	=	4-6
3	=	7-12
4	=	13-25
5	=	26-50
6	=	> 50

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3. **ศึกษาผลกระทบของสารรมฟอสฟีนที่มีต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด**

วางแผนการทดลองแบบ RCBD โดยจัดสิ่งทดลองแบบ Factorial (2x3)+1 จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ขวด ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 อัตราของสารรมฟอสฟีนที่ใช้ในการรม คือ 1 และ 2 เม็ด

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาในการรม คือ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่รมสารรมฟอฟสีน(control) ได้กรรมวิธีรวม 7 กรรมวิธี เตรียมหัวเชื้อเห็ดยานางิ เห็ดแครง และเห็ดหูหนู บนเมล็ดข้าวฟ่างในขวดอายุ 7 วัน นำไปรมในภาชนะที่มีปริมาตร 0.5 ลูกบาศก์เมตร ด้วยสารรมฟอสฟีนอัตรา 1 และ 2 เม็ด รมนาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และไม่รมสารรมฟอสฟีน (control) ใช้ถุงทรายวางทับชายผ้าพลาสติก เพื่อป้องกันแก๊สซึมออกมา จากนั้นนำเอาขวดหัวเชื้อที่รมด้วยสารรมฟอสฟีนมาถ่ายเชื้อเห็ดลงใน plate ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ตรวจวัดการเจริญเติบโตของเส้นใยและนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2550

ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในระยะก่อนท้องในขวดเชื้อเห็ดด้วยสารรมฟอสฟีน

เปรียบเทียบการใช้กับไม่ใช้สารรมฟอสฟีน พบว่าคะแนนการมีชีวิตรอดของไรแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง การรมด้วยสารรมฟอสฟีนที่อัตรากับเวลาพบว่ามีปฏิสัมพันธ์กัน กล่าวคือ เมื่อใช้เวลารมที่เท่ากันแต่ใช้สารรมฟอสฟีนที่อัตราต่างกัน คะแนนการมีชีวิตรอดของไรไม่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นการรมที่ 24 ชั่วโมง คะแนนการมีชีวิตรอดของไรแตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาการใช้สารรมฟอสฟีนที่ 1 เม็ด เมื่อรมในเวลาที่เพิ่มขึ้น จะทำให้คะแนนการมีชีวิตรอดของไรลดลง โดยเฉพาะเมื่อรมที่ 24 ชั่วโมงกับ 48 ชั่วโมง ทำให้คะแนนการมีชีวิตรอดของไรแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1, 2)

2. ศึกษาการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะตั้งท้องในขวดเชื้อเห็ดด้วยสารรมฟอสฟีน

เปรียบเทียบการใช้กับไม่ใช้สารรมฟอสฟีน พบว่าคะแนนการมีชีวิตรอดของไรแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง การรมด้วยสารรมฟอสฟีนที่อัตรากับเวลา พบว่ามีปฏิสัมพันธ์กัน กล่าวคือ เมื่อใช้สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด โดยใช้เวลารมที่ต่างกัน พบว่าคะแนนการมีชีวิตรอดของไรลดลงเมื่อเวลารมเพิ่มขึ้น และแตกต่างกันทางสถิติ ถ้าใช้สารรมฟอสฟีนเพิ่มขึ้นเป็น 2 เม็ด พบว่าการใช้เวลารมที่ 24 ชั่วโมง คะแนนการมีชีวิตรอดของไรแตกต่างกันทางสถิติกับการใช้เวลารมเพิ่มขึ้นที่ 48 และ 72 ชั่วโมง ในทางกลับกัน การใช้เวลารมที่ 24 ชั่วโมง โดยใช้สารรมฟอสฟีนที่อัตรา 1 และ 2 เม็ด พบว่า คะแนนการรอดชีวิตของไรแตกต่างกันทางสถิติ โดยการใช้สารรมฟอสฟีนมากขึ้น ทำให้คะแนนการรอดชีวิตของไรลดลง ในขณะที่ใช้เวลารมที่ 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อใช้

สารรมฟอสฟีนที่อัตราต่างกัน ไม่ทำให้คะแนนการรอดชีวิตของไรแตกต่างกันทางสถิติ(ตารางที่ 3,4)

3. ศึกษาผลกระทบของสารรมฟอสฟีนที่มีต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด

ผลการศึกษาการใช้สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 และ 2 เม็ด รมเส้นใยเห็ด 3 ชนิด ได้แก่ เห็ดยานางิ เห็ดแครงและเห็ดหูหนู พบว่าผลกระทบของสารรมฟอสฟีนต่อเส้นใยเห็ดแครงและเห็ดหูหนู ให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อรมเส้นใยเห็ดด้วยสารรมฟอสฟีนที่อัตราและเวลารมที่ต่างหัน การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดทั้งสองไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการไม่รมสารรมฟอสฟีน ส่วนผลกระทบของสารรมฟอสฟีนต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดยานางิ พบว่าการใช้สารรมฟอสฟีนกับไม่ใช้สารรมฟอสฟีน ทำให้การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นการใช้สารรมฟอสฟีนอัตรา 2 เม็ด รมนาน 72 ชั่วโมง ทำให้การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเมื่อใช้เวลารมที่น้อยกว่า และแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5,6,7)

จากการศึกษาการป้องกันการกำจัดไรลูกโป่งโดยการใช้สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 และ 2 เม็ด ต่อภาชนะที่รมปริมาตร 0.5 ลูกบาศก์เมตร รมเป็นระยะเวลานาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยที่สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด รมนาน 48 และ 72 ชั่วโมง และอัตรา 2 เม็ด รมนาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะก่อนท้อง ไรลูกโป่งเป็นไรศัตรูเห็ดที่มีความทนทานต่อสารรมฟอสฟีนสูงกว่าไรดีด ในระยะก่อนท้องไรลูกโป่งต้องใช้สารรมฟอสฟีน 1 เม็ด รมนาน 48 ชั่วโมง จึงจะป้องกันกำจัดไรลูกโป่งได้ผลดีในขณะที่ใช้สารฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด รมนาน 24 ชั่วโมง ก็ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรดีดระยะก่อนท้อง (เทวินทร์ และคณะ, 2548) สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด รมนาน 72 ชั่วโมง และ 2 เม็ด รมนาน 48 และ 72 ชั่วโมง จึงให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะตั้งท้อง ในขณะที่ใช้สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด รมนาน 24 ชั่วโมงและอัตรา 2 เม็ด รมนาน 24 ชั่วโมงก็ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรดีดระยะตั้งท้อง(เทวินทร์และคณะ,2548)ไรลูกโป่งระยะตั้งท้องเป็นไรศัตรูเห็ดที่มีความทนทานต่อสารรมฟอสฟีนสูงกว่าไรดีดระยะตั้งท้องเช่นเดียวกับระยะก่อนท้อง จากการสังเกตพบว่าไรลูกโป่งโดยเฉพาะตัวเต็มวัยระยะก่อนท้องและระยะตั้งท้อง จะมีผนังเซลล์ที่หนากว่าไรดีด ซึ่งไรดีดจะมีผนังเซลล์ที่บอบบางกว่า ใสกว่า จึงทำให้ไรดีดมีความทนทานต่อสารรมฟอสฟีนได้ต่ำกว่าไรลูกโป่ง ส่วนไรลูกโป่งในระยะตั้งท้องก็มีความทนทานต่อสารรมฟอสฟีนได้สูงกว่าในระยะก่อนท้อง อาจเป็นเพราะไรชนิดนี้มีการสร้างผนังเซลล์ให้หนากว่าในระยะตั้งท้อง เพื่อป้องกันลูกที่ฟักอยู่ภายในท้องแม่ไม่ให้ได้รับอันตราย ดังนั้นจึงแนะนำให้เกษตรกรใช้สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด รมนาน 72 ชั่วโมงหรืออัตรา 2 เม็ด รมนาน 48 ชั่วโมง ให้ผลดีในการกำจัดไรลูกโป่งทั้ง 2 ระยะ และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดยานางิ เห็ดแครงและเห็ดหูหนูที่เจริญอยู่ในขวดบนเมล็ดข้าวฟ่าง ฉัตรชัยและคณะ (2543) ได้ทำการศึกษา

การใช้สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ดต่อปริมาตรที่รม 0.5 ลูกบาศก์เมตร รมนาน 25 ชั่วโมง ให้ผลดีในการกำจัดไรไข่ปลาและไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด ซึ่งไรไข่ปลาและไรดีดต่างก็มีความทนทานต่อสารรมฟอสฟีนต่ำกว่าไรลูกโป่งเช่นเดียวกัน เกษตรกรสามารถนำวิธีการนี้ไปใช้ในการผลิตเห็ดเป็นการค้าในบริเวณที่มีไรลูกโป่งระบาดเป็นประจำ โดยทำการรมขวดเชื้อเห็ดเมื่อสำรวจพบว่ามีไรลูกโป่งระบาดอยู่ภายในขวดก่อนที่จะนำออกจำหน่าย เพื่อให้แน่ใจว่าขวดเชื้อเห็ดนั้นปราศจากไรลูกโป่งหรือก่อนที่จะย้ายหัวเชื้อในขวดลงในถุงก้อนเชื้อ

สรุปผลการทดลอง

สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด/ปริมาตรที่รม 0.5 ลูกบาศก์เมตร รมเป็นเวลานาน 48 และ 72 ชั่วโมง ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะก่อนท้องเช่นเดียวกับการใช้สารรมฟอสฟีนอัตรา 2 เม็ด/ปริมาตรที่รม 0.5 ลูกบาศก์เมตร รมเป็นเวลานาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด รมเป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะตั้งท้องเช่นเดียวกับการใช้สารรมฟอสฟีนอัตรา 2 เม็ด รมนาน 48 และ 72 ชั่วโมง สารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด รมนาน 72 ชั่วโมง และอัตรา 2 เม็ด รมนาน 48 ชั่วโมง ให้ผลดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งทั้งในระยะก่อนท้องและระยะตั้งท้อง และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดยานางิ เห็ดแครง และเห็ดหูหนู

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณ อัจฉรา พยัพพานนท์ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ได้โปรดช่วยอนุเคราะห์จัดเตรียมหัวเชื้อเห็ดยานางิ เพื่อใช้ในการเลี้ยงไรลูกโป่งให้มีปริมาณมากเพียงพอต่อการทดลอง จัดเตรียมหัวเชื้อเห็ดยานางิ เห็ดแครง และเห็ดหูหนู เพื่อใช้ศึกษาผลกระทบของสารรมฟอสฟีนต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดเหล่านี้ และให้ใช้โรงเรือนเพาะเห็ดในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณ คุณ พุฒนา รุ่งระวี ฝ่ายวิชาการสถิติ กองแผนงานและวิชาการ ที่ได้โปรดช่วยอนุเคราะห์ในการวิเคราะห์สถิติ ตลอดจนทุกท่านที่มีส่วนช่วยในการทดลองนี้ จนทำให้งานทดลองสำเร็จ สามารถแนะนำแก่เกษตรกรได้

เอกสารอ้างอิง

ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, อัญชลี เชียงกูล และ วัฒนา จารณศรี. 2543. ไรไข่ปลา, น. 23-42. *ใน* แมลงและสัตว์ศัตรูพืช. เอกสารวิชาการประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการ ครั้งที่ 13 ประจำปี 2543. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

ชาญยุทธ์ ภาณุฑัต. 2544. ข้อมูลประกอบการตัดสินใจเพาะเห็ด,น.1-12. *ใน* : เห็ดไทย 2544. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วิภาดา วังศิลาบัตร, มานิตา คงชื่นสิน, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2548. การป้องกันกำจัดไรดีดในเห็ดนางรม. รายงานเรื่องเต็มปี 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. น.57-81.

พิมกานต์ อร่ามพงษ์พันธ์. 2543. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเห็ด, น. 1-8. *ใน* การเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน และ นวลศรี วงษ์ศิริ. 2529. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรศัตรูเห็ดในประเทศไทย. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2529. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. น. 1-35.

Horsfall, J.G. and R.W. Barratt. 1945. An improved grading system for measuring plant disease. *Cited* by J.S. Rogers, C.W. McCoy and M.M. Manners. Standardized Visual Comparison Keys for Rapid Estimations of Citrus Rust Mite (Acari : Eriophyidae) Populations. J. Econ. Entomol. 87(6) : 1507-1512 (1994).

Table 1. Among Treated vs Check Means for pre-pregnant stage of dolichocybid mite,*Dolichocybe / indica* Mahunka pre-pregnants/ sorghum grain (grade).

Treated	N	Means
Among Treated	18	0.868
Among check	3	5.933
Mean		1.591
Difference		-5.066**

** = Significant at 1% level

For comparison of 2- T means; S.E.D = 0.089 (grade), $LSD_{.05}$ (5%) = 0.194 and $LSD_{.01}$ (1%) = 0.271

Table 2. Means (grade) of dolichocybid mite, *Dolichocybe indica* Mahunka pre-pregnants /sorghum grain in fumigation treatments with different rates and periods.

Fumigations (H)(hours)	Fumigation rates (B) (Numbers of tablet / 0.5 m^3)		Difference
	1	2	
24	4.880 b	0.087 a	4.793 **
48	0.083 a	0.063 a	0.020 ns
72	0.053 a	0.040a	0.013 ns
B-mean	1.672	0.063	1.609

C.V. = 9.0%

Table 3. Among Treated vs Check Means for pregnant stage of dolichocybid mite ,*Dolichocybe / indica* Mahunka pre-pregnants/ sorghum grain (grade).

Treated	N	Means
Among Treated	18	1.503
Among Check	3	5.867
Mean		2.127
Difference		-4.363**

** = Significant at 1% level

Table 4. Means (grade) of dolichocybid mite, *Dolichocybe indica* Mahunka pregnants / sorghum grain in fumigation treatments with different rates and periods.

Fumigation periods (H)(hours)	Fumigation rates (B) (Numbers of tablet / 0.5 m^3)		Difference
	1	2	
24	5.910 c	1.930 b	3.980 **
48	0.933 b	0.063 a	0.870 ns
72	0.143 a	0.040 a	0.103 ns
B-mean	2.329	0.678	1.651

C.V. = 7.90%

Table 5. Means (cm/day) of mycelium development of *Schizophyllum commune* Fr. after fumigation with different rates and periods.

Fumigations (H)(hours)	Fumigation rates (B) (Numbers of tablet / 0.5 m^3)		H-mean
	1	2	
24	0.880	0.813	0.847
48	0.793	0.763	0.778
72	0.817	0.750	0.783
B-mean	**0.830**	**0.776**	**0.803**

C.V. = 9.2%

F-value for control & treatments < 1

Mean of check = 0.803 (cm / day)

Table 6. Means (cm/day) of mycelium development of *Agrocybe cylindracea* (DC.Ex Fr.) after fumigation with different rates and periods.

Fumigation periods (H)(hours)	Fumigation rates (B) (Numbers of tablet / 0.5 m^3)		Difference
	1	2	
24	0.733 a	0.663 a	0.070 ns
48	0.710 a	0.697 a	0.013 ns
72	0.680 a	0.433 b	0.247*
B-mean	**0.708 a**	**0.598 a**	**0.110 ns**

C.V. = 18.8%

F-value for control & treatments = 3.17^{ns}

Mean of check = 0.793 (cm / day)

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

Table 7. Means (cm/day) of mycelium development of *Auricularia polytricha* (Mont.)Sacc. after fumigation with different rates and periods.

Fumigation periods (H)(hours)	Fumigation rates (B) (Numbers of tablet / 0.5 m^3)		H-mean
	1	2	
24	0.810	0.733	0.772
48	0.717	0.730	0.723
72	0.670	0.653	0.662
B-mean	0.732	0.706	0.719

C.V. = 12.2%

F-value for check & treatments < 1

Mean of check = 0.763(cm / day)

การศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด *Formicomotes heteromorphus* Magowski และไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ด

Studies on Seasonal Fluctuation of *Formicomotes heteromorphus* Magowski and *Dolichocybe indica* Mahunka in Mushroom

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
อัจฉรา พยัพพานนท์[1/] **พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์**
มานิตา คงชื่นสิน **พลอยชมพู กรวิภาสเรือง**
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด *Formicomotes heteromorphus* Magowski และไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญของเห็ดนางรมฮังการีและเห็ดหูหนู ในสภาพธรรมชาติที่ฟาร์มเห็ด อ. จอมบึง จ. ราชบุรี และ อ. หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 - กันยายน 2550 โดยการสุ่มเก็บก้อนเชื้อนางรมฮังการี และตรวจนับจำนวนประชากรของไรดีด/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. 4 จุด/ก้อน และขวดเชื้อเห็ดหูหนูและตรวจนับจำนวนประชากรของไรลูกโป่ง/เมล็ดข้าวฟ่าง 10 เมล็ด/ขวด ทุก 3 สัปดาห์ ดำเนินการศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 เป็นเวลา 2 ปี สามารถสรุปได้ว่า ไรดีดมีช่วงระบาดระหว่างเดือนเมษายน-ธันวาคม โดยมีประชากรเฉลี่ยระหว่าง 7.28 – 369.46 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม.และไรลูกโป่งมีช่วงการระบาดตลอดปีโดยมีจำนวนประชากรเฉลี่ยระหว่าง 2.92 – 296.00 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง

คำนำ

เห็ดเป็นผลิตผลเกษตรที่สำคัญชนิดหนึ่ง มีคุณค่าทั้งทางด้านโภชนาการและมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้ การเพาะเห็ดในถุงเพื่อการค้าได้ขยายพื้นที่เพาะกันทั่วประเทศ เนื่องจากให้ผลตอบแทนสูงในระยะเวลาสั้น เกษตรกรผู้เพาะเห็ดต้องประสบกับปัญหาที่สำคัญประการหนึ่ง คือ การเข้าทำลายเส้นใยเห็ดของไรศัตรูเห็ด ในขณะที่เลี้ยงเชื้อในอาหารวุ้น ขวดหัวเชื้อ ระยะบ่มเส้นใยในก้อนเชื้อและระยะเปิดดอก ทำให้เส้นใยที่ถูกทำลายไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ จึงทำให้เกษตรกรต้องขาดทุนจนต้องเลิกกิจการไปในที่สุด ไรศัตรูเห็ดที่สำคัญ 2 ชนิดในวงศ์ Dolichocybidaeได้แก่ไรดีด *Formicomotes heteromorphus* Magowski เป็นศัตรูที่สำคัญของ

รหัสโครงการ 01-16-49-03

เห็ดนางรมฮังการีและไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka เป็นศัตรูสำคัญของเห็ดหูหนู เกษตรกรได้ใช้สารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดไรศัตรูเห็ดตลอดเวลา ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ดังนั้นจึง มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องศึกษาฤดูกาลระบาดของไรศัตรูเห็ดทั้ง 2 ชนิด ว่า มีปริมาณมากและน้อยในช่วงใด เพื่อนำข้อมูลมาประกอบในการวางแผนการป้องกันกำจัดไรศัตรูเห็ดที่สำคัญ 2 ชนิดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไรดีด *F. heteromorphus* และไรลูกโป่ง *D. indica*
2. ก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีและขวดหัวเชื้อเห็ดหูหนู
3. พู่กัน, เข็มเขี่ย, จานรอง, กล้อง stereomicroscope, procep, hand lens,
4. ถุงพลาสติก

วิธีการ

สุ่มเลือกฟาร์มเห็ดนางรมฮังการีที่มีไรดีดและฟาร์มเห็ดหูหนูที่มีไรลูกโป่งระบาดเป็นประจำ โดยทำการสุ่มเลือกก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีจำนวน 20 ก้อนนำใส่ถุงพลาสติก นำมาตรวจนับจำนวน ไรดีดโดยตัดถุงพลาสติกเป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 1x1 ตร.ซม. ก้อนละ 4 จุด ขวดหัวเชื้อเห็ดหูหนูจำนวน 20 ขวด นำใส่ถุงพลาสติกนำมาตรวจนับจำนวนไรลูกโป่งบนเมล็ดข้าวฟ่างจำนวน 10 เมล็ด/ขวด ตรวจนับจำนวนไรทั้ง 2 ชนิดในระยะเคลื่อนไหวด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ stereomicroscope ทำการสำรวจทุก 3 สัปดาห์

เวลาและสถานที่ เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2550
ฟาร์มเห็ด อ. จอมบึง จ. ราชบุรี และ อ. หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี
ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสุ่มเก็บก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีจำนวน 20 ก้อน และขวดเชื้อเห็ดหูหนูจำนวน 20 ขวด ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2548 - กันยายน 2549 จากฟาร์มเห็ดของเกษตรกร อ. จอมบึงจ. ราชบุรี และ อ.หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี ที่ไม่ได้พ่นสารเคมี โดยทำการเก็บก้อนและขวดเชื้อเห็ดทุก 3 สัปดาห์ พบว่าจำนวนประชากรไรดีดระบาดทำความเสียหายให้กับเห็ดนางรมฮังการีช่วงเดือนธันวาคมเฉลี่ย 284.39 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. และช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายน เฉลี่ย 7.28, 113.12, 54.50, 146.42, 223.52 และ 61.57 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1

ตร.ซม. ตามลำดับ และพบว่าจำนวนประชากรไรลูกโป่งระบาดทำความเสียหายให้กับเห็ดหูหนูช่วงเดือนเมษายน ถึงเดือน สิงหาคม เฉลี่ย 49.43, 208.02, 128.51, 83.53 และ 296.00 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง ตามลำดับ (ภาพที่ 1และ 2)

จากการสุ่มเก็บก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีจำนวน 20 ก้อน และขวดเชื้อเห็ดหูหนูจำนวน 20 ขวด ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2549 - กันยายน 2550 พบว่าจำนวนประชากรไรดีดระบาดทำความเสียหายให้กับเห็ดนางรมฮังการีช่วงเดือนตุลาคมเฉลี่ย 200.18 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. และช่วงเดือนเมษายน – พฤษภาคม และสิงหาคม เฉลี่ย 271.31, 369.46 และ 249.96 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. ตามลำดับ และพบว่าจำนวนประชากรไรลูกโป่งระบาดทำความเสียหายให้กับเห็ดหูหนูช่วงเดือนตุลาคม-ธันวาคม เฉลี่ย128.04,150.82 และ 2.92 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่างตามลำดับ และช่วงเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม เฉลี่ย 212.35 และ 288.56 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง (ภาพที่ 3 และ 4)

การระบาดของไรศัตรูพืชนั้นบางชนิดพบระบาดในช่วงฤดูแล้ง บางชนิดระบาดในช่วงฤดูฝน เทวินทร์และคณะ (2531) ได้ศึกษาการระบาดของไรแดงส้มในสวนส้มเขียวหวานของเกษตรกรที่ จ. ปทุมธานีเป็นเวลา 1 ปี พบว่าไรแดงส้มระบาดมากในช่วงฤดูแล้งตั้งแต่เดือนธันวาคม – กุมภาพันธ์ และในฤดูฝนที่ฝนทิ้งช่วง ซึ่งเป็นช่วงที่อากาศแห้งแล้งและความชื้นต่ำ เทวินทร์และคณะ (2533) ได้ศึกษาการระบาดของไรสนิมส้มในสวนส้มเขียวหวานของเกษตรกรที่ จ. ปทุมธานี เป็นเวลา 1 ปี พบว่าไรสนิมส้มระบาดมากในช่วงฤดูฝนตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงเดือนพฤศจิกายน Smith (1983) ได้รายงานว่าอุณหภูมิสูง เป็นอุปสรรคต่อการเจริญเติบโตของไรสนิมส้ม Albrigo (1977) ได้รายงานว่าปริมาณไรสนิมส้มมีมากที่สุดบนใบและผลส้มในช่วงเดือนกรกฎาคม ซึ่งช่วงเดือนนี้เป็นช่วงฤดูฝนและในบรรยากาศมีความชื้นสูง เหมาะต่อการเจริญเติบโตของไรสนิมส้ม แสดงว่าอุณหภูมิและความชื้นเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไรศัตรูพืช ไรบางชนิดชอบอุณหภูมิสูงและบางชนิดชอบความชื้นสูง เช่นเดียวกับไรดีด ซึ่งพบระบาดมากในฤดูฝนโดยเริ่มระบาดตั้งแต่เดือนเมษายน-ตุลาคม และบางปีระบาดมาจนถึงเดือนธันวาคม แสดงว่าความชื้นสูงเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของไรศัตรูเห็ดชนิดนี้

การศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรไรดีดในปีที่ 1 เริ่มตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548-กันยายน 2549 พบไรดีดระบาดช่วงเดือนธันวาคมและเดือนเมษายน-ตุลาคม ทำให้ก้อนเชื้อเห็ดของเกษตรกรได้รับความเสียหายเป็นอย่างมากเช่นเคย จากการศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรไรดีดในปีที่ 2 เริ่มตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2549 – กันยา 2550 พบว่าเกษตรกรมีการเฝ้าระวังการระบาดของไรดีดมากขึ้นหลังจากที่ก้อนเชื้อได้รับความเสียหายมาแล้วในปีแรกทำให้เกษตรกรมีการจัดการฟาร์มเห็ดเป็นอย่างดี มีการพักโรงเรือนเป็นเวลา 15 วัน และพ่นสารฆ่าไรบนพื้นของโรงเพาะเห็ดซึ่งเป็นพื้นดินและพ่นที่ชั้นวางก้อนด้วย ทำให้พบการระบาดของไรดีดในเดือนเมษายน-

พฤษภาคม ซึ่งเป็นช่วงเริ่มต้นการระบาดของไรดีด เกษตรกรไม่ทันได้เฝ้าระวังการระบาดจึงทำให้ได้รับความเสียหายครั้งแรกมากเหมือนเช่นปีที่ผ่านมา ส่วนเดือนสิงหาคม เกษตรกรไม่ได้เฝ้าระวังการระบาดของไรดีดและไม่ได้จัดการป้องกันการเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ดของไรดีด ทำให้ไรดีดสามารถระบาดทำความเสียหายให้กับก้อนเชื้อเห็ดอีกครั้งหนึ่งในเดือนนี้ ส่วนเดือนอื่นๆ ที่พบการระบาดของไรดีดในปีก่อน ในปีนี้เกษตรกรเริ่มเฝ้าระวังการระบาดเป็นอย่างดี ทำให้มีการวางแผนป้องกันกำจัดเพื่อไม่ให้ก้อนเชื้อเห็ดเสียหายอีกจึงทำให้ไม่พบประชากรไรดีด

จากการศึกษาความผันแปรประชากรของไรดีดเป็นเวลา 2 ปี พบว่าไรดีดจะไม่ระบาดในช่วงเดือนมกราคม-มีนาคม ซึ่งเป็นช่วงฤดูแล้ง ในอากาศมีความชื้นต่ำ ทำให้ไรดีดไม่ระบาดในช่วงเวลาดังกล่าวเช่นเดียวกับไรสนิมส้ม ซึ่งจะไม่ระบาดในช่วงที่อากาศมีความชื้นต่ำ ส่วนการระบาดของไรลูกโป่งจากการศึกษาเป็นเวลา 2 ปี พบว่ามีการระบาดตลอดปีจะมีเว้นเป็นบางเดือนเท่านั้นและกลับมาระบาดอีก ทำลายเส้นใยเห็ดหูหนูในขวดหัวเชื้อเป็นประจำ เนื่องมาจากภายในขวดซึ่งมีปัจจัยต่างๆ เช่น ความชื้น เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของไรลูกโป่ง การศึกษาในปีที่ 2 ระหว่างช่วงเดือนเมษายน – สิงหาคม ไม่พบประชากรของไรลูกโป่งระบาดเหมือนปีแรก เนื่องจากเกษตรกรได้เฝ้าระวังการระบาดของไรลูกโป่งเป็นอย่างดีและมีการจัดการเรื่องความสะอาดของโรงเรือนเป็นอย่างดี ทำให้ไม่มีไรลูกโป่งระบาด ดังนั้นในช่วงเดือนเมษายน-ธันวาคม ให้เฝ้าระวังการระบาดของไรดีด ส่วนไรลูกโป่งให้เฝ้าระวังการระบาดตลอดปี หากเกษตรกรได้เฝ้าระวังการระบาดของไรศัตรูเห็ดทั้ง 2 ชนิด และมีการวางแผนการป้องกันการเข้าทำลาย ก็จะทำให้เกษตรกรประสบผลสำเร็จในการเพาะเห็ดเป็นการค้าเป็นอย่างดี

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาความผันแปรจำนวนประชากรของไรดีด ศัตรูของเห็ดนางรมฮังการีและไรลูกโป่งศัตรูสำคัญของเห็ดหูหนู ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 - กันยายน 2549 พบว่าไรดีดระบาดช่วงเดือนธันวาคม เฉลี่ย 284.39 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. และช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายน เฉลี่ย 7.28, 113.12, 54.50, 146.42, 223.52 และ 61.57 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. และพบว่าไรลูกปังระบาดช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนสิงหาคม เฉลี่ย 49.43, 208.02, 128.51, 83.53 และ 296.00 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง จากการศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2549 -กันยายน 2550 พบว่าไรดีดระบาดช่วงเดือนตุลาคม, เมษายน, พฤษภาคมและสิงหาคม เฉลี่ย 200.18, 271.31, 369.46 และ 249.96 ตัว/พื้นที่ถุงพลาสติกขนาด 1 ตร.ซม. และพบว่าไรลูกโป่งระบาดช่วงเดือนตุลาคม - ธันวาคม เฉลี่ย 128.04, 150.82, และ 2.92 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง และช่วงเดือนกุมภาพันธ์ - มีนาคม เฉลี่ย 212.35 และ 288.56 ตัว/เมล็ดข้าวฟ่าง จากการศึกษาความผัน

แปรของไรศัตรูเห็ดทั้ง 2 ชนิด เป็นเวลา 2 ปี สามารถสรุปได้ว่า ไรดีดมีช่วงการระบาดระหว่างเดือนเมษายน-ธันวาคม และไรลูกโป่งมีช่วงการระบาดตลอดปี

คำขอบคุณ

งานทดลองนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จาก คุณสำราญ เปลี่ยนแก้ว เจ้าของฟาร์มเห็ด อ. จอมบึง จ. ราชบุรี และคุณ วัฒนา ช่อผกา เจ้าของฟาร์มเห็ด อ. หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี ที่ให้ใช้สถานที่ทำการทดลอง จึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูรย์, นวลศรี วงษ์ศิริ, มานิตา คงชื่นสิน และ มารศรี จีระสมบัติ. 2531. การศึกษาความผันแปรของไรแดงส้มในฤดูกาลต่างๆ. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2531. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.หน้า 1-8.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน, นวลศรี วงษ์ศิริ, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูรย์ และ มารศรี จีระสมบัติ. 2533. การศึกษาความเสียหายที่เกิดจากการทำลายของไรสนิมส้ม *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) บนผลของส้มเขียวหวาน. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2533. กลุ่มงานอนุกรมวานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-10.

Albrigo, L.G. and C.W. McCoy. 1977. Characteristic injury by citrus rust mite to orange leaves and fruits. Abstr. in Rev. Appl. Entomol. Ser. A 65 : 95.

Smith, D. 1983. Citrus pests in Thailand, pp.17 – 29.*In* Entomology and Zoology Division Special Seminar Report. Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture, Bangkok.

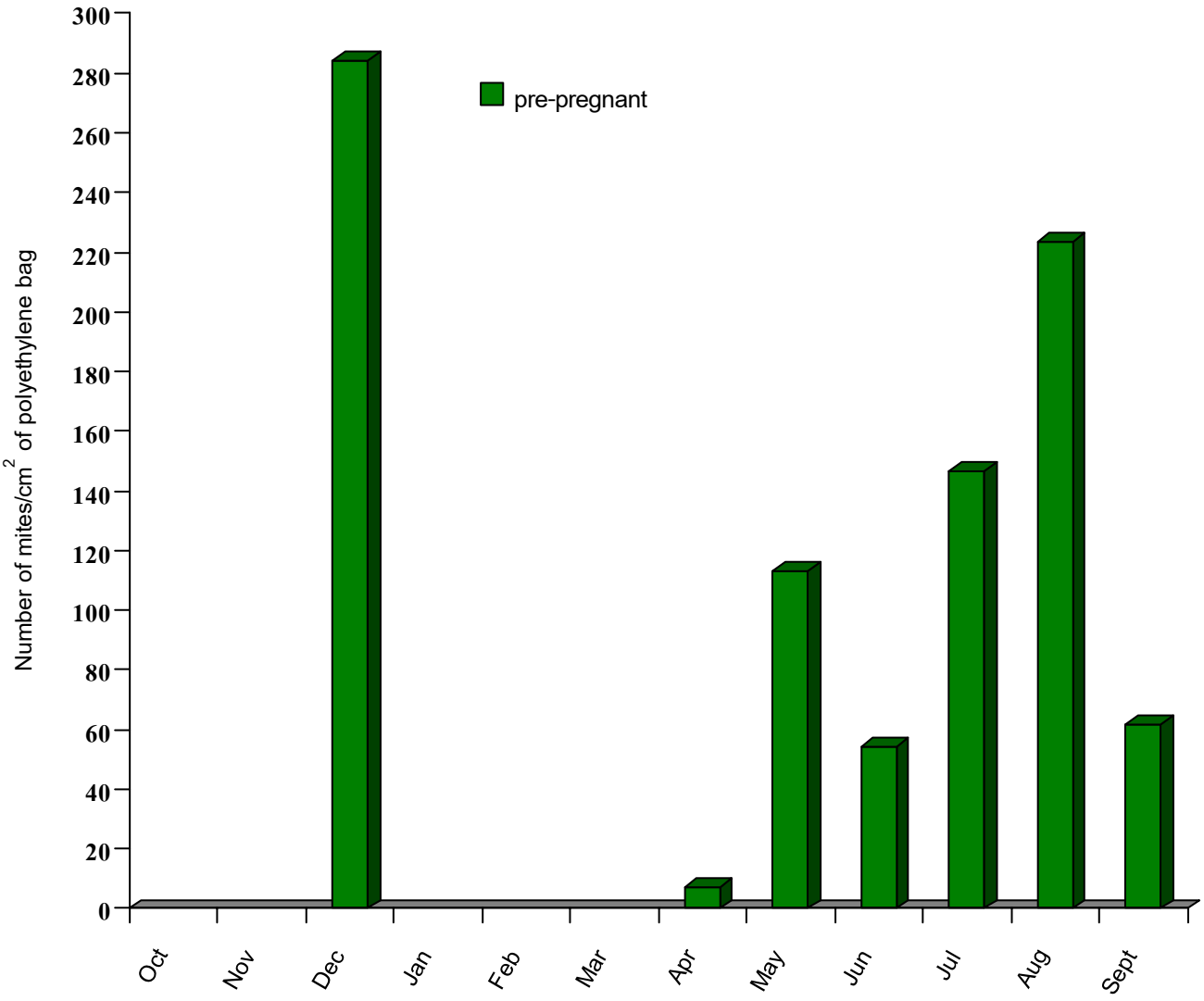


Figure 1 Seasonal fluctuation of *Formicomotes heteromorphus* Magowski during October, 2005 to September, 2006.

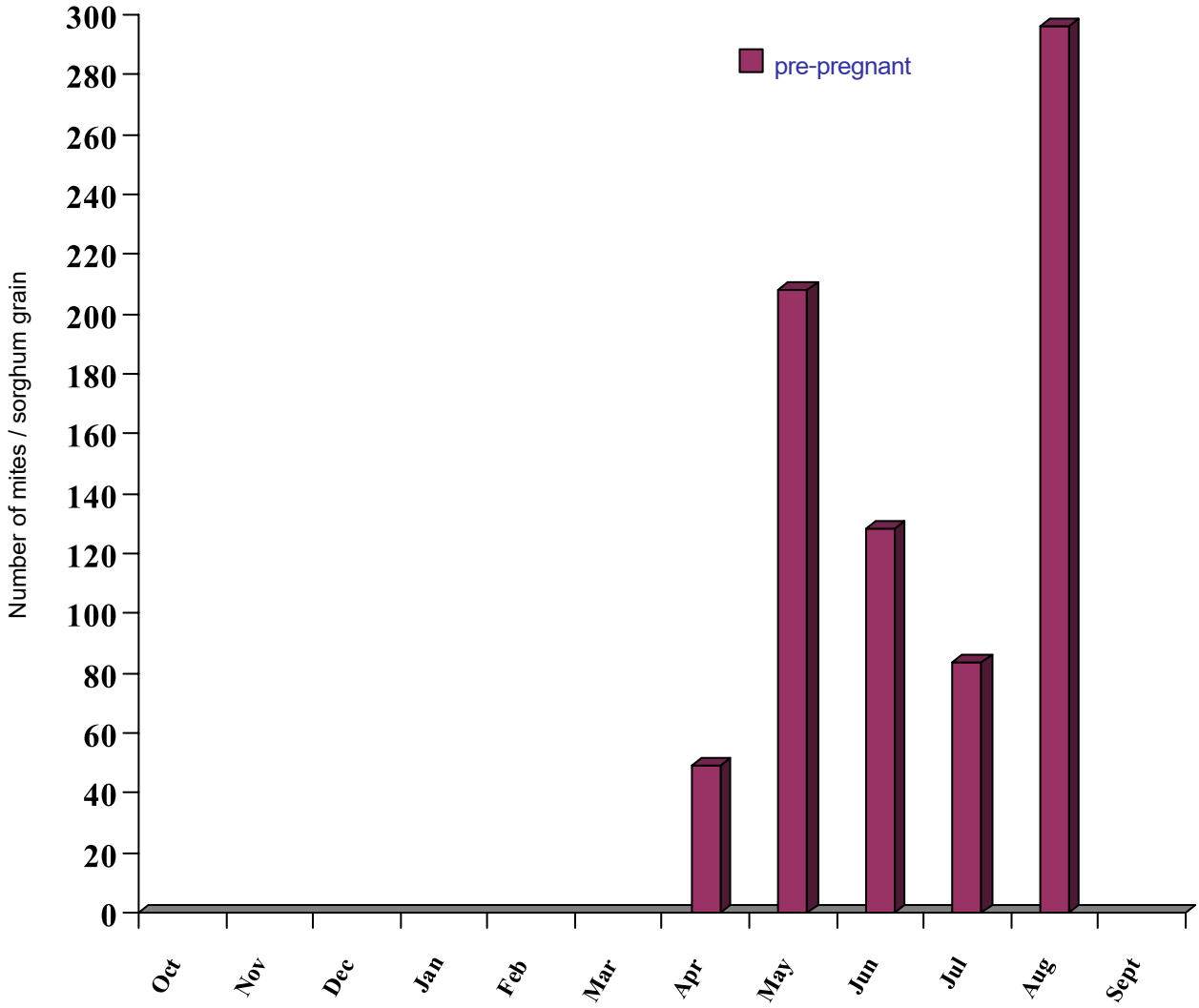


Figure 2 Seasonal fluctuation of *Dolichocybe indica* Mahunka during October, 2005 to September, 2006.

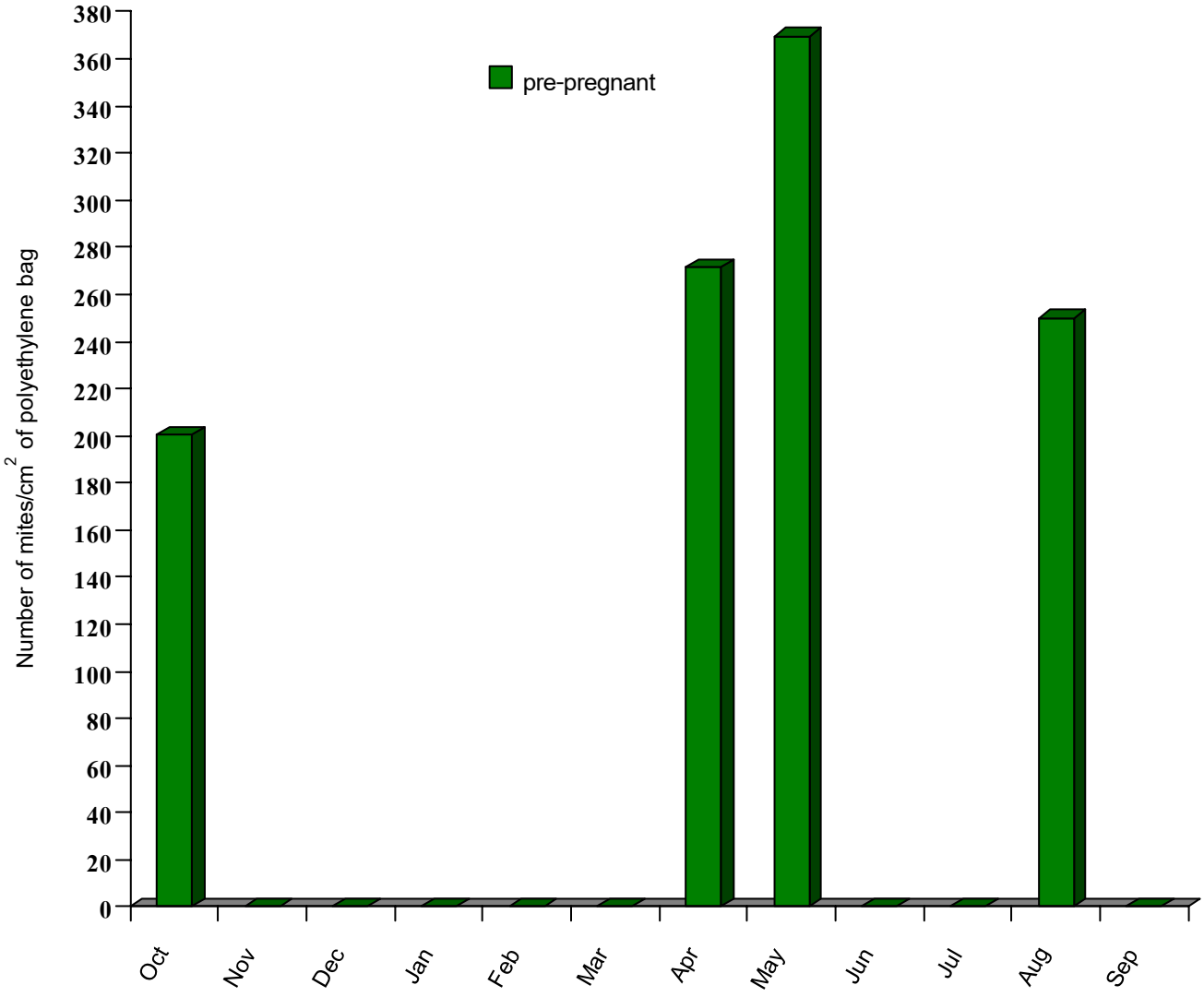


Figure 3 Seasonal fluctuation of *Formicomotes heteromorphus* Magowski during October, 2006 to September, 2007.

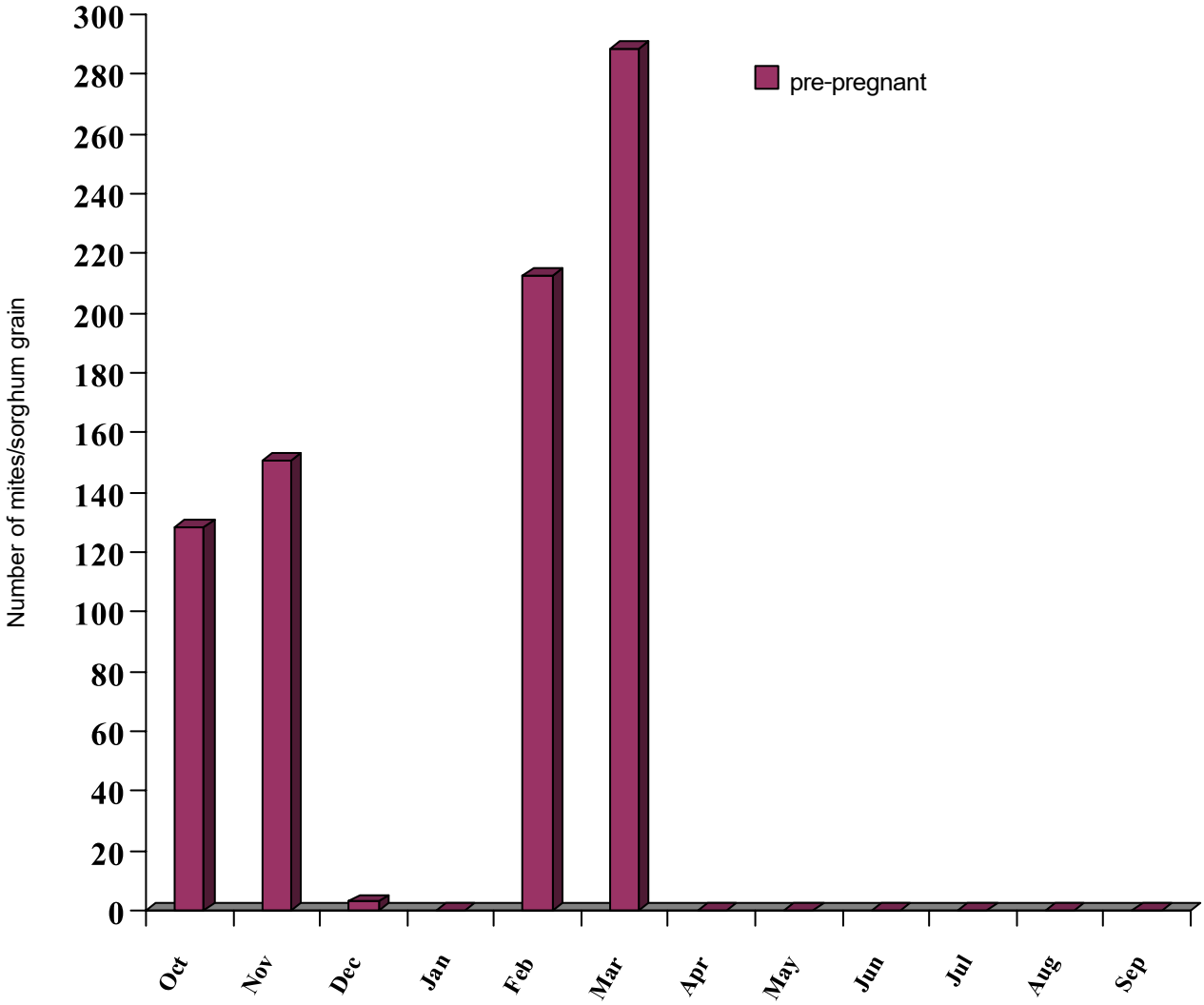


Figure 4 Seasonal fluctuation of *Dolichocybe indica* Mahunka during October, 2006 to September, 2007.

Appendix Table 1 The number of *Formicomotes heteromorphus* Magowski pre-pregnants from mushroom farm at Amphoe Chom Bung, Changwat Ratchaburi and *Dolichocybe indica* Mahunka pre-pregnants from mushroom farm at Amphoe Nong Yaplong, Changwat Phetchaburi during October, 2005 to September, 2006.

Month	Numbers of *F. heteromorphus* / cm^2 of polyethylene bag	Numbers of *D. indica* / sorghum grain
October	-	-
November	-	-
December	284.39	-
January	-	-
February	-	-
March	-	-
April	7.28	49.43
May	113.12	208.02
June	54.50	128.51
July	146.42	83.53
August	223.52	296.00
September	61.57	-

Appendix Table 2 The number of *Formicomotes heteromorphus* Magowski pre-pregnants from mushroom farm at Amphoe Chom Bung, Changwat Ratchaburi and *Dolichocybe indica* Mahunka pre-pregnants from mushroom farm at Amphoe Nong Yaplong, Changwat Phetchaburi during October, 2006 to September, 2007.

Month	Numbers of *F. heteromorphus*/cm^2 of polyethylene bag	Numbers of *D. indica* / sorghum grain
October	200.18	128.04
November	-	150.82
December	-	2.92
January	-	-
February	-	212.35
March	-	288.56
April	271.31	-
May	369.46	-
June	-	-
July	-	-
August	249.96	-
September	-	-

การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดแมลงหางดีดในเห็ด

Study on Biology Ecology and Controlling Springtails on Mushroom

อุราพร หนูนารถ เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ สัญญาณี ศรีคชา

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจแมลงหางดีดในแปลงเพาะเห็ดในเขตภาคกลาง พบว่า แมลงหางดีดเป็นแมลงขนาดเล็ก จัดอยู่ใน Subclass Apterygota ในอันดับ Collembola และพบกระจายทั่วไป แมลงหางดีดมีสีที่หลากหลายมาก เช่น สีขาว สีเทา สีส้ม สีเขียว และสีแดง แมลงหางดีดมีท่อเล็ก ๆ ติดอยู่บริเวณปลายท้อง เรียกว่า collophore ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่ พบในแมลงหางดีด ทำหน้าที่ยึดติดกับพื้นผิวสัมผัส แมลงหางดีดมีลักษณะเฉพาะ ที่มีลักษณะเฉพาะที่มีลักษณะคล้ายส้อมที่เรียกว่า furcula ซึ่วอยู่บริเวณตอนปลายส่วนท้อง ใช้ในการกระโดดเมื่อถูกรบกวน แมลงหางดีดพบระบาดในแปลงเห็ดที่มีความชื้น ซึ่งสามารถปรับตัว และขยายพันธ์ได้รวดเร็ว จึงทำให้เกิดการระบาดของแมลงหางดีดได้อย่างกว้างขวาง

คำนำ

เห็ดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง ที่มีคุณค่าทั้งทางด้านโภชนาการ และมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้ การเพาะเห็ดในปัจจุบันได้ขยายพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ เห็ดที่เพาะส่วนมากมีปัญหาเกี่ยวกับแมลงศัตรูทำลายจนทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิต แมลงหางดีดเป็นศัตรูเห็ดที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่เป็นปัญหาในการเพาะเห็ด จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ตัวอย่างแมลงทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยที่รวบรวมได้จากแปลงเพาะเห็ด

-อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ขวดดองตัวอย่างแมลง พู่กัน กล่องพลาสติก แว่นขยาย ถุงพลาสติก

-อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพ กล้องถ่ายรูป

รหัสโครงการ 01-16-49-03

-กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound microscope และ stero microscope

-อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ ได้แก่ sodium hydroxide , potassium hydroxide , alcohol clove oil ,fuchsin , บิกเกอร์ เตาไฟฟ้า ตู้อบแผ่นสไลด์ แผ่นสไลด์ และแผ่นแก้วปิดสไลด์

วิธีการทดลอง

1 สำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงหางดีดที่พบใน แหล่งการระบาดของแมลงหางดีดในเห็ดในภาคกลางโดยเก็บตัวอย่างของแมลงหางดีดทุก 2 สัปดาห์ จากก้อนอาหารเห็ด แล้วนำมาแยก ใช้ alcohol ในการดองตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างมีชีวิตด้วย

2 นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยนำไปศึกษาชีวประวัติ พฤติกรรม และการเจริญเติบโต ของแมลงหางดีดในเห็ดในห้องปฏิบัติการ

3 นำแมลงหางดีดที่ทำสไลด์ เรียบร้อยแล้ว ไปตรวจวิเคราะห์ชนิด ตามหลักของนักอนุกรมวิธาน

4 ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงหางดีด

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลพื้นที่การระบาดและลักษณะการเข้าทำลายของแมลงหางดีด
- บันทึกรายละเอียดของชนิดของแมลงหางดีดที่พบ

เวลาและสถานที่

เวลา พฤศจิกายน - สิงหาคม 2550

สถานที่ แปลงเกษตรกรเพาะเห็ดในเขตภาคกลาง

ห้องปฏิบัติการวิจัยกลุ่มงานวิจัยการใช้สาร ฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจแมลงหางดีดในแปลงเพาะเห็ดในเขตภาคกลาง พบว่า แมลงหางดีดเป็นแมลงขนาดเล็ก จัดอยู่ใน Subclass Apterygota ในอันดับ Collembola และพบกระจายทั่วไป แมลงหางดีดมีสีที่หลากหลายมาก เช่น สีขาว สีเทา สีส้ม สีเขียว และสีแดง แมลงหางดีดมีท่อเล็ก ๆ ติดอยู่บริเวณปลายท้อง เรียกว่า collophore ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่ พบในแมลงหางดีด ทำหน้าที่ยึดติดกับพื้นผิวสัมผัส แมลงหางดีดมีลักษณะเฉพาะ ที่มีลักษณะเฉพาะที่มีลักษณะคล้ายส้อมที่เรียกว่า furcula ซึ่วอยู่บริเวณตอนปลายส่วนท้อง ใช้ในการกระโดดเมื่อถูกรบกวน แมลงหางดีดพบระบาดในแปลงเห็ดที่มีความชื้น ซึ่งสามารถปรับตัว และขยายพันธ์ได้รวดเร็ว จึงทำให้เกิดการระบาดของแมลงหางดีดได้อย่างกว้างขวาง

ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดหูหนู โดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Study on Control Measures on Cobweb Disease of *Auricularia* spp. by Plant Extracts and Antagonists Application

อภิรัชต์ สมฤทธิ์
ธารทิพย ภาสบุตร สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ทัศนาพร ทัศคร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก จ.ราชบุรี พบว่าบนอาหาร MEA สร้างเส้นใยเจริญค่อนข้างเร็ว โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารภายใน 7 วัน โคโลนีฟู สีขาวครีม อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีชา เชื้อราสร้าง conidiophore ที่แตกแขนงกิ่งก้าน และมีกลุ่ม conidia เกิดภายในเซลล์ที่เรียกว่า phialide ที่ถูกดันออกมา phialide มีขนาดความยาวไม่แน่นอน แต่ละ conidia มี 2-3 เซลล์ ส่วนใหญ่พบ 2 เซลล์ รูปร่างคล้ายกระบอง (clavate) ใส ไม่มีสี ขนาด 3.9-6.5 x 20.7-44.03 ไมครอน และสร้างสปอร์ผนังหนาเรียกว่า chlamydospore บริเวณกลางเส้นใย ลักษณะค่อนข้างกลม ผนังเรียบและหนา ขนาด 7.8-14.3 x 10.4-19.4 ไมครอน เกิดเดี่ยวๆ หรือต่อกันเป็นโซ่ 2-3 เซลล์ จำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum clavisporum* (Gary & Morgan-Jones) Rogerson *et* Samuels เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี พบว่าบนอาหาร MEA เส้นใยเจริญเร็วและเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 7 วัน โคโลนีฟู สีขาวนวล อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เชื้อราสร้าง conidiophore ที่แตกแขนงกิ่งก้านแบบ verticillate conidia รูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 7.8-13.0 x 15.5-20.7 ไมครอน สร้างจากฐานเล็กๆ เรียกว่า denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่บิดโค้ง และสร้าง chlamydospore งอกออกมาจากเส้นใย มีลักษณะยาวคล้ายกระบอง ผนังเรียบและหนา มี 3-5 เซลล์ ขนาด 10.4-15.5 x 38.9-103.6 ไมครอน จำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum polypori* (Dearness *et* House) Rogerson *et* Samuels การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญบนอาหาร CMA (Corn Meal Agar), MEA (Malt Extract Agar), PDA (Potato Dextrose Agar), PDYA (Potato Dextrose Yeast Agar) และ OA (Oat Agar) ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 ^{O} ซ พบว่า ที่

รหัสโครงการ 01-16-49-03

อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* มีอัตราการเจริญบนอาหารทุกชนิดสูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 ^{O} ซ และที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อราทั้ง 2 ชนิด เจริญบนอาหาร OA และ PDYA ได้ดีกว่าอาหาร CMA, MEA และ PDA การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* โดยสุ่มแยกจากก้อนเชื้อเห็ดนางรม ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า ได้ 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* สาเหตุโรคใยแมงมุมในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* 8 ไอโซเลท ได้แก่ M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 สามารถสร้าง clear zone รอบตัวเอง และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ได้ การทดสอบผลกระทบของสารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ที่สกัดโดยวิธีแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ พบว่า เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาเจือจาง แล้วผสมลงในอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อเห็ด และในอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู แต่เมื่อใช้ความเจือจางตั้งแต่ 80% ขึ้นไปทำให้เส้นใยเห็ดเจริญได้ช้ามาก การทดสอบสารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* พบว่า สารสกัดจากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 50% และสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 70% เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้งสองชนิดได้ ส่วนสารสกัดจากพืช 5 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดมาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ได้ การทดสอบใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ในสภาพโรงเรือน พบว่า สารสกัดที่ได้จากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นสูงกว่า 50% หรือในระดับ 70% ทำให้เชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* หยุดการเจริญได้ ส่วนสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 70% ลงมา ไม่ทำให้เชื้อทั้งสองชนิดหยุดการเจริญได้

คำนำ

Hypomyces เป็นราที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถอาศัยอยู่บนราชนิดอื่นได้ ระยะ anamoprh ของรานี้พบได้บนรากลุ่ม Aphyllophorales (Basidiomycotina, Hymenomycetes) หรือกลุ่มของเห็ดรา โดยพบทำให้เกิดโรคที่สร้างความเสียหายต่อการเพาะเห็ดในต่างประเทศอย่างร้ายแรง (Pope *et al*., 1985; Rogerson and Samuels, 1993; Russell, 1984) นอกจากนั้นเชื้อในระยะ anamorph ในกลุ่มนี้ คือ *Cladobotryum verticillatum* ยังทำให้เกิดโรค cobweb หรือใยแมงมุมกับเห็ดหูหนูอย่างรุนแรงในประเทศอินเดีย (Goltapeh *et al*., 1989) เชื้อ *C. dendroides* ยังพบว่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรค cobweb กับเห็ดแชมปิญอง (*Agaricus bisporus*) ในหลายประเทศ (Makay *et al*., 1996) และยังพบเชื้อ *C. varium* ทำให้เกิดโรคกับดอกเห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) ในประเทศเกาหลีใต้ (Kim *et al*., 2002) จากการพบเชื้อรา *Cladobotryum clavisporum, C. polypori* บนดอกเห็ดหูหนู (อภิรัชต์, 2544; อภิรัชต์ และคณะ, 2545) และ *C. verticillatum* บนดอกเห็ดหลินจือในประเทศไทย ซึ่งราเหล่านี้เป็นระยะ anamorph ของรา Hypomyces แม้ว่าเชื้อรากลุ่มนี้จะยังไม่แพร่ระบาดสร้างความเสียหายให้กับการเพาะเห็ดของประเทศมากเท่ากับต่างประเทศ แต่เป็นไปได้ที่เมื่อเชื้อราดังกล่าวมีแหล่งอาศัยมากขึ้น มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์มากขึ้น โอกาสจะกลับมาสร้างปัญหาให้เกิดความเสียหายกับเป็นย่อมเป็นไปได้ ดังนั้น เมื่อพิจารณาแล้ว จากที่ได้ศึกษาถึงชนิดของเชื้อราโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนูแล้ว การศึกษาทางด้านการป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดนี้ควรเป็น ถูกวางเป็นแนวทางการวิจัยต่อไป ซึ่งผลการวิจัยที่ได้คาดว่าจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการเตรียมความพร้อมในการป้องกันกำจัดโรคใยแมงมุม ที่อาจจะเกิดปัญหาใหญ่หลวงได้ในวันใด ก็วันหนึ่ง นอกจากนั้นผลการศึกษาที่ได้ยังนำไปประยุกต์ใช้กับการป้องกันกำจัดโรคเห็ดต่าง ๆ ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพไม่ให้เกิดแพร่ระบาดทำความเสียหายแก่การผลิตเห็ด และไม่ก่อให้เกิดสารตกค้างหรือเป็นพิษต่อเห็ดที่เพาะอยู่ในขณะนี้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ CMA (Corn Meal Agar), MEA (Malt Extract Agar), PDA (Potato Dextrose Agar), PDYA (Potato Dextrose Yeast Agar) และ OA (Oat Agar)

3. ตู้เขี่ยเชื้อ พร้อมอุปกรณ์เขี่ยเชื้อ

4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereoscopic microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

5. เอธิลแอลกอฮอล์ 70%

6. สารสกัดจากพืชสมุนไพร เช่น ยี่หร่า ข่า ฯลฯ

7. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*

8. ก้อนเชื้อเห็ดหูหนู

9. ขี้เลื่อยผสมสำหรับเพาะเห็ดสกุลนางรม

วิธีการ

1. แยกเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์บนอาหาร PDA

2. ตรวจสอบและบันทึกลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหาร CMA, MEA, PDA, PDYA และOA

3. ตรวจสอบและบันทึกลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราเขียวที่แยกได้

4. จำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้โดยเปรียบเทียบกับลักษณะสัณฐานวิทยาและภาพ (monograph) จากเอกสารของต่างประเทศ

5. เก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จากธรรมชาติ โดยสุ่มแยกจากก้อนเชื้อเห็ดนางรม ด้วยเทคนิค dilution plate รวบรวมจากที่พบปนเปื้อนในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา และจาก ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า

6. จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยอาศัยลักษณะการติดสี และลักษณะทางอินทรีย์เคมี กับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ของต่างประเทศ

7. เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

8. ทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

9. ทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

10. เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา วัน

11. ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมในโรงเรือนเพาะเห็ดหูหนู

12. หาข้อมูลประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา จากเอกสารการทดลองทั้งของไทยและของต่างประเทศ

13. ทำการสกัดการสกัดสารจากพืช โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และสกัดแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70% นาน 72 ชั่วโมง

14. เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

15. ทดสอบผลกระทบของสกัดจากพืช ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด โดยใช้สารสกัดที่เจือจางที่ความเข้มข้น 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 %

16. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด โดยใช้สารสกัดที่เจือจางจากเดิม 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 %

17. เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

18. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมในสภาพโรงเรือนเพาะเห็ด โดยใช้สารสกัดที่เจือจางจากเดิม 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 %

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550 รวม 2 ปี

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก จ.ราชบุรี พบว่าบนอาหาร MEA พบว่าเชื้อราสร้างเส้นใยเจริญค่อนข้างเร็ว โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารภายใน 7 วัน โคโลนีฟู สีขาวครีม อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีชา เชื้อราสร้าง conidiophore ที่แตกแขนงกิ่งก้าน และมีกลุ่ม conidia เกิดภายในเซลล์ที่เรียกว่า phialide ที่ถูกดัน

ออกมา phialide มีขนาดความยาวไม่แน่นอน แต่ละ conidia มี 2-3 เซลล์ ส่วนใหญ่พบ 2 เซลล์ รูปร่างคล้ายกระบอง (clavate) ใส ไม่มีสี ขนาด 3.9-6.5 x 20.7-44.03 ไมครอน และสร้างสปอร์ผนังหนาเรียกว่า chlamydospore บริเวณกลางเส้นใย ลักษณะค่อนข้างกลม ผนังเรียบและหนา ขนาด 7.8-14.3 x 10.4-19.4 ไมครอน เกิดเดี่ยวๆ หรือต่อกันเป็นโซ่ 2-3 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T. Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum clavisporum* (Gary & Morgan-Jones) Rogerson *et* Samuels

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี พบว่าบนอาหาร MEA เส้นใยเจริญเร็วและเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 7 วัน โคโลนีฟู สีขาวนวล อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เชื้อราสร้าง conidiophore ที่แตกแขนงกิ่งก้านแบบ verticillate conidia รูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 7.8-13.0 x 15.5-20.7 ไมครอน สร้างจากฐานเล็กๆ เรียกว่า denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่บิดโค้ง และสร้าง chlamydospore งอกออกมาจากเส้นใย มีลักษณะยาวคล้ายกระบอง ผนังเรียบและหนา มี 3-5 เซลล์ ขนาด 10.4-15.5 x 38.9-103.6 ไมครอน เมื่อเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T. Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum polypori* (Dearness *et* House) Rogerson *et* Samuels

การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญบนอาหาร CMA (Corn Meal Agar), MEA (Malt Extract Agar), PDA (Potato Dextrose Agar), PDYA (Potato Dextrose Yeast Agar) และ OA (Oat Agar) ที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 ^{O} ซ พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* มีอัตราการเจริญบนอาหารทุกสูตรที่นำมาทดสอบสูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 ^{O} ซ และที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อราทั้ง 2 ชนิด เจริญบนอาหาร OA และ PDYA ได้ดีกว่าอาหาร CMA, MEA และ PDA

การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* โดยสุ่มแยกจากก้อนเชื้อเห็ดนางรม ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า ได้ 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 11 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* สาเหตุโรคใยแมงมุมใน

ห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* 8 ไอโซเลทจากทั้งหมด 11 ไอโซเลท ได้แก่ M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 สามารถสร้าง clear zone รอบตัวเอง และยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ได้ โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท M2, B1, B2 และ B3

การทดสอบผลกระทบของสารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ที่สกัดโดยวิธีแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนูในห้องปฏิบัติการ พบว่า เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาเจือจาง แล้วผสมลงในอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อเห็ด และในอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู แต่เมื่อใช้ความเจือจางตั้งแต่ 80% ขึ้นไปทำให้เส้นใยเห็ดเจริญได้ช้ามาก

การทดสอบสารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* พบว่า สารสกัดจากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 50% และสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 70% เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้งสองชนิดได้ ส่วนสารสกัดจากพืช 5 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดมาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ได้

การทดสอบใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ในสภาพโรงเรือน พบว่า สารสกัดที่ได้จากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นสูงกว่า 50% หรือในระดับ 70% ทำให้เชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* หยุดการเจริญได้ ส่วนสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 70% ลงมา ไม่ทำให้เชื้อทั้งสองชนิดหยุดการเจริญได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก จ.ราชบุรี แล้วเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T. Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum clavisporum* (Gary & Morgan-Jones) Rogerson *et* Samuels และเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดหูหนู ที่ได้จาก อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี แล้วเปรียบเทียบลักษณะดังกล่าวและลักษณะของโคโลนีบนอาหาร MEA กับ key ของ C.T.

Rogerson and Gary J. Samuels สามารถจำแนกได้เป็นรา *Cladobotryum polypori* (Dearness *et* House) Rogerson *et* Samuels การศึกษาการเจริญ การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 20, 25 และ 30 ^{O} ซ พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* มีอัตราการเจริญบนอาหารทุกสูตรที่นำมาทดสอบสูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 และ 30 ^{O} ซ และที่อุณหภูมิ 25 ^{O} ซ เชื้อราทั้ง 2 ชนิด เจริญบนอาหาร OA และ PDYA ได้ดีกว่าอาหาร CMA, MEA และ PDA สามารถเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* โดยสุ่มแยกจากก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ด ด้วยเทคนิค dilution plate บนอาหาร PDA ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7 และ M8 และการเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า ได้ 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2 และ B3 รวม 11 ไอโซเลท และพบว่า *B. subtilis* ทั้ง 11 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 8 ไอโซเลทจากทั้งหมด 11 ไอโซเลท ได้แก่ M1, M2, M3, M4, M5 และ B1, B2 และ B3 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* ในห้องปฏิบัติการ ได้ โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท M2, B1, B2 และ B3 เมื่อนำแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ที่สกัดโดยวิธีแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และวิธีการแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70% สารสกัดที่ได้มาเจือจางแล้วผสมลงในอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อเห็ด และในอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ไม่พบทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหูหนู แต่เมื่อใช้ความเจือจางตั้งแต่ 80% ขึ้นไปทำให้เส้นใยเห็ดเจริญได้ช้ามาก สารสกัดจากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 50% และสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 70% เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และเจริญของเส้นใยเชื้อราทั้งสองชนิดได้ ส่วนสารสกัดจากพืช 5 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดมาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ได้ สารสกัดที่ได้จากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นสูงกว่า 50% หรือในระดับ 70% ทำให้เชื้อรา *C. clavisporum* และ *C. polypori* หยุดการเจริญได้ ส่วนสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 70% ลงมา ไม่ทำให้เชื้อทั้งสองชนิดหยุดการเจริญ

ในการทดลองนี้ได้ใช้วิธีการสกัดสารจากพืชสมุนไพรด้วยวิธีการที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน เพื่อที่เกษตรกรผู้เพาะเห็ดสามารถนำไปปฏิบัติใช้ในสภาพโรงเรือนเพาะเห็ดได้ง่าย ไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย และไม่ต้องใช้วัสดุอุปกรณ์ยุ่งยาก นอกจากนี้ยังมีพืชสมุนไพรอีกหลากหลายชนิด และ

วิธีการสกัดสารจากพืชอีกหลายวิธีที่สามารถนำมาปรับใช้สกัดสารจากพืช เพื่อยับยั้งการเข้าทำลายเห็ดของเชื้อสาเหตุโรคเห็ด ซึ่งเกษตรกรผู้เพาะเห็ดสามารถคิดค้นพัฒนาได้เอง โดยใช้พื้นฐานจากงานทดลองนี้

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง, พัน อินทร์จันทร์, พัฒนา สนธิรัตน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2540. การใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมโรคหอมเลื้อย, หน้า 49-64. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2540. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

พรศิลป์ มณีฉาย, วสันณ์ เพชรรัตน์, เสมอใจ ชื่นจิตต์ และ จรัสศรี นวลศรี. 2547. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อการควบคุมโรคราเขียว (*Trichoderma harzianum* Rifai) ของเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel.). Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol.27 No. 1 Jan.-Feb. 2005.

พัฒนา สนธิรัตน, นิตยา กันหลง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2537. ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเลื้อยของหอม, หน้า 27-38. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2537. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ศรีสุดา กวยาสกุล. 2536. แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อ *Fusarium moniliforme* Seldon เชื้อสาเหตุโรครากเน่าและลำต้นเน่าของอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Okigbo, R. N., and U. O. Ogbonnaya. 2006. Antifungal effects of two tropical plant leaf extracts (*Ocimum gratissimum* and *Aframomum melegueta*) on postharvest yam (*Dioscorea* spp.) rot. Afr. J. Biotechnol. Vol. 5(9): 727-731.

ศึกษาชนิด แหล่งที่มา และระดับการแพร่กระจายของราเขียวไตรโคเดอร์มาที่ปนเปื้อนในการเพาะเห็ดสกุลนางรม

Study on Species, Origins and Distribution of Green Moulds (*Trichoderma* spp.) Contaminating in *Pleurotus* Mushroom Cultivation

อภิรัชต์ สมฤทธิ์
อัจฉรา พยัพพานนท์ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
ทัศนาพร ทัศคร มนตรี เอี่ยมวิมังสา
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่พบมีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย รวม 4 ภาค จำนวน 26 อำเภอ 19 จังหวัด แล้วนำก้อนเชื้อเห็ดที่พบราเขียวมาแยกเชื้อบนอาหาร PDA และ แยกเชื้อราบริสุทธิ์ด้วยวิธีการแยก สปอร์เดี่ยว (single spore method) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อราเขียวที่พบโดยอาศัย เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อรา พบว่า ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดสกุลนางรมภาคเหนือ ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 70 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย 10 ไอโซเลท, อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 8 ไอโซเลท, อ.แม่ริม จ.เชียงราย 5 ไอโซเลท, อ.สารภี จ.เชียงราย 3 ไอโซเลท, อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท อ.เมือง จ.ลำพูน 7 ไอโซเลท อ.แม่สอด จ.ตาก 4 ไอโซเลท อ.เมือง จ.นครสวรรค์ 6 ไอโซเลท อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์ 15 ไอโซเลท และ อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 10 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 3 ชนิด คือ *T.hamatum* 11 ไอโซเลท *T. harzianum* 57 ไอโซเลท และ *T. koningii* 2 ไอโซเลท ก้อนชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดสกุลนางรมภาคกลางแยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 42 ไอโซเลท ได้แก่ อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี 5 ไอโซเลท อ.บางแพ จ.ราชบุรี 10 ไอโซเลท อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี 7 ไอโซเลท อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา 10 ไอดซเลท อ.เมือง จ.ลพบุรี 8 ไอโซเลท และ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 2 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 35 ไอโซเลท, *T.hamatum* 7 ไอโซเลท ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดสกุลนางรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือแยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 32 ไอโซเลท ได้แก่ อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น 5 ไอโซเลท กิ่ง อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย 7 ไอโซเลท อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร 10

หรัสโครงการ 01-16-49-03

ไอโซเลท และ อ.เมือง จ.อุดรธานี 10 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 27 ไอโซเลท, *T. hamatum* 5 ไอโซเลท ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคใต้แยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 50 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เมือง จ.กระบี่ 10 ไอโซเลท อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 6 ไอโซเลท อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.บางแก้ว จ.พัทลุง 8 ไอโซเลท และ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง 6 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 3 ชนิด คือ *T. harzianum* 38 ไอโซเลท, *T.hamatum* 5 ไอโซเลท *T. koningii* 7 ไอโซเลท รวมเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาที่เก็บรวบรวมได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลท เมื่อประเมินระดับความเสียหาย พบว่า เกษตรกรผู้เพาะเห็ดสกุลนางรมประสบปัญหาจากการเข้าทำลายของราเขียวไตรโคเดอร์มาตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากนึ่งฆ่าเชื้อก้อนขี้เลื่อยสำหรับเพาะเห็ดด้วยความร้อน เวลา และวิธีการที่ไม่เหมาะสม

คำนำ

การเพาะเห็ดในประเทศไทย มักประสบปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติและบนวัสดุเพาะเห็ดจำพวกไม้ เมล็ดธัญพืช เศษซากพืช และดิน อยู่เสมอในถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ดหอม พบเชื้อราปนเปื้อนซึ่งสามารถจำแนกชนิดได้ 5 สกุล คือ *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp. และ *Trichoderma* spp. (ประไพศรี และคณะ, 2537) ในกลุ่มราทั้งหมดนี้ ราเขียวได้สร้างความเสียหายให้กับการเพาะเห็ดถุงมากที่สุด โดยเชื้อราเขียว *Trichoderma* ที่ปนเปื้อนอยู่ในโรงเรือนเพาะเห็ดหูหอม จากตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนที่เก็บมาจากท่อนไม้เพาะเห็ดหอม ถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ดหอม และวัสดุต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเห็ดหอม เป็นเชื้อราในสกุล *Trichoderma* 5 ชนิด ได้แก่ *T. harzianum, T. piluliferum, T. aureoviride, T. koningii* และ *T. pseudokonigii* (Pukahuta *et al*., 2000) การปนเปื้อนของเชื้อราเขียวได้ทำความเสียหายต่อการเพาะเห็ดมานาน แต่ยังไม่สามารถหาวิธีการป้องกันกำจัดให้ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพ ปัญหาการปนเปื้อนไม่เพียงแต่ทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเห็ดเท่านั้น บางชนิดยังมีโทษอย่างร้ายแรงต่อระบบร่างกายของเกษตรกรผู้ผลิตเห็ดด้วย การศึกษานี้นอกจากจะทำให้ได้ทราบชนิดของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาที่ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดหรือก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรม ระดับการแพร่กระจายและความเสียหายจากการปนเปื้อนของเชื้อราเขียวในแต่ละแหล่งเพาะเห็ดแล้ว ยังได้ข้อมูลและตัวอย่างเชื้อราเขียวที่จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กำจัดเชื้อราเขียวที่แพร่กระจายและปนเปื้อนในพื้นที่เพาะเห็ดและถุงก้อนเชื้อเห็ดด้วย ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปเผยแพร่ให้เกษตรกรใช้เป็นแนวทางในการปฏิบัติใช้ป้องกันความเสียหายของการผลิตเห็ดที่อาจจะเกิดขึ้นต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงขนาดใหญ่สำหรับใส่ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อน สมุดจดบันทึก ปากกา กล้องถ่ายภาพระบบดิจิตอล

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

3. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ PDA (Potato Dextrose Agar) และ WA 1.5% (Water Agar)

4. ตู้เขี่ยเชื้อระบบดูดอากาศ

5. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

6. เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเชื้อปนเปื้อน

สุ่มเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเชื้อปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า ในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย โดยเดินตรวจดู และใช้กล้องถ่ายภาพระบบดิจิตอล ถ่ายภาพวิธีการผลิตก้อนเชื้อเห็ด ตั้งแต่การเตรียมวัสดุเพาะ การนึ่งฆ่าเชื้อวัสดุสำหรับการเพาะเห็ด การถ่ายเชื้อเห็ดลงในก้อนขี้เลื่อย การบ่มก้อนเชื้อเห็ดและ การเปิดดอกเห็ด รวมทั้งสภาพแวดล้อมของฟาร์ม เพาะเห็ดเห็ด ปัญหาและอุปสรรคที่ผู้ผลิตเห็ดประสบอยู่ บันทึกสถานที่ที่ได้เก็บตัวอย่าง

2. การแยกเชื้อราเขียวที่ปนเปื้อนในก้อนเชื้อเห็ด

ใช้เข็มเขี่ย (needle) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อราเขียวที่ปนเปื้อนในก้อนเชื้อเห็ดมาเลี้ยงในอาหารวุ้น PDA ที่เติมกรดแลคติค 25 % เพื่อยับยั้งการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อวางใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. เป็นเวลา 5 วัน

3. การจำแนกชนิด

3.1 การทำเชื้อบริสุทธิ์โดยการใช้ single conidia technique

ใช้เข็มเขี่ย (needle) เขี่ยกลุ่มโคนิเดียเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ลงในขวดแก้ว (vial) ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เขย่าขวดแก้วให้เกิดโคนิเดียแขวนลอย (conidia suspension) ตรวจ

ความหนาแน่นของโคนิเดียโดยใช้ห่วงลวด (loop) โดยแตะโคนิเดียแขวนลอยมาหยดบนแผ่นแก้วสไลด์ ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้ objective กำลังขยายต่ำกำลังขยาย (x10) ให้มีปริมาณโคนิเดียประมาณ 10 โคนิเดีย ต่อ 1 ห่วงลวด จากนั้นใช้ห่วงลวดที่ปลอดเชื้อจุ่มลงในโคนิเดียแขวนลอย แล้วลากเส้น (streak) ลงบนผิวหน้าของอาหาร WA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. ตักโคนิเดียเดี่ยวทิ่งอก มาเลี้ยงบนอาหาร PDA

3.2 การเตรียม Slide Culture

ใช้มีดผ่าตัดที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดชิ้นวุ้น PDA ในจานแก้วเลี้ยงเชื้อ ขนาด 1 x 1 เซนติเมตร จะได้ชิ้นวุ้นเป็นรูปร่างสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ แล้วใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตักชิ้นวุ้น PDA มาวางบนสไลด์ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเช่นเดียวกัน จากนั้นใช้เข็มเขี่ยโคนิเดียของเชื้อราเขียว มาแตะที่ด้านข้างของชิ้นวุ้น ใช้แผ่นแก้วปิดสไลด์วางทับด้านบนของชิ้นวุ้นที่มีโคนิเดียวของเชื้อรา นำแผ่นสไลด์ที่เตรียมเสร็จแล้ววางในจานแก้ว ที่มีน้ำเพื่อหล่อเลี้ยงให้เกิดความชื้นภายในจานแก้ว นำจานแก้วไปวาง ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. เป็นเวลา 5-7 วัน

3.3 การจำแนกชนิด

เมื่อเส้นใยเชื้อราเจริญขึ้นบนแผ่นแก้วสไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์แล้ว จึงใช้เข็มเขี่ยแกะแผ่นแก้วปิดสไลด์ออก เขี่ยชิ้นวุ้น PDA ทิ้ง แล้วนำน้ำยาแลคโตฟีนอล (Lactophenol) หยดบนแผ่นแก้วสไลด์ในบริเวณที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญอยู่ 1 หยด ปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ ส่วนแผ่นแก้วปิดสไลด์ที่มีเส้นใยเชื้อราคลุมอยู่ ใช้น้ำยาแลคโตฟีนอล (lactophenos) หยดลงบริเวณที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญอยู่ 1 หยด คว่ำแผ่นแก้วปิดสไลด์ลงบนแผ่นแก้วสไลด์ นำสไลด์เชื้อราที่ได้ มาตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังสูง (X400) จำแนกชนิดของเชื้อราโดยเปรียบเทียบกับชนิดและภาพ (monograph) ในเอกสารของต่างประเทศ

4. การศึกษาข้อมูลทางชีววิทยา และเขียนแผนที่แหล่งแพร่กระจายของของเชื้อราเขียว

ทำการค้นข้อมูลทางชีววิทยา และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อราเขียวที่จำแนกชนิดได้ จากเอกสารและทางอินเตอร์เน็ททั้งของไทยและของต่างประเทศที่มีการศึกษาไว้แล้ว เขียนแผนที่แหล่งแพร่กระจายของของเชื้อราเขียวพร้อมวางแนวระบบการเพาะเห็ดนางรมที่เหมาะสมและไม่เกิดการปนเปื้อนของราเขียวไตรโคเดอร์มา

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550 รวม 2 ปี

สถานที่ : ฟาร์มเพาะเห็ดเห็ดสกุลนางรมเพื่อการค้า

กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรม 4 ภาคของประเทศไทย ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ รวม 26 อำเภอ 19 จังหวัด เมื่อนำก้อนขี้เลื่อยที่พบราเขียวมาแยกเชื้อบนอาหาร PDA ด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore method) สามารถแยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาบริสุทธิ์จำนวน 194 ไอโซเลท เมื่อศึกษาลักษณะของสัณฐานและการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อราที่พบโดยอาศัย เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อราไตรโคเดอร์มา พบว่า

ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคเหนือแยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 70 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย 10 ไอโซเลท, อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 8 ไอโซเลท, อ.แม่ริม จ.เชียงราย 5 ไอโซเลท, อ.สารภี จ.เชียงราย 3 ไอโซเลท, อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท อ.เมือง จ.ลำพูน 7 ไอโซเลท อ.แม่สอด จ.ตาก 4 ไอโซเลท อ.เมือง จ.นครสวรรค์ 6 ไอโซเลท อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์ 15 ไอโซเลท และ อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 10 ไอโซเลท โดยสามารถจำแนกชนิด (species) ได้ 3 ชนิด คือ *T.hamatum* 11 ไอโซเลท *T. harzianum* 57 ไอโซเลท และ *T. koningii* 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ก้อนชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคกลางแยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 42 ไอโซเลท ได้แก่ อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี 5 ไอโซเลท อ.บางแพ จ.ราชบุรี 10 ไอโซเลท อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี 7 ไอโซเลท อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา 10 ไอดซเลท อ.เมือง จ.ลพบุรี 8 ไอโซเลท และ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 2 ไอโซเลท โดยภาคสามารถจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 35 ไอโซเลท, *T.hamatum* 7 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือแยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 32 ไอโซเลท ได้แก่ อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น 5 ไอโซเลท กิ่ง อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย 7 ไอโซเลท อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร 10 ไอโซเลท และ อ.เมือง จ.อุดรธานี 10 ไอโซเลท โดยสามารถจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 27 ไอโซเลท, *T.hamatum* 5 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่มีเชื้อราเขียวปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคใต้แยกได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 50 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เมือง จ.กระบี่ 10 ไอโซเลท อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 6 ไอโซเลท อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.บางแก้ว จ.

พัทลุง 8 ไอโซเลท และ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง 6 ไอโซเลท โดยสามารถจำแนกชนิด (species) ได้ 3 ชนิด คือ *T. harzianum* 38 ไอโซเลท, *T.hamatum* 5 ไอโซเลท *T. koningii* 7 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

จากการศึกษาลักษณะของสัณฐานและการเจริญของเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาแต่ละชนิดที่จำแนกได้ มีรายละเอียด ดังนี้

Trichoferma hamatum

เชื้อราชนิดนี้เจริญบนอาหาร PDA ได้รวดเร็ว วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีได้ 9 เซนติเมตร ภายในเวลา 4 วัน ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. ผิวหน้าโคโลนี มีเส้นใยเกาะกลุ่มหนา ฟูเล็กน้อย เมื่อเริ่มเจริญโคโลนีจะมีสีขาว จากนั้นจะเปลี่ยนสีเขียวเข้มเมื่ออายุมากขึ้น เชื้อรามีเส้นใยสีขาว ผนังเรียบ ความกว้าง 2-9 ไมครอน สร้างคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) รูปร่างกลมหรือรีเล็กน้อย ผนังเรียบ ไม่มีสี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7-12 ไมครอน มีก้านชูสปอร์หรือไฟอะไลด์ (phialide) จำนวนมาก ส่วนกว้างของไฟอะไลด์วัดได้ 6 ไมครอน มีการแตกกิ่งก้านค่อนข้างมาก แต่กิ่งก้านจะมีขนาดอ้วนสั้น มีเส้นใยที่ไม่มีการสร้างโครงสร้างขยายพันธุ์รูปร่างยาว มีผนังกั้น ไม่มีสี และมีผนังเรียบ ไฟอะไลด์อ้วนสั้น ขนาด 3-4 x 4-6 ไมครอน สร้างโคนีเดีย (conidia) รูปร่างรี หรือค่อนข้างยาว สีเขียวอ่อน ผนังเรียบ ขนาด 2-2.8 x 3.5-6 ไมครอน

เชื้อรานี้มีแหล่งอาศัยอยู่ในดินปลูกพืชที่มีเศษซากอินทรียวัตถุ ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบในดินปลูกพืชไร่ ดินสวน และดินป่า ในต่างประเทศก็มีรายงานพบในดินหลาย ๆ ประเทศ เช่น อังกฤษ เยอรมัน สวิสเซอร์แลนด์ โปแลนด์ เนเธอร์แลนด์ อิตาลี รัสเซีย อินเดีย ตุรกี เนปาล อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น นิวซีแลนด์ เกาะทาสมาเนีย ออสเตรเลีย และสหรัฐอเมริกา

Trichoferma harzianum

เชื้อราชนิดนี้เจริญบนอาหาร PDA อย่างรวดเร็ว วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร ได้ ภายในเวลา 3 วัน ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. ผิวหน้าโคโลนีมีเส้นใยเจริญหนา ฟู บริเวณที่สร้างโคนีเดียระยะแรกมีสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน จนกลายเป็นสีเขียวเข้มเมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้น เนื่องจากมีการสร้างโคนีเดียจำนวนมาก เชื้อรามีเส้นใยผนังเรียบ ไม่มีสี คลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) รูปร่างกลม ผนังเรียบ ไม่มีสี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-12 ไมครอน

ก้านชูสปอร์หรือไฟอะไลด์แตกกิ่งก้านจำนวนมาก มีขนาด 3-3.5 x 5-7.5 ไมครอน โคนีเดียรูปร่างกลมหรือเกือบกลม ปลายด้านหนึ่งตัด ผนังเรียบ สีเขียวอ่อน ขนาด 2.5-2.8 x 2.8-3.2 ไมครอน

เชื้อรานี้มีแหล่งอาศัยเชื้อราอยู่ในดินปลูกพืชที่มีเศษซากอินทรียวัตถุ ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบในดินปลูกพืชไร่ ดินสวน และดินป่า ในต่างประเทศก็มีรายงานว่าพบในดินปลูกพืชในหลาย ๆ ประเทศ เช่น อังกฤษ สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ อิตาลี อินเดีย ลิเบีย แอฟริกา และไนจีเรีย

Trichoferma koningii

เชื้อราชนิดนี้เจริญบนอาหาร PDA อย่างรวดเร็ว มีเส้นใยหนาแน่น วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีได้ 9 เซนติเมตร ภายในเวลา 4 วัน ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. ระยะแรกโคโลนีมีสีขาว ต่อมาบริเวณที่มีการสร้างโคนีเดียจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มเมื่อมีอายุมากขึ้น เส้นใยไม่มีสี ขนาดกว้าง 2-10 ไมครอน ผนังเรียบ คลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) รูปร่างกลมหรือรี มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12-14 ไมครอน ก้านชูสปอร์หรือไฟอะไลด์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 ไมครอน มีการแตกกิ่งก้านขนาด 2.5-3.5 x 7-12 ไมครอน จำนวนมาก โคนีเดียรูปร่างรี เกือบเป็นรูปทรงกระบอก และปลายด้านหนึ่งตัดตรง ส่วนอีกด้านหนึ่งโค้งมน ขนาด 1.9-2.9 x 3-4.8 ไมครอน ผนังเรียบ มีสีเขียวอ่อนจนถึงสีเขียวแก่

เชื้อรานี้มีแหล่งอาศัยเชื้อราอยู่ในดินปลูกพืชที่มีเศษซากอินทรียวัตถุ ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบเชื้อราชนิดนี้ ในดินไร่ ดินสวน และดินป่า นอกจากนี้ยังเคยพบบริเวณพบบริเวณรากส้ม และดินปลูกมะม่วงหิมพานต์ เชื้อรานี้ยังมีพบในดินหลายประเทศ เช่น นอร์เวย์ โปแลนด์ รัสเซีย ฝรั่งเศส เยอรมัน ออสเตรเลีย อิตาลี เชคโกสโลวะเกีย ยูโกสลาเวีย สเปน แคนาดา สหรัฐอเมริกา ชิลี ตุรกี ซีเรีย อิสราเอล จีน ญี่ปุ่น อินเดีย ปากีสถาน นิวซีแลนด์ ชาด และทะเลทรายซาฮารา

จากข้อมูลทางชีววิทยาและการแพร่กระจาย พบว่าเชื้อราเขียวสกุลไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma*) เป็นราที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน และบนเศษวัสดุที่เป็นไม้ โดยเฉพาะเศษขี้เลื่อย และก้อนขี้เลื่อยเก่าที่เพาะเห็ดแล้ว และเมื่อประเมินระดับการแพร่และความเสียหาย พบว่า เกษตรกรส่วนประสบปัญหาจากการเข้าทำลายของราเขียวไตรโคเดอร์มา มีตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ จนถึงสูงสุด 50 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดที่ทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยหรืออยู่ในระยะเส้นใย ฟาร์มเพาะเห็ดที่ประสบปัญหามากมักเป็นฟาร์มที่ทิ้งก้อนเห็ดเก่าไว้บริเวณใกล้โรงเรือนเพาะเห็ด ใกล้วัสดุเพาะเห็ด และนึ่งฆ่าเชื้อก้อนขี้เลื่อยโดยใช้ความร้อนและเวลาไม่เหมาะสม โดยปกติแล้วการนึ่งฆ่าเชื้อก้อนขี้เลื่อยก่อนนำมาเลี้ยงเชื้อเห็ดต้องนึ่งด้วยไอน้ำที่ความร้อนระดับน้ำเดือดหรืออุณหภูมิ 100 °ซ. เวลาไม่น้อยกว่า 2 ชั่วโมง แต่บางครั้งถึงแม้ว่าจะนึ่งด้วยความร้อนและเวลาที่เหมาะสมแล้วก็

ตามแต่ก็ยังเกิดปัญหาการปนเปื้อนของราเขียวไตรโคเดอร์มา เนื่องจากเกษตรกรผู้เพาะเห็ดบรรจุก้อนขี้เลื่อยลงในถังนึ่งจำนวนมากเกินไป ทำให้ไม่มีช่องว่างให้ความร้อนหรือไอน้ำร้อนแพร่กระจายได้ทั่วถึง ก้อนขี้เลื่อยแต่ละก้อนจึงได้รับความร้อนไม่เต็มที่หรือไม่เพียงพอสำหรับการฆ่าเชื้อ

การเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดนางรมนั้น จะเลือกเก็บและประเมินความเสียหายจากก้อนเชื้อที่อยู่ในระยะการบ่มเส้นใยเท่านั้น ไม่ได้ประเมินรวมถึงก้อนเชื้อเห็ดที่กำลังเปิดดอก เนื่องจากปัญหาของการเกิดราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อน ส่วนใหญ่จะเกิดในระยะการบ่มเส้นใยเท่านั้น และการศึกษาครั้งนี้จะมุ่งเก็บรวบรวมตัวอย่างก้อนเชื้อที่อยู่ในระยะบ่มเส้นใยเท่านั้น จึงทำให้บางสถานที่ (ตารางที่ 1) ได้ก้อนเชื้อเห็ดปนเปื้อนไม่ถึง 10 ก้อน จึงทำให้ได้ราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ไม่ถึง 10 ไอโซเลท

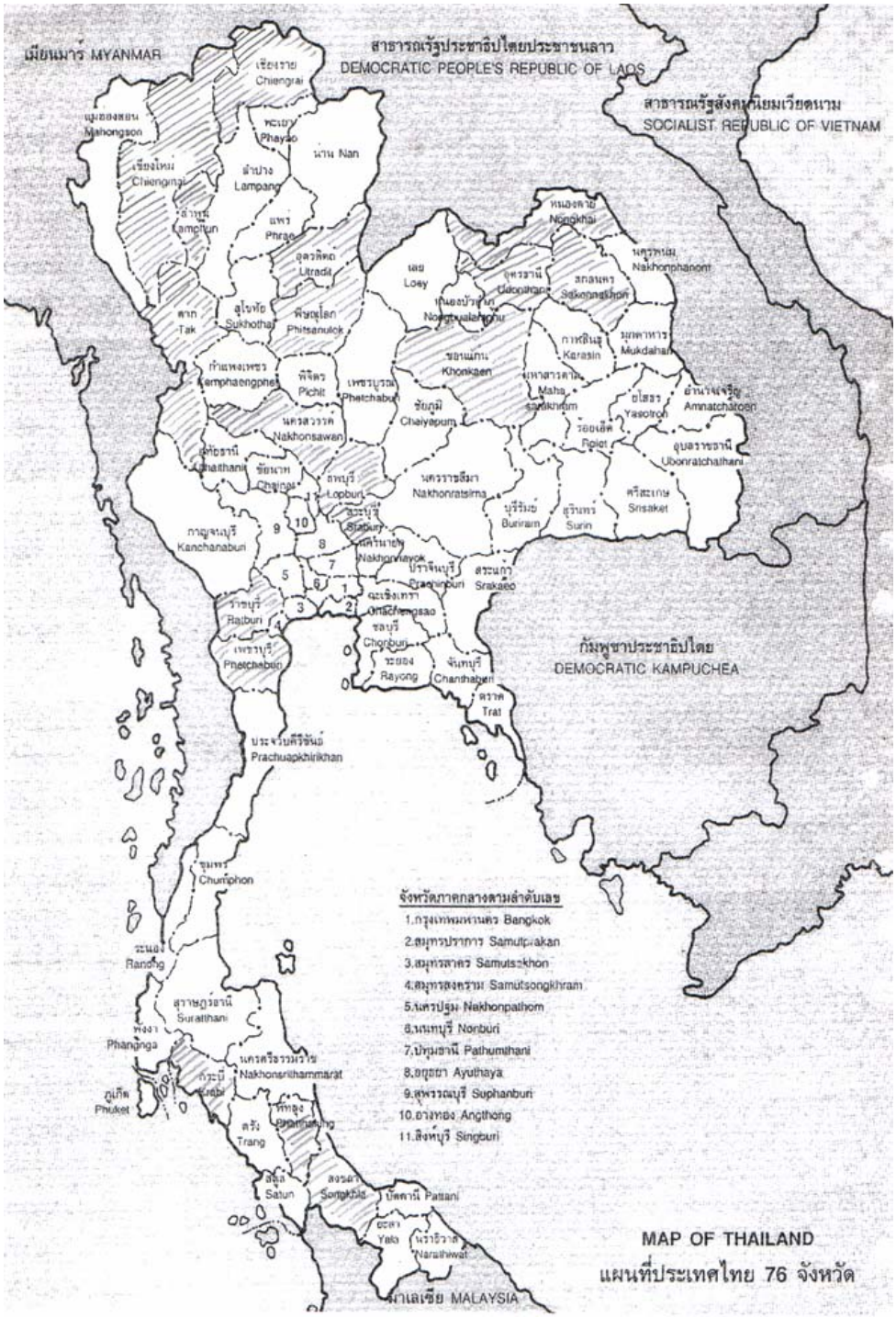
<u>ตารางที่ 1</u> แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่พบเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อน จำนวนไอโซเลทที่พบ ชนิด (species) และจำนวนของราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท) และระดับความเสียหายที่พบในแต่ละพื้นที่

พื้นที่	จำนวนราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท)	ชนิด (species) และจำนวนของราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท)	ระดับความเสียหายในระดับฟาร์ม (เปอร์เซ็นต์)
อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T. hamatum* 2 ไอโซเลท	50
อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	8	*T. harzianum* 7 ไอโซเลท *T. hamatum* 1 ไอโซเลท	7
อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	5	*T. harzianum* 5 ไอโซเลท	5
อ.สารภี จ.เชียงใหม่	3	*T. harzianum* 3 ไอโซเลท	5
อ.หางดง จ.เชียงใหม่	2	*T. harzianum* 2 ไอโซเลท	5
อ.เมือง จ.ลำพูน	7	*T. harzianum* 7 ไอโซเลท	5
อ.แม่สอด จ.ตาก	4	*T. harzianum* 4 ไอโซเลท	5
อ.เมือง จ.นครสวรรค์	6	*T. harzianum* 4 ไอโซเลท *T. hamatum* 2 ไอโซเลท	15
อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์	15	*T. harzianum* 10 ไอโซเลท *T. hamatum* 3 ไอโซเลท *T. koningii* 2 ไอโซเลท	20
อ.วังทอง จ.พิษณุโลก	10	*T. harzianum* 7 ไอโซเลท *T .hamatum* 3 ไอโซเลท	8
อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	5	*T. harzianum* 3 ไอโซเลท *T. hamatum* 2 ไอโซเลท	10
อ.บางแพ จ.ราชบุรี	10	*T. harzianum* 10 ไอโซเลท	15
อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี	7	*T. harzianum* 7 ไอโซเลท	10
อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T. hamatum* 2 ไอโซเลท	5

ตารางที่ 1 (ต่อ) แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมที่พบเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อน จำนวนไอโซเลทที่พบ ชนิด (species) และจำนวนของราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท) และระดับความเสียหายที่พบในแต่ละพื้นที่

พื้นที่	จำนวนราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท)	ชนิด (species) และจำนวนของราเขียวไตรโคเดอร์มา (ไอโซเลท)	ระดับความเสียหายในระดับฟาร์ม (เปอร์เซ็นต์)
อ.เมือง จ.ลพบุรี	8	*T. harzianum* 5 ไอโซเลท *T .hamatum* 3 ไอโซเลท	8
อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	2	*T. harzianum* 2 ไอโซเลท	5
อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น	5	*T. harzianum* 5 ไอโซเลท	20
กิ่ง อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย	7	*T. harzianum* 6 ไอโซเลท *T. hamatum* 1 ไอโซเลท	6
อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T .hamatum* 2 ไอโซเลท	40
อ.เมือง จ.อุดรธานี	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T .hamatum* 2 ไอโซเลท	40
อ.เมือง จ.กระบี่	10	*T. harzianum* 6 ไอโซเลท *T. hamatum* 3 ไอโซเลท *T. koningii* 1 ไอโซเลท	15
อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	6	*T. harzianum* 5 ไอโซเลท *T. koningii* 1 ไอโซเลท	5
อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T .hamatum* 2 ไอโซเลท	45
อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา	10	*T. harzianum* 8 ไอโซเลท *T. koningii* 2 ไอโซเลท	40
อ.บางแก้ว จ.พัทลุง	8	*T. harzianum* 6 ไอโซเลท *T. koningii* 2 ไอโซเลท	7
อ.ควนขนุน จ.พัทลุง	6	*T. harzianum* 5 ไอโซเลท *T. koningii* 1 ไอโซเลท	5
รวม	194		

ได้จัดทำแผนที่ของจังหวัดที่พบเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมดังแสดงใน<u>ภาพที่ 1</u>



<u>ภาพที่ 1</u> แสดงจังหวัดที่พบเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนในก้อนเชื้อเห็ดนางรม จำนวน 194 ไอโซเลท จากเก็บตัวอย่าง ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550

(▨)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บตัวอย่างและข้อมูลก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่พบมีเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาปนเปื้อนจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย รวม 4 ภาค จำนวน 26 อำเภอ 19 จังหวัด พบว่า ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมจากฟาร์มเพาะเห็ดสกุลนางรมภาคเหนือ ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 70 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย 10 ไอโซเลท, อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 8 ไอโซเลท, อ.แม่ริม จ.เชียงราย 5 ไอโซเลท, อ.สารภี จ.เชียงราย 3 ไอโซเลท, อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 2 ไอโซเลท อ.เมือง จ.ลำพูน 7 ไอโซเลท อ.แม่สอด จ.ตาก 4 ไอโซเลท อ.เมือง จ.นครสวรรค์ 6 ไอโซเลท อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์ 15 ไอโซเลท และ อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 10 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 3 ชนิด คือ *T.hamatum* 11 ไอโซเลท *T. harzianum* 57 ไอโซเลท และ *T. koningii* 2 ไอโซเลท ก้อนชื้อเห็ดสกุลนางรมจากฟาร์มเพาะเห็ดสกุลนางรมภาคกลางได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 42 ไอโซเลท ได้แก่ อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี 5 ไอโซเลท อ.บางแพ จ.ราชบุรี 10 ไอโซเลท อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี 7 ไอโซเลท อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา 10 ไอดซเลท อ.เมือง จ.ลพบุรี 8 ไอโซเลท และ อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี 2 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 35 ไอโซเลท, *T. hamatum* 7 ไอโซเลท ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมจากฟาร์มเพาะเห็ดสกุลนางรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 32 ไอโซเลท ได้แก่ อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น 5 ไอโซเลท กิ่ง อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย 7 ไอโซเลท อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร 10 ไอโซเลท และ อ.เมือง จ.อุดรธานี 10 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* 27 ไอโซเลท, *T.hamatum* 5 ไอโซเลทและ ก้อนเชื้อเห็ดสกุลนางรมจากฟาร์มเพาะเห็ดนางรมภาคใต้ได้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์ 50 ไอโซเลท ได้แก่ อ.เมือง จ.กระบี่ 10 ไอโซเลท อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 6 ไอโซเลท อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา 10 ไอโซเลท อ.บางแก้ว จ.พัทลุง 8 ไอโซเลท และ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง 6 ไอโซเลท โดยจำแนกชนิด (species) ได้ 3 ชนิด คือ *T. harzianum* 38 ไอโซเลท, *T.hamatum* 5 ไอโซเลท *T. koningii* 7 ไอโซเลท ระดับความเสียหาย พบว่า เกษตรกรผู้เพาะเห็ดสกุลนางรมประสบปัญหาจากการเข้าทำลายของราเขียวไตรโคเดอร์มาตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากนึ่งฆ่าเชื้อก้อนขี้เลื่อยสำหรับเพาะเห็ดด้วยความร้อน เวลา และวิธีการที่ไม่เหมาะสม

ดังนั้น การนึ่งฆ่าเชื้อก้อนขี้เลื่อยก่อนนำมาเลี้ยงเชื้อเห็ดต้องนึ่งด้วยไอน้ำที่ความร้อนระดับน้ำเดือดหรืออุณหภูมิ 100 °ซ. เวลาไม่น้อยกว่า 2 ชั่วโมง และไม่ควรบรรจุก้อนขี้เลื่อยสำหรับเพาะเห็ดลงในถังนึ่งจำนวนมากเกินไป ควรมีช่องว่างให้ความร้อนหรือไอน้ำร้อนแพร่กระจายได้ทั่วถึง ให้ก้อนขี้เลื่อยได้รับความร้อนเต็มที่และเพียงพอสำหรับการฆ่าเชื้อ

เอกสารอ้างอิง

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, วิรัช ชูบำรุง และอภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2537. ชนิดและปริมาณเชื้อราในวัสดุเพาะเห็ดก่อนการนึ่งฆ่าเชื้อ. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2537. กลุ่มงานวิทยาไมโคกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Bisett, J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section Longibrachiatum sect. nov. Can. J. Bot. Vol. 62: 924 – 931.

Bisett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Section Infragenric classification. Can. J. Bot. Vol. 69: 2357 – 2372.

Bisett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section Pachybasium. Can. J. Bot. Vol. 69: 2372 - 2417.

Bisett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Addition notes on section Longibrachiatum. Can. J. Bot. Vol. 69: 2418 - 2420.

Pukahuta, C., S. Limtong, P. Suwanarit, and S. Nutalaya. 2000. Species Diversity of *Trichoderma* Contaminating Shiitake Production Houses in Thailand. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 34: 478-485.

Rifai, M. A. 1969. A Revision of The Genus *Trichoderma*. Mycological Papers, No.116. Herbarium Bogoriensc, Bogor, Java, Indonesia. 56 p.

ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดราเขียวที่ปนเปื้อนในการเพาะเห็ดสกุลนางรม โดยใช้สารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Study on Control Measures on Green Moulds Contaminating in *Pleurotus* Mushroom Cultivation by Plant Extracts and Antagonists Application

อภิรัชต์ สมฤทธิ์
อัจฉรา พยัพพานนท์ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
ทัศนาพร ทัศคร มนตรี เอี่ยมวิมังสา
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

รวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จากที่พบปนเปื้อนในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา และแยกเชื้อจากก้อนเชื้อเห็ดนางรม ด้วยเทคนิค dilution plate บนอาหาร PDA แล้วจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยอาศัยลักษณะการติดสี และลักษณะทางอินทรีย์เคมี กับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ของต่างประเทศ ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 9 ไอโซเลท ได้แก่ M (Mycology) 1 , M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 และ 519 และหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2, B3 และ B4 รวม 13 ไอโซเลท ทำการทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* จำนวน 13 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 13 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด การทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* จำนวน 13 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* sp.) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* 9 ไอโซเลท คือ M2, M6, M7, M8, 519, B1, B2, B3 และ B4 มีความสามารถสร้าง clear zone ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ดี บนอาหาร PDA ส่วนการทดสอบในสภาพโรงเรือน พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 9 ไอโซเลท สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมได้ดีเช่นกัน การทดสอบผลกระทบของสารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ที่สกัดโดยวิธีแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีการแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า เมื่อนำสารสกัดที่ได้มาเจือจางแล้วผสมลงในอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อเห็ด และในอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ไม่ทำให้เกิดผล

รหัสโครงการ 01-16-49-03

กระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม แต่เมื่อใช้ความเจือจางตั้งแต่ 80% ขึ้นไปทำให้เส้นใยเห็ดเจริญได้ช้ามาก การทดสอบสารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา พบว่า สารสกัดจากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 50% และสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 70% เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และเจริญของเส้นใยเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ ส่วนสารสกัดจากพืช 5 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ได้ การทดสอบใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาในสภาพโรงเรือน พบว่า สารสกัดที่ได้จากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นสูงกว่า 50% หรือในระดับ 70% ทำให้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาหยุดการเจริญได้ ส่วนสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 70% ลงมา ไม่ทำให้ราเขียวหยุดการเจริญได้ การทดสอบผลกระทบของสารสกัดจากซังข้าวโพด ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารสกัดจากซังข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 3.5 -5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม บนจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากซังข้าวโพด การทดสอบผลของสารสกัดจากซังข้าวโพดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว โดยผสมสารสกัดจากซังข้าวโพดที่ความเข้มข้น 3.5 – 5 % ลงในอาหาร PDA พบว่า สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราเขียวได้เพียง 3 วัน หลังจากนั้นเชื้อราเขียวก็สามารถสร้างเส้นใยเจริญบนอาหาร PDA ได้ตามปกติ

คำนำ

การเพาะเห็ดในประเทศไทย มักประสบปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติและบนวัสดุเพาะเห็ดจำพวกไม้ เมล็ดธัญพืช เศษซากพืช และดิน อยู่เสมอ ในถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ดหอม พบเชื้อราปนเปื้อนซึ่งสามารถจำแนกชนิดได้ 5 สกุล คือ *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp. และ *Trichoderma* spp. (ประไพศรี และคณะ, 2537) ในกลุ่มราทั้งหมดนี้ ราเขียวได้สร้างความเสียหายให้กับการเพาะเห็ดถุงมากที่สุด โดยเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma*) ที่ปนเปื้อนอยู่ในโรงเรือนเพาะเห็ดหอม จากตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนที่เก็บมาจากท่อนไม้เพาะเห็ดหอม ถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ดหอม และวัสดุต่าง ๆ ที่ใช้ในการเพาะเห็ดหอม เป็นเชื้อราในสกุล *Trichoderma* 5 ชนิด ได้แก่ *T. harzianum, T. piluliferum, T. aureoviride, T. koningii* และ *T. pseudokonigii* (Pukahuta *et al*., 2000) การปนเปื้อนของ

เชื้อราเขียวได้ทำความเสียหายต่อการเพาะเห็ดมานาน แต่ยังไม่สามารถหาวิธีการป้องกันกำจัดให้ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพ ปัญหาการปนเปื้อนไม่เพียงแต่ทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเห็ดเท่านั้น บางชนิดยังมีโทษอย่างร้ายแรงต่อระบบร่างกายของเกษตรกรผู้ผลิตเห็ดด้วย การศึกษานี้ เป็นการนำข้อมูลชนิดของเชื้อราเขียวปนเปื้อน ระดับการแพร่กระจายและความเสียหายจากการปนเปื้อนของเชื้อราเขียวในแต่ละแหล่งเพาะเห็ดมาศึกษาต่อยอด เพื่อทราบชนิดและวิธีการสกัดสารจากพืชเบื้องต้น และชนิดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถนำมาใช้กำจัดเชื้อราเขียวที่แพร่กระจายและปนเปื้อนในพื้นที่เพาะเห็ดและถุงก้อนเชื้อเห็ดได้ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปเผยแพร่ให้เกษตรกรปฏิบัติใช้ป้องกันความเสียหายของการผลิตเห็ดที่อาจจะเกิดขึ้นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์
2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ PDA (Potato Dextrose Agar)
3. ตู้เขี่ยเชื้อ
4. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereoscopic microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์
5. เอธิลแอลกอฮอล์ 70%
6. สารสกัดจากพืชสมุนไพร เช่น ไพล ยี่หร่า ข่า ตะไคร้ และ กระเพราแดง
7. สารสกัดจากข้าวโพด
8. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*
9. ก้อนเชื้อเห็ดนางรม
10. ขี้เลื่อยผสมสำหรับเพาะเห็ดสกุลนางรม

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* จากธรรมชาติ โดยสุ่มแยกจากก้อนเชื้อเห็ดนางรม ด้วยเทคนิค dilution plate รวบรวมจากที่พบปนเปื้อนในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา และจาก ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า

2. จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* โดยอาศัยลักษณะการติดสี และลักษณะทางอินทรีย์เคมี กับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ของต่างประเทศ

3. เตรียมเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา บนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อราเขียวมาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเขียวเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

4. ทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ด้วยวิธีการ Dual culture

5. ทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ด้วยวิธีการ Dual culture

6. เตรียมเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา บนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อราเขียวมาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเขียวเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

7. ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวในโรงเรือนเพาะเห็ดนางรม

8. หาข้อมูลประสิทธิภาพของพืชสมุนไพร ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา จากเอกสารการทดลองทั้งของไทยและของต่างประเทศ

9. ทำการสกัดการสกัดสารจากพืช โดยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และสกัดโดยแช่ด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% นาน 72 ชั่วโมง

10. เตรียมเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา บนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อราเขียวมาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเขียวเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

11. ทดสอบผลกระทบของสกัดจากพืช ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ดโดยการเลี้ยงเชื้อเห็ดในจานอาหารขี้เลื่อยที่ผสมสารสกัดจากพืช โดยใช้สารสกัดที่เจือจางที่ความเข้มข้น 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 %

12. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากพืช และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ดโดยการเลี้ยงเชื้อเห็ดในจานอาหารขี้เลื่อยที่ผสมสารสกัดจากพืช โดยใช้สารสกัดที่เจือจางที่ความเข้มข้น 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 %

13. เตรียมเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา บนอาหาร PDA โดยใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อราเขียวมาวางบนอาหาร PDA บ่มให้เชื้อราเขียวเจริญภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

14. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืช ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวในโรงเรือนเพาะเห็ดนางรม โดยใช้สารสกัดที่เจือจางที่ความเข้มข้น 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 %

14. ทดสอบผลกระทบของสารสกัดจากซังข้าวโพด ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากซังข้าวโพด และทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด

15. วิเคราะห์ สรุปผล และเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2548 - กันยายน 2550 รวม 2 ปี

สถานที่ : กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อเก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรียจากที่พบปนเปื้อนในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา และทำให้เชื้อราหยุดชะงักการเจริญ และเมื่อนำก้อนเชื้อเห็ดนางรมมาแยกหาเชื้อแบคทีเรีย ด้วยเทคนิค dilution plate แล้วทดสอบว่าสามารถทำให้เชื้อราหยุดชะงักการเจริญ บนอาหาร PDA ได้ มาจำแนกชนิด โดยอาศัยลักษณะการติดสี และลักษณะทางอินทรีย์เคมี กับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ของต่างประเทศ พบว่า ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 9 ไอโซเลท ได้แก่ หรือ M1 (Mycology1), M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 และ 519 และเมื่อรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2, B3 และ B4 ทำให้ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 13 ไอโซเลท

เมื่อทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 13 ไอโซเลท ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบด้วยวิธีการ dual culture ในจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 13 ไอโซเลท ไม่สร้างผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนอาหาร PDA และ บนอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด

เมื่อทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่รวบรวมได้จำนวน 13 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด พบว่า มี *B. subtilis* 9 ไอโซเลท คือ คือ M2, M6, M7, M8, 519, B1, B2, B3 และ B4 สามารถสร้าง clear zone รอบตัวเองแล้วยับยั้งไม่ให้เส้นใยเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาเจริญได้

ส่วนการทดสอบในสภาพโรงเรือนเพาะเห็ดโดยฉีดสปอร์แขวนลอยของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาเข้าในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม ปล่อยให้ราเขียวเจริญ 1 วัน หลังจากนั้นฉีดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 9ไอโซเลท เข้าในก้อนขี้เลื่อยที่ปลูกเชื้อราเขียวแต่ละก้อน ทำการทดลองเปรียบเทียบกับก้อนเชื้อเห็ดที่ไม่ได้ฉีดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลทใดเลย พบว่า จุลินทรีย์ *B. subtilis* จากทั้งหมด คือ M2, M6, M7, M8, 519, B1, B2, B3 และ B4 มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรม โดยเป็นไอโซเลทที่เก็บรวบรวมได้จากธรรมชาติ จำนวน 5 ไอโซเลท และ เชื้อจุลินทรีย์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 3 ไอโซเลท

เมื่อทดสอบการใช้สารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา พบว่า สารสกัดที่ได้จากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 50% และสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 70% เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และเมื่อผสมลงในอาหารขี้เลื่อยที่ผสมสารสกัดจากพืชสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และเจริญของเส้นใยเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ ส่วนสารสกัดที่ได้จากกระเพราแดงในทุกความเข้มข้นของการเจือจางไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาบนอาหาร PDA และในอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ดได้

เมื่อทดสอบการใช้สารสกัดในการป้องกันกำจัดเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา ในโรงเรือนโดยการฉีดสปอร์แขวนลอยของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาลงบนก้อนเห็ดนางรม หลังจากนั้น 2 วันจึง ฉีดสารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้น 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 % ลงในก้อนเชื้อเชื้อเห็ดสกุลนางรมที่ได้ปลูกเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาแล้ว และเปรียบเทียบกับก้อนเชื้อเห็ดที่ไม่ได้พ่นสารสกัดชนิดใดเลย พบว่า สารสกัดที่ได้จากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 50-80 % ทำให้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาหยุดการเจริญได้ ส่วนสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ไม่ทำให้ราเขียวหยุดการเจริญได้

เมื่อทดสอบผลกระทบของสารสกัดจากซังข้าวโพด ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากซังข้าวโพด และทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากข้าวโพด พบว่า สารสกัดจากซังข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 3.5 -5 %ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด และเมื่อทดสอบผลของสารสกัดจากซังข้าวโพดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว ในจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากซังข้าวโพด และ ทดสอบในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ที่ผสมสารสกัดจากซังข้าวโพด พบว่า สารสกัดจากซังข้าวโพดที่ความเข้มข้น 3.5 – 5 % สามารถชะงักการเจริญของเชื้อราเขียว แต่ในวันที่ 3 หลังเลี้ยงเชื้อ เชื้อราเขียวก็สามารถสร้างเส้นใยเจริญได้ตามปกติ ดังนั้นเมื่อได้ผลเช่นนี้ จึงไม่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากซังข้าวโพดในระดับโรงเรือนเพาะเห็ด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ที่พบปนเปื้อนในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา และแยกเชื้อจากก้อนเชื้อเห็ดนางรม ด้วยเทคนิค dilution plate บนอาหาร PDA ได้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* จำนวน 9 ไอโซเลท ได้แก่ M (Mycology) 1 , M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8 และ 519 และหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* ที่มีจำหน่ายเป็นการค้า จำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ B1 (Bacillus 1), B2, B3 และ B4 รวม 13 ไอโซเลท การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 13 ไอโซเลท ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ทั้งบนจานอาหาร PDA และ ในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด การทดสอบและคัดเลือกประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* จำนวน 13 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* sp.) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า *B. subtilis* 9 ไอโซเลท คือ M2, M6, M7, M8, 519, B1, B2, B3 และ B4 มีความสามารถสร้าง clear zone ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ดี บนอาหาร PDA ส่วนการทดสอบในสภาพโรงเรือน พบว่า *B. subtilis* ทั้ง 9 ไอโซเลท สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวในก้อนขี้เลื่อยเพาะเห็ดนางรมได้ดีเช่นกัน การทดสอบผลกระทบของสารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ที่สกัดโดยวิธีแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และวิธีการแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70% พบว่า ไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรมทั้งในอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อเห็ด และในอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด การทดสอบสารสกัดจากแง่งไพล แง่งข่า ต้นตะไคร้ ใบยี่หร่า และ ใบกระเพราแดง ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มา พบว่า สารสกัดจากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้ว

เจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 50% และสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% แล้วเจือจางที่ความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 70% เมื่อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และเจริญของเส้นใยเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาได้ ส่วนสารสกัดจากพืช 5 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำร้อน 100 องศาเซลเซียส ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในจานอาหารขี้เลื่อยเพาะเห็ด ได้ สารสกัดที่ได้จากไพลที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นสูงกว่า 50% หรือในระดับ 70% ทำให้เชื้อราเขียวไตรโคเดอร์มาหยุดการเจริญได้ ส่วนสารสกัดที่ได้จากแง่งข่า ต้นตะไคร้ และใบยี่หร่า ที่สกัดโดยเอธิลแอลกอฮอล์ 70% ที่เจือจางให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 70% ลงมา ไม่ทำให้ราเขียวหยุดการเจริญในสภาพโรงเรือนเพาะเห็ดได้ สารสกัดจากซังข้าวโพดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 3.5 -5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม บนจานอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดจากซังข้าวโพด การทดสอบผลของสารสกัดจากซังข้าวโพดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเขียว โดยผสมสารสกัดจากซังข้าวโพดที่ความเข้มข้น 3.5 – 5 % ลงในอาหาร PDA พบว่า สามารถชะลอการเจริญของเชื้อราเขียวได้เพียง 3 วัน หลังจากนั้นเชื้อราเขียวก็สามารถสร้างเส้นใยเจริญบนอาหาร PDA ได้ตามปกติ

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง, พัน อินทร์จันทร์, พัฒนา สนธิรัตน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2540. การใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมโรคหอมเลื้อย, หน้า 49-64. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2540. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

พรศิลป์ มณีฉาย, วสันณ์ เพชรรัตน์, เสมอใจ ชื่นจิตต์ และ จรัสศรี นวลศรี. 2547. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อการควบคุมโรคราเขียว (*Trichoderma harzianum* Rifai) ของเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quel.). Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol.27 No. 1 Jan.-Feb. 2005.

พัฒนา สนธิรัตน, นิตยา กันหลง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2537. ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเลื้อยของหอม, หน้า 27-38. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2537. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ศรีสุดา กวยาสกุล. 2536. แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อ *Fusarium moniliforme* Seldon เชื้อสาเหตุโรครากเน่าและลำต้นเน่าของอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

McHugh, R., B., Seddon. Comparison of Biocontrol of *Botrytis cinerea* in Tomato and Lettuce Crops Using *Bacillus brevis*. http://www.google.co.th/search?q=cache:A9Y_suDRYREJ:www.u-bourgogne.fr/IUVV/P52.pdf+bacillus%2Bmould%2Bbioco.

Okigbo, R. N., and U. O. Ogbonnaya. 2006. Antifungal effects of two tropical plant leaf extracts (*Ocimum gratissimum* and *Aframomum melegueta*) on postharvest yam (*Dioscorea* spp.) rot. Afr. J. Biotechnol. Vol. 5(9): 727-731.

Seddon, B. *Bacillus brevis* (*Brevibacillus brevis*) and Biological Control of *Botrytis cinerea*. http://www.u-bourgogne.fr/IUVV/L25.html

ศึกษาสาเหตุ และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อนในการผลิตเชื้อเห็ด

Study on Causes and Distribution of Contaminating Moulds in Spawn Production

อภิรัชต์ สมฤทธิ์
อัจฉรา พยัพพานนท์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างเชื้อเห็ดบนอาหารวุ้นและเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่างที่พบราปนเปื้อนจากฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดเพื่อการค้าในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550 นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีแยกโคนีเดียเดี่ยว (single conidia technique) และจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า สามารถเก็บรวบรวมเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดได้ 137 ไอโซเลท ได้แก่ ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางิ จาก อ.บ้านนา จ.นครนายก เป็นรา *Trichoderma* spp. 3 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรม, เชื้อเห็ดภูฏาน, เชื้อเห็ดหูหนู และเชื้อเห็ดขอนขาว จาก อ.เมือง จ.นครปฐม เป็นรา *Aspergillus* sp. 11 ไอโซเลท และ รา *Penicillium* sp. 3 ไอโซเลท ตัวอย่างเชื้อเห็ด จาก อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี พบว่า ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรม เป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 3 ไอโซเลท รา *Fusarium* sp. 1 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unidentified mould) 4 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดขอนขาวเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unidentified mould) 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางิเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่นเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท และ รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดสกุลนางรม จาก อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี เป็นรา *Aspergillus* sp. 7 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 5 ไอโซเลท และ *Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท ตัวอย่างเชื้อเห็ดจาก อ.โพธาราม จ.ราชบุรี พบว่าราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดหูหนู เป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท รา *Neurospora* sp. 1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unidentified mould) 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดสกุลนางรมเป็นรา *Curvularia* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unidentified mould) 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดสกุล

รหัสโครงการ 01-16-49-03

นางรม จาก อ.บ้านบึง จ.ราชบุรี เป็นรา *Aspergillus* sp. 6 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 4 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดสกุลนางรมจาก อ.บางแพ จ.ราชบุรี เป็นรา *Aspergillus* sp. 12 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 10 ไอโซเลท และ *Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดสกุลนางรมจาก อ.เมือง จ.อุดรธานี เป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดสกุลนางรมจาก อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย เป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดสกุลนางรมจาก อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ เป็นรา *Aspergillus* sp. 4 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดสกุลนางรมจาก อ.แม่สอด จ.ตาก เป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดสกุลนางรมจาก อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา เป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด 1 ไอโซเลท (unidentified mould) จาก อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา เป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท และ รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท จาก อ.บางแก้ว จ.พัทลุง เป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด 2 ไอโซเลท (unidentified mould) และ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง เป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเ ปื้อนเป็นราที่มีแหล่งอาศัยตามเศษซากไม้ ขี้เลื่อย วัสดุที่มีความชื้น รวมทั้งวัสดุที่ใช้ในการเพาะและทำเชื้อเห็ด มีการแพร่กระจายโดยการอาศัยโคนิเดียปลิวกระจายไปในอากาศหรือตามลมที่พัด การนึ่งกำจัดเชื้อในวัสดุก่อนเลี้ยงเชื้อไม่ถูกวิธี หรือไม่มีการทำความสะอาดบริเวณทำเชื้อเห็ดเป็นสาเหตุทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อราในการทำเชื้อเห็ดทั้งในการทำเชื้อในอาหารวุ้นและบนเมล็ดข้าวฟ่าง จากการประเมินการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อราโดยเทียบกับจำนวนการผลิตในแต่ละครั้ง พบว่าเชื้อเห็ดเกิดการปนเปื้อนตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ โดยฟาร์มเพาะเห็ดที่ประสบปัญหามักเป็นฟาร์มที่ไม่ทำความสะอาดในบริเวณการทำเชื้อหรือถ่ายเชื้อเห็ด และนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดโดยใช้วิธีการ ความร้อนและระยะเวลาไม่เหมาะสม

คำนำ

ประเทศไทยมีการผลิตเห็ดเป็นการค้า อาทิ เห็ดฟาง เห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดหอม ฯลฯ มานานหลายสิบปีแล้ว การเพาะเห็ดเพื่อการค้าเป็นการผลิตเห็ดในปริมาณมาก จำเป็นต้องอาศัยการดูแลจัดการอย่างดีทุกขั้นตอน ตั้งแต่ระยะเห็ดเป็นเส้นใยจนถึงระยะสร้างดอกเห็ด ความสะอาดเป็นสิ่งที่ผู้ผลิตเห็ดต้องใส่ใจอย่างยิ่งในทุกขั้นตอน โดยเฉพาะขั้นตอนการผลิตแม่

เชื้อหรือเชื้อขยาย ซึ่งขั้นตอนนี้ถือว่าเป็นหัวใจสำคัญของการผลิตเห็ด หากเกิดปัญหาการปนเปื้อนหรือการเข้าทำลายของแมลง ไร และเชื้อจุลินทรีย์ ในเชื้อเห็ดบนอาหารวุ้น หรือในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง ย่อมทำให้การเพาะเห็ดในขั้นตอนต่อไปไม่ประสพผลสำเร็จ การปนเปื้อนเนื่องจากเชื้อราถือว่าเป็นการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่สร้างปัญหาให้กับผู้ผลิตเชื้อมากที่สุด เพราะนอกจากไม่สามารถนำเชื้อเห็ดที่เกิดการปนเปื้อนไปผลิตเห็ดหรือจำหน่ายให้ผู้ผลิตดอกเห็ดได้แล้ว ยังสูญเสียเงินต้นทุนจำนวนมหาศาลอีกด้วย นอกจากนั้นหากผู้ผลิตเชื้อเห็ดหรือเกษตรกรผู้เพาะเห็ดไม่มีความรู้ความเข้าใจหรือรู้จักสังเกตการปนเปื้อนของเชื้อรา เมื่อนำเชื้อเห็ดไปขยายต่อย่อมทำให้เกิดการสูญเสียในขั้นตอนการผลิตดอกเห็ดอย่างมหาศาลด้วยเช่นกัน แม้นักวิชาการหรือผู้ผลิตเห็ดรายใหญ่มีความเข้าใจถึงปัญหาดังกล่าวนี้เป็นอย่างดี แต่ระบบการปฏิบัติจริงเพื่อป้องกันและหลีกเลี่ยงการปนเปื้อน ทั้งจาก แมลง ไร หรือเชื้อจุลินทรีย์ ยังคงไม่เป็นมาตรฐาน จึงทำให้การผลิตเชื้อเห็ดยังคงเกิดปัญหา และสูญเสียรายได้ตลอดมา ปัญหาการปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเกิดขึ้นมาตลอด ดังเช่นเกษตรกรผู้ผลิตเห็ดในจังหวัดนครปฐม และราชบุรี ประสพปัญหามาตั้งแต่ต้นปี 2547 จากปัญหาที่เป็นจริงดังกล่าว จึงได้จำเป็นต้องวางแนวทางการศึกษาถึงแหล่งที่มาของเชื้อราปนเปื้อน สาเหตุการเกิดและการแพร่ระบาด ชนิดของเชื้อที่พบทำความเสียหายให้กับเชื้อเห็ด เมื่อประมวลผลการศึกษาทั้งหมดที่ได้ คาดว่าข้อมูลดังกล่าวย่อมจะเกิดประโยชน์ต่อเกษตรกรในการจัดวางมาตรฐานการผลิตเชื้อเห็ด และแนวทางการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญและคุณภาพของเห็ดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงขนาดใหญ่สำหรับใส่ขวดเชื้อเห็ดที่มีเชื้อราปนเปื้อน สมุดจดบันทึก ปากกา กล้องถ่ายภาพระบบดิจิตอล

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

3. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ PDA (Potato Dextrose Agar) และ WA 1.5% (Water Agar)

4. ตู้เขี่ยเชื้อระบบดูดอากาศ

5. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

6. เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อรา

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด

สุ่มเก็บตัวอย่างขวดเชื้อเห็ดที่เลี้ยงในอาหารวุ้น PDA (Potato Dextrose Agar) และขวดเชื้อเห็ดที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่าง (Sorghum grains) ที่พบว่ามีเชื้อราปนเปื้อนจากแหล่งผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้า และฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า ในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือน ธันวาคม 2548 ถึง เดือนมิถุนายน 2550

เดินตรวจดู และใช้กล้องถ่ายภาพระบบดิจิตอล ถ่ายภาพวิธีการผลิตเชื้อเห็ดตั้งแต่การเตรียมวัสดุอุปกรณ์ การแยกเชื้อเห็ด การถ่ายเชื้อเห็ด การเลี้ยงเชื้อเห็ด และการบ่มเชื้อเห็ด รวมทั้งสภาพแวดล้อมของฟาร์ม และห้องผลิตเชื้อเห็ด ปัญหาและอุปสรรคที่ผู้ผลิตเห็ด และเกษตรกรผู้ซื้อเชื้อเห็ดประสบอยู่ บันทึกสถานที่ที่ได้เก็บตัวอย่าง และชนิดของเชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน

2. การแยกเชื้อราปนเปื้อนจากเชื้อเห็ด

ใช้เข็มเขี่ย (needle) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อราปนเปื้อนที่อยู่ในขวดเชื้อเห็ดที่เลี้ยงในอาหารวุ้น PDA หรือขวดเชื้อเห็ดที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่าง (Sorghum grains) ที่มีเชื้อราปนเปื้อน มาเลี้ยงในจานอาหารพีดีเอ บ่มเชื้อที่ PDA ที่เติมกรดแลคติค 25 % เพื่อยับยั้งการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปวางใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. เป็นเวลา 7 วัน

3. การจำแนกชนิด

ทำเชื้อบริสุทธิ์โดยการใช้ single conidia technique

ใช้เข็มเขี่ย (needle) เขี่ยกลุ่มโคนิเดียเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ลงในขวดแก้ว (vial) ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เขย่าขวดแก้วให้เกิดโคนิเดียแขวนลอย (conidia suspension) ตรวจความหนาแน่นของโคนิเดียโดยใช้ห่วงลวด (loop) โดยแตะโคนิเดียแขวนลอยมาหยดบนแผ่นแก้วสไลด์ ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยใช้ objective กำลังขยายต่ำกำลังขยาย (x10) ให้มีปริมาณโคนิเดียประมาณ 10 โคนิเดีย ต่อ 1 ห่วงลวด จากนั้นใช้ห่วงลวดที่ปลอดเชื้อจุ่มลงในโคนิเดียแขวนลอย แล้วลากเส้น (streak) ลงบนผิวหน้าของอาหาร WA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. ตักโคนิเดียเดี่ยวที่งอก มาเลี้ยงบนอาหาร PDA

การเตรียม Slide Culture

ใช้มีดผ่าตัดที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดชิ้นวุ้น PDA ในจานแก้วเลี้ยงเชื้อ ขนาด 1 x 1 เซนติเมตร จะได้ชิ้นวุ้นเป็นรูปร่างสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ แล้วใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตักชิ้นวุ้น

PDA มาวางบนสไลด์ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเช่นเดียวกัน จากนั้นใช้เข็มเขี่ยแตะโคนิเดียของเชื้อราแล้วมาแตะที่ด้านข้างองชิ้นวุ้น ใช้แผ่นแก้วปิดสไลด์วางทับด้านบนของชิ้นวุ้นที่มีโคนิเดียวของเชื้อรา นำแผ่นสไลด์ที่เตรียมเสร็จแล้ววางในจานแก้ว ที่มีน้ำเพื่อหล่อเลี้ยงให้เกิดความชื้นภายในจานแก้ว นำจานแก้วไปวาง ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 °ซ. เป็นเวลา 5-7 วัน

การจำแนกชนิด

เมื่อเส้นใยเชื้อราเจริญขึ้นบนแผ่นแก้วสไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์แล้ว จึงใช้เข็มเขี่ยแกะแผ่นแก้วปิดสไลด์ออก เขี่ยชิ้นวุ้น PDA ทิ้ง แล้วนำน้ำยาแลคโตฟีนอล (Lactophenol) หยดบนแผ่นแก้วสไลด์ในบริเวณที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญอยู่ 1 หยด ปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ ส่วนแผ่นแก้วปิดสไลด์ที่มีเส้นใยเชื้อราคลุมอยู่ ใช้น้ำยาแลคโตฟีนอล (lactophenos) หยดลงบริเวณที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญอยู่ 1 หยด คว่ำแผ่นแก้วปิดสไลด์ลงบนแผ่นแก้วสไลด์ นำสไลด์เชื้อราที่ได้ มาตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังสูง (X400) จำแนกชนิดของเชื้อราโดยเปรียบเทียบกับชนิดและภาพ (monograph) ในเอกสารของต่างประเทศ

4. การศึกษาข้อมูลทางชีววิทยา และแหล่งแพร่กระจายของของเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด

ทำการค้นข้อมูลทางชีววิทยา และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อราที่จำแนกชนิดได้ จากเอกสาร และทางอินเตอร์เน็ททั้งของไทยและของต่างประเทศที่มีการศึกษาไว้แล้ว นำผลที่ได้รับมาประเมินร่วมกับผลการสำรวจฟาร์มผลิตเชื้อเห็ด แล้วจัดแนวทางการป้องกันเชื้อราปนเปื้อนในระบบการผลิตแม่เชื้อเห็ดอย่างได้มาตรฐาน ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาการป้องกันกำจัดเชื้อราปนเปื้อนในการผลิตเชื้อเห็ดอย่างมีประสิทธิต่อไป

ระยะเวลา และสถานที่ทำการทดลอง

ระยะเวลา : ตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

สถานที่ : แหล่งผลิตเชื้อเห็ดเพื่อการค้า และ ฟาร์มเพาะเห็ดเพื่อการค้า
กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด

จากการเดินทางเก็บตัวอย่างขวดเชื้อเห็ดที่เลี้ยงในอาหารวุ้น PDA และขวดเชื้อเห็ดที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่าง ที่พบเชื้อราปนเปื้อนจากแหล่งผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้า และฟาร์มเพาะเห็ด

เป็นการค้าในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือน ธันวาคม 2548 ถึง เดือนมิถุนายน 2550 พบว่า ฟาร์มที่ผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้าทุกแห่งทำการนึ่งฆ่าเชื้ออาหารวุ้น PDA เมล็ดข้าวฟ่าง โดยใช้หม้อนึ่งความดัน (autoclave) โดยใช้ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{o} ซ สำหรับการฆ่าเชื้อในอาหารวุ้นนั้นจะใช้เวลานึ่ง 20 นาที ส่วนการนึ่งฆ่าเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่างนั้นจะใช้เวลา ตั้งแต่ 30 – 60 นาที เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อเสร็จตามกำหนดเวลาแล้ว จึงนำขวดอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดออกมาจากหม้อนึ่ง วางทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำเข้าตู้ย้ายเชื้อเห็ด ซึ่งเป็นตู้ไม้ปิดทึบ มีช่องสอดแขนสองแขนเข้าไปปฏิบัติงานได้ ส่วนด้านหน้าเป็นแผ่นกระจกเพื่อจะได้มองเห็นขณะปฏิบัติงาน ด้านบนของตู้ที่เป็นไม้มีช่องขนาดประมาณ 6 – 8 นิ้ว เพื่อให้ไอร้อนลอยผ่านออกไปได้ ภายในตู้จะมีอุปกรณ์ในการทำงานได้แก่ เข็มเขี่ย ขวดบรรจุเอธิลแอลกอฮอล์ ตะเกียงแอลกอฮอล์ และไฟแช็ค แม่เชื้อเห็ดที่นำมาเลี้ยงต่อในเมล็ดข้าวฟ่างนั้น ฟาร์มส่วนใหญ่จะซื้อจากกรมวิชาการเกษตร มีฟาร์มส่วนหนึ่งทำการเลี้ยงแม่เชื้อเอง โดยการเลี้ยงจากเนื้อเยื่อเห็ด

พื้นที่ที่ได้ทำการเก็บตัวอย่าง และชนิดของเชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

<u>ตารางที่ 1</u> สถานที่ เชื้อเห็ดที่ผลิต ระดับความสะอาด และระดับความเสียหายจากการพบเชื้อราปนเปื้อน ของฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้า จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2550

สถานที่	**ชนิดเชื้อเห็ด**	**ระดับความเสียหายจากการพบเชื้อราปนเปื้อน (%)**
อ.บ้านนา จ.นครนายก	เห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	5
อ.เมือง จ.นครปฐม	เชื้อเห็ดภูฏาน, เชื้อเห็ดหูหนู, เชื้อ เห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	15
อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี	เชื้อเห็ดนางรม, เชื้อเห็ดขอนขาว, เชื้อเห็ดยานางิ, เชื้อเห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่น ในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	15
อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	10
อ.โพธาราม จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง, เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	20
อ.บ้านบึง จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	15
อ.บางแพ จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	10
อ.เมือง จ.อุดรธานี	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	5
อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	5
อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	5
อ.แม่สอด จ.ตาก	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	10

ตารางที่ 1 (ต่อ) สถานที่ เชื้อเห็ดที่ผลิต ระดับความสะอาด และระดับความเสียหายจากการพบเชื้อราปนเปื้อน ของฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้า จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2550

สถานที่	ชนิดเชื้อเห็ดที่ผลิต	ระดับความเสียหายจากการพบเชื้อราปนเปื้อน (%)
อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	15
อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	10
อ.บางแก้ว จ.พัทลุง	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	5
อ.ควนขนุน จ.พัทลุง	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	5

2. การจำแนกชนิด

การแยกตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนในขวดเชื้อเห็ด จากฟาร์มหรือแหล่งผลิตเห็ด ทำให้ได้เชื้อราปนเปื้อน จำนวน 137 ไอโซเลท จำแนกเป็นเชื้อราในสกุล *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* และ *Trichoderma* มีบางพื้นที่ที่พบเชื้อราในสกุล *Curvularia* และ *Neurospora* นอกจากนั้นยังพบเชื้อราที่ยังไม่ทราบชนิด (unidentified mould) ดังแสดงในตารางที่ 2

3. การศึกษาข้อมูลทางชีววิทยา และแหล่งแพร่กระจายของของเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด

ทำการค้นข้อมูลทางชีววิทยา และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อราที่จำแนกชนิดได้ จากเอกสาร และทางอินเตอร์เน็ททั้งของไทยและของต่างประเทศที่มีการศึกษาไว้แล้ว นำผลที่ได้รับมาประเมินร่วมกับผลการสำรวจฟาร์มผลิตเชื้อเห็ด แล้วจัดแนวทางการป้องกันเชื้อราปนเปื้อนในระบบการผลิตแม่เชื้อเห็ดอย่างได้มาตรฐาน ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาการป้องกันกำจัดเชื้อราปนเปื้อนในการผลิตเชื้อเห็ดอย่างมีประสิทธิต่อไป

เชื้อราปนเ ปื้อนเป็นราที่มีแหล่งอาศัยตามเศษซากไม้ ขี้เลื่อยและ วัสดุที่มีความชื้น รวมทั้งวัสดุที่ใช้ในการเพาะและทำเชื้อเห็ด การนึ่งกำจัดเชื้อในวัสดุก่อนเลี้ยงเชื้อไม่ถูกวิธี หรือไม่มีการทำความสะอาดบริเวณทำเชื้อเห็ด เป็นสาเหตุทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อราในการทำเชื้อเห็ดทั้งในการทำเชื้อในอาหารวุ้นและบนเมล็ดข้าวฟ่าง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 สถานที่ เชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน ชนิดเชื้อรา แหล่งอาศัย และวิธีการแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อน จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2550

สถานที่	เชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน	ชนิดเชื้อรา	แหล่งอาศัย	วิธีการแพร่กระจาย
อ.บ้านนา จ.นครนายก	เห็ดยานางิ ในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Trichoderma* sp.3 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.เมือง จ.นครปฐม	เชื้อเห็ดภูฏาน, เชื้อเห็ดหูหนู, เชื้อ เห็ดขอนขาว ในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 11 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 3 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี	เชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง,	*Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 3 ไอโซเลท *Fusarium* sp. 1 ไอโซเลท *Trichoderma* sp.1 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด 4 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
	เชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง,	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด 1 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
	เชื้อเห็ดยานางิ, เชื้อเห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่น ในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)

ตารางที่ 2 (ต่อ) สถานที่ เชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน ชนิดเชื้อรา แหล่งอาศัย และวิธีการแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อน จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2550

สถานที่	เชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน	ชนิดเชื้อรา	แหล่งอาศัย	วิธีการแพร่กระจาย
อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 7 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 5 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท	เศษซากไม้ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.โพธาราม จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง,	*Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท *Neurospora* sp. 1 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด 1 ไอโซเลท	เศษซากไม้ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Curvularia* sp. 2 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด 1 ไอโซเลท	เศษซากไม้ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.บ้านบึง จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 6 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 4 ไอโซเลท	เศษซากไม้ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.บางแพ จ.ราชบุรี	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 12 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 10 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท	เศษซากไม้ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)

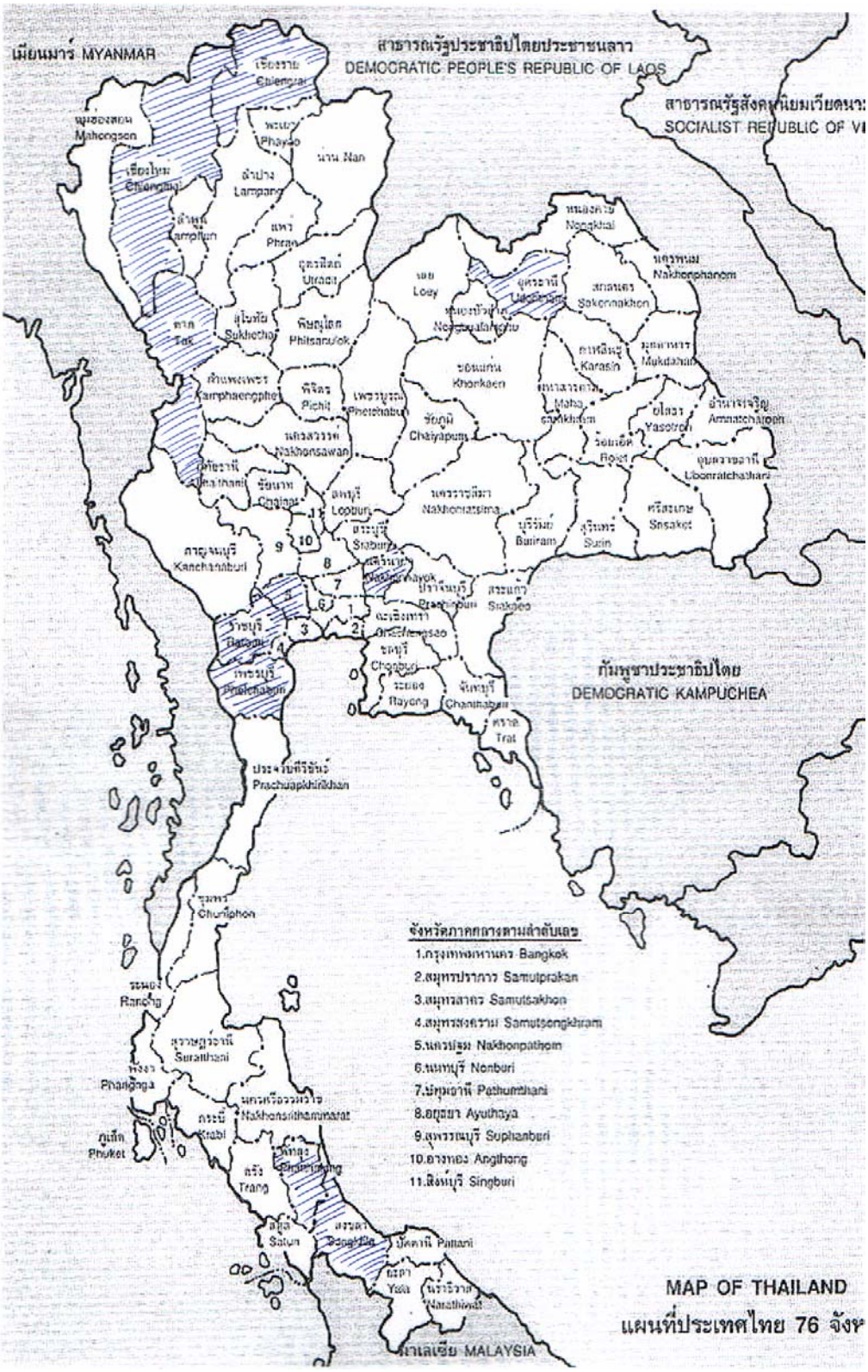
ตารางที่ 2 (ต่อ) สถานที่ เชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน ชนิดเชื้อรา แหล่งอาศัย และวิธีการแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อน จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2550

สถานที่	เชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน	ชนิดเชื้อรา	แหล่งอาศัย	วิธีการแพร่กระจาย
อ.เมือง จ.อุดรธานี	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 4 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.แม่สอด จ.ตาก	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 2 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด 1 ไอโซเลท (unidentifiedmould)	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท	เศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)

ตารางที่ 2 (ต่อ) สถานที่ เชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน ชนิดเชื้อรา แหล่งอาศัย และวิธีการแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อน จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือน ตุลาคม 2548 ถึง เดือน กันยายน 2550

สถานที่	เชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน	ชนิดเชื้อรา	แหล่งอาศัย	วิธีการแพร่กระจาย
อ.บางแก้ว จ.พัทลุง	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราที่ยังไม่ทราบชนิด 2 ไอโซเลท (unidentified mould)	เศษซากไม้ขี้เลื่อยและและ วัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)
อ.ควนขนุน จ.พัทลุง	เชื้อเห็ดสกุลนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง	*Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท	เศษซากไม้ขี้เลื่อยและและ วัสดุที่มีความชื้น	โคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne)

ได้จัดทำแผนที่ของจังหวัดที่พบเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเศรษฐกิจ ดังแสดงใน ภาพที่ 1



<u>ภาพที่ 1</u> แสดงพื้นที่จังหวัดที่พบเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเศรษฐกิจ จำนวน 137 ไอโซเลท จากการศึกษาโดยการสำรวจและรวบรวมจากฟาร์มเพาะเห็ดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – เดือนกันยายน 2550 (▨)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บตัวอย่างและรวบรวมข้อมูลการเกิดราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด ในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย รวม 4 ภาค จำนวน 14 อำเภอ 10 จังหวัด ในปี 2549 สามารถรวบรวมเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดได้ 137 ไอโซเลท โดยพบว่าภาคเหนือ ได้เชื้อราปนเปื้อน 15 ไอโซเลท จากเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง ได้แก่ รา *Aspergillus* sp. 5 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย รา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ รา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.แม่สอด จ.ตาก ภาคกลาง ได้เชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด 35 ไอโซเลท ได้แก่ ราที่ปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท ที่ อ.บ้านนา จ.นครนายก ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา*Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดภูฏานในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ที่ อ.เมือง จ.นครปฐม ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดหูหนูในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และ รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และ ราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.จอมบึง จ.ราชบุรี ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท *Fusarium* sp.1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 3 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดขอนขาวในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (Unknown) 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดยานางิในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่นในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 1 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 1 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 ไอโซเลท คือราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท ที่ อ.เมือง จ.อุดรธานี ภาคใต้ ได้เชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด 20 ไอโซเลท ได้แก่ ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท รา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง

เป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท รา *Penicillium* sp. 2 ไอโซเลท และ ราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และราที่ยังไม่ทราบชนิด (unknown) 1 ไอโซเลท ที่ อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ที่ อ.บางแก้ว จ.พัทลุง และ ราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดนางรมในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเป็นรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท และรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท ที่ อ.ควนขนุน จ.พัทลุง จากการประเมินระดับการแพร่กระจายและความเสียหาย พบว่า ความเสียหายจากปัญหาจากการเข้าทำลายของราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดมีตั้งแต่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ เชื้อราปนเปื้อนทั้งหมดมีแหล่งอาศัยอยู่ตามเศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้น และแพร่กระจายโดยอาศัยโคนิเดียปลิวตามอากาศ (airborne) ดังนั้น การป้องกันการแพร่ระบาดหรือเข้าทำลายของเชื้อราปนเปื้อนเหล่านี้จึงต้อง กำจัดเศษซากไม้ ขี้เลื่อยและวัสดุที่มีความชื้นออกกจากพื้นที่หรือบริเวณที่มีการผลิตเชื้อ ต้องรักษาความสะอาดในบริเวณการผลิตเชื้อเห็ด และต้องใช้เทคนิคการปลอดเชื้อในระหว่างการเขี่ยถ่ายเชื้อเห็ดลงเลี้ยงในอาหารวุ้นหรืออาหารที่เป็นเมล็ดข้าวฟ่าง นอกจากนั้นต้องคำนึงถึงการนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดโดยใช้วิธีการ ความร้อนและระยะเวลาไม่เหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2539. เชื้อเห็ด, น.5-14. *ใน* เห็ดไทย 2539, ชมรมถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร ตู้ ปณ.1029 ปทฝ.เกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ.

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2540. การปนเปื้อนของหัวเชื้อ, น.10-13. *ใน* จดหมายข่าวเพื่อชาวฟาร์มเห็ด โดย ศูนย์รวมสวนเห็ดบ้านอรัญญิก ปีที่ 6 ฉบับที่ 10 :ตุลาคม 2540.

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2543. การปนเปื้อนของหัวเชื้อเห็ด, น.57-62. *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การทำเชื้อเห็ด, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

ปัญญา โพธิ์สุติรัตน์. 2532. การทำเชื้ดเห็ด, น.76-133. *ใน* เทคโนโลยีการเพาะเห็ด, ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2544. การปนเปื้อนของหัวเชื้อเห็ด, น.57-63. *ใน* เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การทำเชื้อเห็ด, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

Stamets, P., and J. S. Chilton. 1996. The Contaminants of Mushroom Culture, pp.233-317. *In* The Mushroom Cultivator, A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home. Agarikon Press, Olympia, Washington.

ศึกษาชนิด และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายดอกเห็ดเพื่อการค้า

Study on Species and Distribution of Bacteria Infecting on Economic Mushrooms

สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และข้อมูลการเกิดโรคของเห็ดจากเชื้อแบคทีเรีย ช่วงเดือนมกราคม 2549 ถึง กันยายน 2550 ในฟาร์มเห็ด จำนวน 62 ฟาร์ม ในพื้นที่ 23 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน อุตรดิตถ์ พิษณุโลก นครสวรรค์ ขอนแก่น หนองคาย สกลนคร อุดรธานี นครนายก นครปฐม ราชบุรี เพชรบุรี ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี สงขลา พัทลุง กระบี่ พังงา และสตูล ได้ตัวอย่างเห็ดนางรมที่ถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลาย จาก 15 ฟาร์ม ได้แก่ ฟาร์มเพาะเห็ดในตำบลปากช่อง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี ตำบลสันมะเค็ด และตำบลม่วงคำ อำเภอพาน จังหวัดเชียงราย ตำบลเชียงยืน อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี ตำบลทุ่งลาน อำเภอคลองหอยโข่ง ตำบลกำแพงเพชร อำเภอรัตภูมิ และตำบลควนลัง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ตำบลธรรมเสน อำเภอโพธาราม จังหวัดราชบุรี ตำบลพลูตาหลวง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ตำบลหนองกรด อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ ตำบลไผ่ล้อม อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ และ ตำบลหนองไผ่ อำเภอชุมแพ จังหวัดขอนแก่นนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้จำนวน 43 ไอโซเลท พิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulate บนดอกเห็ด และจำแนกเชื้อสาเหตุของโรค พบว่าทุกตัวอย่างเกิดจากเชื้อแบคทีเรียสกุล Pseudomonas ในแต่ละฟาร์มที่พบโรค การเกิดโรคอยู่ในช่วง 1-15 เปอร์เซ็นต์ การจัดการฟาร์มที่ดี โดยเฉพาะเรื่องของความสะอาดของโรงเรือน ความชื้น และน้ำที่ใช้รดเห็ด เป็นปัจจัยที่สำคัญในการเกิดโรคของเห็ด แหล่งแพร่กระจายของโรคคือ เชื้อสะสมอยู่ในก้อนเก่า บนดอกเห็ดที่เกิดโรค และปนเปื้อนในน้ำที่ใช้รด

รหัสโครงการ 01-16-49-03

คำนำ

การเพาะเห็ดในประเทศไทย มักประสบปัญหาจากการเข้าทำลายของโรค แมลง และไรอยู่เสมอ เชื้อแบคทีเรีย เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำความเสียหายต่อการเพาะเห็ด ซึ่งยังไม่สามารถหาวิธีการป้องกันกำจัดให้ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพ โรคเห็ดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ไม่เพียงแต่ทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเห็ดเท่านั้น ยังทำให้ราคาของเห็ดต่ำลง และรายได้ของเกษตรกรผู้เพาะเห็ดน้อยลงด้วย ในต่างประเทศ มีรายงานถึงสาเหตุโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ของเห็ดนางรม คือ *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900 สาเหตุโรค Brown Blotch และ Mummy Disease *P. agarici* Young (1970) สาเหตุโรค Brown Blotch, Drippy Gill และ Yellow Blotch *P. fluorescens* Migula 1895 Biovar สาเหตุโรค Brown Blotch *P. fluorescens* Migula 1895 Biotype G (=Biovar V) สาเหตุโรค Bacterial Mummy Disease *P.gingeri* Preece & Wong 1982 สาเหตุโรค Bacterial Blotch, Ginger Blotch และ *P. tolaasii* Paine 1919 สาเหตุโรค Bacterial Blotch, Bacterial Brown Blotch, Brown Blotch และ Mushroom Blotch (olis.oecd.org, 2005) Bessette (1985) รายงานพบโรค Yellow Blotch ที่ทำความเสียหายให้กับการผลิตเห็ดเป็นการค้า ในแคลลิฟอร์เนีย ครั้งแรก ในปี 1983 เกิดจาก *P. agarici* แต่สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการศึกษาชนิด การเข้าทำลาย แหล่งที่มา และวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ดค่อนข้างน้อย ได้แก่ รายงานของสุเนตรา และคณะ (2527) พบเชื้อ *Pseudomonas mycolysis* sp. nov. เป็นสาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาล (brown rot) ของเห็ดนางฟ้า และ *Pseudomonas obaloni* sp. nov. สาเหตุโรคเส้นใยไม่เดิน (bacterial brown patch) ของเห็ดเป๋าฮื้อ ประไพศรี (2537) รายงานว่า ในประเทศไทยเคยพบเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas tolaasii* เข้าทำลายเห็ด ทำให้เกิดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดฎูฏาน และ เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescen* ทำให้เกิดโรคจุดสีน้ำตาลของเห็ดเป๋าฮื้อ และโรคเน่าเหลืองของเห็ดสกุลนางรม จนหลายครั้งเมื่อเกิดปัญหาโรค จึงหาวิธีการป้องกันกำจัด หรือคำแนะนำช่วยเหลือเกษตรกรได้ยาก ดังนั้นจึงได้วางแนวทางการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อทราบชนิดของเชื้อแบคทีเรีย แหล่งแพร่กระจาย ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค และความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อบนดอกเห็ดในแต่ละแหล่งเพาะเห็ดเศรษฐกิจ ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ต่อการหาศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายดอกเห็ดเพื่อการค้าอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เห็ดที่มีอาการโรคที่คาดว่าเกิดจากแบคทีเรีย

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น มีดผ่าตัด กรรไกร ปากคีบ เข็มเขี่ย ลูป จานแก้วเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ไปเปต แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

3. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ Nutrient Agar (NA),Potato Sucrose Agar (PSA) และ King's medium B

4. กล่องพลาสติกใส

5. สารเคมี ได้แก่ KOH

6. หลอด BLACKLIGHT

7. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

8. ก้อนเชื้อเห็ดนางรม

9. อุปกรณ์ในโรงเรือนเพาะเห็ด เช่น ชั้นวางก้อนเห็ด เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer) และเครื่องวัดความชื้น (hygrometer) เป็นต้น

วิธีการ

1. สำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคเห็ด

สำรวจ และเก็บตัวอย่างเห็ด ที่มีอาการคาดว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย คือ ดอกเน่า ดอกเป็นจุดช้ำฉ่ำน้ำ หรือดอกเล็กไม่พัฒนา ดอกเล็กเหี่ยวเหลือง ในช่วงเดือนมกราคม 2549 ถึง กันยายน 2550 บันทึกลักษณะอาการที่พบ เปอร์เซ็นต์ความเสียหายเนื่องจากการเกิดอาการดังกล่าวในแต่ละฟาร์มเห็ดที่ได้ตัวอย่าง บันทึกพื้นที่เกิดโรค และสภาพการจัดการฟาร์ม

2. แยกเชื้อแบคทีเรียจากดอกเห็ด และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

แยกเชื้อแบคทีเรียจากดอกเห็ด โดยนำส่วนของดอกเห็ดที่มีอาการโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด ประมาณ 1x1 เซ็นติเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ลงในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 2.5 % เป็นเวลา 1 นาที แล้วล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง จากนั้นนำชิ้นเห็ดวางในจานเลี้ยงเชื้อ หยดน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 1 มิลลิลิตร ใช้มีดผ่าตัดสับชิ้นเห็ดให้ละเอียด แล้วใช้ลุปแตะนำไป streak บนอาหาร PSA บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะต่างกัน แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ จากนั้นเลี้ยงเชื้อบนอาหารเอียง NA และในหลอดน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่อุหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาต่อไป

3. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อแบคทีเรีย

ศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่แยกได้ บนอาหาร PSA และ King's medium B นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง ตรวจ บันทึก สี ขนาด และลักษณะของโคโลนีเชื้อ

ตรวจการสร้างรงควัตถุเรืองแสง โดยนำเชื้อที่เลี้ยงบนอาหาร King's medium B อายุ 48 ชั่วโมง ไปตรวจการเรืองแสง ภายใต้แสง จากหลอด BLACKLIGHT

ทดสอบแกรม โดยใช้ 3% KOH ตามวิธี KOH Solubility test

ตรวจดุลักษณะ รูปร่าง ของเชื้อแบคทีเรีย โดยทำสไลด์ ดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

4. ทดสอบความสามารถในการเกิดโรค

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร NA จนกระทั่งอายุ 48 ชั่วโมง ละลายเชื้อในหลอดที่มีน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 4 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ให้มีค่า 0.1 ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร แล้วหยดสารละลายเชื้อ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนดอกเห็ดนางรม ซึ่งวางในกล่องพลาสติก ปิดฝา และวางไว้ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกเชื้อโดยใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ตรวจการเกิดโรคทุกวัน เป็นเวลา 3 วัน เมื่อพบการเกิดโรค นำส่วนที่เป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุตามวิธีการ Koch's postulate

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2550

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และฟาร์มเห็ดของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคเห็ด

จากการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และข้อมูลการเกิดโรคของเห็ดจากเชื้อแบคทีเรีย ช่วงเดือนมกราคม 2549 ถึง กันยายน 2550 ในฟาร์มเห็ด จำนวน 62 ฟาร์ม ในพื้นที่ 23 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน อุตรดิตถ์ พิษณุโลก นครสวรรค์ ขอนแก่น หนองคาย สกลนคร อุดรธานี นครนายก นครปฐม ราชบุรี เพชรบุรี ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี สงขลา พัทลุง กระบี่ พังงา และสตูล ได้ตัวอย่างเห็ดนางรมที่ถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลาย จำนวน 28 ตัวอย่าง จาก 15 ฟาร์ม ได้แก่ ฟาร์มเพาะเห็ดในตำบลปากช่อง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี ตำบลสันมะเค็ด และ ตำบลม่วงคำ อำเภอพาน จังหวัดเชียงราย ตำบลเชียงยืน อำเภอเมือง จังหวัด

อุดรธานี ตำบลทุ่งลาน อำเภอคลองหอยโข่ง ตำบลกำแพงเพชร อำเภอรัตภูมิ และตำบลควนลัง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ตำบลธรรมเสน อำเภอโพธาราม จังหวัดราชบุรี ตำบลพลูตาหลวง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ตำบลหนองกรด อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ ตำบลไผ่ล้อม อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ และ ตำบลหนองไผ่ อำเภอชุมแพ จังหวัดขอนแก่น ในแต่ละฟาร์มที่พบโรคเห็ดจากแบคทีเรีย การเกิดโรคอยู่ในช่วง 1-15 เปอร์เซ็นต์ สภาพฟาร์มที่พบโรคส่วนใหญ่ โรงเรือนเพาะเห็ด ชื้นมาก มีก้อนเชื้อเห็ดเก่าทิ้งไม่เป็นโรค และเป็นโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย รา หรือมีการระบาดของแมลงศัตรูเห็ดรวมอยู่ด้วย บางฟาร์มไม่สะอาด ทิ้งดอกเห็ดที่เป็นโรคไว้บนพื้น ทั้งในและรอบๆโรงเรือน แต่มีบ้างที่พบโรคในฟาร์มที่สะอาด สภาพโรงเรือนโปร่ง มีการระบายอากาศดี (ตารางที่1)

จากการสำรวจ เก็บตัวอย่างโรคเห็ดในฟาร์มของเกษตรกร แหล่งที่พบโรค มักจะเป็นฟาร์มที่มีการดูแลในเรื่องของความสะอาดไม่ดี ไม่มีการคัดแยก ก้อนเห็ดที่เป็นโรคออกจากก้อนเห็ดปกติ เพียงแค่เก็บดอกทิ้งเมื่อพบว่าไม่ปกติ บางรายทิ้งดอกเห็ดไว้บริเวณพื้น และด้านข้างโรงเรือน ซึ่งจะทำให้เป็นแหล่งสะสมโรค และทำให้เห็ดเกิดโรคได้อีก จะเห็นได้ว่าการจัดการฟาร์มที่ดี โดยเฉพาะเรื่องของความสะอาดเป็นส่วนสำคัญในการป้องกันกำจัดการเกิดโรคของเห็ด ความชื้นก็มีส่วนสำคัญ ถ้าโรงเรือนมีความชื้นสูงมากเกินไป จะส่งเสริมการเกิดโรค แต่ในบางฟาร์มที่พบโรค สภาพโรงเรือนโปร่ง มีการระบายอากาศดี ซึ่งอาจเกิดจากน้ำที่ใช้รดเห็ดมีเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

ตารางที่1 สถานที่สำรวจ และเก็บตัวอย่าง ลักษณะอาการผิดปกติของเห็ด และวัสดุปลูก ความเสียหาย และการจัดการฟาร์ม จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนมกราคม 2549 ถึง กันายน 2550

สถานที่	ลักษณะอาการบนดอกเห็ด/วัสดุเพาะ	เปอร์เซ็นต์ความเสียหาย	การจัดการฟาร์ม
ต.ปากช่อง อ.จอมบึง จ.ราชบุรี	ดอกเห็ดเล็กเหี่ยวเหลืองไม่พัฒนา	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ทุ่งลาน อ.คลองหอยโข่ง จ. สงขลา	ดอกเห็ดเล็กเหี่ยวเหลืองไม่พัฒนา	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ควนลัง อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	ที่ก้อนเห็ดเส้นใยเห็ดไม่เดิน มีสีเหลือง เยิ้มเป็นย่อมๆ การเจริญไม่เต็มที่	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี

<u>ตารางที่1</u> (ต่อ) สถานที่สำรวจ และเก็บตัวอย่าง ลักษณะอาการผิดปกติของเห็ด และวัสดุปลูก ความเสียหาย และการจัดการฟาร์ม จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างในช่วงมกราคม 2549 ถึง กันายน 2550

สถานที่	ลักษณะอาการบนดอกเห็ด/วัสดุเพาะ	เปอร์เซ็นต์ความเสียหาย	การจัดการฟาร์ม
ต.กำแพงเพชร อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	ดอกเห็ดมีเมือกเยิ้ม การเจริญไม่เต็มที่ ที่ก้อนเห็ดเส้นใยเห็ดไม่เดิน มีสีเหลือง เยิ้มเป็นย่อมๆ	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ไผ่ล้อม อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์	ดอกเห็ดช้ำ ก้านเน่ามีสีเหลือง	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี โรงเรือนโปร่ง การระบายอากาศดี พื้นโรงเรือนเป็นทราย
ต.หนองไผ่ อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น	ดอกเป็นจุดแผลช้ำสีเหลือง ก้านดอกเน่าเหลือง	1	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี โรงเรือนสะอาด แต่จะนำก้อนเชื้อเก่าที่เป็นโรคไปนึ่งแล้วนำมาใช้ใหม่
ต.หนองกรด อ.เมือง จ.นครสวรรค์	ดอกเห็ดช้ำ มีสีเหลือง การเจริญไม่ดี	2	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี โรงเรือนโปร่ง การระบายอากาศดี
ต.พลุตาหลวง อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี	พบอาการ (1)กลางดอกช้ำมีสีเหลือง (2) แผลขีดสีน้ำตาลบนดอก (3) ดอกช้ำ ฉ่ำน้ำ เป็นริ้วๆ (4)ดอกเหลือง ไม่เจริญ	2	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี โรงเรือนที่พบอาการโรค (1) โปร่ง การระบาย อากาศดี ส่วน โรงเรือนที่พบอาการ (2)-(4) ค่อนข้างทึบ ความชื้นสูง และมีก้อนเห็ดเก่าที่มีเชื้อราวมอยู่ด้วย

<u>ตารางที่1</u> (ต่อ) สถานที่สำรวจ และเก็บตัวอย่าง ลักษณะอาการผิดปกติของเห็ด และวัสดุปลูก ความเสียหาย และการจัดการฟาร์ม จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างในช่วงมกราคม 2549 ถึง กันายน 2550

สถานที่	ลักษณะอาการบนดอกเห็ด/วัสดุเพาะ	เปอร์เซ็นต์ความเสียหาย	การจัดการฟาร์ม
ต.ม่วงคำ อ.พาน จ.เชียงราย (ฟาร์ม1)	ดอกเห็ดเล็กเหี่ยวเหลืองไม่พัฒนา	5	ไม่แยกก้อนเชื้อที่มีอาการโรคออกจาก เห็ดปกติ
ต.ม่วงคำ อ.พาน จ.เชียงราย (ฟาร์ม2)	ดอกเห็ดเล็กเหี่ยวเหลืองไม่พัฒนา	5	ไม่แยกก้อนเชื้อที่มีอาการโรคออกจาก เห็ดปกติ
ต.ธรรมเสน อ.โพธาราม จ. ราชบุรี	ดอกเห็ดช้ำสีเหลือง มีเมือกเยิ้ม การเจริญไม่ดี	5	โรงเพาะเห็ดไม่ค่อยสะอาด
ต.เชียงยืน อ.เมือง จ.อุดรธานี	ดอกเน่า มีเมือกเยิ้ม	10	โรงเรือนชื้นมาก บริเวณรอบๆไม่สะอาด ทิ้งดอกเห็ดที่เป็นโรค ไว้ที่พื้น
ต.สันมะเค็ด อ.พาน จ.เชียงราย (ฟาร์ม 1)	ดอกเห็ดช้ำสีเหลือง มีเมือกเยิ้ม การเจริญไม่เต็มที่	15	โรงเพาะเห็ดค่อนข้างทึบชื้นมาก ไม่แยกก้อนเชื้อที่มีอาการโรคออกจากเห็ดปกติ
ต.สันมะเค็ด อ.พาน จ.เชียงราย (ฟาร์ม 2)	ดอกเห็ดช้ำสีเหลือง มีเมือกเยิ้ม การเจริญไม่เต็มที่	15	โรงเพาะเห็ดค่อนข้างทึบชื้นมาก ไม่แยกก้อนเชื้อที่มีอาการโรคออกจากเห็ดปกติ
ต.บ้านนา อ.บ้านนา จ.นครนายก	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ศรีกะอาง อ.บ้านนา จ.นครนายก	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี

<u>ตารางที่1</u> (ต่อ) สถานที่สำรวจ และเก็บตัวอย่าง ลักษณะอาการผิดปกติของเห็ด และวัสดุปลูก ความเสียหาย และการจัดการฟาร์ม จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างในช่วงมกราคม 2549 ถึง กันายน 2550

สถานที่	ลักษณะอาการบนดอกเห็ด/วัสดุเพาะ	เปอร์เซ็นต์ความเสียหาย	การจัดการฟาร์ม
อ.ท่าบ่อ จ.หนองคาย	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.โพนแพง กิ่งอ.รัตนวาปี จ.หนองคาย	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ไร่ อ.พรรณานิคม จ.สกลนคร	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.เหมืองง่า อ.เมือง จ.ลำพูน	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.หล่อยูง อ.ตะกั่วทุ่ง จ.พังงา	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ร่อนพิบูลย์ อ.ร่อนพิบูลย์ จ. นครศรีธรรมราช	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
อ.เมือง จ.นครศรีธรรมราช	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ควนทอง อ.ขนอม จ.นครศรีธรรมราช	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.พุนพิน อ.พุนพิน จ.สุราษฎร์ธานี	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.วัดประดู่ อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.วังมะนาว อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ควนลัง อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี

<u>ตารางที่1</u> (ต่อ) สถานที่สำรวจ และเก็บตัวอย่าง ลักษณะอาการผิดปกติของเห็ด และวัสดุปลูก ความเสียหาย และการจัดการฟาร์ม จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างในช่วงมกราคม 2549 ถึง กันายน 2550

สถานที่	ลักษณะอาการบนดอกเห็ด/วัสดุเพาะ	เปอร์เซ็นต์ความเสียหาย	การจัดการฟาร์ม
ต.กำแพงเพชร อ.รัตภูมิ จ.สงขลา	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.นาปะขอ อ.บางแก้ว จ.พัทลุง	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.โตนดด้วน อ.ควนขนุน จ. พัทลุง	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ศรีมหาโพธิ์ อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.บางโพธิ์ อ.บางแพ จ. ราชบุรี (2 ฟาร์ม)	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.หนองกรด อ.เมือง จ.นครสวรรค์ (2 ฟาร์ม)	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.ทุ่งยั้ง อ.ลับแล จ.อุตรดิตถ์ (2 ฟาร์ม)	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
ต.บึงพระ อ.เมือง จ. พิษณุโลก (2 ฟาร์ม)	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มไม่ค่อยดี รก ในโรงเรือนทึบมีความชื้นสูง
จ.กระบี่	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
จ.สตูล	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
จ.ประจวบคีรีขันธ์	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี
จ.เชียงใหม่	ปกติ ไม่พบการเกิดโรค	-	การดูแลฟาร์มค่อนข้างดี

2. แยกเชื้อแบคทีเรียจากดอกเห็ด และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

แยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จากดอกเห็ด ได้ทั้งหมด 43 ไอโซเลท และเลี้ยงเชื้อบนอาหารเอียง NA และในหลอดน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่อุหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาต่อไป

3. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อแบคทีเรีย

ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ บนอาหาร PSA กลม สีครีม ผิวมันเงา เยิ้ม และบน King's medium B โคโลนีสีครีม กลม ผิวไม่เยิ้ม ตรวจการสร้างรงควัตถุเรืองแสงภายใต้แสงจากหลอด BLACKLIGHT พบว่ามีทั้งกลุ่มเรืองแสงและไม่เรืองแสง ทดสอบแกรม โดยใช้ 3% KOH พบว่า ทั้งหมดเป็นแกรมลบ และตรวจดุลักษณะ รูปร่าง ของเชื้อแบคทีเรีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อมีรูปร่าง Rod shaped จากลักษณะเบื้องต้นนี้ จำแนกได้ว่าทุกไอโซเลท เป็นแบคทีเรียสกุล Pseudomonas และเพื่อให้ผลงานวิจัยสมบูรณ์ จึงควรที่จะศึกษาชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย หรือศึกษาด้วยวิธีการทางชีวโมเลกุล เพื่อให้ทราบถึง species ของเชื้อ

wikipedia.org, 2008 และ Holt, 1994 อธิบายลักษณะเชื้อแบคทีเรีย สกุล Pseudomona ว่า เชื้อมีรูปร่าง Rod shaped ขนาด 0.5-1.0 x 1.5-5.0 ไมครอน แกรมลบ (Gram-negative) มี1 หรือหลาย polar flagella, motility Aerobic มีบาง species ที่เป็น facultative anaerobes (ได้แก่ *P. aeruginosa*) ไม่สร้างสปอร์ ให้ผล Positive catalase test

ในต่างประเทศ มีรายงานถึงสาเหตุโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ของเห็ดนางรม คือ *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900 สาเหตุโรค Brown Blotch และ Mummy Disease *P. agarici* Young (1970) สาเหตุโรค Brown Blotch, Drippy Gill และ Yellow Blotch *P. fluorescens* Migula 1895 Biovar สาเหตุโรค Brown Blotch *P. fluorescens* Migula 1895 Biotype G (=Biovar V) สาเหตุโรค Bacterial Mummy Disease *P.gingeri* Preece & Wong 1982 สาเหตุโรค Bacterial Blotch, Ginger Blotch และ*P. tolaasii* Paine 1919 สาเหตุโรค Bacterial Blotch, Bacterial Brown Blotch, Brown Blotch และ Mushroom Blotch (olis.oecd.org, 2005) Bessette (1985) รายงานพบโรค Yellow Blotch ที่ทำความเสียหายให้กับการผลิตเห็ดเป็นการค้า ในแคลลิฟอร์เนีย ครั้งแรก ในปี 1983 เกิดจาก *P. agarici* Murata (2004) และ Oh (2000) ศึกษาพบว่า *P. tolaasii* เป็นสาเหตุของโรค brown blotch บนดอกเห็ดนางรม

4. ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ มาพิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulate บนดอกเห็ด ในห้องปฏิบัติการ พบว่าทุกไอโซเลท ทำให้ดอกเห็ดแสดงอาการโรค

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และข้อมูลการเกิดโรคของเห็ดจากเชื้อแบคทีเรีย ช่วงเดือน มกราคม 2549 ถึง กันยายน 2550 ได้ตัวอย่างเห็ดนางรมที่ถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลาย จาก 15 ฟาร์ม ได้แก่ ฟาร์มเพาะเห็ดในตำบลปากช่อง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี ตำบลสันมะเค็ด และตำบลม่วงคำ อำเภอพาน จังหวัดเชียงราย ตำบลเชียงยืน อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี ตำบลทุ่งลาน อำเภอคลองหอยโข่ง ตำบลกำแพงเพชร อำเภอรัตภูมิ และตำบลควนลัง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ตำบลธรรมเสน อำเภอโพธาราม จังหวัดราชบุรี ตำบลพลูตาหลวง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ตำบลหนองกรด อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ ตำบลไผ่ล้อม อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ และ ตำบลหนองไผ่ อำเภอชุมแพ จังหวัดขอนแก่น ได้ตัวอย่างโรคที่มีอาการดอกเป็นจุดหรือริ้วช้ำฉ่ำน้ำ อาการแผลสีเหลืองถึงสีน้ำตาล การเจริญของดอกผิดปกติ อาการดอกเน่าเยิ้ม และอาการดอกไม่พัฒนาขนาดเล็กเหี่ยวเหลือง แยกเชื้อบริสุทธิ์ ได้จำนวน 43 ไอโซเลท จำแนกเชื้อสาเหตุของโรค พบว่าทุกตัวอย่างเกิดจากเชื้อแบคทีเรียสกุล Pseudomonas ในแต่ละฟาร์มที่พบโรค การเกิดโรคอยู่ในช่วง 1-15 เปอร์เซ็นต์ การจัดการฟาร์มที่ดี โดยเฉพาะเรื่องของความสะอาดของโรงเรือน ความชื้น และน้ำที่ใช้รดเห็ด เป็นปัจจัยที่สำคัญในการเกิดโรคของเห็ดแหล่งแพร่กระจายของโรคคือ เชื้อสะสมอยู่ในก้อนเก่า บนดอกเห็ดที่เกิดโรค และปนเปื้อนในน้ำที่ใช้รด

เอกสารอ้างอิง

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2537. โรคเห็ดและการป้องกันกำจัด. เอกสารประกอบการบรรยายพิเศษ ในการสัมมนาวิชาการประจำปี 2537, วันศุกร์ที่ 2 ธันวาคม 2537 ณ ห้องประชุมชั้น 3 ตึกสกิกรรม กรมวิชาการเกษตร.

สุเนตรา ภาวิจิตร สมใจ วิวิธจินดา วนิดา ฐิตะฐาน และสุธัญญา ฉายาชวลิต. 2527. การศึกษาโรคเห็ดซึ่งเกิดจากเชื้อบักเตรี. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2527 กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กลุ่มงานวิจัยโรคข้าว และ กลุ่มงานบักเตรี เล่ม 2. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. หน้า 839-854.

Bessette, A. E., R. W. Kerrigan and D. C. Jordan. 1985. Yellow Blotch *Pleurotus ostreatus*. Applied and Environmental Microbiology, 50:1535-1537.

Holt., J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley and S. T. Williams. 1994. Berey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition., Williams & Wilkins, Maryland, USA. 787 p.

Murata, H. 2004. Toxin Production in a Mushroom Pathogenic Bacterium *Pseudomonas tolaasii* Strain PT814

Oh, Sejong. 2000. Effect of Sodium Hypochlorite for Controlling Bacterial Blotch on *Pleurotus ostreatus*. Mycobiology 28(3):123-126

http://www.olis.oecd.org/olis/2005doc.nsf/LinkTo/NT000043F2/$FILE/JT00192447.PDF

http://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas, modified 05:12, 23 January 2008.

ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายดอกเห็ดเพื่อการค้า

Study on Controlling Method of Bacteria Infecting on Economic Mushrooms

สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. สาเหตุโรคเน่าของเห็ด โดยทดสอบสารแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ20.0 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ทุกความเข้มข้น มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น ตั้งแต่ 2.0 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้นตั้งแต่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม และสารทั้งสองที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป ทำให้เส้นใยของเห็ดนางรมเจริญไม่ปกติ และเมื่อทดสอบในโรงเรือนเพาะเห็ด โดยทดสอบสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 2.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น ตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้นตั้งแต่ 1.0 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีประสิทธิภาพในการควบการเกิดโรคในโรงเรือนได้สูง 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป

รหัสโครงการ 01-16-49-03

คำนำ

การเพาะเห็ดในประเทศไทย มักประสบปัญหาการเข้าทำลายของโรค แมลง และ ไร อยู่เสมอ การเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติ เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำความเสียหายต่อการเพาะเห็ดมานาน แต่ยังไม่สามารถหาวิธีการป้องกันกำจัดให้ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพ โรคเน่าของเห็ดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Pseudomonas เป็นปัญหาหนึ่งที่พบในฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกร ไม่เพียงแต่ทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเห็ดเท่านั้น ยังทำให้ราคาของเห็ดต่ำลง และรายได้ของเกษตรกรผู้เพาะเห็ดน้อยลงด้วย มีรายงานการศึกษาถึงการป้องกันกำจัดโรคเห็ดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในต่างประเทศ เช่น Geels (1995) ศึกษาการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas tolaasii* สาเหตุโรค brown blotch บนดอกเห็ดแชมปิญอง พบว่าการพ่นสาร kasugamycin 1% สามารถลดการเกิดให้หมดไปได้ Lee และคณะ (1999) ทดสอบสารเคมีในการป้องกันกำจัดโรค bacterial brown blotch บนดอกเห็ดเข็มเงิน (*Flammulina velutipes*) ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *P. tolaasii* พบว่า ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมโรคของสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ คือ 0.5-1.0 % และน้ำส้มควันไม้ 0.5 % Oh (2000) ศึกษาผลของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการควบคุมโรค bacterial blotch ของเห็ดนางรม พบว่า เมื่อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่มีความเข้มข้นของคลอรีน (chlorine) 1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *P. tolaasii* และจากการทดสอบในฟาร์ม 2 แห่ง พบว่าเมื่อผสมสารที่ความเข้มข้นของคลอรีน 5.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำที่ใช้รดเห็ดตลอดการปลูก สามารถลดการเกิดโรคได้ 40 และ 80 % Kwon (2002) ใช้สารละลายคลอรีน 150 ppm. พ่นบริเวณที่พบโรคมัมมี่ของเห็ดแชมปิญอง ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp.ได้ผลดี Cha (2002)รายงานว่าการใช้สารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ สามารถยับยั้งการเกิดโรค brown blotch บนดอกเห็ด ของเห็ดแชมปิญอง เห็ดเข็มทอง และเห็ดนางรม ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. tolaasii* Rinker (2004) กล่าวถึงการใช้เชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescens* biovar V ในการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *P. tolaasii* นอกจากนั้นการใช้ไวรัสพวก bacteriaphages ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคของเห็ดก็ได้ผลเช่นเดียวกัน

แต่สำหรับในประเทศไทยการศึกษาข้อมูลทางด้านชนิดและการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย รวมถึงแหล่งที่มาของเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายเห็ด และวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ดมีค่อนข้างน้อย จนหลายครั้งเมื่อเกิดปัญหาโรคแล้วทำให้หาวิธีการป้องกันกำจัด หรือคำแนะนำช่วยเหลือเกษตรกรได้ยาก ดังนั้นจึงได้วางแนวทางการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อหาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายดอกเห็ดเพื่อการค้าอย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

2. เชื้อเห็ดนางรม

3. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ Nutrient Agar (NA) และ Potato Sucrose Agar (PSA)

4. อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA)

5. สารเคมีที่ใช้ทดสอบการป้องกันกำจัดโรค ได้แก่ แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ($Ca(OCl)_2$) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl)

6. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น กระดาษกรอง เข็มเขี่ย ลูป จานแก้วเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฟลาสค์ ไปเปต บีกเกอร์ และกระบอกตวง เป็นต้น

7. ตู้เขี่ยเชื้อ

8. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

9. ก้อนเชื้อเห็ดนางรม

10. อุปกรณ์ในโรงเรือนเพาะเห็ด เช่น ชั้นวางก้อนเห็ด เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer) และเครื่องวัดความชื้น (hygrometer) เป็นต้น

11. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น กระบอกฉีดน้ำ, ถังพ่นสารเคมี

วิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ด ในห้องปฏิบัติการ

1.1 เตรียมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคของเห็ด โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA ที่อุณหภูมิห้อง (26 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เจือจางเชื้อในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้น ประมาณ 10^8 เซลต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

1.2 เตรียมเชื้อเห็ดนางรม โดยเลี้ยงเส้นใยเชื้อเห็ดนางรมบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง เมื่ออายุ 5 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซ็นติเมตร ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อเพื่อนำไปทดสอบ

1.3 ทดสอบหาความเข้มข้นของสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคของเห็ด

นำสารเคมีที่ต้องการทดสอบ คือ แคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ($Ca(OCl)_2$) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) เจือจางในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำไปผสมกับอาหาร PSA ให้ได้ความเข้มข้นของสารเคมี 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ เทอาหารที่มีสารเคมีความเข้มข้นต่างๆลงในจานแก้วเลี้ยงเชื้อ เมื่อผิวหน้าอาหารแห้ง จึงวางชิ้นกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซ็นติเมตร ซึ่งหยดสารละลายแบคทีเรียที่เตรียมจากข้อ 1.1 ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร วางชิ้นกระดาษกรองที่มีเชื้อแบคทีเรียตรงกลางของจานทดสอบ วางจานเลี้ยงเชื้อทดสอบนี้ไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลหลังจากวางเชื้อ 5 วัน โดย ตรวจวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย คิดเป็นค่าเฉลี่ย วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ

1.4 ทดสอบผลของสารเคมีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

ทดสอบผลกระทบของสารเคมีความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด ตามวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 1.3 โดยเจือจางสารเคมีในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้ได้ความเข้มข้นความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปผสมกับอาหาร PDA เทอาหารที่มีสารเคมีความเข้มข้นต่างๆลงในจานเลี้ยงเชื้อเมื่อผิวหน้าอาหารแห้ง จึงวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อเห็ดนางรม ซึ่งเตรียมจากข้อ 1.2 ตรงกลางของจานทดสอบ สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบวางเชื้อในจานอาหาร PDA ที่ไม่ผสมสารเคมี วางจานเลี้ยงเชื้อทดสอบนี้ไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลหลังจากวางเชื้อ 5 วัน หรือเมื่อเชื้อในกรรมวิธีเปรียบเทียบเจริญเต็มจาน โดย ตรวจวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อเห็ด คิดเป็นค่าเฉลี่ย และลักษณะความผิดปกติของเส้นใยเห็ด วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ดในโรงเรือนเพาะเห็ด

2.1 เตรียมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ด โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA นาน 48 ชั่วโมง เจือจางเชื้อในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้น ประมาณ 10^8 เซลต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ด

ใส่เชื้อแบคทีเรียที่เตรียมจากข้อ 2.1 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในก้อนเห็ดนางรมที่อยู่ในโรงเพาะเห็ด เปิดดอกตามปกติ หลังจากพบการเกิดโรค ทำการพ่นสารเคมีความเข้มข้นต่างๆ ที่ให้ผลการทดสอบในข้อ 1.3-1.4 ว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดหรือมีผลกระทบเล็กน้อย คือ ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ พ่นสารเคมีบริเวณผิวรอบนอกของถุงก้อนเห็ด บริเวณชั้นวาง พื้น และผนังโรงเรือนโรงเรือน โดยใช้แผ่นพลาสติกคลุมกั้นแยกบริเวณในแต่ละกรรมวิธี มีกรรมวิธีพ่นน้ำนึ่งฆ่าเชื้อเป็น

กรรมวิธีเปรียบเทียบ เก็บผลผลิต และตรวจบันทึกความผิดปกติของการเจริญของเส้นใย และดอกเห็ดทุกวัน เป็นเวลา 2 เดือน บันทึกน้ำหนักผลผลิตเห็ด วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2549 **สิ้นสุด** กันยายน 2550

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ด ในห้องปฏิบัติการ

- ทดสอบหาความเข้มข้นของสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคของเห็ด พบว่าสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ทุกความเข้มข้น (0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ในเชื้อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ตารางที่1)

ตารางที่1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ของสารแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ($Ca(OCl)_2$) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารในห้องปฏิบัติการ

ความเข้มข้นของสารเคมี (%)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	
	$Ca(OCl)_2$	NaOCl
0	0	0
0.1	3.28	1.64
0.5	90.16	6.56
1.0	98.36	90.16
2.0	100	100
3.0	100	100
5.0	100	100
10.0	100	100
15.0	100	100
20.0	100	100

-ทดสอบผลของสารเคมีต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด พบว่าสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น ตั้งแต่ 2.0 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ตั้งแต่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม และสารทั้งสองที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป ทำให้เส้นใยของเห็ดนางรมเจริญไม่ปกติ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดนางรม ของสารแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ($Ca(OCl)_2$) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ และลักษณะความผิดปกติของเส้นใยเห็ด เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารในห้องปฏิบัติการ

ความเข้มข้นของสารเคมี (%)	$Ca(OCl)_2$		NaOCl	
	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ	ลักษณะเส้นใยเห็ด	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ	ลักษณะเส้นใยเห็ด
0	0	ปกติ	0	ปกติ
0.1	0	ปกติ	0	ปกติ
0.5	0	ปกติ	0	ปกติ
1.0	0	ปกติ	0	ปกติ
2.0	0.28	ปกติ	0	ปกติ
3.0	20.00	ปกติ	0.56	ปกติ
5.0	42.78	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง	28.61	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง
10.0	84.17	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง	84.72	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง
15.0	100.00	ไม่เจริญ	94.17	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง
20.0	100.00	ไม่เจริญ	100.00	ไม่เจริญ

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ดในโรงเรือนเพาะเห็ด

ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ด พบว่าสารทดสอบทั้งสอง ทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการควบการเกิดโรคในโรงเรือนได้ โดย

สารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้นตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป (0.5 1.0 2.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์) และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้นตั้งแต่ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป (1.0 2.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์) มีประสิทธิภาพในการควบการเกิดโรคในโรงเรือนได้สูง 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบพบการเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 3 ไม่พบอาการผิดปกติของดอกเห็ด และเส้นใยที่เกิดจากผลของสารเคมีเนื่องจากไม่ได้พ่นสารเคมีบนดอกเห็ดโดยตรง

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของเห็ดนางรม เมื่อพ่นสารแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ($Ca(OCl)_2$) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 และ3.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารในโรงเรือนเพาะเห็ด

ความเข้มข้นของสารเคมี (%)	เปอร์เซ็นต์การ เกิดโรคของเห็ดนางรม	
	$Ca(OCl)_2$	NaOCl
0	100.0	100.0
0.1	80.0	85.5
0.5	50.0	63.0
1.0	30.0	40.0
2.0	20.5	38.5
3.0	18.0	20.0

สรุปผลการทดลอง

1. สารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ทุกความเข้มข้น (0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ในเชื้อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. สารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น ตั้งแต่ 2.0 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ตั้งแต่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม และสารทั้งสองที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป ทำให้เส้นใยของเห็ดนางรมเจริญไม่ปกติ เมื่อทดสอบในห้องปฏิบัติการ

3. สารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น ตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้นตั้งแต่ 1.0 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มีประสิทธิภาพในการควบการเกิดโรคในโรงเรือนได้สูง 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป

เอกสารอ้างอิง

Cha, J. S. 2002. Cause and Control of Brown Blotch (1) & (2). http://www.mushworld.com/disease/view.

Geels, F. P. 1995. *Pseudomonas tolaasii* Control by Kasugamycin in Cultivated Mushrooms (*Agaricus bisporus*). Journal of Applied Bacteriology 79:38-42

Kwon, H. J. 2002. Mushroom Mummy Disease: *Pseudomonas* spp. http://www.mushworld.com/disease/view.

Lee, Hyun-Uk,Kim,Tae-Sung, Park, Hyean-Ceal, Song, Keun-woo, Shin, Won-Kyo and Moon, Byung-fu. 1999. Screening of Chemicals on Bacterial Brown Blotch Caused by *Pseudomonas tolaasii* on *Flammulina velutipes*. Kor.J Mycol. 27:164-169

Oh, Sejong. 2000. Effect of Sodium Hypochlorite for Controlling Bacterial Blotch on *Pleurotus ostreatus*. Mycobiology 28(3):123-126

Rinker, D. L. 2004. Specific Control Techniques, pp.33-36. *In* Pennsylvania Mushroom Integrated Pest Management Handbook. Pennsylvania Department of Agriculture and the Pennsylvania State University, United States of America.

การควบคุมแห้วหมูด้วยวัสดุคลุมดินและแรงงาน

Purple Nutsedge Control by Mulching materials and Handweeding.

เสริมศิริ คงแสงดาว อำไพ ประเสริฐสุข[1]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

แห้วหมูเป็นวัชพืชที่สำคัญในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง การกำจัดแห้วหมูด้วยแรงงานขุดหรือถาก ควรกำจัดอย่างต่อเนื่องทุกช่วงไม่เกิน 20 วัน จนกว่าแห้วหมูจะหมดไปจากพื้นที่ และหากยังมีแห้วหมูเหลืออยู่แล้วหยุดกำจัด แห้วหมูก็จะเพิ่มปริมาณขึ้นมาอีก การใช้แกลบดิบคลุมดินทำให้ต้นแห้วหมูงอกมากขึ้นและต้นโตกว่าแห้วหมูที่ไม่มีการคลุมดิน แต่แกลบดิบช่วยล่อให้แห้วหมูขึ้นมาสร้างหัว และไหลในบริเวณชั้นแกลบมากขึ้น ทำให้กำจัดออกได้ง่ายและรวดเร็ว การคลุมพลาสติกเทาดำแห้วหมูยังงอกปกติดันให้พลาสติกโป่งพอง ต้นแห้วหมูบางส่วนแห้งตายไป บางส่วนสามารถแทงทะลุพลาสติกขึ้นมาได้ ทำให้แผ่นพลาสติกขาดได้ (คลุม 1 ชั้น) เห็นชัดที่ 1 เดือนหลังคลุม จากการควบคุมแห้วหมูด้วยวัสดุคลุมดินและแรงงาน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือการใช้วัสดุคลุมดิน 3 ชนิดคือ พลาสติกเทา-ดำ แผ่นชีวมวล และแกลบดิบ เปรียบเทียบกับการกำจัดแห้วหมูด้วยการถาก ที่ระยะ 3 เดือนหลังปฏิบัติตามกรรมวิธีที่กำหนดพบว่า การใช้แกลบดิบคลุมดินมีแนวโน้มทำให้แห้วหมูงอกมากขึ้น แต่แห้วหมูส่วนหนึ่งได้สร้างหัวในชั้นของแกลบดิบ ทำให้ที่ 3 เดือนมีจำนวนหัวแห้วหมู 548 หัวต่อตารางเมตร สามารถถอนกำจัดออกจากแปลงได้ง่าย การใช้พลาสติกเทา-ดำ 2 ชั้น ที่ระยะ 1 และ 2 เดือนพบว่าแห้วหมูสามารถแทงทะลุขึ้นมาได้ 25 และ 54.5 ต้นต่อตารางเมตรโดยแผ่นพลาสติกไม่ฉีกขาด การใช้แผ่นชีวมวลพบว่าแห้วหมูไม่สามารถงอกทะลุขึ้นมาได้ แต่แผ่นชีวมวลจะเริ่มสลายตัวและขาดบริเวณที่มีดินทับ 2 เดือนหลังคลุมในสภาพฝนตกชุก การกำจัดด้วยการถากเป็นการกระตุ้นให้แห้วหมูงอกมากขึ้น หลังกำจัดด้วยแรงงาน 1 เดือน มีแห้วหมูทั้งสิ้น 1,280 ต้นต่อตารางเมตร การไม่กำจัดแห้วหมูนาน 3 เดือน (แห้วหมูไม่ถูกรบกวน) พบว่ามีแห้วหมูทั้งสิ้น 538 ต้นต่อตารางเมตร ในเบื้องต้นสรุปได้ว่า การใช้แกลบดิบ พลาสติกเทา-ดำ และแผ่นชีวมวล ช่วยลดปัญหาแห้วหมูในหน่อไม้ฝรั่งได้

รหัสโครงการ 01-16-49-04

[1]ศูนย์วิจัยพืชกาญจนบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

คำนำ

แห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.) อยู่ในวงศ์ Cyperaceae มีชื่อสามัญว่า purple nutsedge จัดเป็นวัชพืชร้ายแรงหนึ่งในสิบของวัชพืชสำคัญของโลก มีความสามารถสูงในการดำรงชีพ ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีและคงทนอยู่ได้ยาวนาน ต้นคล้ายหญ้า สูง 15-50 เซนติเมตร ดอกสีแดงถึงม่วงอมน้ำตาล ลำต้นเป็นรูปสามเหลี่ยมตั้งตรง โคนต้นคล้ายต้นหอม ใบเรียวยาวสีเขียวเข้ม กาบใบเชื่อมติดกันเป็นท่อต่อกับโคนต้น เหง้าและหัวตามลำดับ เหง้าเมื่ออ่อนสีขาวอ้วนและสด มีใบเกล็ดหุ้ม เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีดำคล้ายเส้นลวดยังมีชีวิต เจริญขนานไปกับพื้นดิน เมื่อจะงอกจึงหันขึ้นสู่ผิวดินส่วนปลายพองออกงอกเป็นต้นใหม่ หัวสร้างขึ้นที่ปลายเหง้า มีใบเกล็ดหุ้มภายในมีแป้งสะสมอัดแน่นแข็ง จึงทนต่อความแห้งแล้ง มีตารอบๆหัวมากมาย หัวที่ติดอยู่กับต้นจะยังไม่งอก เมื่อขาดออกจากต้นจึงงอก หัวที่อยู่ปลายสุดทั้งหัวและท้ายจะงอกได้ แต่จะงอกเฉพาะตาที่อยู่บนส่วนบนสุด เมื่อผ่าหัวออกแต่ละซีกจะงอกได้เท่าๆกัน (เสริมศิริ. 2538)

สำหรับหน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชอายุยาว ควรเลือกพื้นที่ปลูกที่ปราศจากวัชพืชข้ามปี เช่น แห้วหมู หญ้าแพรก หากมีในพื้นที่กำจัดออกให้หมดจากพื้นที่ตั้งแต่ก่อนปลูก ในช่วง 2 ปีแรกพรวนกำจัดบ่อยๆ เพื่อให้มีวัชพืชในแปลงน้อยที่สุด (Smith, 2005) แปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งมีการกำจัดวัชพืชตลอดเวลา โดยมากเป็นการถากตื้นๆ เพื่อไม่ให้รบกวนระบบราก ในภายหลังจึงทำให้แห้วหมูสะสมเป็นปัญหาสำคัญ การควบคุมแห้วหมูโดยวิธีกล ทำได้ทั้งการขุด ไถตากดิน ตัดการสะสมอาหาร การคลุมดิน

การคลุมดินเพื่อลดการเจริญเติบโตของวัชพืช นั้นวัสดุที่ใช้คลุมดินมีทั้งวัสดุธรรมชาติ และวัสดุสังเคราะห์ จุดสำคัญคือต้องคลุมก่อนวัชพืชงอก (Anonymous, 2002) ประโยชน์ของการคลุมดินคือช่วยรักษาความชื้นดิน และช่วยให้โครงสร้างของดินดีขึ้น (Zaragoza, 2006) กาทดลองนี้เพื่อหาวิธีการควบคุมแห้วหมูด้วยวัสดุคลุมดิน โดยใช้แกลบดิบ และแผ่นชีวมวล ซึ่งเป็นวัสดุคลุมดินชนิดใหม่สีดำทำจากเส้นใยเซลลูโลส น้ำและอากาศสามารถซึมผ่านได้ และสามารถย่อยสลายตามธรรมชาติ พลาสติกเทา-ดำเป็นวัสดุทึบแสงที่นิยมใช้ในพืชปลูกทั่วไปเพื่อป้องกันวัชพืช สำหรับใช้เป็นคำแนะนำจัดการแห้วหมูในแปลงหน่อไม้ฝรั่งต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

แปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่มีปัญหาแห้วหมูรุนแรง เสียมเล็กสำหรับขุดหัวแห้วหมู จอบถาก แกลบดิบ พลาสติกเทา-ดำ แผ่นชีวมวล

วิธีการ

1. **ศึกษาการเจริญเติบโตของแห้วหมูเมื่อกำจัดด้วยแรงงานในช่วงเวลาต่าง ๆกัน**

ดึงต้นแห้วหมูและใช้เสียมเล็กขุดหัวและไหลที่ติดอยู่กับต้นออก ที่ 0, 14, 33, 52, 113 และ 143 วันหลังเริ่มกำจัด ขนาดแปลงย่อย 1x6 เมตร มี 4 แปลงย่อย

2. **ศึกษาการเจริญเติบโตของแห้วหมูเมื่อใช้วัสดุคลุมดิน**

วางแผนการทดลอง แบบ CRD มี 4 ซ้ำ เปรียบเทียบการคลุมแกลบดิบในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่งหน่อไม้ฝรั่ง ใช้แกลบดิบคลุมดิน 2 อัตรา คือ 7.5 และ 12.5 กิโลกรัมต่อตารางเมตร และในร่องปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ใช้แกลบดิบคลุมดิน 2 อัตรา คือ 7.5 และ 12.5 กิโลกรัมต่อตารางเมตร กับการใช้พลาสติดเทาดำคลุมดิน 1 ชั้น โดยคลุมพลาสติกทับอีก 1 ชั้น เมื่อ 33 วันหลังการคลุมครั้งแรก (เนื่องจากพลาสติกขาด) แปลงย่อยยาว 3 เมตร ในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่ง 2 ร่องต่อแปลงย่อย

3. **การควบคุมแห้วหมูด้วยวัสดุคลุมดินและแรงงาน**

วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือ คลุมดินด้วยแกลบดิบ 7 กิโลกรัมต่อตารางเมตร, พลาสติกเทา-ดำสองชั้น, แผ่นชีวมวลและการถากเดือนละ 1 ครั้ง 3 เดือน เมื่อเริ่มการทดลองถากต้นแห้วหมูออกหมดทั้งพื้นที่ทดลอง แล้วคลุมดินทันทีตามกรรมวิธีที่กำหนด ขนาดแปลงย่อย 1x3 เมตร

บันทึกการเปลี่ยนแปลงของแห้วหมู ล้างดินและแกลบออกให้หมด วัดความสูง นับจำนวนต้น หัว และน้ำหนักแห้งของแห้วหมู

เวลาและสถานที่

กุมภาพันธ์-กันยายน 2550 ที่แปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งของศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาการเจริญเติบโตของแห้วหมูเมื่อกำจัดด้วยแรงงานในช่วงเวลาต่าง ๆกัน

จากการกำจัดแห้วหมูด้วยแรงงาน ใช้การถอนและขุดเอาหัวออก กำจัดซ้ำที่ 14, 33 และ 52 วัน ติดต่อกัน ซึ่งห่างกัน 14, 19 และ 19 วันตามลำดับ (ตารางที่ 1) พบว่าทำให้การเจริญเติบโตของแห้วหมูต่อตารางเมตรที่งอกใหม่ลดลง คือ จำนวนต้น 434, 333 และ 277 ต้น น้ำหนักแห้ง 55.7, 36.4 และ 27.0 กรัม ขนาดต้น 0.128, 0.12 และ 0.097 กรัมต่อต้น ส่วนจำนวนหัวที่ขุดได้จะเพิ่มมากขึ้นแล้วจึงลดลงคือ 127, 166 และ 66 หัว หลังจากนั้นทิ้งช่วงเวลากำจัดนานออกไป 61 วัน แล้วจึงถากต้นแห้วหมูออก พบว่าขนาดต้นของแห้วหมูเพิ่มขึ้นมากจาก 0.097 → 0.329 กรัมต่อต้น โดยที่จำนวนต้นไม่เพิ่ม และเมื่อทำการถอนและขุดเอาหัวออกที่ 20 วันหลังจากถาก พบว่าจำนวนหัวแห้วหมูไม่เพิ่มขึ้น แต่จำนวนต้นเพิ่มขึ้นมาก จาก 210→ 304 ต้น ขนาดต้นลดลงจาก 0.329→ 0.154 กรัมต่อต้น ดังนั้นการกำจัดแห้วหมูด้วยแรงงาน จึงควรกระทำอย่างต่อเนื่องทุกช่วงไม่เกิน 20

วัน จนกว่าแห้วหมูจะหมดไปจากพื้นที่ และหากยังมีแห้วหมูเหลืออยู่แล้วหยุดกำจัด แห้วหมูก็จะเพิ่มปริมาณขึ้น กลับมาเป็นปัญหาในพื้นที่ซ้ำอีก

2. ศึกษาการเจริญเติบโตของแห้วหมูเมื่อใช้วัสดุคลุมดิน

จากการคลุมแกลบดิบในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ได้แสดงกำหนดเวลาการจัดการแห้วหมูหลังคลุมดินในตารางที่ 2 ซึ่งพบว่าแกลบดิบทำให้ต้นแห้วหมูงอกมากขึ้นและต้นโตกว่าแห้วหมูที่ไม่มีการคลุมดิน แกลบดิบช่วยล่อให้แห้วหมูขึ้นมาสร้างหัว และไหลในบริเวณชั้นแกลบมากขึ้น ทำให้กำจัดออกได้ง่ายและรวดเร็ว การดึงต้นแห้วหมูขึ้นมาจะมีแกลบติดออกมามาก ทำให้ชั้นแกลบบางลง ทำให้พื้นที่ๆ แห้วหมูจะสร้างหัวและไหลลดลง จำเป็นต้องมีการเติมแกลบเพื่อรักษาความหนาของชั้นแกลบไว้

ที่ 33 วันหลังคลุมแกลบ (ตารางที่ 3) พบว่าการคลุมแกลบในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่งซึ่งผิวดินแน่นนั้น แกลบอัตรา 12.5 กิโลกรัมต่อตารางเมตร แห้วหมูมีจำนวนต้นและจำนวนหัวแห้วหมูมากกว่าที่อัตรา 7.5 กิโลกรัมต่อตารางเมตร แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ส่วนการคลุมแกลบในแถวหน่อไม้ฝรั่งซึ่งดินร่วนซุยกว่า อัตราแกลบดิบที่คลุมดิน 7.5 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีจำนวนต้นแห้วหมูมากกว่าที่อัตรา 12.5 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ส่วนการคลุมแกลบอัตรา 3.3 กิโลกรัมต่อตารางเมตร นาน 60 วัน มีจำนวนต้นแห้วหมูมากไม่แตกต่างกัน เมื่อดึงต้นแห้วหมูที่หลวมออก พบว่าแกลบที่คลุมดินนาน 60 วัน มีจำนวนหัวแห้วหมูอิสระมากกว่าที่ 33 วัน และในแถวหน่อไม้ฝรั่งมีจำนวนหัวแห้วหมูอิสระมากกว่าในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่ง เมื่อดึงต้นที่หลวมออกจนหมดแล้วปล่อยไว้นาน 113 วันหลังคลุมดิน (ตารางที่ 4) พบว่าแห้วหมูในบริเวณที่ใช้แกลบคลุมดินยังงอกขึ้นมาจำนวนมากและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ กับการคลุมด้วยพลาสติกเทาดำ ซึ่งมีแห้วหมูน้อยที่สุดและต้นแห้วหมูมีขนาดเล็กกว่า การคลุมแกลบไว้ยิ่งนานจำนวนหัวแห้วหมูที่สร้างในแกลบยิ่งมากที่ 143 วันหลังคลุม พบว่า มีจำนวนหัว 377-522 หัวต่อตารางเมตร (ตารางที่ 5) ซึ่งกำจัดออกจากแปลงได้ง่าย การคลุมพลาสติกเทาดำแห้วหมูยังงอกปกติดันให้พลาสติกโป่งพอง เห็นชัดหลังการคลุม 20 วัน แผ่นพลาสติกช่วยกั้นไม่ให้ต้นแห้วหมูได้รับแสงแดด เมื่อได้รับความร้อนต้นแห้วหมูบางส่วนแห้งตายไป บางส่วนสามารถแทงทะลุพลาสติกขึ้นมาได้ ทำให้แผ่นพลาสติกขาดได้เห็นชัดที่ 1 เดือนหลังคลุม ทำให้ต้นแห้วหมูที่อยู่ใต้พลาสติกแย่งกันโผล่ขึ้นมารับแสง จากการคลุมพลาสติกซ้ำที่ 33 วันหลังคลุมดิน พบว่าช่วยบังแห้วหมูได้ไม่ดีนัก เมื่อเปิดพลาสติกทั้งหมดออกที่ 143 วันหลังคลุมดิน (ตารางที่ 5) พบจำนวนต้นแห้วหมู 405 ต้นต่อตารางเมตรส่วนใหญ่ต้นผอมยาว ต้นมีสีเหลืองออกขาว ต้นที่โดนแสงมีสีเขียว มีจำนวนหัวต่ำสุด 54 หัว

3. การควบคุมแห้วหมูด้วยวัสดุคลุมดินและแรงงาน

ที่ 3 เดือนหลังทดลอง (ตารางที่ 6) พบว่าการถากแห้วหมูติดต่อกัน 3 เดือนๆละครั้ง, การคลุมด้วยแผ่นชีวมวล และพลาสติกเทา-ดำ 2 ชั้น มีน้ำหนักต้นแห้วหมูน้อยที่สุดเหลือ 7.5, 17.4 และ 23.6 กรัมต่อตารางเมตรตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้แกลบดิบคลุมดินซึ่งมีน้ำหนักต้นแห้วหมู 93.3 กรัมต่อตารางเมตร การใช้พลาสติกเทา-ดำ 2 ชั้นมีน้ำหนักหัวแห้วหมูเหลือน้อยที่สุด 13.2 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาตามลำดับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติคือ แผ่นชีวมวล, การถากติดต่อกัน 3 เดือนๆละครั้ง และแกลบดิบมีน้ำหนักหัวแห้วหมู 18.6, 49.0 และ 83.4 กรัมต่อตารางเมตร ซึ่งการถาก การใช้แกลบดิบ พลาสติกเทา-ดำ 2 ชั้น และแผ่นชีวมวล สามารถช่วยลดปัญหาแห้วหมูในหน่อไม้ฝรั่งได้แตกต่างกันไป

การใช้แกลบดิบคลุมดินนาน 1 เดือน มีต้นแห้วหมูโตเจริญงอกงามกำจัดออกได้ 270 ต้นต่อตารางเมตร โดยมีต้นที่ขึ้นหลวมๆ 48.9 ต้น เมื่อดึงขึ้นมามีหัวติดขึ้นมา 55.9 หัว แห้วหมูที่ขึ้นในแกลบดิบดึงออกได้ง่าย ไม่จำเป็นต้องขุดเนื่องจากเการใช้แกลบดิบคลุมดินเป็นการล่อให้เหง้า ไหลและหัวของแห้วหมูมาเจริญในแกลบซึ่งโปร่งกว่าในดิน เมื่อ 2 เดือนหลังคลุมดินมีต้นแห้วหมูงอกขึ้นมาใหม่อีก 257 ต้นต่อตารางเมตร ครั้งนี้ปล่อยไว้จนครบ 3 เดือนหลังคลุมดินจึงกำจัดแห้วหมูออกโดยการถอนได้ง่าย พบว่ามี 407 ต้นต่อตารางเมตร มีจำนวนหัวแห้วหมู 548 หัวต่อตารางเมตร ถึงแม้ว่าแกลบไม่ช่วยลดปริมาณแห้วหมู แต่ช่วยให้การกำจัดแห้วหมูทำได้ง่ายและรวดเร็วจนไม่เป็นปัญหา ข้อควรระวังคือ ทุกครั้งที่กำจัดแห้วหมูออกจากแปลงจะมีแกลบติดออกมากับรากและหัวแห้วหมูจำนวนมาก จึงควรมีการเติมแกลบ เพื่อให้รักษาความหนาแกลบให้มีพื้นที่ไว้ล่อแห้วหมู

การใช้พลาสติกเทาดำคลุมดิน เนื่องจากใบเกล็ดที่หุ้มปลายเหง้าแห้วหมูหนาแข็งและแหลม สามารถแทงทะลุพลาสติกที่คลุมดิน 2 ชั้น ขึ้นมาได้ แต่แผ่นพลาสติกไม่ขาดเหมือนการคลุมชั้นเดียว เมื่อ 1 และ 2 เดือนมีแห้วหมูแทงทะลุขึ้นมา 25.3 และ 54.5 ต้นต่อตารางเมตรและแผ่นพลาสติกยังไม่ขาด สำหรับการใช้แผ่นชีวมวล เมื่อ 1 และ 2 เดือนไม่พบว่ามีต้นแห้วหมูงอกทะลุขึ้นมาจากแผ่นชีวมวลได้ แต่บนแผ่นชีวมวลบริเวณที่มีการใช้ดินทับ จะเริ่มสลายตัวและขาดทำให้แห้วหมูที่อยู่ในดินบนแผ่นชีวมวลสามารถแทงลงไปในดินได้ ที่ 3 เดือนหลังคลุมดิน เมื่อเปิดแผ่นพลาสติกเทาดำพบว่า มีต้นแห้วหมูที่งอกขึ้นมาแห้งตายตั้งแต่ยังเล็กเนื่องจากความร้อน ส่วนที่เหลือรอดเจริญเติบโตขยายพันธุ์ปกติสร้างเหง้าไหลหัวในสภาพไม่มีแสงจึงมีต้นเหลืองจนขาวผอมยาว ส่วนที่แทงทะลุพลาสติกขึ้นไปได้รับแสงต้นจะโตเป็นแหล่งหาอาหารให้ส่วนที่อยู่ใต้พลาสติกและเมื่อเปิดแผ่นชีวมวลพบว่าต้นแห้วหมูที่งอกขึ้นมา เจริญขยายพันธุ์ปกติสร้างเหง้าไหลหัวในสภาพไม่มีแสง ใต้แผ่นมีการระบายน้ำและอากาศได้ แต่แทงทะลุแผ่นชีวมวลขึ้นสู่ผิวดินไม่ได้ ต้นจึง

เหลืองจนขาวผอมยาวค่อยๆตาย ส่วนที่เหลือรอดยังเจริญต่อ หัวแห้วหมูที่สร้างใต้แผ่นวัสดุคลุมทั้งสองชนิดมีขนาดเล็กมากเท่าหัวเข็มหมุด

ส่วนการใช้จอบถากทำให้ต้นแห้วหมูขาดจากโคนต้นซึ่งก็คือหัวแห้วหมู ไม่ได้ทำลายจุดเจริญแห้วหมูยังเจริญเติบโตเป็นปกติ แต่ได้ทำลายอิทธิพลของตายอดบนหัว ทำให้มีต้นอ่อนงอกขึ้นมาจากหัวแห้วหมูจำนวนมาก เมื่อ 1 เดือนจึงมีต้นแห้วหมู 1,280 ต้นต่อตารางเมตร และกำจัดออกโดยการถากอีกที่ 2 และ 3 เดือนต่อมาพบต้นแห้วหมู 609 และ 343 ต้นต่อตารางเมตร ซึ่งวิธีการถากแม้จะไม่ใช้วิธีการกำจัดแห้วหมูที่ดี แต่การถากบ่อยครั้งโดยไม่ปล่อยให้ต้นแห้วหมูได้มีเวลาโตและสะสมอาหาร ช่วยลดจำนวนต้นแห้วหมูลงได้ ที่สำคัญหากทิ้งช่วงการกำจัดนาน แห้วหมูจะกลับมาเป็นปัญหาเช่นเดิม จึงควรกำจัดต่อเนื่องจนกว่าแห้วหมูจะหมดไปจากพื้นที่ หลังจากนั้นตามกำจัดทุกครั้งเมื่อพบเห็นอีก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้แกลบดิบคลุมดินไม่ลดจำนวนแห้วหมู แต่ช่วยล่อให้แห้วหมูขึ้นมางอกในชั้นแกลบทำให้กำจัดออกได้รวดเร็วและง่าย การถอนและขุดเป็นการเอาหัวออกจากแปลงได้มากที่สุดแต่สิ้นเปลืองแรงงาน การถากต้องทำบ่อยๆ และหลายครั้งจึงจะลดจำนวนแห้วหมูได้ พลาสติกเทา-ดำช่วยป้องกันแห้วหมูรบกวนได้ดี แต่ต้องคลุม 2 ชั้นเพื่อลดการแทงทะลุขึ้นมาของแห้วหมู แผ่นชีวมวลช่วยป้องกันแห้วหมูรบกวนได้ดี แต่ต้องระวังการย่อยสลายตัว โดยใช้วัสดุอื่นช่วยยึดติดกับดินแทนการใช้ดินทับ

เอกสารอ้างอิง

เสริมศิริ คงแสงดาว. 2530. ชีววิทยาของแห้วหมู (Cyperus rotundus Linn.) และการควบคุม. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 2 : การอารักขาพืชเพื่อคุณภาพสิ่งแวดล้อม เล่มที่ 2, เชียงใหม่, หน้า 645-649.

Smith, R.F. 2005. Asparagus Integrated Weed Management. Statewide IPM Program, Agriculture and Natural Resources, University of California. http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r7700111.html

Anonymous, 2002. Mulching. Natural resources conservation service conservation practice standard. Code 484. NRCS, NHCP. July 2002. 3 p.

Zaragoza, C. 2006. Weed management in vegetables. FAO Document Repository. 12 p.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของแห้วหมูต่อตารางเมตรหลังกำจัดด้วยแรงงานในช่วงเวลาต่างๆกัน

แห้วหมู/ตารางเมตร	0 วัน (ถอน,ขุด)	14 วัน (ถอน,ขุด)	33 วัน (ถอน,ขุด)	52 วัน (ถอน,ขุด)	113 วัน (ถาก)	143 วัน (ถอน,ขุด)
จำนวนต้น(ต้น/ตร.ม.)	เริ่มดึงต้น ขุดหัว และเหง้าที่ติดอยู่	434	333	277	210	304
จำนวนหัว(ต้น/ตร.ม.)		127	166	61	-	50
น้ำหนักแห้ง (กรัม.)		55.7	36.4	27.0	91.3	77.8
ขนาดต้น (กรัม/ต้น)		0.128	0.12	0.097	0.329	0.154

ตารางที่ 2 กำหนดเวลาการจัดการแห้วหมูโดยใช้วัสดุคลุมดิน (กุมภาพันธ์-สิงหาคม 2550)

กรรมวิธี (น้ำหนักแกลบ กก./ตร.ม.)	1 กพ.	16 มีค. (0)	19 เมย (33)	8 พค. (52)	16 พค. (60)	25 พค. (70)	8 มิย. (84)	9 กค. (113)	8 สค. (143)
แกลบร่องระหว่างต้น (7.5)		เริ่ม	x	o		ถอนต้นแห้วหมูออก	เติมแกลบ (5.8)	x	x
แกลบร่องระหว่างต้น (12.5)		เริ่ม	X		o			x	x
แกลบแถวหน่อไม้ฝรั่ง (7.5)		เริ่ม	X	o				x	x
แกลบแถวหน่อไม้ฝรั่ง (12.5)		เริ่ม	X		o			x	x
แกลบเบื้องต้น (3.3)	เริ่ม		x	o				x	x
พลาสติกเทาดำ 1ชั้น		เริ่ม	คลุมอีก 1 ชั้น					x	xเปิด
พลาสติกเทาดำเบื้องต้น 2	เริ่ม								xเปิด

เริ่ม = เริ่มคลุมแกลบ /พลาสติก, x = สุ่มเก็บแห้วหมูเพื่อบันทึกการเจริญเติบโต,

O = ดึงต้นแห้วหมูที่หลวมออก, เปิด=เปิดแผ่นพลาสติกเทาดำที่คลุมไว้ออกจนถึงผิวหน้าดิน

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของแห้วหมูต่อตารางเมตรเมื่อ 33 วันหลังใช้แกลบดิบคลุมดิน

กรรมวิธี (น้ำหนักแกลบ กก./ตร.ม.)	จำนวนต้น	จำนวนหัว	สูง (ซม.)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	หัวอิสระ	ขนาดต้น (กรัม)
แกลบร่องระหว่างต้น (7.5)	247 a	163.5 a	38.3 ab	96.3	14.5	0.376
แกลบร่องระหว่างต้น (12.5)	613 b	454 b	46.3 b	188.3	13.5	0.313
แกลบแถวหน่อไม้ฝรั่ง (7.5)	445 ab	395 b	43.5 ab	192.7	25.3	0.434
แกลบแถวหน่อไม้ฝรั่ง (12.5)	357 ab	333 ab	42.8 ab	130.7	35.0	0.355
แกลบเบื้องต้น (3.3)	338 ab	340 ab	27.3 a	152.6	33.5	0.471
C.V.(%)/F-test	37.9/ * *	40.2/ *	20.8/ * *	49.7/ ns	60.6/ ns	29.6/ ns

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของแห้วหมูต่อตารางเมตรเมื่อ 113 วันหลังใช้แกลบดิบคลุมดิน

กรรมวิธี (น้ำหนักแกลบ กก./ตร.ม.)	จำนวนต้น	จำนวนดอก	สูง (ซม.)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	ขนาดต้น (กรัม)
แกลบร่องระหว่างต้น (7.5)	459 bc	96.5 b	27.5	207.2 b	0.443 ab
แกลบร่องระหว่างต้น (12.5)	299 abc	32.5 ab	28.0	98.8 b	0.444 ab
แกลบแถวหน่อไม้ฝรั่ง (7.5)	483 c	34.5 ab	32.5	215.2 ab	0.38 ab
แกลบแถวหน่อไม้ฝรั่ง (12.5)	365 abc	22.5 ab	24.8	177.5 ab	0.33 ab
แกลบเบื้องต้น (3.3)	244 ab	23.5 ab	25.3	116.8 ab	0.458 b
พลาสติกเทาดำ 1ชั้น	201 a	13.5 a	25.0	41.4 a	0.229 a
C.V.(%)/F-test	39.5/ *	95.2/ * *	26.7/ ns	48.6/ * *	36.2/ *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโตของแห้วหมูต่อตารางเมตรเมื่อ 143 วันหลังใช้แกลบดิบคลุมดิน

กรรมวิธี (น้ำหนักแกลบ กก./ตร.ม.)	จำนวนต้น	จำนวนหัว	สูง (ซม.)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนดอก	ขนาดต้น (กรัม)
แกลบร่องระหว่างต้น (7.5)	500 b	391 b	33.3	243.9 ab	87 b	0.487 ab
แกลบร่องระหว่างต้น (12.5)	513 b	522 b	35.0	273.6 b	31 ab	0.543 ab
แกลบแถวหน่อไม้ฝรั่ง (7.5)	301 ab	377 b	34.3	249.3 ab	52 ab	0.468 ab
แกลบแถวหน่อไม้ฝรั่ง (12.5)	456 ab	415 b	37.8	296.9 b	24 ab	0.647 b
แกลบเปื้องต้น (3.3)	264 a	280 ab	26.0	169.1 ab	15 a	0.644 b
พลาสติกเทาดำ 1ชั้น	405 ab	54 a	32.0	108.1 a	26 ab	0.281 a
C.V.(%)/F-test	33.7/ *	35.4/ * *	21.5/ ns	29.4/ * *	109.9/ *	29.8/ * *
พลาสติกเทาดำเปื้องต้น 2ชั้น	290	104	27.0	72.2	32	0.249

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 6 ผลการทดลองควบคุมแห้วหมูด้วยวัสดุคลุมดินและแรงงาน หลังการทดลอง 3 เดือน

กรรมวิธี	จำนวนต้น (ต้น/ตารางเมตร)			ความสูง (ซม.)	จำนวนหัว (หัว/ตร.ม.)	ขนาดต้น (กรัม/ต้น)	ขนาดหัว (กรัม/หัว)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ตารางเมตร)	
	ไม่เปิดวัสดุคลุม		เปิดวัสดุคลุม						
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน					ต้น	หัว
1.แกลบดิบ	270	257	407 b	28.2 b	548 ab	0.233 c	0.327b	93.3 b	83.4 c
2.พลาสติกเทาดำ 2 ชั้น	25.3	54.5	279 ab	30.0 c	336 a	0.096 bc	0.041 a	23.6 a	13.2 a
3.แผ่นชีวมวล	0	0	251 a	18.8 ab	415 ab	0.065 ab	0.047 a	17.4 a	18.6 ab
4.ถาก 3 เดือน เดือนละครั้ง	1,280	609	343 ab	11.2 a	705 b	0.022 a	0.074 a	7.5 a	49.0 b
C.V.(%)/F-test			22.8/* *	18.2/* *	41.9/*	34.5/* *	127.3/*	35.3/* *	42.8/* *
ไม่กำจัดแห้วหมูนาน 3 เดือน			538	36.8	358	0.231	0.132	128.6	34.0

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

วิธีใช้สารกำจัดวัชพืชควบคุมแห้วหมู

Herbicides Application for Control Purple Nutsedge..

เสริมศิริ คงแสงดาว อำไพ ประเสริฐสุข[1] จรัญญา ปิ่นสุภา
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

วิธีใช้สารกำจัดวัชพืชควบคุมแห้วหมู จากการพ่นเพื่อกำจัดแห้วหมูในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง โดยหลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกแล้วใช้ดินกลบโคนกอ พ่นสารกำจัดวัชพืชทันทีแบบ CRD มี 3 ซ้ำ พบว่า glufosinate อัตรา 480 กรัมai/ไร่ แห้วหมูตายเร็วที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ paraquat + 2,4-D amine อัตรา 100+205.25 กรัมai/ไร่, glufosinate + 2,4-D amine อัตรา 150+205.25 และ120+205.25 กรัมai/ไร่ และ glyphosate อัตรา 480 กรัมai/ไร่ ส่วน paraquat อัตรา 200 กรัมai/ไร่ ไม่ทำให้แห้วหมูตาย สารกำจัดวัชพืช 2 ชนิดคือ glyphosate และ glufosinate-ammonium เมื่อเปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีพ่นและวิธีกลิ้งด้วยลูกกลิ้งทาสี ประกอบด้วย 3 การทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 1) ต้นแห้วหมูอายุ 30 วัน พบว่าการพ่น glyphosate ทำให้แห้วหมูตายสนิทต้นงอกใหม่ต้นเล็กและฝอย ส่วนการพ่น glufosinate-ammonium ถึงแม้ต้นแห้วหมูตายเร็ว แต่ต้นใหม่งอกเร็วกว่าการใช้ glyphosate ต้นใหม่มีขนาดปกติ เปรียบเทียบวิธีการใช้พบว่าวิธีการกลิ้งด้วยลูกกลิ้งแห้วหมูตายมากกว่าวิธีการพ่น 2) ต้นแห้วหมูอายุ 20 วัน พบว่าวิธีการพ่นดีกว่าวิธีการกลิ้งด้วยลูกกลิ้ง เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชเข้าถึงต้นแห้วหมูได้ทั่วถึงกว่า แต่มีข้อเสียคือ สารกำจัดวัชพืชมีโอกาสเป็นอันตรายต่อต้นหน่อไม้ฝรั่งได้ง่าย glyphosate ทำให้แห้วหมูตายช้ากว่า glufosinate-ammonium ซึ่งในที่สุดแห้วหมูตายสนิทเช่นกัน 3) การใช้สารกำจัดวัชพืช glyphosate กลิ้งด้วยลูกกลิ้ง ทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้น 9 ระดับโดยผสมสารจับใบ 1.25% และเพิ่มประสิทธิภาพของลูกกลิ้ง โดยเสริมล้อให้ลูกกลิ้งสูงจากพื้นดินเพื่อป้องกันดินติดลูกกลิ้ง พบว่าการใช้ glyphosate ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 % ผลิตภัณฑ์ขึ้นไป ทำให้แห้วหมูตายสนิทเมื่อ 20 วันหลังใช้สาร จากนั้นต้นแห้วหมูใหม่ที่งอกขึ้นมาจะเป็นต้นเล็กฝอย ส่วนการใช้ความเข้มข้น 2.5-3.75%ผลิตภัณฑ์ พบว่าแห้วหมูตายช้ากว่าเล็กน้อยและต้นแห้วหมูมีขนาดปกติ การนำวิธีกลิ้งไปใช้ประโยชน์ทำได้โดยใช้ในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่ง และในแถวต้นหน่อไม้ฝรั่งคลุมด้วยแกลบดิบ

รหัสโครงการ 01-16-49-04

[1]ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5

คำนำ

แห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.) อยู่ในวงศ์ Cyperaceae มีชื่อสามัญว่า purple nutsedge จัดเป็นวัชพืชร้ายแรงหนึ่งในสิบของวัชพืชสำคัญของโลก มีความสามารถสูงในการดำรงชีพ ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีและคงทนอยู่ได้ยาวนาน ต้นคล้ายหญ้า สูง 15-50 เซนติเมตร ดอกสีแดงถึงม่วงอมน้ำตาล ลำต้นเป็นรูปสามเหลี่ยมตั้งตรง โคนต้นคล้ายต้นหอม ใบเรียวยาวสีเขียวเข้ม กาบใบเชื่อมติดกันเป็นท่อต่อกับโคนต้น เหง้าและหัวตามลำดับ เหง้าเมื่ออ่อนสีขาวอ้วนและสด มีใบเกล็ดหุ้ม เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีดำคล้ายเส้นลวดยังมีชีวิต เจริญขนานไปกับพื้นดิน เมื่อจะงอกจึงหันขึ้นสู่ผิวดินส่วนปลายพองออกงอกเป็นต้นใหม่ หัวสร้างขึ้นที่ปลายเหง้า มีใบเกล็ดหุ้ม ภายในมีแป้งสะสมอัดแน่นแข็ง จึงทนต่อความแห้งแล้ง มีตารอบๆหัวมากมาย หัวที่ติดอยู่กับต้นจะยังไม่งอก เมื่อขาดออกจากต้นจึงงอก หัวที่อยู่ปลายสุดทั้งหัวและท้ายจะงอกได้ แต่จะงอกเฉพาะตาที่อยู่บนส่วนบนสุด เมื่อผ่าหัวออกแต่ละซีกจะงอกได้เท่าๆกัน (เสริมศิริ. 2538)

การควบคุมแห้วหมูทำได้ทั้งการขุด ไถตากดิน ตัดการสะสมอาหาร การคลุมดิน การใช้ศัตรูธรรมชาติ ใช้พืชคลุมหรือใช้สารกำจัดวัชพืช เช่น 2,4-D, glyphosate MSMA ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในแปลงปลูกพืชอายุสั้นทั่วไป ไม่สามารถควบคุมแห้วหมูได้ สำหรับหน่อไม้ฝรั่งแม้จะเป็นพืชอายุยาว มีการกำจัดวัชพืชตลอดเวลา โดยมากเป็นการถากตื้นๆ เพื่อไม่ให้รบกวนระบบราก ในภายหลังจึงทำให้แห้วหมูเป็นปัญหาสำคัญ

เสริมศิริ และคณะ(2549) รายงานการใช้ paraquat และ glyphosate อัตรา 79.7 และ 216 กรัมai/ไร่ พ่นกำจัดวัชพืชทั้งหมดหลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกจากแปลงเพื่อพักต้น เป็นพิษเล็กน้อยต่อต้นหน่อไม้ฝรั่งที่อาจหลงเหลือในแปลง ส่วนการใช้เมื่อ 20 วันหลังกำจัดวัชพืชออกจากแปลง พ่นเฉพาะในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่ง ระวังละอองสารไม่ให้สัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง จะปลอดภัยต่อต้นหน่อไม้ฝรั่งมากกว่า Roberts et al. (2002) แนะนำสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกในหน่อไม้ฝรั่ง ได้แก่ Poast, Fusilade เพื่อกำจัดวัชพืชวงศ์หญ้า 2,4-D amine เพื่อกำจัดวัชพืชใบกว้าง โดยพ่นระวังไม่ให้ละอองสารสัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง Roundup (glyphosate) ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทดูดซึมมีการเคลื่อนย้ายในต้นพืช ใช้พ่นกำจัดวัชพืชวัชพืชข้ามปี ก่อนเก็บเกี่ยว หรือทันทีหลังเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้าย ถ้าใช้ในช่วงที่มีหน่อต้องพ่นอย่างระวังหรือใช้หัวครอบ เพื่อไม่ให้ละอองสารสัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง Smith (2005) ใช้ paraquat ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทสัมผัสพ่นกำจัดวัชพืช ขณะหน่อไม้ฝรั่งที่ต้นหน่อไม้ฝรั่งไม่มีหน่ออ่อน เช่นเดียวกับการใช้ glyphosate มีคำแนะนำของ Smith ถึงการใช้ glyphosate ด้วยวิธี wick-wipe ทำอย่างระมัดระวังช่วยแก้ปัญหาวัชพืชในหน่อไม้ฝรั่งได้ ซึ่งวิธี wick-wipe คือการใช้สารละลายสารกำจัดวัชพืชชุบด้วยเชือกเนื้อฝ้ายที่ดูดน้ำได้ดีแล้วนำไปเช็ดถูกับใบวัชพืช วิธีนี้สารกำจัดวัชพืชจะสัมผัสกับต้น

วัชพืชโดยตรง และเมื่อใช้อย่างระมัดระวังก็จะปลอดภัยต่อพืชปลูก ส่วนสารกำจัดวัชพืช glufosinate-ammonium เป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกและไม่เลือกทำลาย เช่นเดียวกับ paraquat และ glyphosate

การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการใช้และอัตราการใช้สารกำจัดวัชพืชที่ควบคุมแห้วหมูได้ดี ปลอดภัยต่อต้นหน่อไม้ฝรั่ง ดินในแปลงปลูก และผู้ใช้สารกำจัดวัชพืช สำหรับใช้เป็นคำแนะนำจัดการแห้วหมูในแปลงหน่อไม้ฝรั่ง และในพื้นที่ต้องการกำจัดแห้วหมูต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

แปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่มีปัญหาแห้วหมูรุนแรง สารกำจัดวัชพืช 2,4-D amine 82.1%SL, paraquat 27.6%SL, glyphosate 48% SL, glufosinate-ammonium 15% SL สารจับใบ เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบถังโยกสะพายหลัง แปรงทาสี ลูกกลิ้งทาสีมีด้ามยาว แผ่นพลาสติกสำหรับทำป้าย เสียมสำหรับขุดหัวแห้วหมู จอบถาก

วิธีการ

การทดลองควบคุมโดยใช้สารกำจัดวัชพืช ประกอบด้วย 4 การทดลอง ขนาดแปลงย่อย 4x6 เมตร และ 3 การทดลองเบื้องต้น

<u>การทดลองเบื้องต้นที่ 1 หลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกแล้วใช้ดินกลบโคนกอ พ่นสารกำจัดวัชพืชทันที</u>

แปลงหน่อไม้ฝรั่งอายุ 3 เดือนหลังย้ายปลูก ต้นแห้วหมูแก่และออกดอก ทดลองโดยพ่นสารกำจัดวัชพืชทันที หลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกจากแปลงให้หมด แล้วใช้ดินกลบโคนกอ มี 6 กรรมวิธี ใช้สาร 2,4-D amine, paraquat, glyphosate, glufosinate, glufosinate+2,4-D amine อัตรา 205.25, 200, 480, 480, 120+205.25 กรัมai/ไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการไม่พ่นสาร กรรมวิธีละ 1 แปลงย่อย ขนาดแปลงย่อย 2 x 34 เมตร

<u>การทดลองที่ 1 หลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกแล้วใช้ดินกลบโคนกอ พ่นสารกำจัดวัชพืชทันที</u>

แปลงหน่อไม้ฝรั่งอายุ 3 ปี ในช่วงพักต้น แห้วหมูงอกใหม่ยังไม่ออกดอก หลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกแล้วใช้ดินกลบโคนกอ พ่นสารกำจัดวัชพืชทันที วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้ 2,4-D amine, glyphosate, glufosinate, paraquat+2,4-D amine, glyphosate+2,4-D amine, glufosinate+2,4-D amine, glufosinate+2,4-D amine อัตรา 205.25, 480, 480, 100+205.25, 240+205.25, 120+205.25, 150+205.25 กรัมai/ไร่ ตามลำดับ

<u>การทดลองเบื้องต้นที่ 2 เปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีพ่นและวิธีทาด้วยแปรงทาสี</u>

แปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกรจังหวัดนครปฐม ใช้สาร glyphosate, glufosinate อัตรา 480 กรัมai/ไร่ พ่นกำจัดแห้วหมูในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่งด้วยถังโยกสะพายหลัง กดหัวพ่นต่ำ

ระวังไม่ให้ระอองสารสัมผัส ต้น ใบ และ หน่อ ของหน่อไม้ฝรั่ง เปรียบเทียบกับการใช้สาร glyphosate, glufosinate ความเข้มข้น 10%สารผลิตภัณฑ์ ทากำจัดต้นแห้วหมูบริเวณแถวหน่อไม้ฝรั่งและในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่ง ขนาดแปลงย่อยกรรมวิธีละ 1 ร่องปลูก

<u>การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีพ่นและวิธีทาด้วยลูกกลิ้งทาสี เมื่อต้นแห้วหมูอายุ 30 วัน</u>

แปลงหน่อไม้ฝรั่งอายุ 4 ปี ในช่วงพักต้น แห้วหมูงอกใหม่ยังไม่ออกดอก ต้นแห้วหมูอายุ 30 วัน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี คือ วิธีการพ่นด้วย glyphosate และ glufosinate-ammonium อัตรา 480 และ 375 กรัมai/ไร่ วิธีการกลิ้งด้วย glyphosate , glufosinate-ammonium ความเข้มข้น 10%ผลิตภัณฑ์ วิธีการขุดหัวแห้วหมูออก วิธีการใช้จอบถาก เปรียบเทียบกับการไม่กำจัด

<u>การทดลองที่ 3 เปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีพ่นและวิธีทาด้วยลูกกลิ้งทาสี เมื่อต้นแห้วหมูอายุ 20 วัน</u>

ต้นแห้วหมูอายุ 20 วัน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี คือ วิธีการพ่นด้วย glyphosate , glufosinate-ammonium อัตรา 384 และ 360 กรัมai/ไร่ วิธีการใช้แปรงทาสีทาด้วยสารละลาย glyphosate , glufosinate-ammonium ที่ผสมสำหรับพ่นในอัตรา 384 และ 360 กรัมai/ไร่ วิธีการกลิ้งด้วย glyphosate , glufosinate-ammonium ความเข้มข้น 10 และ 7.5 % ผลิตภัณฑ์ วิธีการทาด้วย glyphosate , glufosinate-ammonium ความเข้มข้น 10 และ 7.5 % ผลิตภัณฑ์

<u>การทดลองเบื้องต้นที่ 3 เปรียบเทียบสารกำจัดวัชพืชผสมสารจับใบเมื่อใช้วิธีกลิ้งด้วยลูกกลิ้งทาสี</u>

เปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืช glyphosate, glufosinate-ammonium และ 2,4-D ความเข้มข้น 10 %ผลิตภัณฑ์ ผสมสารจับใบ 2% กลิ้งเพื่อกำจัดแห้วหมู ขนาดแปลงย่อยกรรมวิธีละ 2x 34 เมตร

<u>การทดลองที่ 4 เปรียบเทียบความเข้มข้นของสาร glyphosate ผสมสารจับใบเมื่อใช้วิธีกลิ้งด้วยลูกกลิ้งทาสี</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธี คือใช้สาร glyphosate ระดับ glyphosate , glufosinate-ammonium 8 ระดับคือ 1.25, 2.5, 3.75, 5.0, 6.25, 7.5, 8.75 และ 10 %ผลิตภัณฑ์ตามลำดับ ผสมด้วยสารจับใบ 1.25% กลิ้งด้วยลูกกลิ้งที่เสริมล้อ เปรียบเทียบกับการไม่กำจัด

วิธีการใช้สารกำจัดวัชพืช ทำการทดลองใช้สารกำจัดวัชพืช เฉพาะในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่ง วิธีการพ่นกดหัวพ่นต่ำระวังไม่ให้ละอองสารกำจัดวัชพืช สัมผัสต้นและใบหน่อไม้ฝรั่ง วิธีการทาใช้แปรงทาสีจุ่มสารละลายสารกำจัดวัชพืช ปาดขนแปรงไม่ให้มีน้ำหยด

จึงนำไปทาต้นแห้วหมู ทาโดยระวังไม่ให้ขนแปรงสัมผัสต้นและหน่อของหน่อไม้ฝรั่ง วิธีการกลิ้งใช้ลูกกลิ้งทาสีจุ่มสารละลายสารกำจัดวัชพืช ยกขึ้นรอจนไม่มีสารละลายไหลออกจากลูกกลิ้ง จึงนำไปกลิ้งในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่ง วิธีการใช้ลูกกลิ้งที่เสริมล้อ ใช้แผ่นพลาสติกแข็งตัดเป็นวงกลมใส่ในแกนลูกกลิ้งให้ลูกกลิ้งสูงจากพื้นดิน 1 เซนติเมตร

บันทึกการเปลี่ยนแปลงของแห้วหมู และประสิทธิภาพการควบคุมแห้วหมู ประเมินการควบคุมด้วยสายตา คะแนนระดับ 1 = แห้วหมูปกติ 10 = แห้วหมูตาย นับจำนวนต้น หัว และน้ำหนักแห้งของแห้วหมู

เวลาและสถานที่

สิงหาคม 2548 - กันยายน 2550 ที่แปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งของศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี และแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกรจังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

<u>การทดลองเบื้องต้นที่ 1 หลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกแล้วใช้ดินกลบโคนกอ พ่นสารกำจัดวัชพืชทันที</u>

แห้วหมูต้นโตและหนาแน่น พบว่า 2,4-D amine ทำให้แห้วหมูใบเหลืองเข้มค่อยๆตาย ส่วน glyphosate และ glufosinate-ammonium อัตรา 480 และ 480 กรัมai/ไร่ ทำให้แห้วหมูตายดี โดยที่ glufosinate-ammonium แห้วหมูตายอย่างรวดเร็ว ที่ 35 วันหลังพ่นต้นแห้วหมูเหลือน้อยที่สุด paraquat กำจัดแห้วหมูไม่ได้ ทำให้แห้วหมูปลายใบไหม้เพียงเล็กน้อย จึงมีต้นแห้วหมูเหลือมากที่สุด หลังพ่น paraquat ต้นหน่อไม้ฝรั่งที่งอกขึ้นมาปกติ ส่วน glyphosate และ glufosinate หลังพ่นต้นหน่อไม้ฝรั่งที่งอกขึ้นมาจากกอที่ดึงหน่อออกไม่หมด แสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยและ 2,4-D amine ละอองสารทำให้หน่อไม้ฝรั่งหน่อที่ดึงหน่อออกไม่หมดเหลือง (ตารางที่ 1)

<u>การทดลองที่ 1 หลังดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งออกแล้วใช้ดินกลบโคนกอ พ่นสารกำจัดวัชพืชทันที</u>

ทดลองใช้ 2,4-D amine มาเป็นคู่ผสม เพื่อลดอัตราการใช้ของ glyphosate และ glufosinate พบว่า ที่ 25 วันหลังพ่นสาร glufosinate อัตรา 480 กรัมai/ไร่ ทำให้แห้วหมูตายสนิท รองลงมาตามลำดับคือสารคู่ผสม paraquat + 2,4-D amine อัตรา 100+205.25 กรัมai/ไร่ และ glufosinate + 2,4-D amine อัตรา 150 + 205.25 และ 120 + 205.25 กรัมai/ไร่ แห้วหมูที่พ่นด้วย glyphosate อัตรา 480 กรัมai/ไร่ ยังตายไม่สนิทที่ 25 วันหลังพ่นสาร เมื่อผสม glyphosate กับ 2,4-D amine อัตรา 240 + 205.25 กรัมai/ไร่ ทำให้แห้วหมูตายมากกว่าและเร็วกว่าเมื่อใช้เดี่ยวๆ ส่วนสาร glufosinate เมื่อใช้แบบคู่ผสมซึ่งลดอัตราการใช้ประสิทธิภาพด้อยกว่าเมื่อใช้เดี่ยว (ตารางที่ 2) เก็บเกี่ยวหน่อไม้ฝรั่งนาน 2 เดือนผลผลิตหน่อที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืช ที่ใช้ดินกลบโคนกอหน่อไม้ฝรั่ง หน่อไม้ฝรั่งไม่มีโอกาสสัมผัสสารเลย

จากการสัมผัสกับเกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่งในเวลาต่อมา ทำให้ทราบว่าการดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งขณะพักต้น จะดึงต้นออกทั้งหมดไม่ได้ จะต้องเหลือหน่อไว้เป็นต้นแม่ต่อไปอย่างน้อย 1 หน่อ หากดึงออกจนหมดจะทำให้จำนวนหน่อที่งอกภายหลังมีจำนวนมาก หน่อไม้ฝรั่งจะได้ผลผลิตต่ำ ดังนั้นหากจะใช้สารกำจัดวัชพืชแบบพ่นทั้งแปลงจำเป็นต้องมีการศึกษาอย่างรอบคอบต่อไป

<u>การทดลองเบื้องต้นที่ 2 เปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีพ่นและวิธีทาด้วยแปรงทาสี</u>

ทดลองในแปลงหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกรจังหวัดนครปฐม พบว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีทาด้วยแปรงทาสี glufosinate ความเข้มข้น 10%ผลิตภัณฑ์ แห้วหมูตายอย่างรวดเร็ว และ glyphosate ความเข้มข้น 10%ผลิตภัณฑ์ แห้วหมูตายสนิทเช่นกัน แต่ใช้เวลานานกว่าการทา glufosinate วิธีการพ่นในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่ง แสดงผลเช่นเดียวกับวิธีการทาแต่ใช้เวลานานกว่า พบว่าวิธีการทาควบคุมแห้วหมูได้ดีกว่าวิธีการพ่น และโอกาสที่สารกำจัดวัชพืชจะสัมผัสกับดินและต้นหน่อไม้ฝรั่งมีน้อยกว่าวิธีการพ่น

จากการปฏิบัติงานทำให้ทราบว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีการทาด้วยแปลงทาสี ผู้ใช้มีโอกาสสัมผัสสารกำจัดวัชพืชมาก ต่อมาจึงได้ปรับเปลี่ยนอุปกรณ์ที่ใช้ทาสารกำจัดวัชพืช

<u>การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีพ่นและวิธีกลิ้งด้วยลูกกลิ้งทาสี เมื่อต้นแห้วหมูอายุ 30 วัน</u>

โดยใช้สารกำจัดวัชพืชอัตราและความเข้มข้นเดิมในการทดลองเบื้องต้น เนื่องจากขณะเริ่มทดลองแห้วหมูต้นโตและหนาแน่น ทำให้การใช้สารกำจัดวัชพืชมีประสิทธิภาพการควบคุมได้ไม่สมบูรณ์ (ตารางที่ 3) พบว่าที่ 35 วันหลังใช้สาร วิธีการกลิ้งสารกำจัดวัชพืชด้วยลูกกลิ้งทาสี แห้วหมูตายมากกว่าวิธีการพ่น glufosinate มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งแห้วหมูน้อยกว่า glyphosate แต่ต่ำสุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับการไม่กำจัด และวิธีการขุดเอาหัวแห้วหมูออก วิธีการถากมีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งแห้วหมูสูงสุด พบว่าต้นแห้วหมูจะเจริญเติบโตจากรอยแผลที่ถูกถากออกไปทันทีและเพิ่มจำนวนต้นอย่างรวดเร็ว วิธีการพ่นใช้เวลาน้อยที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ การกลิ้ง การถาก ส่วนการขุดเอาหัวออกใช้เวลามากที่สุด เพราะเป็นการกำจัดเอาส่วนขยายพันธุ์ออกจากพื้นที่ได้มากที่สุด การถากเป็นการลดการรบกวนของต้นแห้วหมูได้ทันทีไม่ใช่การกำจัด เป็นการกระตุ้นให้แห้วหมูงอกมากขึ้น และการกลิ้งช่วยลดโอกาสที่สารกำจัดวัชพืชจะสัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่งและผิวดินให้น้อยลง

<u>การทดลองที่ 3 เปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีพ่นและวิธีกลิ้งด้วยลูกกลิ้งทาสี เมื่อต้นแห้วหมูอายุ 20 วัน</u>

เป็นการลดอายุแห้วหมูขณะใช้สารลง และทดลองนำสารละลายสารกำจัดวัชพืชในอัตราที่ใช้พ่นและความเข้มข้นที่ใช้กลิ้งในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่งของแต่ละกรรมวิธี มาทาต้นแห้วหมูใน

แถวปลูกหน่อไม้ฝรั่งด้วยแปรงทาสี หลังจากนั้นปล่อยให้สารกำจัดวัชพืชได้ควบคุมแห้วหมูให้เต็มที่ (ตารางที่ 4) ที่ 75 วันหลังใช้สาร พบว่าการพ่นสาร glyphosate อัตรา 384 กรัมai/ไร่ ทำให้ต้นแห้วหมูค่อยๆตาย แล้วต้นงอกใหม่เล็กฝอยมีจำนวนต้นต่อหัวมากออกดอกเร็ว ส่วนการพ่นสาร glufosinate-ammonium อัตรา 360 กรัมai/ไร่ ทำให้ต้นแห้วหมูตายอย่างรวดเร็ว ต้นงอกใหม่ปกติผอมแข็งแรงออกดอก การนำสารละลายที่ใช้พ่นนี้มาทาต้นแห้วหมู glyphosate อัตรา 384 กรัมai/ไร่ ใช้ทาต้นแห้วหมูไม่ตายและงอกใหม่เพิ่มขึ้น มีจำนวนต้นแห้วหมู ความสูงและน้ำหนักแห้งสูงกว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับการใช้พ่น เช่นเดียวกับสาร glufosinate-ammonium อัตรา 360 กรัมai/ไร่ เมื่อใช้ทาต้นโตปลายใบไหม้จนถึงตาย แตกใบใหม่จากต้นเดิมออกดอกยาว การกลิ้ง glyphosate เข้มข้น 10%ผลิตภัณฑ์ ทำให้ต้นแห้วหมูที่ตายงอกต้นใหม่เล็กฝอยจำนวนมาก บางต้นออกดอกสั้นๆ เมื่อใช้ทาด้วยแปรงจะมีปริมาณแห้วหมูเหลือมากกว่าการกลิ้งด้วยลูกกลิ้ง การกลิ้งด้วยลูกกลิ้ง glufosinate-ammonium เข้มข้น 7.5%ผลิตภัณฑ์ ต้นแห้วหมูตายแล้วงอกใหม่ฝอย เมื่อใช้ทาตายลดลงใบไหม้แล้วออกดอก พบว่าวิธีการพ่นและวิธีการกลิ้งด้วยลูกกลิ้งได้ผลดีกว่าวิธีการทาด้วยแปรง เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชเข้าถึงต้นแห้วหมูได้ทั่วถึงกว่า glyphosate ทำให้แห้วหมูตายช้ากว่า เพราะสารกำจัดวัชพืชใช้เวลาเคลื่อนย้ายทั่วต้นแห้วหมู จึงแสดงผลการทำลายที่ดีกว่า

<u>การทดลองเบื้องต้นที่ 3 เปรียบเทียบสารกำจัดวัชพืชผสมสารจับใบเมื่อใช้วิธีทาด้วยลูกกลิ้งทาสี</u>

การทดลองนี้ได้ผสมสารจับใบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมแห้วหมู ที่ 1 เดือนหลังกลิ้งสารกำจัดวัชพืชด้วยลูกกลิ้ง พบว่าการผสมสารจับใบช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสาร glyphosate ในการควบคุมแห้วหมูได้มากขึ้น ทำให้ glyphosate ความเข้มข้น 10 %ผลิตภัณฑ์ ผสมสารจับใบ 2% มีน้ำหนักแห้งต้นแห้วหมูเหลือน้อยที่สุด 4.1 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาคือ glufosinate-ammonium ความเข้มข้น 10 %ผลิตภัณฑ์ ผสมสารจับใบ 2% และ 2,4-D amine ความเข้มข้น 10 %ผลิตภัณฑ์ ผสมสารจับใบ 2% มีน้ำหนักแห้งต้นแห้วหมูเหลือ 21.7 และ 23.3 กรัมต่อตารางเมตร (ตารางที่ 5)

<u>การทดลองที่ 4 เปรียบเทียบความเข้มข้นของสาร glyphosate ผสมสารจับใบเมื่อใช้วิธีกลิ้งด้วยลูกกลิ้งทาสี</u>

การใช้ลูกกลิ้งที่ใช้ทาสีลูกกลิ้งอยู่ชิดพื้น ทำให้ในบริเวณที่แห้วหมูไม่หนาแน่น ลูกกลิ้งมีโอกาสสัมผัสดิน สารกำจัดวัชพืชจึงถูกเม็ดดินยึดจับประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชลดลง การทดลองนี้จึงเสริมล้อให้ลูกกลิ้ง เพื่อหลีกเลี่ยงลูกกลิ้งชิดดินโดยนำแผ่นพลาสติกหนา (ที่ใช้ทำกรอบพระ) มาตัดเป็นวงกลมสวมในแกนหัวและท้ายของลูกกลิ้ง ทำให้ลูกกลิ้งสูงจากพื้นดิน 1 เซนติเมตร พบว่าการใช้สาร glyphosate ระดับความเข้มข้นต่างๆกันผสมด้วยสารจับใบ 1.25% กลิ้งด้วยลูกกลิ้งที่เสริมล้อ (ตารางที่ 6) พบว่าการใช้ glyphosate ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 %ผลิตภัณฑ์ ขึ้นไป ทำให้

แห้วหมูตายสนิทเมื่อ 20 วันหลังใช้สาร หลังจากนั้นต้นแห้วหมูใหม่ที่งอกขึ้นมาจะเป็นต้นเล็กฝอย ส่วนการใช้ความเข้มข้น 2.5-3.75%ผลิตภัณฑ์ พบว่าแห้วหมูตายช้ากว่าเล็กน้อยและต้นแห้วหมูที่งอกใหม่ต้นปกติ เช่นเดียวกับที่ความเข้มข้น 5%ผลิตภัณฑ์ ต้นแห้วหมูที่งอกใหม่มีอาการผิดปกติเมื่อใช้ที่ระดับความเข้นข้นตั้งแต่ 6.25%ผลิตภัณฑ์ขึ้นไป การเสริมล้อและผสมสารจับใบช่วยทำให้ประสิทธิภาพการทำลายของสารกำจัดวัชพืชเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชไม่สัมผัสดินและเกาะอยู่บนใบพืชได้นานขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การควบคุมแห้วหมูโดยใช้สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ได้ผลดีคือ glyphosate และ glufosinate-ammonium สารกำจัดวัชพืชที่เห็นผลการควบคุมเร็วคือ glufosinate-ammonium ต้นแห้วหมูจะงอกใหม่เร็ว การใช้ glyphosate เห็นผลการควบคุมช้ากว่า ต้นแห้วหมูที่งอกใหม่ช้ายังมีอาการทำลายของสารกำจัดวัชพืชเหลืออยู่ วิธีการใช้สารกำจัดวัชพืชแบบพ่นทำได้รวดเร็ว แต่ต้องระวังไม่ให้สารสัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่ง การใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีการกลิ้งโดยใช้ลูกกลิ้งเสริมล้อและผสมสารจับใบ ช่วยป้องกันไม่ให้สารกำจัดวัชพืชไม่สัมผัสต้นหน่อไม้ฝรั่งและดิน และควบคุมแห้วหมูได้ดี การนำวิธีกลิ้งไปใช้ประโยชน์ทำได้โดยใช้ในร่องระหว่างต้นหน่อไม้ฝรั่ง และในแถวต้นหน่อไม้ฝรั่งคลุมด้วยแกลบดิบ

เอกสารอ้างอิง

เสริมศิริ คงแสงดาว. 2530. ชีววิทยาของแห้วหมู (Cyperus rotundus Linn.) และการควบคุม. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 2 : การอารักขาพืชเพื่อคุณภาพสิ่งแวดล้อม เล่มที่ 2, เชียงใหม่, หน้า 645-649.

เสริมศิริ คงแสงดาว, อำไพ ประเสริฐสุข และ บุญยิ่ง สุวรรณคช. 25449. ศึกษาการสารกำจัดวัชพืชในหน่อไม้ฝรั่ง. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548. เล่มที่ 1. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. หน้า 635-652.

Roberts, W., L. Brandenberger and J.Shrefler. 2002. Weed control in vegetables-2002. OSU Current Report. Division of Agriculture Science and Natural Resources, Oklahoma State University. 9 p.

Smith, R. 2005. Questions on : Asprargus. Hortiscope. NDSU Extension Service. 8 p.

Smith, R. F. 2005. Asparagus integrated weed management. Statewide IPM Programe and Agriculture and Natural Resources, University of California. 5 p.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 เบื้องต้นดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งอายุ 3 เดือนหลังย้ายปลูก ใช้ดินกลบโคนแล้วพ่นสารกำจัดวัชพืชเพื่อกำจัดแห้วหมู ขณะต้นแห้วหมูแก่และออกดอก ผลการทดลองที่ 35 วันหลังพ่นสาร

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai/ไร่)	ค่าเฉลี่ยแห้วหมู/ตารางเมตร				ต้นหน่อไม้ฝรั่ง	
		การควบคุม	จำนวนต้น	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	ขนาดต้น (กรัม/ต้น)	อาการเป็นพิษ	น้ำหนัก (กรัม/48 ต้น)
2,4-D amine	205.25	7.0	106	40	0.377	ปกติ	2,256
Paraquat	200	4.0	194	103	0.53	ปกติ	2,086
Glyphosate	480	9.5	115	47	0.405	เล็กน้อย	2,227
Glufosinate	480	9.9	64	23	0.364	เล็กน้อย	2,151
Glufosinate+ 2,4-D amine	120+ 205.25	9.5	99	49	0.493	เล็กน้อย	1,559
ไม่พ่นสาร		.0	186	147	0.791	ปกติ	1,641

ตารางที่ 2 ทดลองดึงต้นหน่อไม้ฝรั่งอายุ 3 ปี ในช่วงพักต้น พ่นกำจัดขณะแห้วหมูยังไม่ออกดอก ใช้ดินกลบโคนแล้วพ่นสารกำจัดวัชพืชเพื่อกำจัดแห้วหมู ผลการทดลองที่ 25 วันหลังพ่นสาร

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai/ไร่)	แห้วหมู/ตารางเมตร				ผลผลิตหน่อไม้ฝรั่ง (กก./ไร่)
		การควบคุม	จำนวนต้น	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	ขนาดต้น (กรัม/ต้น)	
2,4-D amine	205.25	5.0	144	40.69	0.309 bc	94.9
Glyphosate	480	8.5	221	86.59	0.378 cd	94.1
Glufosinate	480	10.0	12	0.75	0.039 a	109.5
Paraquat+2,4-D amine	100+205.25	10.0	53.2	12.44	0.158 abc	81.3
Glyphosate+2,4-D amine	240+205.25	7.5	125	46.51	0.124 ab	76.6
Glufosinate+2,4-D amine	120+205.25	9.5	103	47.97	0.203 abc	111.2
Glufosinate+2,4-D amine	150+205.25	9.8	32	10.92	0.352 cd	93.0
C.V. (%)/F-test			108/ns	106/ns	44.8/* *	105.7/ ns

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 3 การทดลองวิธีการใช้สาร glyphosate และ glufosinate-ammonium เพื่อกำจัดแห้วหมู อายุ 30 วัน ที่ 35 วันหลังใช้สาร

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้	วิธีการใช้	การควบคุมแห้วหมู	เวลาที่กำจัดต่อคน		แห้วหมูต่อตารางเมตร	
				ชั่วโมง	นาที	จำนวนต้น (ต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
1.glyphosate	480 g.ai/ไร่	พ่น	7.0	1	51	320 a	43.2 a
2. glufosinate	375 g.ai/ไร่	พ่น	8.3	1	51	242 a	31.8 a
3. glyphosate	10%product	กลิ้ง	7.5	4	44	158 a	18.2 a
4.glufosinate	10%product	กลิ้ง	7.0	4	44	146 a	12.2 a
5.ขุดหัว	วันพ่นสาร		5	347	50	296 a	34.8 a
6.ถากต้น	วันพ่นสาร		0	183	20	744 b	122.2 b
7.ไม่กำจัด			0	-	-	106 a	46.2 a
C.V. (%)/F-test						53.5/* *	77.5/* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4 การทดลองวิธีการใช้สาร glyphosate และ glufosinate-ammonium เพื่อกำจัดแห้วหมู อายุ 20 วัน ที่ 75 วันหลังใช้สาร

กรรมวิธี	อัตราการใช้	วิธีใช้	บริเวณที่ใช้สาร	จำนวนต้น (ต้น/ม.^{2})	ความสูง (ซม.)	หัว (หัว/ม.^{2})	ช่อดอก (ช่อ/ม.^{2})	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ม.^{2})
1.glyphosate	384 g.ai/ไร่	พ่น	ร่องระหว่างต้น	365 ab	21.1 a	35 ab	64 b	68.8 ab
2.glyphosate	384 g.ai/ไร่	ทา	แถวหน่อไม้	419 b	25.8 ab	40 ab	24 ab	114.8 b
3.glufosinate	360 g.ai/ไร่	พ่น	ร่องระหว่างต้น	234 ab	25.5 ab	23 ab	27 ab	56.3 ab
4.glufosinate	360 g.ai/ไร่	ทา	แถวหน่อไม้	307 ab	35.5 b	24 ab	18 a	105.2 b
5.glyphosate	10%product	กลิ้ง	ร่องระหว่างต้น	157 a	20.8 a	10 a	12 a	35.7 a
6.glyphosate	10%product	ทา	แถวหน่อไม้	182 a	25.8 ab	17 ab	4 a	60.0 ab
7.glufosinate	7.5%product	กลิ้ง	ร่องระหว่างต้น	256 ab	23.4 a	31 ab	17 a	64.8 ab
8.glufosinate	7.5%product	ทา	แถวหน่อไม้	273 ab	29.3 ab	50 b	21 ab	80.5 ab
C.V.(%)/F-test				34.7/ * *	19.3/ **	81.5/ *	116.2/ *	41.2/* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 ทดลองเบื้องต้น เปรียบเทียบการใช้สารกำจัดวัชพืชผสมสารจับใบกลิ้งเพื่อกำจัดแห้วหมู

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)			ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตารางเมตร)		
	แคบ	กว้าง	แห้วหมู	แคบ	กว้าง	แห้วหมู
glyphosate 10%ผลิตภัณฑ์+สารจับใบ 2%	36	4	52	15.6	0.7	4.1
glufosinate10%ผลิตภัณฑ์+สารจับใบ 2%	132	30	154	50.7	5.6	21.7
2,4-D amine 10%ผลิตภัณฑ์+สารจับใบ 2%	96	4	234	40.7	3.0	23.3

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของสาร glyphosate ผสมสารจับใบเมื่อใช้วิธีการกลิ้ง ที่ 60 วันหลังใช้สาร

สารกำจัดวัชพืช	ความเข้มข้น (%product)	การควบคุม	จำนวนต้น (ต้น/ม.^{2})		น้ำหนักแห้ง (กรัม/ม.^{2})		ช่อดอกที่ 60 วัน (ช่อ/ม.^{2})	ความสูงที่ 60 วัน (ซม.)
			30 วัน	60 วัน	30 วัน	60 วัน		
1.glyphosate	1.25	3.0	207 a	111 ab	36.7 b	16.1 ab	6.3 a	20.7 ab
2.glyphosate	2.5	8.0	23 a	49 a	3.2 a	6.3 ab	2.3 a	14.0 a
3.glufosinate	3.75	9.0	28 a	46 a	4.3 a	9.6 ab	4.3 a	18.3 ab
4.glufosinate	5.0	10.0	23 a	65 a	1.4 a	8.6 ab	2.0 a	16.0 ab
5.glyphosate	6.25	10.0	27 a	31 a	2.2 a	6.0 a	5.0 a	16.7 ab
6.glyphosate	7.5	10.0	49 a	92 a	3.8 a	13.9 ab	2.3 a	18.3 ab
7.glufosinate	8.75	10.0	60 a	89 a	3.6 a	15.6 ab	2.3 a	20.8 ab
8.glufosinate	10.0	10.0	29 a	72 a	2.5 a	12.2 ab	8.3 a	17.7 ab
9. weedy		0	408 b	278 c	53.9 c	50.6 c	61.0 b	32.7 b
C.V.(%)/F-test			78.7/**	46.1/* *	34.3/* *	37.9/* *	133.5/* *	19.2/* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

การประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY

Yield Loss Assessment of Potato Disease from PVY on Potato Seed

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล สุรภี กีรติยะอังกูร วิวัฒน์ ภานุอำไพ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสของทุกกรรมวิธี 3 ครั้ง ด้วยวิธี ELISA กับต้นมันฝรั่งในฤดูหนาวและในฤดูฝนพบว่าต้นมันฝรั่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเป็น 99-100% ในฤดูหนาว และ 82-100% ในฤดูฝนในการสุ่มตรวจครั้งที่ 3 ส่วนจำนวนหัวที่มีขนาดหัว >45 มม. จำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งไม่แตกต่างกันทางสถิติและที่ขนาดหัว <45 มม. พบว่าจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่งที่ติดเชื้อ 100% มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งในฤดูหนาวและฤดูฝน และพบว่าต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคจะมีขนาดหัวลดลงของ และได้ทำการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองในฤดูหนาวและฤดูฝนอีกในปี 51 ซึ่งขณะนี้อยู่ในระหว่างการทดลอง

รหัสโครงการ 01-16-49-05

คำนำ

การปลูกมันฝรั่งในประเทศไทยสามารถปลูกได้ดีในฤดูหนาว ที่มีอากาศเย็นทางภาคเหนือ และสามารถปลูกในฤดูฝนได้ในบางแหล่งปลูก เช่น อำเภอพบพระ จังหวัดตาก และอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ ดังนั้นความต้องการหัวพันธุ์มันฝรั่ง จึงมีความต้องการเกือบตลอดปี การนำเข้าจึงมีปริมาณสูง เกษตรกรต้องประสบปัญหาด้านโรคกับหัวพันธุ์ ทางบริษัทผู้ผลิตการแปรรูปมันฝรั่งต่างๆ จึงใช้วิธีการสั่งเข้าหัวพันธุ์จากประเทศใหญ่ๆ 2-3 ประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย อังกฤษ แต่ละปีมีการนำหัวพันธุ์เข้ามาทำพันธุ์ ประมาณ 12,000 ตัน กรมฯจึงมีโครงการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดโรคเพื่อทดแทนการนำเข้า ในขบวนการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดโรค จำเป็นต้องตรวจสอบคุณภาพของหัวพันธุ์ ว่ามีการติดเชื้อไวรัส PVY ในอัตราที่มีความเสียหายต่อผลผลิตหรือไม่ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการศึกษาหาข้อมูลของความเสียหายของผลผลิตที่จะเกิดขึ้นกับการใช้หัวพันธุ์ที่มีการติดเชื้อ PVY ในอัตราต่างๆ ซึ่งกรมวิชาการเกษตรยังขาดข้อมูลความเสียหายของผลผลิตในการใช้หัวพันธุ์ที่ติดเชื้อ PVY ในอัตรา 10, 20 และ 30% ที่เป็นปัจจุบันในสภาพแวดล้อมของแหล่งปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย เปรียบเทียบกับหัวพันธุ์ปลอดโรคและหัวพันธุ์เป็นโรค 100% ผลของการศึกษาทดลองนี้จะเป็นข้อมูลที่ช่วยในการพิจารณาและตัดสินใจการเลือกใช้หรือไม่ใช้หัวพันธุ์ที่มีการติดเชื้อ PVY ในอัตราต่างๆ และเลือกใช้หัวพันธุ์ที่มีคุณภาพที่เหมาะสมและไม่เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของมันฝรั่งต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารเคมีสำหรับตรวจ ELISA
2. หัวพันธุ์มันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY และหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ปลอดเชื้อ PVY
3. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลง ปุ๋ยวิทยาศาสตร์และปุ๋ยมูลไก่

วิธีการ

1. เพิ่มปริมาณเชื้อ PVY โดยปลูกเชื้อบนต้นมันฝรั่งและพืชอาศัยและเตรียมปลูกโรงเรือนกันแมลง และเตรียมหัวพันธ์มันฝรั่งให้งอกพร้อมปลูก
2. ปลูกมันฝรั่งปลอดเชื้อไวรัสในโรงเรือนกันแมลง และปลูกเชื้อไวรัสบนต้นมันฝรั่งหลังต้นมันฝรั่งเริ่มงอก

3. ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสของทุกแปลง 3 ครั้ง ด้วยวิธี ELISA และทำการปลูกเชื้อซ้ำกับต้นมันฝรั่งจนได้ต้นเป็นโรคจากเชื้อ PVY 100 %
4. จัดเก็บข้อมูลและผลผลิตโดยแบ่งเป็น 2 ส่วนเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป รวมทั้งเตรียมวางแผนการทดลองและเตรียมหาแปลงปลูกในการประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY ในสภาพแปลงปลูก อ.ฝาง หรือ อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่
5. ปลูกมันฝรั่งในแปลงปลูกสภาพปกติ ในฤดูฝนโดยใช้หัวพันธุ์เป็นโรค 100% ส่วนที่ 1 และวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 Treatment แต่ละ Treatment มี 5 ซ้ำ ดังนี้คือ
    1. ปลูกมันฝรั่งปลอดเชื้อ PVY ในสภาพแปลงปลูกปกติ
    2. ปลูกมันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY 10% ในสภาพแปลงปลูกปกติ
    3. ปลูกมันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY 20% ในสภาพแปลงปลูกปกติ
    4. ปลูกมันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY 30% ในสภาพแปลงปลูกปกติ
    5. ปลูกมันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY 100% ในสภาพแปลงปลูกปกติ

    แต่ละซ้ำมีขนาดแปลง 4x6 เมตร มี 5 แถว/แปลง เก็บข้อมูล 3 แถวกลาง เว้นหัว-ท้าย 2 ต้น ใช้หัวพันธุ์แอตแลนติก จากโครงการผลิตหัวพันธุ์ปลอดโรค ที่ผ่านการพักตัว ทำการเตรียมดินโดยไถลึกและตากดินไว้ 1-2 สัปดาห์ ไถพรวนอีก 1-2 ครั้ง แล้วเตรียมแปลงโดยยกเป็นแปลงขนาด 4x6 เมตร แปลงสูง 20-30 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยคอก ส่วนระยะปลูกมันฝรั่งแบ่งเป็น 5 แถว/แปลง ระยะแถว 80 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 20-30 เซนติเมตร ดูแลแปลงด้วยการใส่ปุ๋ยก่อนออกดอกและฉีดสารฆ่าแมลงทุก 7-10 วัน
6. ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสของทุกแปลง 3 ครั้ง ด้วยวิธี ELISA
    - หลังปลูก 15-20 วัน (มีใบจริง 4 ใบ)
    - มันฝรั่งอายุประมาณ 45 วัน (ก่อนออกดอกหรือช่วงออกดอก)
    - ก่อนเก็บผลผลิตหนึ่งสัปดาห์
7. เก็บผลผลิตบันทึกน้ำหนักผลผลิต
8. วิเคราะห์ผลทางสถิติและตรวจดูคุณภาพและขนาดของหัวมันฝรั่ง และทำการเตรียมปลูกมันฝรั่ง ในสภาพแปลงปลูกในฤดูหนาว โดยใช้หัวพันธุ์เป็นโรค 100% ส่วนที่ 2 และวางแผน

    การทดลองเหมือนข้อ 13.5 – 13.7 อีก 1 ฤดู
9. สรุปผลการดำเนินงาน

เวลาและสถานที่

<u>ระยะเวลา</u> เริ่มเดือนตุลาคม 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2551

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY ทำการทดสอบในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร ที่อำเภอฝางและอำเภอไชปราการ จังหวัดเชียงใหม่ โดยได้ทำการเตรียมแปลงปลูกมันฝรั่งทั้งหมด 25 แปลง (5 ทรีตเมนๆละ 5 ซ้ำ) พร้อมทั้งเตรียมหัวพันธ์มันฝรั่งให้งอกพร้อมปลูก โดยใช้หัวพันธุ์ปลอดโรค 100% และหัวพันธุ์ที่ตรวจพบเชื้อ PVY เป็นหัวพันธุ์เป็นโรค 100% ซึ่งได้หัวพันธุ์มันฝรั่งที่งอกพร้อมปลูกทั้งหมด 25 แปลง จำนวน 2,250 หัว ได้ปลูกมันฝรั่งในแต่ละแปลงที่เตรียมไว้โดยแบ่งเป็น 5 ทรีตเมนๆ ละ 5 ซ้ำ หลังจากนั้นได้ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสของทุกแปลง 3 ครั้ง คือ หลังต้นมันฝรั่งงอก ก่อนออกดอกและก่อนเก็บเกี่ยว ด้วยวิธี ELISA กับต้นมันฝรั่ง ซึ่งพบว่าต้นมันฝรั่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคครั้งที่ 3 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเป็น 99-100% และย่อมมีผลกระทบต่อผลผลิตทำให้น้ำหนักหัวมันฝรั่งไม่แตกต่างกันมากนักและพบว่าในฤดูหนาวมีการติดเชื้อที่เร็วกว่าในฤดูฝนเนื่อง ดังจะเห็นได้จากการสุ่มตรวจครั้งที่ 2 ในฤดูหนาวมีการติดเชื้อมากกว่า 90% ในทุกทรีตเมนเมื่อเทียบกับการสุ่มตรวจครั้งที่ 2 ในฤดูฝน (ตารางที่ 1 และตารางที่ 3) และได้ทำการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์มันฝรั่งในเดือนมีนาคม 2550 โดยได้บันทึกข้อมูลจำนวนหัวโดยแบ่งเป็นหัวที่มีขนาด > 45 มม. และ < 45 มม. รวมทั้งน้ำหนักหัวพันธุ์มันฝรั่ง และได้วิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าที่ขนาดหัว >45 มม. นั้น จำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่ง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ขนาดหัว <45 มม. พบว่าจำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งในทรีตเมนที่ 5 มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ดังตารางที่ 2) และพบว่าต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคจะมีขนาดหัวลดลง

หลังจากนั้นจึงเก็บหัวพันธุ์มันฝรั่งเข้าห้องเย็นเพื่อให้หัวพันธุ์พักตัวเพื่อเตรียมไว้ใช้ในการทดลองฤดูฝน และได้ทำการเตรียมวางแผนการทดลองและเตรียมแปลงปลูกในการประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY ในฤดูฝน โดยเตรียมแปลงปลูกมันฝรั่งทั้งหมด 25 แปลง (5 ทรีตเมนๆละ 5 ซ้ำ) โดยใช้หัวพันธุ์จากการทดลองในฤดูหนาวที่เก็บไว้ในห้องเย็นพร้อมทั้งเตรียมหัวพันธุ์มันฝรั่งให้งอกพร้อมปลูกซึ่งขั้นตอนและวิธีการเหมือนการทดลองในฤดูหนาว ซึ่งพบว่าต้นมันฝรั่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นและเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับในฤดูหนาว โดยการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคครั้งที่ 3 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเป็น 82-100% ส่งผลให้น้ำหนักหัวมันฝรั่งแตกต่างกันน้อยมากในแต่ละทรีตเมน (ตารางที่ 3) และได้ทำการเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์มันฝรั่งในเดือนพฤศจิกายน 2550 โดยแบ่งเป็นหัวที่มีขนาด > 45 มม. และ < 45

มม. และชั่งน้ำหนักหัวพันธุ์มันฝรั่งในแต่ละทรีตเมน และได้วิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าที่ขนาดหัว >45 มม. จำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่ง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ขนาดหัว <45 มม. พบว่าจำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งในทรีตเมนที่ 5 มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ดังตารางที่ 4) และต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคจะมีขนาดหัวลดลงเหมือนในฤดูหนาว

และได้ทำการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองในฤดูหนาวและฤดูฝนอีกในปี 51 ซึ่งขณะนี้อยู่ในระหว่างการทดลองในฤดูหนาว

ตารางที่ 1 ผลการสุ่มตรวจไวรัสเชื้อ PVY 3 ครั้ง ในแปลงปลูกมันฝรั่งฤดูหนาว (มี.ค.50-มี.ค.50)

ครั้งที่	ว/ด/ป	T1 (0%)	T2 (10%)	T3 (20%)	T4 (30%)	T5 (100%)
1	3 ก.พ. 50	1%	17%	9%	1%	100%
2	1 มี.ค. 50	99%	99%	96%	98%	97%
3	16 มี.ค. 50	99%	100%	99%	100%	100%

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่งของแปลงทดลองในฤดูหนาว

Treatment	ขนาดหัว >45 มม.		ขนาดหัว <45 มม.	
	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]
T1 (0%)	199.4 a[2]	22.04 a[2]	42.00 a[2]	1.16 a[2]
T2 (10%)	247.0 a	26.88 a	56.60 a	1.52 a
T3 (20%)	227.0 a	24.88 a	46.00 a	1.24 a
T4 (30%)	238.4 a	27.40 a	55.00 a	1.44 a
T5 (100%)	190.0 a	21.08 a	73.60 b	2.04 b
CV(%)	19.80	25.10	21.30	25.80

1. ค่าเฉลี่ยจาก 5 Replication ในแต่ละ Treatment
2. ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งที่ตามด้วยอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3 ผลการสุ่มตรวจไวรัสเชื้อ PVY 3 ครั้ง ในแปลงปลูกมันฝรั่งฤดูฝน (ก.ย.50-พ.ย. 50)

ครั้งที่	ว/ด/ป	T1 (0%)	T2 (10%)	T3 (20%)	T4 (30%)	T5 (100%)
1	21 ก.ย. 50	5%	11%	20%	15%	98%
2	12 ต.ค. 50	29%	59%	58%	69%	100%
3	8 พ.ย. 50	82%	91%	92%	93%	100%

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่งของแปลงทดลองในฤดูฝน

Treatment	ขนาดหัว >45 มม.		ขนาดหัว <45 มม.	
	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]
T1 (0%)	239.80 a[2]	23.36 a[2]	84.60 a[2]	2.20 a[2]
T2 (10%)	236.20 a	22.36 a	92.80 a	2.32 a
T3 (20%)	259.60 a	23.68 a	81.80 a	2.08 a
T4 (30%)	237.00 a	22.76 a	74.20 a	1.96 a
T5 (100%)	241.00 a	23.52 a	72.00 b	1.84 b
CV(%)	11.70	7.60	16.00	20.50

1. ค่าเฉลี่ยจาก 5 Replication ในแต่ละ Treatment
2. ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งที่ตามด้วยอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี LSD

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสของทุกแปลง 3 ครั้ง คือ หลังต้นมันฝรั่งงอก ก่อนออกดอกและก่อนเก็บเกี่ยว ด้วยวิธี ELISA กับต้นมันฝรั่งในฤดูหนาวและในฤดูฝน พบว่าต้นมันฝรั่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคครั้งที่ 3 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเป็น 99-100% ในฤดูหนาวและ 82-100% ในฤดูฝน ส่งผลให้น้ำหนักหัวมันฝรั่งแตกต่างกันน้อยมากในแต่ละทรีตเมน ซึ่งในฤดูหนาวมีการติดเชื้อที่เร็วกว่าในฤดูฝน และจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนหัวที่มีขนาด > 45 มม. และ < 45 มม. รวมทั้งน้ำหนักหัวพันธุ์มันฝรั่ง พบว่าที่ขนาดหัว >45 มม. นั้น จำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนที่ขนาดหัว <45 มม. พบว่าจำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งในทรีตเมนที่ 5 มีความแตกต่างกันทางสถิติ ทั้งในฤดูหนาวและฤดูฝน และพบว่าต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคจะมีขนาดหัวลดลง

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรสิทธิ์ บุญทวี วิวัฒน์ ภานุอำไพ และนวลจันทร์ ดีมา. 2531. ความเสียหายของผลผลิตมันฝรั่งที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ PVY และ PVX. รายงานผลงานวิจัยปี 2531 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 12-16.

การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยวิธีผสมผสาน.

Integrated control of potato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*

วงศ์ บุญสีบสกุล
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ รุ่งนภา คงสุวรรณ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ถ่ายเชื้อและเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ DOA-WB-4 และแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวมันฝรั่ง *Ralstonia solanacearum* จาก stock culture ที่เก็บรักษาไว้ ณ. กลุ่มงานบักเตรีวิทยา ติดต่อและเตรียมแปลงทดลองตามแผนการทดลองที่อำเภอไชยปราการจังหวัดเชียงใหม่และอำเภอพบพระจังหวัดตาก ทั้งสองแห่งวางแผนการทดลองแบบ RCB, 4 ซ้ำ, 5 กรรมวิธี ได้แก่ การใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคอย่างเดียว(กรรมวิธีที่1)และร่วมกับการปลูกพืชหมุนเวียน(กรรมวิธีที่2), การตากดิน(กรรมวิธีที่3) และ การใช้สารสมุนไพร(กรรมวิธีที่4) โดยกรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นกรรมวิธีที่ 5 ปลูก 4 แถวต่อหนึ่งกรรมวิธี แถวยาว 4 เมตร ระยะระหว่างแถว 90 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 30 เซนติเมตร ระยะระหว่างกรรมวิธี 2 เมตร ระยะระหว่างซ้ำ 4 เมตร ผลการตรวจประชากรเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวก่อนปลูกพบเชื้อดังกล่าวทุกแปลง ผลการตรวจหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดไม่มีเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว เตรียมเชื้อปฏิปักษ์ 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จำนวน 5000 มิลลิลิตร คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยอัตรา 10 มิลลิลิตรต่อหัวพันธ์หนึ่งกิโลกรัม แล้วปลูกตามแผนการทดลอง ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในแปลงทดลอง เมื่อมันฝรั่งอายุ 10 วัน ราดเชื้อปฏิปักษ์ 3 ครั้ง ในกรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อปฏิปักษ์หลังต้นมันฝรั่งงอก 7 วัน แต่ละครั้งห่างกัน 10 วัน เก็บข้อมูลการเกิดโรคในทุกกรรมวิธี ครั้งที่1(20วัน) และ 2 (40 วัน) พบว่าแปลงทดลองที่จังหวัดตากการพัฒนาการเป็นโรคไม่ดี กรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นโรค 3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ เป็นโรค 1-3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกิดสภาวะฝนแล้งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืชและการพัฒนาการเกิดโรค ต้นพืชไม่สมบรูณ์ ผลการทดลองที่จังหวัดเชียงใหม่พบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ DOA-W B-4 (*Bacilus subtilis*) (คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก อัตรา 10^9 cfu / มล. ปริมาตร 10 มล ต่อ กิโลกรัมหัวพันธุ์ และราดด้วยเชื้อดังกล่าว อัตรา 10^6 cfu / มล.ปริมาตร 10 มล ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้งแต่ละ

รหัสโครงการ 01-16-49-05

ครั้งห่างกัน 7 วัน) เพียงอย่างเดียวให้ผลในการควบคุมโรคได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้วิธีการอื่นร่วมด้วย พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 2.8 – 5.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญพบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 58 เปอร์เซ็นต์ ขยายผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 ควบคุมโรคเหี่ยวในแปลง ระหว่างปี 2549-2550 ในพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อ. แม่แตง, อ.พร้าว จ. เชียงใหม่ และ อำเภอพบพระ จ. ตาก พื้นที่ 5 ไร่ (เกษตรกร 2 ราย) , 25 ไร่ (เกษตรกร 6 ราย) และ 50 ไร่ (เกษตรกร 10 ราย) เรียงตามลำดับ พบว่าการใช้เชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวได้ผลดีเป็นที่พอใจของเกษตรกรโดยลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0-65 %

คำหลัก : เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์, ตัวควบคุมชีวภาพ, เชื้อแบซิลัส, โรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ดิน

คำนำ

Ralstonia solanacearum (Yabuuchi *et al.*, 1995) เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (bacterial wilt) ที่ทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิดตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันและถูกจัดให้เป็นโรคที่สำคัญที่สุดโรคหนึ่งของโลกเพราะเชื้อสาเหตุโรคพบระบาดไปทั่วโลกสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจได้มากกว่า 200 ชนิด มากกว่า 40 ตระกูล เชื้อนี้มีชีวิตอยู่รอดในดินได้นาน อยู่ข้ามฤดูในวัชพืชหลายชนิด สามารถถ่ายทอดโรคทางส่วนขยายพันธุ์ เช่น หัวพันธุ์-มันฝรั่ง ท่อนพันธุ์ขิง เป็นต้น ปนเปื้อนและติดไปกับเครื่องมือทางการเกษตรได้ง่ายรวมถึงติดไปกับสัตว์แมลงและมนุษย์ สามารถแพร่ระบาดได้ดีกับระบบให้น้ำทางการเกษตร ที่สำคัญปัจจุบันยังไม่พบวิธีการใดวิธีการหนึ่งที่สามารถควบคุมโรคนี้ให้ได้ผลดีควรแก่การแนะนำ โดยเฉพาะการใช้สารเคมีพบว่าไม่สามารถควบคุมโรคนี้ได้และไม่แนะนำให้ใช้ (Hayward and Hartman, 1994 *in* Hayward , 1995) ขณะที่การใช้พันธุ์ต้านทานค่อนข้างทำได้จำกัดทั้งแบบ horizontal และ vertical เนื่องจากความผันแปรของอุณหภูมิและลักษณะดิน อีกทั้งเชื้อนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมาก มีการจัดแบ่งเชื้อนี้หลายระบบเช่น ชนิดเรส (race) ชนิดไบโอวา (biovar) และจัดเป็นกลุ่มตามลักษณะรายพิมพ์ดีเอ็นเอ ขณะที่เมื่อเร็ว ๆ นี้ มีรายงานว่าเชื้อนี้มีระยะที่เรียกว่า VBNC stage (viable but not culture) ซึ่งไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ แต่สามารถทำให้เกิดโรคได้ เมื่อเป็นเช่นนี้ กลยุทธ์ในการควบคุมโรคจึงต้องใช้วิธีป้องกัน ด้วยการผสมผสาน (integrated control) วิธีการต่าง ๆ เข้าด้วยกัน เช่น การปลูกพืชหมุนเวียน การไถตากดินให้นานกว่าปกติ (French *et al.*,1997) และการใช้สารสมุนไพรเท่าที่จำเป็น (วงศ์, 2546)

Tans-Kersten *et al.,* (2001) พบว่าความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อนี้มีผลโดยตรงกับการเข้าทำลายและการเกิดระบาดของโรค Richardson *et al.*, (1998) ประสบความสำเร็จจำแนกเชื้อในสกุล *Pseudomonas cepacia* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ของเชื้อโรคนี้ โดยอาศัย

การจัดกลุ่มตามคุณสมบัติของ fatty acid profiling, REP PCR, BOX PCR และ ERIC PCR Nesmith and Jenkins (1985) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มักพบในดินที่มีอินทรีย์หมักตามธรรมชาติ (suppressive and conducive composed soil) Guo *et al*., (2002) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บริเวณรากพืช (rhizosphere bacteria) ได้แก่ *Pseudomonas* sp. J3, *Bacillus* spp. BB11 and FH 17 มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของพริกได้ Frey *et al*., (1994) ใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมสร้างเชื้อกลายพันธุ์ของเชื้อโรคนี้ (Hrp$^-$ mutant of *R. solanacearum* by **ω**-Km interposon used genetically engineered) ช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ Aino *et al.,* (1998) รายงานว่า endophytic pseudomonads, FPT and FPH มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ Shiomi *et al.* (1999) พบว่าการใช้ suppressive soil จากเมือง Mutsumi ช่วยลดความรุนแรงของโรคดังกล่าวในมะเขือเทศ Ciampi *et al.,* (1999) ใช้สารสกัดจากเชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท A47 และ *Pseudomonas fluorescens* BC8 ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคเหี่ยว สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพไร่ Sanaina *et al*., (1998) ใช้เชื้อแบคทีเรียบริเวณรากควบคุมโรคเหี่ยวในมันฝรั่งได้ 24-83 % และใช้ควบคุมได้ดีกว่าเชื้อโรคนี้ที่กลายพันธุ์เป็นเชื้อที่ไม่เกิดโรครุนแรง (avirulent mutant of *R. solanacearum*) ซึ่งจำแนกเป็น *Bacillus subtilis, B. cereus* และ *Enterobacter cloacae* Karuna *et al*., (1998) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* สามารถควบคุมโรคนี้ได้ดีกว่า *Pseudomonas aeroginosa* Kelaniyangoda (1998) พบว่าการปรับปรุงดิน (soil amendment) ด้วยการผสม sun hemp seed (*Crotalaria juncea* L.) 10 t/ha + Calcium Oxide 2 t/ha + Urea 200 kg N/ha สามารถควบคุมโรคนี้ทั้งในมะเขือเทศและมันฝรั่ง Suthaya (1984) รายงานว่า *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas fluorescens* ที่แยกเชื้อได้จากปุ๋ยหมักและปุ๋ยพืชสดสามารถยับยั้งการเจริญและการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรคดังกล่าวได้ แต่ไม่สามารถควบคุมโรคในสภาพไร่ Urutchata (1991) พบว่า *P. fluorescens* NA1 และ *Serratia marcescens* NA25 สามารถควบคุมโรคดังกล่าวในมะเขือเทศได้โดยการแช่รากของกล้ามะเขือเทศก่อนปลูก

ในการทดลองนี้การดำเนินงานมี 2 ขั้นตอน ทดสอบหาความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวโดยวิธีผสมผสานในไร่ทดลอง และไร่เกษตรกร

วิธีดำเนินการ

<u>ในแปลงทดลอง</u>

อุปกรณ์ 1. เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว *R. solanacearum* ที่เก็บรักษาอยู่ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา

2. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ อุปกรณ์และเครื่องมือปฏิบัติการทางโรคพืชวิทยา เช่น ห้องเขี่ยเชื้อ (clean room) ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้เพาะเชื้อ เครื่องเขย่าตั้งอุณหภูมิและความเร็วรอบได้ เครื่องผสมเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้อบฆ่าเชื้อ สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ จานเลี้ยงเชื้อ เครื่อง นับโคโลนี เครื่องวัด-ปรับค่าความเป็นกรด/ด่าง ภาชนะแก้วต่าง ๆ เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมอุปกรณ์ ชุดตรวจ ELISA และ กระดาษ เป็นต้น

3. เมล็ดข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ๑ ใบพลูแห้งบด

4. แปลงทดลอง แปลงเกษตรกร รถยนต์ อุปกรณ์การเตรียมแปลงและวัสดุต่าง ๆ เช่น จอบ เสียม พลั่ว กระดาษ ถุงพลาสติกขนาดต่าง ๆ กาวทนความชื้น ปากกาหมึกเคมีชนิดถาวร สมุดบันทึก ถังโฟม blue ice pack ฯลฯ หัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดเชื้อ

R. solanacearum ปุ๋ย สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดแมลง ฯลฯ

วิธีการ

ดำเนินการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวมันฝรั่งโดยวิธีผสมผสาน ในสภาพแปลงทดลองและในไร่เกษตรกร วางแผนการทดลองแบบ CRD, 4 ซ้ำ, 5 กรรมวิธี ปลูก 4 แถวต่อหนึ่งกรรมวิธี แถวยาว 4 เมตร ระยะระหว่างแถว 90 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 30 เซนติเมตร ระยะระหว่างกรรมวิธี 2 เมตร ระยะระหว่างซ้ำ 4 เมตร มีขั้นตอนในการดำเนินการทดลองตามลำดับดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 การใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคอย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 2 การปลูกพืชหมุนเวียน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์

กรรมวิธีที่ 3 การไถตากดิน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์

กรรมวิธีที่ 4 การใช้สารสมุนไพร + การใช้เชื้อปฏิปักษ์

กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีเปรียบเทียบ

ตรวจนับจำนวนต้นเป็นโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียในทุกกรรมวิธี เมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 20 และ 40 วันและเก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่ออายุ 100 วัน

<u>ขยายผลการควบคุมโรคเหี่ยวแปคทีเรียในไร่เกษตรกร</u>

ทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวช่วงปลายฝน ต.ค. 49 – ก.พ.50 แปลงเกษตรกร 6 ราย พื้นที่ 35 ไร่ มีที่ อ.พร้าว 4 ราย และ อ.แม่แตง 2 ราย ตรวจดินพบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว $10^3 – 10^5$

โคโลนีต่อกรัมดิน ตรวจหัวพันธุ์ของเกษตรกรที่เข้าร่วมการทดลอง ด้วยชุดตรวจ NCM ELISA Rs Kit พบว่าไม่มีเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวติดมากับหัวพันธุ์ ทำการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวแปลงเกษตรกรโดย คลุกเชื้อปฏิปักษ์กับหัวพันธุ์มันฝรั่ง 5500 กก. ใช้เชื้อ 10^9 cfu ปริมาตร 50 ลิตร แล้วจึงนำไปปลูก ในแปลงทดลองที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวดังกล่าว แล้วรดเชื้อปฏิปักษ์ในแปลงทดลอง โดยใช้เชื้อ 10^6 cfu ปริมาตรหลุมละ 5 มล. ครั้งที่1, 2 และครั้งที่ 3 เมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 10, 20 และ 30 วัน ตามลำดับ กรรมวิธีเปรียบเทียบของเกษตรกรแต่ละรายใช้แปลงของเกษตรกรเจ้าเดียวกันแต่ไม่ใช้เชื้อปฏิปักษ์ ตรวจนับจำนวนต้นเป็นโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียในทุกแปลงเกษตรกรเมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 20 และ 40 วัน และทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวช่วงกลางฝน มิ.ย. 50 – ต.ค.50 แปลงเกษตรกร 10 รายพื้นที่ 50 ไร่ ที่ อ.พบพระ จ.ตาก โดยดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองช่วงปลายฝน

เวลาและสถานที่

1. อ.พบพระ จ.ตาก
2. อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่
3. ทดสอบการความคุมโรคในไร่เกษตรกรที่ อ.พร้าว และ อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่ และ อ.พบพระ จ.ตาก

ผลการทดลองและวิจารณ์

ตาราง แปลงทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากโดยวิธีผสมผสาน

กรรมวิธี	สถานที่ทดลอง			
	จ. ตาก		จ. เชียงใหม่	
	การเป็นโรค (%)	ผลผลิต (กก/ไร่)	การเป็นโรค (%)	ผลผลิต กก/ไร่)
การใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคอย่างเดียว	1.86	-	2.93	3,584
การปลูกพืชหมุนเวียน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์	1.45	-	2.76	3,560
การไถตากดิน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์	2.58	-	5.16	3,608
การใช้สารสมุนไพร + การใช้เชื้อปฏิปักษ์	1.77	-	2.84	3,581
กรรมวิธีเปรียบเทียบ	3.04	-	58.44	614

<u>หมายเหตุ</u> การทดลองที่จังหวัดตากเกิดภาวะฝนแล้งไม่การเก็บเกี่ยวผลผลิต

พบว่าแปลงทดลองที่จังหวัดตากการพัฒนาการเป็นโรคไม่ดี กรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นโรค 3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ เป็นโรค 1-3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกิดสภาวะฝนแล้งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืชและการพัฒนาการเกิดโรค ต้นพืชไม่สมบรูณ์ ผลการทดลองที่จังหวัดเชียงใหม่พบว่าการใช้เชื้อแบคที่เรียปฏิปักษ์ DOA-W B-4 (*Bacilus subtilis*) (คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก อัตรา 10^9 cfu / มล. ปริมาตร 10 มล ต่อ กิโลกรัมหัวพันธุ์ และราดด้วยเชื้อดังกล่าว อัตรา 10^6 cfu / มล.ปริมาตร 10 มล ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน) เพียงอย่างเดียวให้ผลในการควบคุมโรคได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้วิธีการอื่นร่วมด้วย (การปลูกพืชหมุนเวียน, การตากดิน, การใช้สารสมุนไพร) พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 2.8 – 5.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบพบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 58 เปอร์เซ็นต์

ขยายผลการทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของฝรั่งในแปลงเกษตรกร ระหว่างปี 2549-2550 ในพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อ.แม่แตง, อ.พร้าว จ.เชียงใหม่ และ อ.พบพระ จ.ตาก พื้นที่ 5 ไร่ (เกษตรกร 2 ราย) 25 ไร่ (เกษตรกร 6 ราย) และ 50 ไร่ (เกษตรกร 10 ราย) เรียงตามลำดับ พบว่าการใช้เชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวได้ผลดีเป็นที่พอใจของเกษตรกรโดยลดการเกิดโรคเหี่ยวได้

0- 65 %

Table 10. Biological control of bacterial wilt on potato in **several farms** under bacterial wilt disease infected area by its antagonists DOA-WB4.

Location (ampur/province)	Address	Area (Ha)	Rs. population in soil before experiment	No treated DOA-WB4 (Bact. wilt%)[1]/yield(Kg/Ha)	Treated DOA-WB4 (Bact. wilt%)[2]/yield(Kg/Ha)
	Niphone	0.5	$2.4x10^2$	0 / 16,820	0 / 17,500
MaeTang/ Chiengmai	86 Moo5				
	Inson	0.5	$1.4x10^2$	0 / 18,438	0 / 19,535
	54 Moo 5				
Praw/	Jom	0.5	$2.8x10^2$	5 / 15,320	0 / 16,562
Chiengmai	30 Moo3				
	Maitree	0.5	$4.4x10^4$	40 / 9,345	5 / 15,525
	11 Moo3				
	Lued	0.5	$5.4x10^4$	35 / 9,667	5 / 15,448
	65 Moo3				
	Kampan	0.5	$3.4x10^4$	25 / 11,878	5 / 15,968
	12 Moo4				
	Boonyoung	2.0	$5.4x10^3$	5 / 15,880	0 / 16,241
	143 Moo4				
	Jan	0.5	$3.4x10^4$	35 / 9,512	10 / 15,026
	39 Moo 4				
Pob Pra/	Jaipet	0.8	$5.8x10^4$	70 / 7,664	5 / 15,332
Tak	4Moo5				
	Noi	0.8	$4.4x10^4$	45 / 8,734	3 / 15,447
	560Moo7				
	Saknarong	0.8	$9.8x10^2$	25 / 12,009	5 / 15,447
	54 Moo2				
	Vorames	0.8	$8.4x10^3$	45 / 8, 896	5 / 15,328
	280Moo2				
	Thitiporn	0.8	$3.8x10^2$	35 / 9,607	5 / 15,118
	656 Moo 7				
	Kamnoi	0.8	$7.8x10^2$	30 / 11,485	7 / 14,985
	394 Moo 7				
	Rungpipat	0.8	$6.6x10^4$	40 / 9,555	8 / 15,005
	26 Moo 5				
	Pad	0.8	$2.1x10^3$	30 / 10, 814	5 / 15,626
	151 Moo 7				
	Suthat	0.8	$5.2x10^4$	35 / 9,744	5 / 15,482
	252 Moo 2				
	Prasert	0.8	$5.3x10^4$	35 / 10,078	7 / 14,886
	588 Moo 7				

Note : Statistic analysis is not requirement.

1/ = Disease severity with visual inspection and Rs. NCM ELISA detection with area 1- 5.92 Ha

2/ = Disease severity with visual inspection and Rs. NCM ELISA detection at area 0.8 Ha

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ยังไม่เสร็จสิ้นการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Aino, M., Maekawa, Y., Mayama, S and Kato, H. 1998. The use of endophytic bacteria in biocontrol. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number 2.10.5s.

Ciampi, L., Fuentes, R., Schobitz, R., Bernal, G. and Oyarzun, J. 1998. Biological control of *Ralstonia solanacearum* : Alginate beads as carriers for antagonistic cells. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B2.

French, E.R., Anguiz, R. and Aley, P. 1997. The usefulness of potato resistance to *Ralstonia solanacearum* for the integrated control of bacterial wilt. *In*. Bacterial wilt : Molecular and Ecology aspects.

Prior, P., Allen, C. and Elphinestone, J. (eds.) INRA edn., Springer Verlag, Berlin, Germany. pp. 381 – 385.

Frey, P., Prior, P., Marie, C., Kotoujansky, A., Trigalet, D.D. and Trigalet, 1994. Hrp-(sup) mutants of *Pseudomonas solanacearum* as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt. *Appl. Environ. Microbiol*. 60 (9) 3175-3181.

Guo, J., Qi, H. and Li, S. 2002. Biocontrol efficiency of three PGPR strains admixture to pepper bacteria wilt. Bacterial wilt newsletter. 17: 3.

Hara, H. and Ono, K. 1984. The semi selective medium for soil isolation of *Ralstonia solanacearum*. *Plant protection* (Shokubutsu boeki). 38:76-79. (Japanese language)

Hayward, A.C. 1995. Symtematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. *In*: Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative agent, *Pseudomonas solanacearum.* Hayward, A.C. and Hartman, G.L. (eds.) CABI, Wallingford. pp.123 – 135.

Karuna, K., Khan, A.N.A. and Ravikumar, M.R. 1998. Potential of biocontrol agents in the management of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B3.

Kelaniyangoda, D.B. 1998. Bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) management in potato and tomato using botanicals and chemicals. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B13.

Kelman, A. 1954. The relationship and pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a triphenyl tetrazorium chloride media. *Phytopathology*. 44:693 - 695.

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

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

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

Nesmith, W.C. and Jenkins, J.S.F. 1985. Influence of antagonists and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. Phytopathology 75 : 1182-1187.

Richardson, J., Elephinstone, J, Stead, D. and Coutts, R. 1998. Differentiation of *Burkholderia cepacia* isolates by fatty acid profiling and PCR for biocontrol of *Ralstonia solanacearum. In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number 3.5.16

Sanaina, V., Kishore, V. and Shekhawat, G.S. 1998. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and other bacteria. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B5.

Shiomi, Y., Nishiyama, M., Onizuka, T. and Marumoto, T. 1999. Comparison of bacterial community structures in the rhizoplane of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt. *Appl. Environ. Microbiol*. 65 (9) 3996-4001.

Suthaya, C. 1984. Study on bacterial wilt of tomato. M.Sc. Thesis, Kasetsart university, Bangkok, Thailand 234 Pp

Tans-Kersten, J., Huang, H. and Allen, C. 2001. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *Journal of Bacteriology*. 183 (12) 3597-3605.

Urutchata, K. 1991. Biological control of tomato bacterial wilt by *Pseudomonas solanacearum*. M.Sc. Thesis, Kasetsart university, Bangkok, Thailand. 199 Pp.

Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., and Nishiuchi, Y. 1995.Transfer of 2 *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia picketti* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. Nov. and *Ralstonia Eutropha* (Davis 1969) comb. Nov. *Micr*

ประสิทธิภาพของสาร abamectin ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในมันฝรั่ง

Efficacy of Abamectin in Controlling the Root-knot Nematodes, *Meloidogyne* spp., in Potatoes

มนตรี เอี่ยมวิมังสา บัญชา ชิณศรี
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การปลูกมันฝรั่งพันธุ์ Alantic ลงในดินที่มีหัวมันฝรั่งที่เป็นโรคหัวหูดฝังอยู่ 5 หัว/กระถาง แล้วราดดินด้วยสาร abamectin พร้อมปลูก 3 อัตราคือ 6.2 มล./น้ำ 20ลิตร 12.4 มล./น้ำ 20 ลิตร และ24.8 มล./น้ำ 20ลิตร เปรียบเทียบกับการไม่ใช้สาร abamectin และการใช้สาร abamectin ราดซ้ำอัตราเดิมอีก 1 ครั้งหลังปลูก 1 เดือน รวมเป็น 7 กรรมวิธี เพื่อช่วยลดการทำลายจากไส้เดือนฝอยที่ออกมาจากหัวหูดเดิมไม่ให้ทำลายหัวของมันฝรั่งที่เกิดใหม่ ทำการทดลองที่สถานีทดลองพืชสวนพบพระ ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตตาก ตั้งแต่เดือนมกราคม2550 ถึงเดือน กันยายน 2550 พบว่า ผลผลิตเฉลี่ยของมันฝรั่งในกรรมวิธีควบคุม (control) มีน้ำหนักเท่ากับ 117 กรัมต่อกระถาง ระดับการเกิดหูดมีค่าเท่ากับ 3 ในขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ มีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 105.4 ถึง 110 กรัมต่อกระถาง ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สาร abamactin ที่อัตราความเข้มข้น 6.2 12.4 และ 24.8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้งต่อ 1 ฤดูปลูก ระดับการเกิดหูดมีค่าเท่ากับ 2.4 2.2 และ 2.4 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การใช้สาร abamectin ที่อัตราความเข้มข้นเดียวกันนี้ จำนวน 2 ครั้งต่อ 1 ฤดูปลูก มีผลในการลดการเกิดหูดบนหัวมันฝรั่งได้เช่นกัน โดยที่อัตราความเข้มข้น 6.2 12.4 และ 24.8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ระดับการเกิดหูดเท่ากับ 1.8 2 และ 1.6 ตามลำดับ

ดังนั้นสาร abamectin จึงสามารถลดการเกิดหูดอันเนื่องมาจากไส้เดือนฝอยรากปมในมันฝรั่งได้ แต่ในแง่ของประสิทธิภาพแล้วยังถือว่าไม่ดีมากนัก เนื่องจากในการทดลองครั้งนี้ใช้หัวมันฝรั่งที่มีไส้เดือนฝอยรากปมอยู่เป็น inoculum ทำให้ไม่สามารถตรวจนับปริมาณประชากรของไส้เดือนฝอยรากปมก่อนปลูกได้

รหัสโครงการ 01-16-49-05

คำนำ

สารป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพืช (Nematicides) เป็นสารชนิดเดียวกันกับสารกำจัดแมลง (Insecticides) จัดอยู่ในกลุ่มซึ่งมีพิษร้ายแรงประเภทดูดซึมหรือสลายตัวช้า เพราะต้องมีสารออกฤทธิ์(Active Ingredient)ที่คงทนต่อปฏิกิริยาและปัจจัยอื่นๆของดิน สารเคมีบางชนิดจึงมีการศึกษาทั้งการควบคุมแมลงและไส้เดือนฝอย สารอะบาเม็กติน (abamectin) เป็นสารที่ได้จากการสกัดน้ำหมักของเชื้อรา *Streptomyces avermitilis* (Anonymous, 2004) และมีการนำมาใช้ในการควบคุมแมลงและไรในพืชอีกหลายชนิด เช่น มะเขือเทศ ส้ม ฝ้าย สตรอเบอร์รี่ และพืชผักหลายชนิด โดยหน่วยงานควบคุมสิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา (U.S. Environmental Protection Agency หรือ EPA) จัดให้อยู่ในสารประเภท ที่ 4 (Class 4 Toxicity) หรือ ไม่มีอันตรายในทางปฏิบัติ ได้ทำการศึกษาหาความเป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมอย่างละเอียด สาร abamectin ออกฤทธิ์ต่อแมลงโดยการทำลายระบบประสาท (Anonymous, 2004) โดยแมลงที่ได้รับสาร abamectin จะมีอาการเป็นอัมพาท และลดการหาอาหาร และตายในที่สุด กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา (2547) แนะนำการใช้ สารนี้ควบคุมไรขาวพริก หนอนชอนใบส้ม หนอนใยผักและหนอนคืบกะหล่ำ นอกจากใช้ในการควบคุมศัตรูพืชแล้ว สาร abamectin ยังสามารถนำไปใช้ทางภายนอกและภายใน (external or internal uses) ในการควบคุมตัวไรของสัตว์เลี้ยงในบ้าน (pets) และทางปศุสัตว์ด้วย ในทางการค้ามีการผลิตสาร abamectin ในลักษณะเหยื่อล่อ (baits) เพื่อการควบคุมแมลงสาบและมด นอกจากนี้ยังมีการใช้สาร abamectin เพื่อการควบคุมพยาธิในมนุษย์อีกด้วย สำหรับการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืช Sipes and Chinnasri (unpublished data) พบว่าสาร abamectin ที่อัตรา 16 ออนด์ต่อน้ำ 100 แกลลอนมีผลในการควบคุมไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ในหน้าวัวได้ 50%ภายใน 6 เดือนเปรียบเทียบกับการไม่ใช้สารเคมี ในขณะที่ Jager and Daneel (1998) ฉีดสารนี้เข้าไปที่เหง้ากล้วยอัตรา 0.1 มล./ต้น ช่วยลดการระบาดของไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ได้

เนื่องจากไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) เป็นศัตรูพืชที่สำคัญชนิดหนึ่งในการปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย การศึกษาเพื่อให้ได้สารเคมีชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้นในการควบคุมไส้เดือนฝอยชนิดนี้จึงมีความเป็นอย่างยิ่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สาร abamectin (Vertimec 1.8%EC)
2. หัวมันฝรั่งที่มีไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) เข้าทำลายเป็นโรคหัวหูด
3. กระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว

4. ดินปลูกพืชทดลอง
5. หัวพันธุ์มันฝรั่งพันธุ์ Atlantic

วิธีการ

แผนการทดลอง แบบ RCB มี 7 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใช้สารเคมี (control)
กรรมวิธีที่ 2 ราดสารเคมี abamectin ที่อัตรา 6.2 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เมื่อปลูก
กรรมวิธีที่ 3 ราดสารเคมี abamectin ที่อัตรา 12.4 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เมื่อปลูก
กรรมวิธีที่ 4 ราดสารเคมี abamectin ที่อัตรา 24.8 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เมื่อปลูก
กรรมวิธีที่ 5 ราดสารเคมี abamectin ที่อัตรา 6.2 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เมื่อปลูกและหลังจากนั้น 1 เดือน
กรรมวิธีที่ 6 ราดสารเคมี abamectin ที่อัตรา 12.4 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เมื่อปลูกและหลังจากนั้น 1 เดือน
กรรมวิธีที่ 7 ราดสารเคมี abamectin ที่อัตรา 24.8 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร 1 ครั้ง เมื่อปลูกและหลังจากนั้น 1 เดือน

นำดินที่ใช้ปลูกมันฝรั่งบรรจุลงในกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว จำนวน 35 กระถาง หลังจากนั้นนำหัวมันฝรั่งที่มีอาการโรคหูดอันเนื่องมาจากการทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม ใส่ลงในกระถางจำนวน 5 หัวต่อหลังจากนั้นนำหัวมันฝรั่งปกติลงปลูกในกระถาง (1 หัวต่อหนึ่งกระถาง) และทำการราดสารเคมีตามกรรมวิธีที่กล่าวมาแล้วข้างต้น (ในการเตรียมสารละลายต้องทำการผสมสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ลงไปด้วย หลังจากนั้นราดสารละลายที่เตรียมได้ในปริมาณ 500 มิลลิลิตรต่อกระถาง) ทำการดูแล ให้น้ำและปุ๋ย ตามวิธีการปฏิบัติกับการปลูกมันฝรั่งทั่วไป ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตมันฝรั่งที่ 100 วันหลังการปลูก ชั่งน้ำหนักหัวมันฝรั่งที่เกิดใหม่คิดเป็นกรัมต่อกระถาง หลังจากนั้นทำการตรวจนับปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมภายในดินสุดท้าย (Final population) เช่นเดียวกับการตรวจนับปริมาณไส้เดือนฝอยเริ่มต้น คำนวณค่าอัตราส่วนการขยายพันธุ์ของประชากรไส้เดือนฝอย จากสูตร

$$\text{Reproductive factor value } (Rf) = \frac{\text{Final population } (Pf)}{\text{Initial population } (Pi)}$$

คำนวณความรุนแรงของโรค หรือเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคหัวหูดโดยสุ่มหัวมันฝรั่งมากระถางละ 1 หัว วัดพื้นที่ของหัวมันฝรั่งที่มีอาการหูด โดยแบ่งออกเป็น 5 ระดับ ดังนี้ :-

0 = ไม่มีหูด; 1 = มีหูดเกิดขึ้นเล็กน้อย; 2 = เกิดหูดน้อยกว่า 25%; 3 = เกิดหูด 25-50%; 4 = เกิดหูด 51-75%; และ 5 = เกิดหูดมากกว่า 75%

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2550 สถานีทดลองพืชสวนพบพระ ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต ตาก

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลผลิตของมันฝรั่งในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกัน โดยพบว่าผลผลิตเฉลี่ยของมันฝรั่งในกรรมวิธีควบคุม (control) มีค่าเท่ากับ 117 กรัมต่อกระถาง ในขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ มีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 105.4 ถึง 110 กรัมต่อกระถาง นอกจากนี้การใช้สาร abamectin ที่อัตราความเข้มข้นสูงสุดคือ 24.8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 2 ครั้งต่อหนึ่งฤดูปลูก ไม่ได้ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อมันฝรั่งแต่อย่างใด สาร abamactin มีผลในการลดการเกิดหูดบนหัวมันฝรั่ง โดยในกรรมวิธีควบคุม (control) ระดับการเกิดหูดมีค่าเท่ากับ 3 หรือพื้นที่การเกิดหูดมีค่าอยู่ระหว่าง 25-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หัวมันฝรั่งทั้งหมดหนึ่งหัว ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สาร abamactin ที่อัตราความเข้มข้น 6.2 12.4 และ 24.8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 1 ครั้งต่อ 1 ฤดูปลูก ระดับการเกิดหูดมีค่าเท่ากับ 2.4 2.2 และ 2.4 ตามลำดับ (พื้นที่การเกิดหูดมีค่าน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หัวมันฝรั่งทั้งหมดหนึ่งหัว) อย่างไรก็ตาม การใช้สาร abamectin ที่อัตราความเข้มข้นเดียวกันนี้ จำนวน 2 ครั้งต่อ 1 ฤดูปลูก มีผลในการลดการเกิดหูดบนหัวมันฝรั่งได้เช่นกัน โดยที่อัตราความเข้มข้น 6.2 12.4 และ 24.8 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ระดับการเกิดหูดเท่ากับ 1.8 2 และ 1.6 ตามลำดับ

ดังนั้นสาร abamectin จึงสามารถลดการเกิดหูดอันเนื่องมาจากไส้เดือนฝอยรากปมในมันฝรั่งได้ แต่ในแง่ของประสิทธิภาพแล้วยังถือว่าไม่ดีมากนัก เนื่องจากในการทดลองครั้งนี้ใช้หัวมันฝรั่งที่มีไส้เดือนฝอยรากปมอยู่เป็น inoculum ทำให้ไม่สามารถตรวจนับ ปริมาณประชากรของไส้เดือนฝอยรากปมก่อนปลูกได้ และประสิทธิภาพของสาร abamectin ในการเคลื่อนที่เข้าสู่หัวมันฝรั่งเพื่อทำลายไส้เดือนฝอยที่อยู่ข้างในนั้นยังต่ำ มนตรีและคณะ (2543)รายงานว่าการนำหัวมันฝรั่งที่เป็นโรคหัวหูดฝังไว้ดินเพื่อศึกษาช่วงเวลาการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอย M. incognita ใน 2 เดือนแรก ปริมาณไส้เดือนฝอยออกมาสู่ดินไม่สม่ำเสมอ พบเฉลี่ย 126 ตัว/ดิน 500 กรัมเมื่อปลูกได้ 75 วัน บางหัวอาจเน่าสลายไปมีไส้เดือนฝอยเพียง 18 ตัว ดังนั้นอาจมีไส้เดือนฝอยบางตัวที่อาศัยอยู่ลึกภายในหัวมันฝรั่งและรอดพ้นจากการสัมผัสกับสาร abamectin ได้

สรุปผลการทดลอง

งานนี้ยังไม่สามารถสรุปผลการทดลองได้ ได้คุณสมบัติของ abamectin ไม่ค่อยดีเนื่องจากพบปัญหามีปริมาณตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปมหลังปลูก เฉลี่ยน้อยกว่า 100 ตัว ต่อกระถางทดลอง แต่ยังพอสรุปได้ว่า สาร abamectin ช่วยลดปริมาณไส้เดือนฝอยรากปมให้ออกมาจากหัวหูดได้น้อยลง หัวมันฝรั่งที่เกิดใหม่จึงเป็นโรคหัวหูดน้อยลง ทั้งนี้ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกมาก เช่นการเคลือบหัวพันธุ์ด้วยสาร abamectin ก่อนปลูก ตลอดจนการเปรียบเทียบสาร abamectin ในชื่อการค้าต่างๆ ซึ่งมีอยู่มากมายหลายบริษัท ต้องหาวิธีการและความเข้มข้นที่เหมาะสมของ abamectin ในแปลงที่มีไส้เดือนฝอยระบาดมากในแหล่งปลูกและฤดูกาลที่แตกต่างกัน

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เอกสารวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และสมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 284 หน้า.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา ไตรเดช ข่ายทอง และประยูร สมฤทธิ์. 2543. โรคหัวหูดของมันฝรั่ง. เอกสารประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร วันที่ 8-20 มีนาคม 2543 ณ โรงแรมลองบีช อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี. หน้า 33.

Anonymous. 2004.Pesticide Info : Abamectin. Ministry of Agriculture, Food and Fisheries,

British Columbia. 2 pp.

Jager, K. de and M. Daneel. 1998. Abamectin Might be and Alternative Nematode Control Measure for Bananas. Nematological Abstracts 67(4) : 234.

ตารางที่ 1. น้ำหนักผลผลิตของมันฝรั่งในกระถางปลูก และระดับการเกิดโรคหัวหูดของมันฝรั่งที่เกิดจากการทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*

กรรมวิธี	ผลผลิต(กรัม/กระถาง)	ระดับการเกิดโรคหัวหูด
1. Control	117.0 ns	3.0 c
2. abamectin 6.2 มล./น้ำ 20 ลิตร 1ครั้ง	105.4	2.4 b
3. abamectin 12.4 มล./น้ำ 20 ลิตร 1ครั้ง	107.5	2.2 b
4. abamectin 24.8 มล./น้ำ 20 ลิตร 1ครั้ง	113.0	2.4 b
5. abamectin 6.2 มล./น้ำ 20 ลิตร 2ครั้ง	109.0	1.8 ab
6. abamectin 12.4 มล./น้ำ 20 ลิตร 2ครั้ง	108.8	2.0 b
7. abamectin 24.8 มล./น้ำ 20 ลิตร 2ครั้ง	110.0	1.6 a
เฉลี่ย	110.1	2.2
% CV		17.8

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าดำ ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina*

Reaction of Sweet Sorghum Lines Resistant to Charcoal Rot, Caused by *Macrophomina phaseolina*

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์[1/]

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บรวบรวมตัวอย่างต้นข้าวฟ่างหวานเป็นโรคลำต้นเน่าดำหรือ charcoal rot จากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2549 นำมาแยกราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี Tissue transplanting technique และเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และปลูกเชื้อกลับบนใบข้าวฟ่างหวานเพื่อพิสูจน์โรคตามสมมติฐานของ Koch จำแนกราสาเหตุโรคได้คือ *Macrophomina phaseolina* ศึกษาเปรียบเทียบชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของโคโลนี พบว่าราเจริญได้ดีบนอาหาร PDA, half-PDA และ OMA (oatmeal agar) ทดสอบการเกิดโรคในสภาพห้องปฏิบัติการกับใบข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี คือ สายพันธุ์ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585และ Wray พบว่า ทั้ง 6 สายพันธุ์แสดงอาการโรค ทำการปลูกเชื้อเพื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่แสดงอาการโรค คือ UTIS-23585 และ Wray

คำค้น (Keywords) *Macrophomina phaseolina*, charcoal rot, sweet sorghum, ข้าวฟ่างหวาน, โรคลำต้นเน่าดำ

รหัสโครงการ 01-17-49-06

[1/] ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่

คำนำ

ข้าวฟ่างหวาน (sweet sorghum; *Sorghum bicolor* L. Moench.) หรือข้าวฟ่างพันธุ์หวาน จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับข้าวฟ่าง เจริญได้ดีในดินที่มีลักษณะร่วนเหนียว หน้าดินลึก การระบายน้ำดี และมีค่าความเป็นกรด-ด่างหรือ pH อยู่ระหว่าง 5.5-8.7 (นิรนาม, 2547) เป็นพืชที่มีน้ำหวานในลำต้น (juicy stem: D *gene)* และมีรสหวาน (sweet stalk; *x gene*) คล้ายอ้อย สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายรูปแบบ ทั้งในรูปของพืชอาหารสัตว์และอาหารมนุษย์ โดยการหีบเอาน้ำหวานมาแปรรูปและใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล (เอธิลแอลกอฮอล) (ธำรงศิลป และคณะ, 2549) จึงมีการนำข้าวฟ่างหวานบางพันธุ์เข้ามาปลูกในประเทศไทย โดยได้นำพันธุ์ Rio Wray และ Keller จากประเทศสหรัฐอเมริกาเข้ามาปลูกตั้งแต่ปี 2523 ซึ่งทั้ง 3 พันธุ์เจริญเติบโตดีและให้เปอร์เซ็นต์น้ำตาลสูงกว่าพันธุ์เดิมถึง 2 เท่า (กรึก, 2524) ข้าวฟ่างหวานจึงจัดเป็นพืชพลังงานในการผลิตเอทานอล เพื่อทดแทนอ้อยและมันสำปะหลังในช่วงขาดแคลน แต่เนื่องจากลักษณะต่างๆ ของข้าวฟ่างหวานยังผันแปรไปเนื่องจากผลกระทบจากสภาพแวดล้อม ค่อนข้างสูงทั้งในลักษณะทางปริมาณ และคุณภาพ ดังนั้นในการปรับปรุงพันธุ์จึงเน้นให้ข้าวฟ่างหวานมีผลผลิตต้นสดสูง คุณภาพความหวานดี และปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้กว้าง ต้านทานต่อโรคแมลงได้ปานกลาง โดยเฉพาะโรคที่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำคั้น

โรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal rot มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* จัดเป็นโรคทางลำต้นที่สำคัญโรคหนึ่งสามารถมีพืชอาศัยได้มากกว่า 500 ชนิด (Mehan and McDonald, 1997) รวมทั้งข้าวฟ่าง (Frederiksen, 1986) ทำความเสียหายให้กับต้นข้าวฟ่างในช่วงระหว่างฤดูปลูก โดยเข้าทำลายพืชทางระบบท่อน้ำท่ออาหาร เปลี่ยนภายในลำต้นให้มีสีน้ำตาลไหม้ถึงดำ สภาพแวดล้อมที่ร้อนและแห้งเป็นปัจจัยหนึ่งที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค (Cook *et al*., 1973)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานต่อโรคลำต้นเน่าดำหรือ charcoal rot ในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง รวบรวมเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับนำไปพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานต่อโรคในสภาพไร่ และเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคเพื่อส่งเสริมให้มีการปลูกขยายพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างต้นข้าวฟ่างหวานเป็นโรค
2. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิดได้แก่ คือ potato dextrose agar (PDA), half-PDA, oatmeal agar (OMA), cornmeal agar (CMA) และ WA (water agar)

4. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการและกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงแบบ compound และ stereo

5. ถุงปลูกสีดำ

6. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

1. แยกเชื้อสาเหตุ

เก็บตัวอย่างต้นข้าวฟ่างหวานเป็นโรคลำต้นเน่าดำจากแปลงปลูกภายในศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2549 นำแยกราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี Tissue transplanting technique โดยตัดขวางกลางลำต้นข้าวฟ่างหวานและตัดเนื้อเยื่อที่เป็นโรคขนาดประมาณ 3-5 มม. ฆ่าเชื้อด้วย clorex 10% ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง วางบนอาหาร water agar (WA) บ่มเชื้อไว้ 3-4 วันจนเห็นเส้นใยเจริญ ย้ายเชื้อไปเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเห็นการสร้างโคโลนี บันทึกลักษณะและสีของโคโลนีราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. พิสูจน์โรคตามสมมติฐานของ Koch (Koch's postulate)

เลือกใช้ใบข้าวฟ่างหวานจากต้นอายุ 2 เดือน โดยเลือกใบที่อยู่ตำแหน่งกลางต้น เช็ดใบด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ตัดใบตามขวางขนาดยาว 2 นิ้ว วางบนอาหาร ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. เจาะอาหาร PDA ที่มีราสาเหตุโรคเจริญอยู่ตรงบริเวณขอบโคโลนี วางชิ้นวุ้นคว่ำบนรอยตัดที่ขอบใบข้าวฟ่างหวานตรงเส้นกลางใบตามวิธีที่ดัดแปลงจากการทดสอบใบต้น alfalfa และ white clover ของ Pratt *et al*. (1998) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องปกติ 7-10 วัน บันทึกลักษณะแผลและอาการโรค

3. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

ใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่มีรา *Macrophomina phaseolina* เจริญอยู่วางบนแผ่น สไลด์ที่หยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อไว้ ปิดทับด้วยแผ่น cover slip นำแผ่นสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงชนิด compound บันทึกลักษณะรูปร่างและขนาดของรา

4. เปรียบเทียบชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญ

ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. เจาะอาหาร PDA ที่มีรา *Macrophomina phaseolina* สาเหตุโรค charcoal rot เจริญอยู่ตรงบริเวณขอบโคโลนี นำมาวางกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิดคือ PDA, half-PDA, oatmeal agar (OMA), cornmeal agar (CMA) และ WA วางจานอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเห็นเชื้อราเจริญ บันทึกเปรียบเทียบลักษณะและสีของโคโลนีราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกัน

5. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาวิธีทดลองการเกิดโรคที่เหมาะสม แยกวิธีวางชิ้นวุ้นทดสอบออกเป็น 2 ตำแหน่งคือ วางที่ขอบรอยตัดของใบตรงเส้นกลางใบตามวิธีที่ดัดแปลงจากการทดสอบใบต้น alfalfa และ white clover ของ Pratt *et al*. (1998) และวางตรงกลางใบ เลือกใช้ใบข้าวฟ่างหวานจากต้นอายุ 2 เดือน โดยเลือกใบที่อยู่ตำแหน่งกลางต้น เช็ดใบด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ตัดใบตามขวางขนาดยาว 2 นิ้ว วางบนอาหาร WA และใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. เจาะอาหาร PDA ที่มีรา *Macrophomina paesolina* สาเหตุโรคอายุ 7 วัน เจริญอยู่ตรงบริเวณขอบโคโลนี วางชิ้นวุ้นคว่ำบนใบข้าวฟ่างหวานตรงตำแหน่งที่กำหนดไว้ข้างต้น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องปกติ 7-10 วัน บันทึกอาการที่เกิดบนในเปรียบเทียบระหว่างวางขอบใบตรงเส้นกลางใบและวางกลางใบ

การศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ใช้สายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ทดสอบโดยใช้วิธีทดลองที่เหมาะสมจากการทดสอบเบื้องต้น เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่วางด้วยชิ้นวุ้นอาหาร PDA ไม่มีเชื้อ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องปกติ 7-10 วัน บันทึกลักษณะแผลและอาการโรคเปรียบเทียบความรุนแรงของแต่ละสายพันธุ์

6. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

การศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ใช้สายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray โดยใช้ข้าวฟ่างหวานอายุ 2 เดือนที่ปลูกในถุงปลูกสีดำในเรือนปลูกพืชทดลอง ทดสอบตามวิธีการของ Echávez-Badel and Beave (1987) ที่ใช้ทดสอบถั่วกับรา *Macrophomina phaseolina* สาเหตุโรค โดยใช้ไม้จิ้มฟันอบฆ่าเชื้อจิ้มชิ้นวุ้นที่มีราสาเหตุโรคอายุ 7 วัน เจริญอยู่ตรงบริเวณขอบโคโลนี แทงต้นข้าวฟ่างหวานบริเวณโคนต้นเหนือดินเหนือข้อแรกให้ชิ้นวุ้นที่มีราเจริญอยู่ตรงกับรอยแผลที่

แทง สำหรับชุดควบคุมจะใช้ชิ้นวุ้นที่ไม่มีเชื้อ ดูแลรดน้ำให้ปุ๋ยตามความเหมาะสม บันทึกสายพันธุ์ที่เกิดโรค

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2550

ห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. แยกเชื้อสาเหตุ

อาการโรคลำต้นเน่าดำหรือ charcoal rot ในตัวอย่างข้าวฟ่างหวาน จะปรากฏให้เห็นโดยต้นข้าวฟ่างหวานจะล้มเนื่องจากท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลาย เมื่อตัดทางขวางจะพบส่วนกลางต้นกลวง มีกลุ่มผงของสปอร์เชื้อราสีดำและกลุ่มของท่อน้ำท่ออาหารเป็นเส้นๆ ผลการจำแนกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการได้เชื้อสาเหตุโรค คือ รา *Macrophomina phaseolina* โคโลนีเริ่มแรกเป็นสีขาวน้ำตาลต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเทาตรงกลางเป็นเทาดำ ขอบสีดำ เมื่อโคโลนีอายุมากจะเปลี่ยนเป็นสีดำทั้งหมด เส้นใยขึ้นฟู พบการสร้าง sclerotia เป็นเม็ดสีดำขนาดเล็กจำนวนมากที่ด้านล่างของจานอาหาร ตรงกับการศึกษา Sutton (1980) ที่รายงานว่าโคโลนีรา *M. phaseolina* บนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีดำ sclerotia เป็นเม็ดสีดำขนาดเล็ก

2. พิสูจน์โรคตามสมมติฐานของ Koch (Koch's postulate)

แผลบนใบข้าวฟ่างหวานที่ได้รับการปลูกเชื้อด้วยโคโลนีรา *M. phaseolina* มีลักษณะเป็นแผลเน่าฉ่ำน้ำ เชื้อราเจริญคลุมทับผิวหน้าของใบเป็นแถบสีดำ มีจุดสีดำขนาดเล็กมากขึ้นกระจัดกระจายทั่วไป เส้นกลางใบเปลี่ยนเป็นสีดำ คล้ายอาการโรคที่พบบนตัวอย่างต้นข้าวฟ่างหวานที่นำมาแยกเชื้อ จึงสรุปได้ว่าราดังกล่าวเป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสจริงตรงตามสมมติฐานของ Koch (Koch's postulate) ที่กล่าวว่า จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่แยกได้จากพืชเป็นโรคหากนำมาแยกหาเชื้อสาเหตุ และนำเชื้อที่แยกได้ปลูกเชื้อกลับไปที่ต้นพืชปกติชนิดเดิม พืชต้นใหม่ต้องแสดงอาการโรคและบาดแผลเหมือนพืชเป็นโรคต้นเดิม (Agrios, 2005) การเข้าทำลายเริ่มจาก inoculum ที่อยู่ข้ามฤดูในดินและเมล็ดในรูป sclerotia เข้าทำลายพืชในช่วงอากาศร้อนและแห้งแล้ง เชื้อจะเข้าทำลายต้นกล้าตรงบริเวณข้อที่อยู่ใกล้พื้นดิน ในระยะแรกของการเข้าทำลายสีของลำต้นต้นกล้าจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง สีน้ำตาลและสีดำ ต่อมาแผลลุกลามขึ้นไปตามข้อที่อยู่ถัดขึ้นไป เนื้อเยื่อท่อน้ำท่ออาหารของลำต้นที่ถูกทำลายจะมีลักษณะเป็นเส้นสีดำ เมื่อตัด

ทางขวางจะพบส่วนกลางต้นกลวง มีกลุ่มผงสีดำหรือ sclerotia จำนวนมากแทรกอยู่ตามเส้นสีดำ (Williams *et al.* 1978; White, 1999)

3. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

การศึกษาสัณฐานวิทยารา *M. phaseolina* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เส้นใยรา (hyphae) ใสไม่มีสี พบ sclerotia ชนิด microsclerotia สีดำจำนวนมาก ลักษณะค่อนข้างกลมถึงยาวรี ตรงตามการศึกษาของ Sutton (1980) กล่าวคือราสาเหตุโรค charcoal rot คือ *M. phaseolina* (Tassi) Goidanich จัดอยู่ใน SubDivision Deuteromycotina formClass Coelomycetes

4. เปรียบเทียบชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญ

ลักษณะการเจริญของรา *M. phaseolina* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด พบว่าราสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร PDA, half-PDA และ OMA โดยเจริญเต็มจานอาหารภายใน 5 วัน ในขณะที่โคโลนีราบนอาหาร CMA มีขนาดเล็กกว่าครึ่งหนึ่งของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร PDA, half-PDA และ OMA ส่วนโคโลนีราบนอาหาร WA มีการเจริญน้อยที่สุด

5. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดสอบเบื้องต้นพบว่ารา *M. phaseolina* สามารถทำให้เกิดอาการแผลเป็นโรคบนใบข้าวฟ่างหวานได้ในตำแหน่งวางชิ้นวุ้นที่ขอบใบ ทั้งนี้เนื่องจากการเข้าทำลายของราในกลุ่มนี้จะเริ่มจาก microsclerotium งอก germ tube และแทงเข้าสู่ผนังเซลพืชอาศัยโดยวิธีใช้แรงดันและการสร้างเอนไซม์ย่อยผนังเซล หรือเข้าสู่พืชทางช่องเปิดธรรมชาติ (Bowers and Russin, 1999) ดังนั้นการตัดใบตามขวางเป็นสร้างบาดแผลให้พืช จึงน่าจะเป็นการสร้างช่องเปิดให้เชื้อราเข้าสู่พืชได้อีกทางหนึ่ง นอกจากนี้ตำแหน่งที่วางชิ้นวุ้นมีเชื้อราอยู่ใกล้เส้นกลางใบซึ่งเป็นตำแหน่งของท่อน้ำท่ออาหาร ทำให้เชื้อรามีโอกาสเข้าทำลายได้ง่ายขึ้น

ทดสอบปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 6 สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray โดยใช้วิธีวางชิ้นวุ้นที่ขอบใบ ผลการทดลองพบว่ารา *M. phaseolina* ทำให้เกิดอาการโรค charcoal rot ได้บนใบข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 สายพันธุ์

6. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

ทดสอบปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 6 สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray พบว่าพันธุ์ UTIS-23585 และ Wray แสดงอาการโรค ข้อใกล้บริเวณแผลที่ปลูกเชื้อมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาลแดงในระยะแรกก่อนและลุกลามขึ้นไปตามลำต้นจนเห็นเป็น

แผลสีน้ำตาลแดงขนาดใหญ่รอบข้อ ก่อนลุกลามขึ้นไปตามข้อด้านบน เมื่อผ่าดูด้านในลำต้น พบว่ากลางลำต้นกลวง ท่อน้ำท่ออาหารเป็นเส้นๆ และพบกลุ่มผงของสปอร์เชื้อราสีดำขึ้นแทรกทั่วไป

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาและจำแนกราสาเหตุโรคลำต้นเน่าดำหรือ charcoal rot ของข้าวฟ่างหวาน เป็นโรคที่เก็บตัวอย่างจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2549 จำแนกชนิดของราได้เป็น *M. phaseolina* (Tassi) Goidanich เชื้อราสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร PDA half-PDA และ OMA การทดสอบปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในห้องปฏิบัติการพบว่าทุกสายพันธุ์แสดงอาการโรคบนใบ การทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองสายพันธุ์ที่แสดงอาการโรคคือ UTIS-23585 และ Wray

เอกสารอ้างอิง

กรึก นฤทุม. 2524. ข้าวฟ่างหวาน. หน้า 96-105. ใน สัมมนาพิเศษ หัวข้อ มหาวิทยาลัยกับการพัฒนาอุตสาหกรรม. จัดโดยชมรมนักวิชาการอ้อยและน้ำตาลแห่งประเทศไทย ณ ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

นิรนาม. 2547 . ข้าวฟ่าง. หน้า 181-205 ใน สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 14. พิมพ์ครั้งที่ 9. รุ่งศิลป์การพิมพ์ (1977). กรุงเทพฯ

ธำรงศิลป โพธิสูง สมชาย ปิยพันธวานนท์ และถวิล นิลพยัคฆ์. 2549. ข้าวฟ่างหวานพันธุ์ Suwan Sweet #4. ใน นิทรรศการ "บนเส้นทางงานวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี 2549" ระหว่างวันที่ 27 มกราคม –4 กุมภาพันธ์ 2549 ณ อาคารจักรพันธ์เพ็ญศิริ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th ed. Elvesier-Academic Press. New York. 922 p.

Bower, G.R., and Russin, J.S. 1999. Soybean disease management. *In* Soybean Production in the Mid-south. Heatherly, L.G. and Hodges, H.F. (eds.). CRC Press.

Cook,G.E., M.G. Boosalis, L.D. Dunkle and Odvody, G.N. 1973. Survival of *Macrophomina phaseolina* in corn and sorghum stalk residue. *Plant Dis. Reptr.* 57:873-875.

Echávez-Badel, R. and Beaver, J.S. 1987. Resistance and susceptibility of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to ashy stem blight [*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.]. J. Agri. Puerto Rico 71 : 403-405.

Frederiksen,R.A. 1986. Compendium of sorghum diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 82 pp.

Mehan, V. K. and McDonald, D. 1997. Charcoal Rot. In Compendium of peanut diseases, 2nd Edition. N. Kokalis-Burelle et al. eds. APS Press. St. Paul MN.

Pratt, R.G., McLaughlin, M.R., Pederson, G.A., and Rowe, D.E. 1998. Pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* to mature plant tissues of alfalfa and white clover. *Plant Dis.* 82:1033-1038.

Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes : Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acevuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, London, UK. 696 p.

Williams, R.J., Frederiksen, R.A., and Girard, J.C. 1978. Sorghum and Pearl Millet Disease Identification Handbook. Informtion Bulletin No. 2. ICRISAT. Texas A&M University. TX. 88 p.

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum*

Reaction of Sweet Sorghum Lines Resistant to Anthracnose, Caused by *Colletotrichum sublineolum*

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ พีระวรรณ พัฒนวิภาส ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์[1/]

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บรวบรวมตัวอย่างต้นข้าวฟ่างหวานเป็นโรคแอนแทรคโนสจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2549 นำมาแยกราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี Tissue transplanting technique บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ในสภาพให้แสง NUV (near Ultraviolet) นาน 12 ชั่วโมงสลับกับที่มืดนาน 12 ชั่วโมง เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และปลูกเชื้อกลับบนใบข้าวฟ่างหวานเพื่อพิสูจน์โรคตามสมมติฐานของ Koch จำแนกราสาเหตุโรคได้คือ *Colletotrichum sublineolum* ศึกษาเปรียบเทียบชนิดอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของโคโลนี พบว่าราเจริญได้ดีบนอาหาร PDA, half-PDA และ OMA (oatmeal agar) ทดสอบการเกิดโรคในสภาพห้องปฏิบัติการกับใบข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี คือ สายพันธุ์ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585และ Wray พบว่า ทั้ง 6 สายพันธุ์แสดงอาการโรค ทำการปลูกเชื้อเพื่อทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสคือ BJ-281 และ Wray โดยที่สายพันธุ์ Wray อ่อนแอต่อโรคมากที่สุด

คำค้น(Keywords) *Colletrotrichum sublineolum*, anthracnose, sweet sorghum, ข้าวฟ่างหวาน, โรคแอนแทรคโนส

รหัสโครงการ 01-17-49-06

[1/] ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่

คำนำ

ข้าวฟ่างหวาน หรือข้าวฟ่างพันธุ์หวาน (sweet sorghum หรือ sorgo) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sorghum bicolor* (L.) Moench จัดอยู่ในพืชตระกูลหญ้า (Graminae) เป็นพืชในกลุ่มเดียวกับข้าวฟ่าง ปลูกมากในประเทศสหรัฐอเมริกาและจีน ทนต่อสภาพแห้งแล้ง สามารถขึ้นได้ดีในดินแทบทุกชนิด ดินที่เหมาะสมสำหรับการปลูกข้าวฟ่างหวานให้ได้ผลผลิตสูงสุดคือ ดินที่มีลักษณะร่วนเหนียว หน้าดินลึก การระบายน้ำดี pH ของดินไม่มีผลกระทบกระเทือนต่อการเจริญเติบโตมากนัก สามารถขึ้นได้ในดินที่มีค่า pH ระหว่าง 5.5-8.7 (นิรนาม, 2539) ข้าวฟ่างหวานได้รับการพัฒนาพันธุ์มาจากข้าวฟ่างดั้งเดิมเพื่อใช้ประโยชน์จากลำต้น โดยจุดเด่นของข้าวฟ่างหวานเมื่อเทียบกับอ้อยอยู่ที่ ข้าวฟ่างหวานให้ผลผลิตสูงกว่า 3 เท่าตัวและให้ผลผลิตได้ปี 3 ครั้ง เนื่องจากมีอายุปลูกเพียง 100-120 วัน (ประสิทธิ์, 2548) นอกจากนี้ในลำต้นข้าวฟ่างหวานมีน้ำหวานที่ไม่ต้องผ่านขบวนการตกผลึกคือ syrup jappery brown sugar สามารถนำไปหีบทำเป็นน้ำเชื่อมหรือน้ำตาลได้เช่นเดียวกับอ้อย จากเดิมที่นำต้นสดและเมล็ดข้าวฟ่างหวานไปใช้เฉพาะในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ปัจจุบันจึงมีการนำน้ำหวานจากลำต้นมาหมักเพื่อผลิตเอทานอล (เอธิลแอลกอฮอล์) โดยลำต้นข้าวฟ่างหวานในพื้นที่ปลูก 1 ไร่ สามารถนำไปผลิตเป็นเอทานอลได้ประมาณ 1,120 ลิตร (กรมวิชาการเกษตร, 2548) มีการนำข้าวฟ่างหวานบางพันธุ์เข้ามาปลูกในประเทศไทยแต่ไม่เป็นที่แพร่หลาย จนในปี 2523 ได้นำพันธุ์ Rio Wray และ Keller จากประเทศสหรัฐอเมริกาเข้ามาปลูก ซึ่งทั้ง 3 พันธุ์เจริญเติบโตดีและให้เปอร์เซ็นต์น้ำตาลสูงกว่าพันธุ์เดิมถึง 2 เท่า (กรึก, 2524) ข้าวฟ่างหวานจึงนับเป็นพืชที่มีศักยภาพสูงชนิดหนึ่ง สามารถปลูกเสริมอ้อยและมันสำปะหลัง เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการผลิตเอทานอลช่วงที่ไม่มีผลผลิตจากอ้อยและมันสำปะหลัง

โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) มีสาเหตุเกิดจากราใน genus *Colletotrichum* จัดเป็นโรคทางใบที่สำคัญโรคหนึ่งที่ทำความเสียหายให้กับต้นข้าวฟ่างหวานในช่วงระหว่างต้นโต โดยมีสภาพแวดล้อมเป็นปัจจัยหนึ่งที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค (Duke, 1983) อาการโรคโดยทั่วไปสามารถพบเกิดได้กับทุกส่วนของต้นพืชที่อยู่เหนือดินโดยเฉพาะอย่างยิ่งอาการบนใบ เริ่มจากแผลจุดช้ำสีเทาขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลางแผล 1-5x1-3 มม. เมื่ออาการรุนแรงมากขึ้นแผลจะขยายใหญ่ยาวไปตามเส้นใบเป็นรูปรี (elongate) ขอบแผลสีแดงเข้มถึงน้ำตาลดำ ตรงกลางแผลเป็นแผลไหม้แห้งสีซีดคล้ายสีฟางข้าวแห้ง เป็นบริเวณที่เกิดของ acevulus จำนวนมากเห็นเป็นจุดสีดำขนาดเล็ก (วิรัชและคณะ, 2528) อาการบนต้นข้าวฟ่าง มักพบแผลเกิดขึ้นบริเวณก้าน (ลำต้น) เห็นเป็นแถบสีแดงเข้มถึงดำ ในบางครั้งจึงเรียกโรคนี้ว่าโรคลำต้นเน่าแดง (red stalk rot) (Wharton *et al*., 2001) ในกรณีที่เกิดการระบาดของโรครุนแรงและใช้ข้าวฟ่างพันธุ์อ่อนแอ ต้นข้าว

ฟ่างจะตายก่อนถึงอายุให้ผลผลิต มีรายงานว่าโรคนี้ทำให้ผลผลิตข้าวฟ่างเสียหายถึง 50-88.7% หากใช้พันธุ์อ่อนแอปลูก (Ferriera and Warren, 1982)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาบางลักษณะของรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสที่พบในข้าวฟ่างหวาน เพื่อการจัดจำแนกชนิดและใช้เป็นข้อมูลสำหรับการวิจัยหาวิธีการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค ศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง เพื่อรวบรวมเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคในสภาพไร่ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างต้นข้าวฟ่างหวานเป็นโรค
2. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิดได้แก่ คือ potato dextrose agar (PDA), half-PDA, oatmeal agar (OMA), cornmeal agar (CMA) และ WA (water agar)
4. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการและกล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงแบบ compound และ stereo
5. ถุงปลูกสีดำ
6. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

1. แยกเชื้อสาเหตุและทำ single spore

เก็บตัวอย่างต้นข้าวฟ่างหวานเป็นโรคแอนแทรคโนสจากแปลงปลูกภายในศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2549 นำแยกราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี Tissue transplanting technique โดยตัดเนื้อเยื่อใบข้าวฟ่างหวานขนาดประมาณ 3-5 มม. บริเวณแผลเป็นโรคที่พบจุดสีดำของ acevulus ให้ติดส่วนของเนื้อเยื่อที่ไม่เป็นโรค ฆ่าเชื้อด้วย clorex 10% ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง วางบนอาหาร water agar (WA) บ่มเชื้อไว้ 3-4 วันจนเห็นเส้นใยเจริญ ย้ายเชื้อไปเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเห็นการสร้างโคโลนี ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวซึ่งบรรจุน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ 5 มล. ทำ conidia ให้แขวนลอยอยู่ในน้ำโดยการเขย่าหลอดทดลองบนเครื่องเขย่า (shaker) ที่ความเร็วสูงสุดนาน 3 วินาที จำนวน 2-3 ครั้ง ใช้ลูบเขี่ยเชื้อตักน้ำในหลอดขึ้นมาแตะลากลูบสลับไปมาบนอาหาร WA

ตรวจหา conidia เดี่ยวตามรอยลากของลูบบนอาหาร WA ด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบ compound ใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมตัดชิ้นวุ้นมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA วางจานอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้องใต้แสง near Ultraviolet (NUV) เป็นเวลา 12 ชั่วโมงสลับแสงกับที่มืดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นการสร้าง conidia ก่อนย้ายจานอาหารมาที่อุณหภูมิห้องและใต้แสงปกติจนเห็นเชื้อราเจริญ บันทึกลักษณะและสีของโคโลนีราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ก่อนใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราบนอาหาร PDA บริเวณขอบโคโลนีและย้ายมาเลี้ยงบนอาหาร oatmeal agar (OMA) และปฏิบัติเช่นเดียวกับการเลี้ยงบนอาหาร PDA จนเห็นเชื้อราเจริญ บันทึกลักษณะและสีของโคโลนีราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ OMA

2. พิสูจน์โรคตามสมมติฐานของ Koch (Koch's postulate)

เลือกใช้ใบข้าวฟ่างหวานจากต้นอายุ 2 เดือน โดยเลือกใบที่อยู่ตำแหน่งกลางต้น เช็ดใบด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ตัดใบตามขวางขนาดยาว 2 นิ้ววางบนอาหาร ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. เจาะอาหาร PDA ที่มีรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสเจริญอยู่ตรงบริเวณขอบโคโลนี วางชิ้นวุ้นคว่ำบนกลางใบข้าวฟ่างหวาน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องปกติ 10-14 วัน บันทึกลักษณะแผลและอาการโรค

3. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

ใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่มีรา *Colletotrichum* spp. เจริญอยู่ วางบนแผ่น สไลด์ที่หยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อไว้ ปิดทับด้วยแผ่น cover slip นำแผ่นสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงชนิด compound บันทึกลักษณะรูปร่างและขนาดของ appressoria, conidia, sclerotia และ setae

4. เปรียบเทียบชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญ

ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. เจาะอาหาร PDA ที่มีรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสเจริญอยู่ตรงบริเวณขอบโคโลนี นำมาวางกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิดคือ PDA, half-PDA, oatmeal agar (OMA), cornmeal agar (CMA) และ WA วางจานอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้องใต้แสง near Ultraviolet (NUV) เป็นเวลา 12 ชั่วโมงสลับแสงกับที่มืดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนย้ายจานอาหาร PDA มาที่อุณหภูมิห้องและใต้แสงปกติจนเห็นเชื้อราเจริญ บันทึกเปรียบเทียบลักษณะและสีของโคโลนีราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อต่างชนิดกัน

5. **ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพห้องปฏิบัติการ**

การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาวิธีทดลองการเกิดโรคที่เหมาะสม แยกวิธีทดสอบออกเป็น 2 วิธีคือ ทำแผลบนใบและไม่ทำแผล เลือกใช้ใบข้าวฟ่างหวานจากต้นอายุ 2 เดือน โดยเลือกใบที่อยู่ตำแหน่งกลางต้น เช็ดใบด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ตัดใบตามขวางขนาดยาว 2 นิ้ว วางบนอาหาร WA และใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. เจาะอาหาร PDA ที่มีรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสอายุ 7 วัน เจริญอยู่ตรงบริเวณขอบโคโลนี วางชิ้นวุ้นคว่ำบนกลางใบข้าวฟ่างหวาน วิธีทำแผลจะใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มม. เจาะทำแผลบริเวณกลางใบก่อนวางชิ้นวุ้นเชื้อราปิดทับ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องปกติ 10-14 วัน บันทึกอาการที่เกิดบนในเปรียบเทียบระหว่างวิธีทำแผลและไม่ทำแผล

การศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ใช้สายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ทดสอบโดยใช้วิธีทดลองที่เหมาะสมจากการทดสอบเบื้องต้น เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่วางด้วยชิ้นวุ้นอาหาร PDA ไม่มีเชื้อ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องปกติ 10-14 วัน บันทึกลักษณะแผลและอาการโรคเปรียบเทียบความรุนแรงของแต่ละสายพันธุ์

6. **ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง**

การศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ใช้สายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray โดยใช้ข้าวฟ่างหวานอายุ 2 เดือนที่ปลูกในถุงปลูกสีดำในเรือนปลูกพืชทดลอง ทดสอบโดยใช้ไม้จิ้มฟันอบฆ่าเชื้อจิ้มชิ้นวุ้นที่มีรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสอายุ 7 วัน เจริญอยู่ตรงบริเวณขอบโคโลนี แทงต้นข้าวฟ่างหวานบริเวณโคนต้นเหนือดินใต้ใบล่างสุดให้ชิ้นวุ้นที่มีราเจริญอยู่ตรงกับรอยแผลที่แทง สำหรับชุดควบคุมจะใช้ชิ้นวุ้นที่ไม่มีเชื้อ ดูแลรดน้ำให้ปุ๋ยตามความเหมาะสม บันทึกสายพันธุ์ที่เกิดโรค

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2550

ห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. แยกเชื้อสาเหตุและทำ single spore

รา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสแยกได้จากข้าวฟ่างหวานสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร PDA และ OMA กลางโคโลนีมีสีขาวเทาถึงเทาดำ ขอบริมนอกสีเขียวเทา เส้นใยสีเทาดำขึ้นฟูเล็กน้อยไม่หนาแน่นมาก พบจุดสีดำขนาดเล็กกว่า 1 มม. เกิดกระจัดกระจายทั่วไปเต็มด้านล่างของจานอาหาร เมื่อเปรียบเทียบกับโคโลนีรา *C. graminicola* ที่แยกได้จากข้าวโพดในการศึกษาของพจนาและกนกทิพย์ (2550) พบว่าแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยรา *C. graminicola* สร้างกลุ่ม conidia (conidial mass) สีส้มขึ้นกระจัดกระจายทั่วผิวหน้าอาหาร ตรงกับการศึกษา Sutton (1968 และ 1980) และวิรัชและคณะ (2528) ที่รายงานว่ารา *C. graminicola* แยกจากข้าวโพดจะสร้างกลุ่ม conidia สีส้มของปลาแซลมอน (salmon orange) ในขณะที่โคโลนีรา *C. sublineolum* แยกได้จากข้าวฟ่างเป็นสีเทา เส้นใยเป็นสีเทาถึงเทาเขียว ขอบสีเขียวเทา ขึ้นฟูเล็กน้อยในอากาศเหนือผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ และสร้างกลุ่ม conidia สีเทาถึงเทาเขียว

2. พิสูจน์โรคตามสมมติฐานของ Koch (Koch's postulate)

แผลบนใบข้าวฟ่างหวานที่ได้รับการปลูกเชื้อด้วยโคโลนีรา *Colletotrichum* spp. มีลักษณะเป็นแผลจุดช้ำขนาดเล็ก ต่อมาแผลขยายใหญ่เป็นรูปรี (elongate) ยาวไปตามความยาวของใบ ขอบแผลสีแดงเข้มหนาประมาณ 1 มม. ตรงกลางเป็นแผลไหม้แห้งสีซีดเหมือนสีฟางข้าว พบกลุ่ม acevulus เป็นจุดสีดำขนาดเล็กประมาณ 1 มม. และอวัยวะลักษณะคล้ายหนามสีดำจำนวนมากขึ้นกระจัดกระจายทั่วบริเวณแผลไหม้แห้ง เหมือนกับอาการโรคที่พบบนตัวอย่างต้นข้าวฟ่างหวานที่นำมาแยกเชื้อ จึงสรุปได้ว่าราดังกล่าวเป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสจริงตรงตามสมมติฐานของ Koch (Koch's postulate) ที่กล่าวว่า จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืชที่แยกได้จากพืชเป็นโรคหากนำมาแยกหาเชื้อสาเหตุ และนำเชื้อที่แยกได้ปลูกเชื้อกลับไปที่ต้นพืชปกติชนิดเดิม พืชต้นใหม่ต้องแสดงอาการโรคและบาดแผลเหมือนพืชเป็นโรคต้นเดิม (Agrios, 2005) แผลบนใบที่พบดังกล่าวเกิดจากการเข้าทำลายพืชของรากลุ่มนี้ เริ่มจาก conidium งอก germ tube ในนาทีที่สัมผัสกับผิวใบพืช (Mercure *et al*., 1994) germ tube เข้าไปเจริญและสร้างเส้นใยอยู่ภายในชั้น epidermal ในช่วง 24 ชั่วโมงแรกหลังการปลูกเชื้อ พัฒนาเป็น primary hyphae secondary hyphae และ appressorium ภายใน 42 ชั่วโมง secondary hyphae เข้าไปเจริญอยู่ในช่องว่างระหว่างชั้น epidermal mesophyll และเนื้อเยื่อท่อลำเลียงสร้างเป็น acevulus เป็นสาเหตุทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นตายกลายเป็นแผลจุดช้ำสีเทา ต่อมาเมื่อความรุนแรงมากขึ้นแผลขยายใหญ่ขึ้นกลายเป็นรูปรี (elongate) สีน้ำตาล และเป็นแผลไหม้แห้งสีฟางข้าว (Wharton *et al*., 2001)

3. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

โคโลนีรา *Colletotrichum* spp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เส้นใยรา (hyphae) มีลักษณะใส ไม่มีสี (hyaline) มีผนังกั้น ปลายเส้นใยเป็นที่เกิดของ appressoria จำนวนมาก มีรูปร่างและขอบเขตไม่แน่นอน (irregular-edge shape) สีน้ำตาลเข้ม (dark brown) ยาว 4-23 (±13.8) x 6-22 (±9.9) μm อัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้าง หรือ L:W ratio (Length : Width ratio) คือ 1.1 (±5.9) μm เส้นใยบางตำแหน่งมีการพัฒนาเป็น secondary hyphae มีลักษณะบวมพองเป็นกระเปาะ conidia มีลักษณะเป็นเซลเดี่ยว ใสไม่มีสี รูปร่างโค้งงอเหมือนพระจันทร์เสี้ยว (lunate shape) ปลายแหลม (apices acute) ขนาด 17-39 (±4.0) x 3-4.5 (±0.62) μm L:W ratio คือ 6.8 (±1.6) μm เจริญอยู่ใน acevulus โดยมีสารเหนียวสีน้ำตาลหุ้มอยู่ พบการสร้าง sclerotia อย่างหนาแน่นบริเวณล่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะค่อนข้างกลมสีดำและมี setae จำนวนมากเกิดอยู่ระหว่าง sclerotia มีลักษณะคล้ายหนามปลายแหลม มีผนังกั้น 3-6 ผนัง สีน้ำตาลเข้ม ยาว 24-100 (±109.7) μm (ภาพที่ 2) ซึ่งสัณฐานวิทยาของรา *Colletotrichum* spp. ตัวอย่างมีลักษณะใกล้เคียงกับรา *C. sublineolum* มากกว่ารา *C. graminicola* ตรงตามการศึกษาของ Sutton (1968 และ 1980) Tsukiboshi (2002) และรายงานของวิรัชและคณะ (2528) กล่าวคือราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในข้าวฟ่างคือ *Colletotrichum sublineolum* P. Henn. apud Kabát & Bub. เป็นระยะไม่อาศัยเพศ (imperfect stage) จัดอยู่ใน SubDivision Deuteromycotina formClass Coelomycetes ระยะอาศัยเพศ (perfect stage) คือ *Glomellera sublineolum* เดิมมีรายงานการวินิจฉัยว่ารา *C. graminicola* เป็นเชื้อสาเหตุโรคนี้ แต่จากการศึกษาลักษณะ appressorium ของรา *C. graminicola* ซึ่งแยกได้จากข้าวฟ่าง พบว่ามีลักษณะแตกต่างจากรา *C. graminicola* ที่พบเจริญอยู่ในข้าวโพดอย่างเห็นได้ชัดเจน ต่อมาจำแนก *Colletotrichum* spp. จากข้าวฟ่างเป็น *C. sublineolum* (Sutton, 1980) และได้รับการยืนยันว่าราทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกันโดยการตรวจสอบด้วยวิธีการทาง อนูชีวโมเลกุลของ rDNA sequence (Muriwaki *et al*., 2002; Du *et al*., 2005)

4. เปรียบเทียบชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญ

ลักษณะการเจริญของรา *C. sublineolum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด พบว่าราสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร PDA, half-PDA และ OMA โดยเจริญเต็มจานอาหารภายใน 8 วัน ในขณะที่โคโลนีราบนอาหาร CMA มีขนาดเล็กกว่าครึ่งหนึ่งของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร PDA, half-PDA และ OMA ส่วนโคโลนีราบนอาหาร WA มีการเจริญน้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากอาหาร WA เตรียมจากวุ้นและน้ำเพียง 2 ชนิดไม่มีแหล่งธาตุอาหารอื่นต่างจากอาหาร PDA half-PDA และ OMA มี

ธาตุอาหารบางชนิดที่มีประโยชน์ต่อการเจริญและการสร้างเส้นใยราเช่น คาร์บอน ไนโตรเจน ฯลฯ ธาตุอาหารเหล่านี้ได้จากมันฝรั่ง น้ำตาล ข้าวโอ๊ตซึ่งเป็นองค์ประกอบในสูตรการเตรียมอาหาร ทั้ง 3 ชนิด

5. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดสอบเบื้องต้นพบว่ารา *C. sublineolum* สามารถทำให้เกิดอาการแผลเป็นโรคบนใบข้าวฟ่างหวานได้ทั้งในใบที่ทำแผลและไม่ทำแผล แต่อาการที่พบบนใบที่ทำแผลมีความรุนแรงมากกว่า (ภาพที่ 3) ทั้งนี้เนื่องจากการเข้าทำลายของราในกลุ่มนี้เริ่มจาก conidium งอก germ tube ในนาทีที่สัมผัสกับผิวใบพืช (Mercure *et al*., 1994) เพื่อแทงเข้าสู่เซลพืชผ่านเซลผิวภายนอกของพืช (cuticle) โดยตรง เป็นวิธีที่ราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสส่วนใหญ่ใช้ในการเข้าทำลายพืช (Bailey *et al*., 1992) แต่หากพืชเกิดบาดแผลขึ้นบนเนื้อเยื่อ ราจะสามารถเข้าทำลายรุนแรงมากขึ้นได้โดยการเจริญคลุมเนื่อเยื่อพืชที่ตายและสร้างสปอร์ขยายพันธุ์ตรงแผลอย่างรวดเร็ว (Van der Bruggen *et al*., 1990) ทำให้อาการที่ปรากฏบนใบที่ทำแผลรุนแรงมากกว่าบนใบที่ไม่ทำแผล

ทดสอบปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 6 สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ใช้วิธีไม่ทำแผลเนื่องจากการผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าวิธีนี้ไม่ยุ่งยากและประหยัดเวลาในการเตรียมพืชเพื่อทดสอบ และสามารถตรวจการเข้าทำลายของเชื้อได้ ผลการทดลองพบว่ารา *C. sublineolum* ทำให้เกิดอาการโรคแอนแทรคโนสได้บนใบข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 สายพันธุ์

6. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

ทดสอบปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 6 สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray พบว่าพันธุ์ BJ-281 และ Wray แสดงอาการโรค แผลตรงบริเวณที่ปลูกเชื้อมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาลแดงในระยะแรกก่อนและลุกลามขึ้นไปตามลำต้นจนเห็นเป็นแผลสีน้ำตาลแดงขนาดใหญ่รอบลำต้น

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาและจำแนกราสาเหตุโรคแอนเทรคโนสของข้าวฟ่างหวานเป็นโรคที่เก็บตัวอย่างจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ในปี พ.ศ. 2549 จำแนกชนิดของราได้เป็น *Colletotrichum sublineolum* P. Henn. apud Kabát & Bub. เชื้อราสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร PDA half-PDA และ OMA การทดสอบปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในห้องปฏิบัติการพบว่าทุก

สายพันธุ์แสดงอาการโรคบนใบ การทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองสายพันธุ์ที่แสดงอาการโรคคือ BJ-281 และ Wray

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร . 2548. ข้าวฟ่างหวาน. จดหมายข่าวผลิใบ 8(4):1-2.

กรึก นฤทุม. 2524. ข้าวฟ่างหวาน. หน้า 96-105. ใน สัมมนาพิเศษ หัวข้อ มหาวิทยาลัยกับการพัฒนาอุตสาหกรรม. จัดโดยชมรมนักวิชาการอ้อยและน้ำตาลแห่งประเทศไทย ณ ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

นิรนาม. 2547 . ข้าวฟ่าง. หน้า 181-205 ใน สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 14. พิมพ์ครั้งที่ 9. รุ่งศิลป์การพิมพ์ (1977). กรุงเทพฯ

ประสิทธิ์ ใจศีล. 2548. หวั่นอุตฯ ผลิตเอทานอลอีสานขาดวัตถุดิบ หนุน “ข้าวฟ่างหวาน” ปลูกเสริมผลิตทั้งปี. *ผู้จัดการออนไลน์* ฉบับวันที่ 22 เมษายน 2548.
http://www.manager.co.th/Local/Views.aspx?NewsID=9480000054172

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และ กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2550 ลักษณะลักษณะบางประการของเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในข้าวฟ่างหวาน. หน้า 208-209. ใน เอกสารการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 8 ‘อารักขาพืชไทยใต้ร่มพระบารมี’ ณ โรงแรมอมรินทร์ลากูน จ.พิษณุโลก ระหว่างวันที่ 20-22 พฤศจิกายน 2550. (บทคัดย่อ)

วิรัช ชูบำรุง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน และพัฒนา สนธิรัตน. 2528. ศึกษาเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ในประเทศไทย. หน้า 128-140 ใน : รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2528 เล่ม 1. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. 5th ed. Elvesier-Academic Press. New York. 922 p.

Bailey, J.A., O’Connell, R.L., Pring, R.J., and Nash, C. 1992. Infection strategies of *Colletotrichum* species. Pages 88-120. in : *Colletotrichum* : Bilogy, Pathology and Control. Bailey, J.A. and Jeger, M.J. (eds.). CAB International, Wallingford. UK

Du, M., Schardl, C.L., Nuckles, E.M., and Vailancourt, L.J. 2005. Using mating-type gene sequences for improved phylogenetic resolution of *Colletotrichum* species complex. *Mycologia* 97(3):641-658.

Duke, J. A. 1983. Handbook of Energy Crops. Available online :
http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Sorghum_bicolor.html#Ecology

Ferriera, A.S. and Warren, H.L. 1982. Resistance of sorghum to *Colletotrichum graminicola*. *Plant Disease* 66:773-775

Mercure, E.W., Kunoh, H. and Nicholson, R.L. 1994. Adhesion of *Colletotrichum graminicola* conidia to corn leaves : a requirement for disease development. *Physiologhical and Molecular Plant Pathology* 45:407-420.

Moriwaki, J., Tsukiboshi, T. and Sato, T. 2002. Grouping of *Colletotrichum* species in Japan based on r DNA sequences. *J. Gen. Plant. Pathol*. 68:307-320.

Sutton, B.C. 1968. The appressoria of *Colletotrichum graminicola* and *C. falcatum*. *Can. J. Bot.* 46:873-876.

_____. 1980. The Coelomycetes : Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acevuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, London, UK. 696 p.

Tsukiboshi, T. *Colletotrichum sublineolum* P. henn. Apud Kabat & Bub. Microbial Systemtics Lab. Natural Resources Inventory Center, NIAES. Japan.

Van der Bruggen, P., Gregoire, D., and Maraite, H. 1990. Temperature-induced alterations in the expression of susceptibility of cassava to *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *manihotis*. *J. of Pathopathology* 130(1): 46-58.

Wharton, P.S., Julian, A.M., and O'Connell, R.J. 2001. Ultrastructure of the infection of *Sorghum bicolar* by *Colletotrichum sublineolum*. *Phytopathology* 91(2) : 149-158.

Williams, R.J., Frederiksen, R.A., and Girard, J.C. 1978. Sorghum and Pearl Millet Disease Identification Handbook. Information Bulletin No. 2. ICRISAT. Hyderabad, India. 88 p.

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัทที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*

Reaction of some Sweet Sorghum Lines to Smut Caused by *Sphacelotheca cruenta*

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี พจนา ตระกูลสุขรัตน์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ออกสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคสมัทได้ 1 isolate จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี ตรวจดูและบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค และเก็บตัวอย่างแห้งพืชที่เป็นโรค ส่งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ และปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทในดินผสมปลูกและทิ้งไว้ 7 วันเพื่อให้เชื้อเจริญในดิน แล้วปลูกข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ เมื่อข้าวฟ่างอายุ 1 เดือนนำเนื้อเยื่อบริเวณตาของข้าวฟ่างหวานมาตรวจดูความต้านทานโรคสมัทบนข้าวฟ่างหวาน โดยดูการเข้าทำลายเซลพืชด้วยวิธีการย้อมสีเชื้อราในเซลข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ เปรียบเทียบกับตาของข้าวฟ่างหวานที่ไม่ได้ปลูกเชื้อและตาข้าวฟ่างหวานที่ไม่ได้ปลูกเชื้อในดิน พบว่าวิธีการปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวานข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ไม่แสดงอาการโรคสมัท สำหรับวิธีการปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทในดินพบว่าข้าวฟ่างหวานจำนวน 1 พันธุ์ได้แก่พันธุ์ RIO เมื่อนำเซลข้าวฟ่างหวานไปดูการเข้าทำลายของเชื้อราโดยวิธีการย้อมสีเชื้อราในเซลพืชพบเชื้อราในเซลข้าวฟ่างหวาน และพบว่าข้าวฟ่างหวานพันธุ์ RIO ที่มีเชื้อราในเซลแสดงอาการโรคสมัทบนช่อข้าวฟ่างหวาน สำหรับพันธุ์อื่นและพันธุ์ที่ไม่ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทในดินไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อรา

รหัสโครงการ 01-17-49-06

คำนำ

โรคสมัทหรือโรคราเขม่าดำ (Loose Smut Disease) มีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* พบว่ามีการระบาดของโรคนี้ครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2534 ในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี ซึ่งการระบาดไม่รุนแรงมากนัก แต่ในปีต่อๆมาพบว่าโรคนี้มีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ พบว่าเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สามารถเข้าทำลายที่ดอกโดยตรง หรืออาจเข้าทำลายส่วนเนื้อเยื่อเจริญหลังจากข้าวฟ่างงอก หรืออาจเข้าทำลายต้นกล้าโดยการปนเปื้อนของสปอร์เชื้อราที่อยู่ในดินหรือน้ำ โรคราเขม่าดำเป็นโรคที่มีการระบาดมากในข้าวฟ่างตอโดยพบว่าข้าวฟ่างตอที่เป็นโรคนี้ผลผลิตจะเสียหายถึง 100 % หรือไม่ได้รับผลผลิตเลย โรคนี้ไม่สามารถสร้างความเสียหายให้กับผลผลิตของข้าวฟ่างที่ปลูกก่อนตัดไว้ตอมากนักแต่เป็นโรคที่เป็นอุปสรรคสำคัญที่สุดของการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างเพื่อใช้ประโยชน์ในการการตัดต้นสดและเก็บเมล็ด(ประดิษฐ์และโกมินทร์, 2540) ประดิษฐ์ และโกมินทร์(2540) พบว่าอุณหภูมิดินที่ระดับความลึกต่างๆตั้งแต่ระดับผิวดินถึงอุณหภูมิดินที่ระดับความลึกถึง 10 เซนติเมตร มีความสัมพันธ์กับการเป็นโรคราเขม่าดำของข้าวฟ่างคือเมื่ออุณหภูมิดินสูงขึ้นจะทำให้เปอร์เซ็ฯต์การเป็นโรคเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่ออุณหภูมิของอากาศ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝนและจำนวนวันที่ฝนตกลดลงมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาปฏิกิริยาของข้าวฟ่างต่อโรคราเขม่าดำเพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานและให้ผลผลิตสูงต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการคัดเลือกขั้นต้นว่ามีคุณสมบัติที่ดีจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรีมาทดสอบ โดยเมล็ดพันธุ์ที่รวบรวมมาทดสอบเป็นเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์ ไม่คลุกสารป้องกันกำจัดเชื้อรา จำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ ศวร.สุพรรณบุรี(Cowley), พันธุ์ Keller, พันธุ์ต้นหวาน(UTIS2585), พันธุ์ Rio, พันธุ์ Wray, พันธุ์ BJ281
2. วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ
3. วัสดุและอุปกรณ์ในเรือนปลูกพืชทดลอง
4. สปอร์เชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*

วิธีการ

1. การสำรวจและเก็บเชื้อราสาเหตุโรคสมัท
2. การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคสมัท

3. การทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัท

3.1 การปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวาน

1. ให้ความชื้นแก่เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 2 วัน

2. นำเมล็ดพันธุ์จากข้อ 2 ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* บริเวณยอดของข้าวฟ่างหวานแล้วนำไปปลูกในกระถาง กระถางละ 2 ต้น

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ซ้ำละ 2 ต้น

3.2 การปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทในดิน

1. นำเชื้อ*Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทปลูกในดิน เป็นเวลา 7 วัน

2. ปลูกข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ ในกระถาง กระถางละ 2 ต้น

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ซ้ำละ 2 ต้น

3.3 การตรวจความต้านทานโรคสมัทบนข้าวฟ่างหวาน

นำข้าวฟ่างหวานอายุประมาณ 1 เดือนจากข้อ 3.1 และ 3.2 มาตัดบางๆที่ตาของข้าวฟ่างหวานจำนวน 15 ตาต่อพันธุ์ แล้วนำมาย้อมสีตามวิธีการของ Shinha(1982) ดังนี้ นำตาข้าวฟ่างหวานที่เตรียมได้มาย้อมสีใน 0.1% สารละลาย tryphan blue และ 10% ของสารละลาย sodium hydroxide นาน 1 คืน และล้างใน 80 % เอทธิลแอลกอฮอลล์ 2 นาที นำไปต้มใน lactophenol ให้เดือดนาน 2 นาที นำเนื้อเยื่อที่ย้อมสีแล้ววางบนสไลด์ ใช้ cover slip ปิดทับ กดเบาๆให้เนื้อเยื่อเจริญแบนลงในระนาบเดียวเพื่อตรวจดูเส้นใยภายใต้กล้องจุลทัศน์ เปรียบเทียบกับตาของข้าวฟ่างหวานที่ไม่ได้ปลูกเชื้อและตาของข้าวฟ่างหวานที่ไม่ได้ปลูกเชื้อในดิน

เวลาและสถานที่

กันยายน 2548 – ตุลาคม 2550

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บเชื้อราสาเหตุโรคสมัท

จากการออกสำรวจโรคสมัทของข้าวฟ่างในพื้นที่ปลูกข้าวฟ่างได้เก็บตัวอย่างข้าวฟ่างที่มีลักษณะอาการโรคสมัทได้ 1 isolate จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี ตรวจดูและบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูกพบช่อข้าวฟ่างมีสีดำ เมล็ดข้าวฟ่างรวมเป็นก้อนขนาดเล็กสีดำมีผงสีดำจำนวน

มากอยู่ภายใน เมล็ดข้าวฟ่างที่เป็นเมล็ดเดี่ยวมีลักษณะอาการสีดำเมื่อแกะเยื่อหุ้มเมล็ดออกพบผงสีดำจำนวนมากอยู่ภายใน พบใบขนาดเล็กบนช่อข้าวฟ่างที่แสดงอาการโรคสมัท

2. การจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคสมัท

นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคสมัทมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการพบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* โดยเชื้อสาเหตุ มีสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างกลม มีขนาด 7-8 ไมครอน

3. การทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัท

3.1 การปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวาน

ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ ดูการเข้าทำลายเซลพืชโดยวิธีการย้อมสีเชื้อราในเซลพืชไม่พบเชื้อราในเซลข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะวิธีการปลูกเชื้อใช้ปริมาณเชื้อไม่มากพอ หรืออาจเนื่องจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* เป็น obligate parasite ต้องมีชีวิตอยู่บนพืชอาศัยถ้าปลูกเชื้อช้าเกินไปอาจทำให้ปริมาณเชื้อที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคลดลง หรืออาจเป็นเพราะข้าวฟ่างหวานเป็นพันธุ์ต้านทาน

3.2 การปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทในดิน

แยกเชื้อสาเหตุ *Sphacelotheca cruenta* ที่ได้จากช่อดอกข้าวฟ่างปลูกเชื้อในดินผสมปลูกและทิ้งไว้ 7 วันเพื่อให้เชื้อเจริญในดิน แล้วปลูกพันธุ์ข้าวฟ่างหวานสำหรับทำการทดสอบจำนวน 6 พันธุ์ และเมื่อนำเซลข้าวฟ่างหวานไปดูการเข้าทำลายของเชื้อราโดยวิธีการย้อมสีเชื้อราในเซลพืชพบเชื้อราในเซลข้าวฟ่างหวานพันธุ์ RIO และพบว่าข้าวฟ่างหวานพันธุ์ RIO ที่มีเชื้อราในเซลแสดงอาการโรคสมัทบนช่อข้าวฟ่างหวานจำนวน 2 ต้น สำหรับพันธุ์อื่นไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อราและไม่พบอาการของโรคสมัทบนช่อข้าวฟ่างหวาน

สรุปผลการทดลอง

ออกสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคสมัทได้ 1 isolate จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี ตรวจดูและบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการพบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค และเก็บตัวอย่างแห้งพืชที่เป็นโรค ส่งเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ และปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทในดินผสมปลูกและทิ้งไว้ 7 วันเพื่อให้เชื้อเจริญในดิน แล้วปลูกข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ เมื่อข้าวฟ่างอายุ 1 เดือนนำเนื้อเยื่อบริเวณตาของข้าวฟ่างหวานมาตรวจดูความต้านทานโรคสมัทบนข้าวฟ่างหวาน โดยดูการเข้าทำลายเซลพืชด้วยวิธีการย้อมสีเชื้อราในเซลข้าวฟ่างหวานที่ปลูกเชื้อทั้ง 6 พันธุ์ เปรียบเทียบกับตาของข้าวฟ่างหวาน

ที่ไม่ได้ปลูกเชื้อและตาข้าวฟ่างหวานที่ไม่ได้ปลูกเชื้อในดิน พบว่าวิธีการปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทบนกล้าข้าวฟ่างหวานข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ไม่แสดงอาการโรคสมัท สำหรับวิธีการปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทในดินพบว่าข้าวฟ่างหวานจำนวน 1 พันธุ์ได้แก่พันธุ์ RIO เมื่อนำเซลข้าวฟ่างหวานไปดูการเข้าทำลายของเชื้อราโดยวิธีการย้อมสีเชื้อราในเซลพืชพบเชื้อราในเซลข้าวฟ่างหวานและพบว่าข้าวฟ่างหวานพันธุ์ RIO ที่มีเชื้อราในเซลแสดงอาการโรคสมัทบนช่อข้าวฟ่างหวาน สำหรับพันธุ์อื่นและพันธุ์ที่ไม่ปลูกเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* สาเหตุโรคสมัทในดินไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อรา

เอกสารอ้างอิง

ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2540. การศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างที่ใช้ประโยชน์ทั้งลำต้นและเมล็ดต่อโรคราเขม่าดำ.รายงานผลงานวิจัย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2540 หน้า 33-37.

ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2540. การศึกษาความสัมพันธ์ของอายุเชื้อสาเหตุโรคราเขม่าดำของข้าวฟ่างเมื่ออยู่ในดินต่อการเกิดโรคราเขม่าดำของข้าวฟ่าง. รายงานผลงานวิจัยกองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2540 หน้า 38-41.

ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2540. การศึกษาระยะเวลาการปลูกข้าวฟ่างที่ใช้ประโยชน์ทั้งต้นสดและเมล็ดเพื่อหลีกเลี่ยงโรคราเขม่าดำ.รายงานผลงานวิจัย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี 2540 หน้า 42-47.

Shinha, O., K. Singh, K. and Misra, R. S. (1982) . Stain technique for detection of smut hyphae in nodal buds of sugarcane. Plant Disease. 66: 932-933.

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคช่อดอกเน่าและยอดบิดที่มีสาเหตุจากเชื้อรา*Fusarium moniliforme*

Reaction between sweet sorghum varieties and grain mold caused by *Fusarium moniliforme*

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี ศุภชัย ลีจีระจำเนียร
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์ [1/]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างข้าวฟ่างหวานในแปลงปลูกของเกษตรกร และการทดลองในสภาพเรือนทดลองกับข้าวฟ่างหวาน 6 สายพันธุ์ ณ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เบื้องต้นพบว่าข้าวฟ่างหวานที่มีเชื้อรา *Fusarium moniliforе* จะไม่พบอาการโรคใดๆ เลยในแปลงปลูกปกติ ซึ่งในการทดลองต่อไปในปีงบประมาณ 2550 จะได้ทำการศึกษาลักษณะอาการอีกครั้งหนึ่ง

รหัสโครงการ 01-17-49-06

[1/] ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่

คำนำ

ข้าวฟ่างหวาน (*Sorghum bicolor* L. Moench หรือ Sweet sorghum) เป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสูงในการนำมาผลิตเป็นเอทานอล โดยสามารถนำมาใช้เสริมกับการใช้กากน้ำตาล (อ้อย) และมันสำปะหลัง จากเดิมข้าวฟ่างหวานจะนำไปใช้เฉพาะในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยส่วนประกอบของข้าวฟ่างหวานที่จะนำมาใช้เพื่อป้อนโรงงานผลิตเอทานอลนั้นคือ ส่วนลำต้นที่จะมาคั้นเป็นน้ำเพื่อนำไปผลิตเอทานอล โดยให้ผลผลิตเอทานอล 70 ลิตร/ข้าวฟ่างหวาน 1 ตัน เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการผลิตเอทานอล เนื่องจากถ้าใช้อ้อยหรือโมลาสได้ระยะหนึ่งอาจจะขาดแคลน เพราะอ้อยและมันสำปะหลัง ปลูกได้เพียงปีละ 1 ครั้ง อาจจะทำให้วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตขาดแคลน ในขณะที่ข้าวฟ่างหวานนั้นจะสามารถผลิตได้ปีละ 3 ครั้ง และสามารถปลูกเสริมจากอ้อยและมันสำปะหลังได้ และผลตอบแทนไม่แตกต่างกัน จึงคิดว่าน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรและโรงงานที่จะนำไปผลิต (ประสิทธิ์, 2547)

ปัญหาในการผลิตข้าวฟ่างหวานที่สำคัญอย่างหนึ่งคือการแพร่ระบาดของโรค โรคช่อดอกไหม้และยอดบิดที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* จัดเป็นโรคหนึ่งที่เมื่อเกิดขึ้นแล้วจะทำให้คุณภาพและผลผลิตลดลง Bengtson (1980) รายงานว่าในทวีปอเมริกาใต้ พบโรค Grain mold เป็นโรคที่สำคัญมากในประเทศเม็กซิโก เช่นเดียวกับในประเทศเวเนซูเอลา ในทวีปอาฟริกาพบโรคนี้ทำความเสียหายกับข้าวฟ่างของประเทศไนจีเรีย ไนเจอร์ สำหรับประเทศไทยเคยพบโรคนี้เช่นกัน แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาอย่างชัดเจน และในปัจจุบันการหาพืชพลังงาน จัดเป็นงานที่มีความสำคัญมากขึ้น จึงควรที่จะได้ศึกษาถึงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่นำมาปลูกในประเทศ ว่ามีสายพันธุ์ใดบ้างต้านทานต่อโรคดังกล่าวนี้ เพื่อจะได้ใช้ในการผลิตเชิงเศรษฐกิจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ BJ 281, Cowley, Keller, Rio, UTIS 23585 และพันธุ์ Wray
2. ถุงดำปลูกพืช
3. ดินอบฆ่าเชื้อ
4. เชื้อรา *Fusarium moniliforme*
5. อุปกรณ์ห้องปฏิบัติการ เช่น กล้องจุลทรรศน์ เข็มเขี่ยเชื้อ จานเลี้ยงเชื้อ ฯ

วิธีการ

1. ทำการเก็บตัวอย่างข้าวฟ่างหวานเป็นโรคนำมาแยกเชื้อสาเหตุ
2. จำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุเพื่อแยกเชื้อรา *Fusarium moniliforme* เพื่อใช้ในการทดลอง
3. ทำการเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ในห้องปฏิบัติการ
4. ปลูกข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองลงทั้ง 6 สายพันธุ์ ในถุงดำปลูกพืช
5. ปลูกเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ลงบนข้าวฟ่างหวานทดลอง 2 วิธีการคือ ราดโคนต้น และฉีดพ่นเชื้อที่ช่อดอก
6. ตรวจวัดผล และประเมินสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดในสภาพโรงเรือน

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่างตุลาคม 2548 – กันยายน 2550

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจเก็บตัวอย่างข้าวฟ่างหวานในพื้นที่ปลูกของศูนย์วิจัยพืชไร่อู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดลพบุรี และจังหวัดนครราชสีมา ไม่พบอาการช่อดอกไหม้และยอดบิด ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างจากต้นปกติจำนวน 10 ต้นต่อพื้นที่ นำมาผ่าต้น พบอาการเนื้อสีน้ำตาลแดงแหล่งปลูกละประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ นำมาทำการแยกเชื้อเพื่อหาสาเหตุ พบเชื้อรา *Fusarium moniliforme* จากตัวอย่างที่เก็บจากนครสวรรค์ นครราชสีมา ซึ่งดำเนินการจัดเก็บเชื้อเข้าไว้ใน Culture collection เพื่อไว้ใช้ทดลอง และได้ทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อรา *F. moniliforme* ในเมล็ดข้าวฟ่าง เพื่อใช้ปลูกเชื้อลงในข้าวฟ่างหวานพันธุ์ต่างๆ ที่จะทดสอบ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์จาก ศวร.สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ BJ 281, Cowley, Keller, Rio, UTIS 23585 และพันธุ์ Wray ทำการปลูกเชื้อรา *F. moniliforme* ลงบนช่อดอกของข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 สายพันธุ์ 2 วิธีการซึ่งให้ผลดังนี้

วิธีการราดเชื้อรา *F. moniliforme* โคนต้น พบว่าต้นข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 สายพันธุ์ ไม่แสดงอาการผิดปกติแต่อย่างใดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นข้าวฟ่างหวานที่ไม่ได้ปลูกเชื้อในแต่ละสายพันธุ์

วิธีการฉีดพ่นเชื้อรา *F. moniliforme* ที่ช่อดอก พบว่าหลังการปลูกเชื้อรา *F. moniliforme* ลงบนช่อดอกข้าวฟ่างสายพันธุ์ BJ 281, Keller, Rioและพันธุ์ Wray ช่อดอกข้าวฟ่างทั้ง 4 สายพันธุ์ดังกล่าวฝ่อไปไม่ติดเมล็ด ในขณะที่สายพันธุ์ UTIS 23585 ระยะแรกมีลักษณะคล้ายจะติดเมล็ดแต่เมื่อช่อดอกบานเต็มที่เมล็ดที่ได้จะลีบเป็นส่วนใหญ่ ส่วนสายพันธุ์ Cowley มีการติดเมล็ด

ได้แม้จะให้เมล็ดไม่สมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็ได้เมล็ดไม่ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยที่คุณภาพเมล็ดไม่ลีบ เมื่อทำการผ่าลำต้นข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 สายพันธุ์ไม่พบลักษณะผิดปกติในเนื้อลำต้นแต่อย่างใด

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าข้าวฟ่างหวานสายพันธุ์ Cowley น่าจะมีแนวโน้มทนทานต่อโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดที่เกิดจากเชื้อรา *F. moniliforme* อย่างไรก็ตามการทดลองนี้เป็นเพียงการทดลองในสภาพโรงเรือน ซึ่งแสดงให้เห็นผลในระดับหนึ่งเท่านั้น ควรที่จะได้มีการศึกษาในสภาพไร่ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พบว่าสายพันธุ์ Cowley มีการติดเมล็ดได้แม้จะให้เมล็ดไม่สมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็ได้เมล็ดไม่ต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยที่คุณภาพเมล็ดไม่ลีบ น่าจะเป็นพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดที่เกิดจากเชื้อรา *F. moniliforme*

เอกสารอ้างอิง

ประสิทธิ์ ใจศีล. 2547. วิจัย ข้าวฟ่างหวาน : เอทานอล. กรุงเทพธุรกิจ ฉบับวันพฤหัสบดีที่ 7 ตุลาคม พ.ศ. 2547

Bengtson G.D. 1980. Sorghum Diseases A World Review. Proceedings of the International Workshop at ICRISAT. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics ICRISAT Patancheru P.O. Andhra Pradesh, India 502 324

การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมาโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วิภาดา ทองทักษิณ[1/] สุธามาศ ณ น่าน[2/]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Collection of antagonistic bacteria from the soil, manures and plant roots were conducted from four provinces. Fifty pure bacteria cultures were isolated of which the direct bioassay was applied using disc diffusion method. Eight isolates of antagonistic R. solanacearum were identified. All isolated were tested for biocontrol microorganism to be used to control bacterial wilt diseases of curcuma under greenhouse conditions. It was found that five isolates could control the bacterial wilt disease of curcuma at range of 60%

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดิน ปุ๋ยคอก และรากพืช เพื่อหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก 4 จังหวัดภาคเหนือ สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ได้ 100 ไอโซเลท นำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ*Ralstonia solanacearum* ในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Direct bioassay (Disc diffusion method) ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 8 ไอโซเลท นำเชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ได้โดยสามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 60%.

รหัสโครงการ 01-15-49-03

1/ กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน

2/ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*) จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (wilt) ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิด ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า 200 ชนิดในวงศ์ *Solanaceae* (Kelman, 1953) ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย สภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ (strain) ของเชื้อ ในประเทศไทยมีการปลูกพืชหลายชนิดที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อโรคชนิดนี้ โดยเฉพาะพืชเศรษฐกิจของประเทศ ได้แก่ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา เป็นต้น

ปทุมมาเป็นไม้พื้นเมืองของประเทศไทยที่นิยมนำไปเป็นไม้ประดับและไม้ตัดดอก มีการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาไปขายยังต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ปัญหาสำคัญที่พบในการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมามีโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ระบาดทำความเสียหายให้กับเกษตรกรและผู้ส่งออก เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถติดไปกับหัวพันธุ์ปทุมมาได้ และเป็นเชื้อโรคที่สำคัญทางกักกันพืช ถ้าพบเชื้อนี้ติดไปกับหัวพันธุ์ที่ส่งออก หัวพันธุ์เหล่านั้นจะถูกเผาทำลายทันที ทำให้ไม่สามารถส่งออกได้

การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยาก เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถที่จะคงอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง ไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคนี้ ประกอบกับการใช้พืชพันธุ์ต้านทานซึ่งมีรายงานบางครั้งไม่ให้ผลในการควบคุมโรค เนื่องจากพืชพันธุ์ต้านทานที่คัดเลือกมาจากแหล่งใดแหล่งหนึ่งเพียงแหล่งเดียวอาจจะไม่แสดงความต้านทานเมื่อนำไปปลูกในแหล่งอื่น รวมทั้งพืชบางชนิดมีปฏิกิริยาความต้านทานเป็นการทนโรค (tolerance) เช่น พริก โดยที่เชื้อสามารถเจริญและเพิ่มปริมาณในพืชได้ แต่ไม่ทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยว การแพร่ระบาดของโรคนี้จึงสามารถแพร่ได้อย่างรวดเร็วและทั่วประเทศเมื่อมีการขนย้ายส่วนขยายพันธุ์ของพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *R. solanacearum* ไปปลูกในที่ต่าง ๆ วิธีการป้องกันกำจัดยังคงจำกัด ได้มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรมและการใช้ชีววิธี ซึ่งการใช้วิธีควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีนี้ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับและส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาใช้วิธีการควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพหรือชีววิธี ในปัจจุบันการนำจุลินทรีย์หลายชนิดมาใช้ควบคุมศัตรูพืชทางด้านการเกษตรได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั้งภาครัฐและเอกชน โดยตระหนักถึงอันตรายจากการใช้สารเคมีที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมและช่วยแก้ปัญหาการดื้อสารเคมีของศัตรูพืชสำคัญหลายชนิด ตลอดจนเพิ่มทางเลือกในการพิจารณาใช้วิธีใดวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการควบคุมศัตรูพืชแก่เกษตรกร ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นงานวิจัยเพื่อคัดเลือกหาเชื้อแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมาในระดับห้องปฏิบัติการ และเรือนปลูกพืชทดลอง และพัฒนาเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดในสภาพแปลงปลูกทดลอง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดิน ปุ๋ยคอกและรากพืชต่าง ๆ

สำรวจและเก็บตัวอย่างของดิน รากพืช และปุ๋ยคอก ที่คาดว่าจะมีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในแหล่งปลูกพืช ใน จังหวัดต่างๆ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง เป็นต้น เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มจากแปลงปลูกพืชได้แก่ ปทุมมา ขิง และมะเขือเทศ โดยเก็บดินบริเวณรอบราก ทั้งจากต้นที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างปุ๋ยคอก นำมาผึ่งลมให้แห้งพอหมาด ๆ ทำสารละลายดินหรือปุ๋ยคอกโดยใช้ดินหรือปุ๋ยคอก 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 250 มล. เขย่าบนเครื่องเขย่า (rotary shaker) เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาแยกเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี dilution plating หรือ soil plate method คือนำมาเจือจาง 10 เท่าเป็นลำดับ (serial dilution) จากนั้นนำสารละลายดิน 0.1 มล. ของแต่ละความเข้มข้น (ประมาณที่ 10^{-4} 10^{-6} และ 10^{-8} เท่า) มากระจาย (spread) บนอาหาร King's medium B agar (KB) และ Nutrient glucose agar (NGA) โดยแต่ละความเข้มข้นทำ 4 ซ้ำ ทำการบันทึกลักษณะโคโลนีของเชื้อ

การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินและปุ๋ยคอก จำนวน 100 ไอโซเลท มาทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโต

ของเชื้อ *R. solanacearum*

1. การเตรียมแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด 100 ไอโซเลท นำมาทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว Nutrient Glucose Broth (NGB) ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า (rotary shaker) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าดูดซับคลื่นแสง (absorbance) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 600 นาโนเมตร เจือจางให้เชื้อมีค่า O.D. เท่ากับ 0.2 โดยใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* เตรียมเชื้อ *R. solanacearum* ที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ No.37, 36, 24 และ 19 โดยเตรียมอาหาร Wakimoto's semisynthetic potato medium (PSA) ในจานเลี้ยงเชื้อทำแบบ double layer ชั้นล่างใช้อาหาร PSA ในปริมาณ 15 มล.ต่อหนึ่งจาน อาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนชั้นบนใช้เชื้อ *R. solanacearum* อายุ 48 ชั่วโมง ในปริมาณ 10^8 หน่วยโคโลนี ต่อมิลลิลิตร ผสมกับอาหาร PSA ซึ่งหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45° C เขย่าให้เข้ากันเททับลงในจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 5 มิลลิลิตรต่อหนึ่งจานเลี้ยงเชื้อแล้วเอียงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ส่วนบนกระจายคลุมทั่วผิวหน้าชั้นล่างที่เทไว้แล้ว เมื่ออาหารแข็งตัวเก็บในตู้เย็น 14° C นาน 1 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลง

3. การทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อใช้วิธี disc diffusion method ในการทดสอบการยับยั้งในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ micropipetteหยดสารละลายของเชื้อที่จะทดสอบลงบนกระดาษแผ่นกลมที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร โดยหยดแผ่นละ 10 ไมโครลิตร แล้วใช้ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อคีบกระดาษวางบนผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ28° C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยการวัดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) จากขอบโคโลนีของเชื้อถึงขอบบริเวณใส

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในยับการยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ มาทดสอบความสามารถ ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

1.การเตรียมดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* นำเชื้อ *R. solanacearum* No. 37 ที่เลี้ยงบนอาหาร PSA อายุ 48 ชั่วโมงมาทำเป็นสารละลายในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อ 10^8 หน่วยโคโลนี ต่อ มิลลิลิตร นำไปผสมกับดินที่นึ่งฆ่าเชื้อเตรียมไว้แล้ว โดยใช้ดิน 4 กิโลกรัมต่อกระถาง ใช้สารละลายของเชื้อ *R. solanacearum* 100 มิลลิลิตรต่อกระถาง

2. **การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์** นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในยับการยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ ดินชุมพร no.1, ปุ๋ยคอก no.1, ดินรากยาสูบ no.4, ดินเลน no.1, 3A, ดินคลองหลวง no.9, รากอ้อย no.6 และ 4415 มาเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient Glucose Broth (NGB) ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า (rotary shaker) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปวัดค่าดูดซับคลื่นแสง (absorbance) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า O.D. เท่ากับ 0.2 จะได้ความเข้มข้นของเชื้อ 10^8-10^9 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร

3. **เตรียมหัวพันธุ์ปทุมมา** นำหัวพันธุ์ปทุมมาที่ได้มาจากต้นเนื้อเยื่อปทุมมา มาแช่ในเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ในข้อ.2 ก่อนปลูก ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำไปปลูกในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 รดด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกๆ 7 วัน โดยมีตัวเปรียบเทียบที่ไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์คลุกหัวพันธุ์พืชปทุมมาก่อนปลูกแต่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทน ตรวจสอบการเกิดโรคของต้นพืชทุก 7 ,14 , 21 ,28 ,35 และ 42 วัน และตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และปริมาณเชื้อ*R. solanacearum* ทุก 7 วัน จนครบ 6 สัปดาห์หลังปลูก

เวลาและสถานที่

ต.ค.48 - ก.ย.50 ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดินและรากพืชต่าง ๆ

ผลจากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดิน รากพืช และปุ๋ยคอก ได้เชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆจำนวน 100 ไอโซเลท โดยการแยกจากดินและรากพืช จำนวน 70 ไอโซเลท และ ปุ๋ยคอก จำนวน 30 ไอโซเลท เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ใน glycerol 20% ที่ –20 $^{\circ}$ C เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 8 ไอโซเลท ได้แก่ ดินชุมพร no.1, ปุ๋ยคอก no.1, ดินรากยาสูบ no.4, ดินเลน no.1, 3A, ดินคลองหลวง no.9, รากอ้อย no.6 และ 4415 โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยสามารถวัดความกว้างของบริเวณใส ได้ตั้งแต่ 0.7-5.05

มิลลิเมตร (ตาราง 1) โดยพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินชุมพร no.1, ปุ๋ยคอก no.1, ดินรากยาสูบ no.4, ดินเลน no.1, 3A และ 4415 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ทั้ง 4 สายพันธุ์ ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียดินคลองหลวง no.9 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* 3 สายพันธุ์ เชื้อแบคทีเรีย รากอ้อย no.6 ยับยั้งเฉพาะเชื้อ *R. solanacearum* 2 สายพันธุ์ จากผลการทดลองนี้ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

หลังจากแช่หัวพันธุ์กับสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และปลูกลงในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* แล้ว 45 วันพบว่า กรรมวิธีที่คลุกหัวพันธุ์ด้วยสารละลายแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง no.9 ดินชุมพร no.1 รากอ้อย no.6 ปุ๋ยคอก no.1และ 4415 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 60% ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินเลน no.1 ดินรากยาสูบ no.4 ดินปุ๋ยคอก no.1 และ 3A สามารถควบคุมโรคได้ 40%(ตารางที่2)

จากผลการทดลองการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง no.9 ดินชุมพร no.1 รากอ้อย no.6 ปุ๋ยคอก no.1และ 4415 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ 60% จะเห็นได้ว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์หลายชนิดที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ ควรจะนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละชนิดมาผสมกันเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของพืชต่อไป ซึ่งมีรายงานที่มีการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สองชนิดมาผสมกันและให้ผลการควบคุมโรคดีกว่าการใช้เพียงชนิดเดียว Guoและคณะ (2002) ได้รายงานการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของพริกโดยชีววิธีด้วยใช้เชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas* spp. (J3) และ เชื้อ *Baccilus* spp (BB11 และ FH17) ที่มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตให้ต้นพริก (Plant Growth Promoting Rhizophere bacteria) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ในดินที่สามารถทำให้เกิดโรคกับพริกได้ 30% ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยเชื้อปฏิปักษ์ J3 และ BH11 สามารถทำให้โรคลดลง 54 และ 65 % และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 80-100% เชื้อปฏิปักษ์ FH17 สามารถทำให้โรคลดลง 34 % ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเพียง 50% เมื่อนำเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสามชนิดมาผสมกันในอัตรา 1:1:1 พบว่าสามารถทำให้โรคลดลง 75 % และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 200% การทดลองต่อไปจะได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้เหล่านี้ไปทดสอบในสภาพแปลงปลูกพืชทดลอง และในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

สุธัญญา ฉายาชวลิต. 2527. การศึกษาโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากบักเตรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุรัจฉทา กสิกรรมไพบูลย์. 2534. ความเสียหายของเชื้อแบคทีเรียบริเวณรากและดิน ปลูกมะเขือเทศในการควบคุมทางชีวภาพต่อเชื้อแบคทีเรียโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Aspiras, R.B. and A.R. de la Cruz. 1985. Potential biological control of bacterial wilt in tomato andpotato with *Bacillus polymyxa* FU6. And *Pseudomonas fluorescens*, pp. 89-92. *In* G.J. Persley. Bacterial wilt Disease in Asia and the South Pacific. Proceedings of an International Workshop held at PCARRD, Los Bannos, Philippines

Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. Biological Control of Soil-Borne Pathogens. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 433 p.

Ciampi ,L., R. Fuentes, R. SchÖbitz and G. Bernal. 1997a. Ten year of biocontrol of bacterial wilt of potato in Chile. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Ciampi ,L., R. Fuentes, R. SchÖbitz and G. Bernal. 1997b. Biological control of *Ralstonia solanacearum* : Alginate beads as carriers for antagonistic cells. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Celino, M.S. and D. Gotllieb. 1952. Control of bacterial wilt of tomato by *Bacillus polymyxa*. Phytopathology. 42:4(Abstract).

Digat, B.,J.M. Expert, K. Josi , P. Gay and S. Veillet. 1996. Biocontrol of Sclerotinia wilt of Sunflower by seed bacterization., pp. 6-10. *In* Tang Wenhua , R. J. Cook and A. Rovira. Advances in Biological Control of Plant Diseases. China Agricultural University Press. Beijing Chima . 399p.

Karuna , K., A.N.A. Khan and M. R. Ravikumar. 1997. Potential of biocontrol agent in the management of bacterial wilt of Tomato caused by *Ralstonia solanacearum.*

Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. N. Carolina Agr. Expt. Sta. Tech. Bul. 99:5-194.

Nesmith, W.C. and S.F. Jenkins, Jr. 1985. Influence of antagonists and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. Phytopathology 75:1182-1187.

Trigalet, A. and D. Trigalet-Demery. 1990. Use of avirulent mutants of *Pseudomonas solanacearum* for the biological control of bacterial wilt of tomato plants. Physiol. And Mol. Pl. Pathol. 36:27-38.

.

ตารางที่ 1 ขนาดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่างๆ บนอาหาร PSA

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ความกว้างของบริเวณใส (มม.)			
	RS no.37	RS no.36	RS no.24	RS no.19
1. ดินชุมพร no 1	5.05	3.1	4.2	3.1
2. ปุ๋ยคอก no.1	5.2	4.65	2.3	2.75
3. รากอ้อย no.6	3.1	-	4.35	-
4. ดินรากยาสูบ no. 4	6.1	1.9	4.8	3.6
5. ดินคลองหลวง no.9	0.7	5.2	3.75	-
6. ดินเลน no.1	2.35	4.85	3.1	3.35
7. 4415	4.3	5.6	2.5	2.6
8. 3A	5.45	2.15	3.45	3.5

หมายเหตุ - = ไม่เกิด Clear zone

ตารางที่ 2 ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา โดยใช้สารละลายเชื้อปฏิปักษ์คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูกในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum*

กรรมวิธี	การเกิดโรค % -1/			การควบคุมโรค % -2/		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน	15 วัน	30 วัน	45 วัน
1. ดินคลองหลวง no. 9	0	20	40	100	80	60
2. ดินชุมพร no. 1	0	20	40	100	80	60
3. ดินเลน no.1	0	40	60	100	60	40
4. รากอ้อย no.6	0	20	40	100	80	60
5. ดินรากยาสูบ no. 4	0	40	60	100	60	40
6. ปุ๋ยคอก no. 1	0	20	40	100	80	60
7. 3A	0	40	60	100	60	40
8. 4415	0	20	40	100	80	60
9. control	0	50	80	100	50	20

-1/ การเกิดโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

-2/ การควบคุมโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นรอดตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

การจัดการวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวานในสภาพไร่เขตอาศัยน้ำฝน

Weed Management in Sweet Sorghum Production in Cultivated Land in Rainfed Area

คมสัน นครศรี
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 14 กรรมวิธี ประกอบด้วย การใช้สาร oxadizon, pendimethalin, alachlor, metolachlor, atrazine, butachlor, propisochlor, dimethanamid, acetochlor, oxyfluorfen , alachlor+2,4-D และ alachlor+pyrazosulfuron ethyl อัตรา 80, 120, 200, 200, 240, 160, 108, 90, 200, 16, 200+160 และ 200+5 กรัมai/ไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชด้วยมือ และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่แปลงเกษตรกร อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี ระหว่างเดือน มิถุนายน-ตุลาคม 2550 พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine, butachlor และ oxyfluorfen ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชได้ดี การจัดการวัชพืชทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน กรรมวิธีที่ให้น้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวานมากที่สุด คือ การใช้ atrazine, oxadiazon, butachlor, oxyfluorfen และ propisochlor ให้ผลผลิตน้ำหนักสด 8,341.7, 7,325.3, 7,166.0 7,002.0 และ 6,181.7 กก./ไร่ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยมือ ที่มีผลผลิตน้ำหนักสด 8,123.0 กก./ไร่ ขณะวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีผลผลิตน้ำหนักสดเพียง 3,856.3 กก./ไร่

คำนำ

ข้าวฟ่างมีแหล่งปลูกในจังหวัดลพบุรี นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ สระบุรี สระแก้ว กาญจนบุรี ชัยนาท สุพรรณบุรี นครราชสีมา และ จันทบุรี เกษตรกรส่วนใหญ่ปลูกข้าวฟ่างช่วงปลายฤดูฝนหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แล้ว การปลูกข้าวฟ่างในปัจจุบันได้นำเอาผลผลิตเมล็ดมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ทดแทนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์(นิรนาม,2546) จากสภาวการณ์ปัจจุบันที่ราคาน้ำมันเริ่มสูงขึ้นรัฐบาลได้มีนโยบายหาพลังงานอื่นมาทดแทน เช่น พลังงานจากชีวมวล (Biomass) ซึ่งได้แก่ ปาล์มน้ำมัน มันสำปะหลัง อ้อย และ ข้าว เพื่อนำมาผลิตเอธิลแอลกอฮอล์ อย่างไรก็ตาม

รหัสโครงการ 10-01-49-01

การใช้มันสำปะหลังและอ้อย อาจมีปัญหาผลผลิตขาดช่วงในระหว่างการผลิต เนื่องจากพืชทั้ง 2 ชนิดมีอายุการเก็บเกี่ยวนาน ข้าวฟ่างหวานมีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นประมาณ 100 วัน ภายในลำต้นข้าวฟ่างหวานมีปริมาณน้ำตาลซูโครสมากจึงมีรสหวานคล้ายอ้อย (ประสิทธิ์,2547) ซึ่งสามารถนำมาทดแทนมันสำปะหลังและอ้อยได้ วัชพืชเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของข้าวฟ่างหวาน โดย ประสิทธิ์ (2547) ได้แนะนำการใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine อัตรา 300-500 กรัม ai/ไร่ พ่นหลังปลูกทันทีหรือการกำจัดวัชพืชด้วยมือ 1-2 ครั้ง ตามความจำเป็น ขณะที่ นิรนาม(2538) ได้แนะนำการใช้สาร atrazine อัตรา 240-400 กรัม ai/ไร่ พ่นคลุมดินทันที่หลังปลูก และสาร 2,4-D อัตรา 80-120 กรัม ai/ไร่ หลังปลูก 15-20 วัน เพื่อให้เกษตรกรมีโอกาสเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชได้หลากหลายชนิดกับการปลูกข้าวฟ่างหวาน จึงควรศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชชนิดต่างๆ ที่สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีในการปลูกข้าวฟ่างหวานในการจัดทำคู่มือคำแนะนำสำหรับเกษตรกร หรือผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์การทดลองประกอบด้วย

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน พันธุ์ Praj 1
2. สารกำจัดวัชพืช oxadizon, pendimethalin, alachlor, metolachlor, atrazine, butachlor, propisochlor,dimethanamid, acetochlor, oxyfluorfen, pyrazosulfuron ethyl และ 2,4-D
3. สารป้องกันโรคและแมลง
4. ปุ๋ยสูตร 15-15-15
5. ถุงกระดาษและป้าย

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ ประกอบด้วยกรรมวิธี 14 กรรมวิธี คือ

1) oxadiazon อัตรา 120 กรัมai/ไร่
2) pendimethalin อัตรา 180 กรัมai/ไร่
3) alachlor อัตรา 200 กรัมai/ไร่
4) metolachlor อัตรา 200 กรัมai/ไร่
5) atrazine อัตรา 240 กรัมai/ไร่
6) butachlor อัตรา 120 กรัมai/ไร่
7) propisochlor อัตรา 120 กรัมai/ไร่

8) dimethanamid อัตรา 90 กรัมai/ไร่

9) acetochlor อัตรา 200 กรัมai/ไร่

10) oxyfluorfen อัตรา 16 กรัมai/ไร่

11) alachlor(200)+2,4-D อัตรา 160 กรัมai/ไร่

12) alachlor(200)+pyrazosulfuron-ethyl อัตรา 10 กรัมai/ไร่

13) ถอนวัชพืชด้วยมือ

14) วิธีไม่กำจัดวัชพืช

การปฏิบัติการทดลองโดยใช้แปลงขนาด 3x5 เมตร ระยะระหว่างแถว 50 ซม. ระหว่างหลุม 20 ซม. ปลูก 3-5 เมล็ดต่อหลุม หลังปลูกพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกทันที ได้แก่ oxadiazon, pendimethalin, alachlor, metolachlor, atrazine, butachlor, propisochlor, dimethanamid, acetochlor และ oxyfluorfen ตามอัตราที่กำหนด หลังปลูก 2 สัปดาห์ ถอนต้นข้าวฟ่างหวานเหลือ 2 ต้นต่อหลุม หลังข้าวฟ่างหวานงอกแล้ว 20 วัน พ่นสารกำจัดวัชพืช 2,4-D และ pyrazosulfuron ethyl ตามอัตราที่กำหนด และถอนวัชพืชด้วยมือที่ 30 วันหลังปลูก ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กก./ไร่ หลังปลูก 30 วัน ใช้สารป้องกันโรคและแมลงตามความจำเป็น

บันทึกข้อมูลความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช หลังพ่นสาร 15 วัน เก็บตัวอย่างวัชพืชหลังปลูก 45 วัน การเจริญเติบโตด้านความสูง และผลผลิตข้าวฟ่างหวาน

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือน มิถุนายน – ตุลาคม 2550 ที่ แปลงเกษตรกร อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชหลังการพ่น 15 วัน พบว่า สาร atrazine, butachlor และ oxyfluorfen ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน ส่วนสารที่เป็นพิษเพียงเล็กน้อยถึงปานกลางได้แก่ alachlor, oxadiazon, metolachlor, dimethanamid และ propisochlor ซึ่งคะแนนที่ประเมินด้วยสายตาอยู่ระหว่าง 3.3 – 5.2 สารกำจัดวัชพืชที่เป็นค่อนข้างพิษรุนแรง คือ pendimethalin และ acetochlor ระดับคะแนนที่ประเมินได้อยู่ระหว่าง 7.7 – 8 ส่วนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดสามารถควบคุมวัชพืชได้ในระดับดี คะแนนการประเมินอยู่ระหว่าง 8.0 – 9.0 (ตารางที่ 1)

การสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืชหลังปลูก 45 วัน พบว่า กรรมวิธีการควบคุมวัชพืชทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชที่มีแนวโน้มให้น้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยที่สุด คือ การใช้สาร dimethanamid, acetochlor, การ

กำจัดวัชพืชด้วยมือ, atrazine และ pendimethalin มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 15.3, 18.0, 22.7, 28.0 และ 28.7 กรัมai/ไร่ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ให้น้ำหนักแห้งวัชพืชรองลงมา คือ alachlor+2,4-D, oxyfluorfen, alachlor, butachlor, oxadiazon, propsochlor และ metolachlor มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 30.7, 31.0, 31.3, 50.0, 60.0 และ 61.3กรัมai/ไร่ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืช 132.7 กรัมai/ไร่ (ตารางที่ 2) สารกำจัดวัชพืชที่มีแนวโน้มให้น้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยนั้น เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 1) วัชพืชที่พบ ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochlea colona* (L.) Link.) หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaria* (Retz.) Koel.) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (Linn.) Gard.&Hubb.) และ หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* Linn.)

สำหรับความสูงของข้าวฟ่างหวานขณะเก็บผลผลิตที่อายุ 120 วัน พบว่า กรรมวิธีการใช้สารกำจัดวัชพืช ทุกกรรมวิธี การกำจัดวัชพืชด้วยมือ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีความสูงไม่แตกต่างกัน โดยมีความสูงอยู่ระหว่าง 272.3 – 317.5 ซม.(ตารางที่ 2)

ส่วนผลผลิตน้ำหนักสด(ลำต้นและใบ)ของข้าวฟ่างหวานที่อายุ 145 วัน พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine ให้ผลผลิตน้ำหนักสดมากที่สุด คือ 8341.7 กก./ไร่ แต่ไม่แตกต่างกับ การกำจัดวัชพืชด้วยมือ การใช้สาร oxadiazon, butachlor, oxyfluorfen และ propisochlor มีผลผลิตน้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวาน 8,123.0, 7,325.3, 7,166.0, 7,002.0 และ 6,181.7 กก./ไร่ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ให้ผลผลิตน้ำหนักสดข้าวฟ่างหวานรองลงมา คือ การใช้สารกำจัดวัชพืช alachlor+2,4-D, dimethanamid, alachlor, metolachlor และ alachlor+pyrazosulfuron ethyl มีน้ำหนักผลผลิต 5,880.7, 5,798.3, 5,685.3, 4,978.0และ 4,841.3 กก./ไร่ ตามลำดับ สารกำจัดวัชพืช acetochlor และ pendimethalin ให้ผลผลิตน้อย คือ 2,133.3 และ 3,444.0 กรัมai/ไร่ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ที่มีน้ำหนักผลผลิต 3,856.3 กก./ไร่ อาจเนื่องมาจากความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชทั้ง 2 ชนิดที่มีต่อข้าวฟ่างหวาน (ตารางที่ 1) จึงมีผลกระทบต่อผลผลิตน้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวาน

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช atrazine, butachlor และ oxyfluorfen ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน ส่วนสาร alachlor และ oxadiazon มีพิษต่อข้าวฟ่างหวานเพียงเล็กน้อย และสารกำจัดวัชพืชที่มีพิษปานกลาง คือ propisochlor และ dimethanamid สำหรับประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชได้ดี กรรมวิธีควบคุมวัชพืชทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกัน กรรมวิธีที่ให้น้ำหนักแห้งวัชพืชน้อย คือ การใช้สาร

dimethanamid, acetochlor, pendimethalin และ การกำจัดวัชพืชด้วยมือ การจัดการวัชพืชทุกกรรมวิธีมีความสูงต้นข้าวฟ่างหวานไม่แตกต่างกับกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช กรรมวิธีที่ให้ผลผลิตน้ำหนักสดมากกว่า คือ การใช้สาร atrazine การกำจัดวัชพืชด้วยมือ การใช้สาร oxadiazon, butachlor, oxyfluorfen และ propisochlor มีผลผลิต 8,341.7, 8,123.0, 7,325.3, 7,166.0, 7,002.0 และ 6,181.7 กก./ไร่ ตามลำดับ ขณะกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชให้น้ำหนักผลผลิตเพียง 3,856.3 กก./ไร่

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2538. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 144 หน้า.

นิรนาม. 2546. ข้าวฟ่าง.หน้า 239-245. *ใน*: สรุปรายงานผลงานวิจัยพืชไร่ สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร.

ประสิทธิ์ ใจศีล. 2547. ข้าวฟ่างหวาน. เอกสารคำแนะนำการปลูกข้าวฟ่างหวานเพื่อการผลิตเอทานอล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 4 หน้า.

ตารางที่ 1. ความเป็นพิษและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน 15 วัน ปี 2550

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัมai/ไร่)	ความเป็นพิษ (คะแนน) [1/]	ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช (คะแนน) [2/]
oxadiazon	80	3.3	8.0
pendimethalin	120	7.7	6.3
alachlor	200	3.7	8.7
metolachlor	200	5.0	8.3
atrazine	240	0.0	8.7
butachlor	160	0.0	8.2
propisochlor	108	4.7	8.3
dimethanamid	90	5.2	9.0
acetochlor	200	8.0	9.0
oxyfluorfen	16	0.0	8.3
alachlor+2,4-D	200+160	4.0	8.8
alachlor+pyrazosulfuron	200+5	3.7	9.0
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	0.0	0.0
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	0.0	0.0

1/ 0 = ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก
1-3 = เป็นพิษต่อพืชปลูกเพียงเล็กน้อย
4-6 = เป็นพิษต่อพืชปลูกปานกลาง
7-9 = เป็นพิษต่อพืชปลูกรุนแรง
10 = พืชปลูกตายหมด

2/ 0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้
1-3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย
4-6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง
7-9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี
10 = ควบคุมวัชพืชได้อย่างสมบูรณ์

ตารางที่ 2. น้ำแห้งวัชพืช (30วันหลังปลูก) ความสูงขณะเก็บเกี่ยว(อายุ 145 วัน) และผลผลิตข้าวฟ่างหวานปี 2550

สารกำจัดวัชพืช	อัตราการใช้ (กรัมai/ไร่)	น.น.แห้งวัชพืช 2/ (กรัม/ตร.ม.)	ความสูง(ซม.) (อายุ 145 วัน)	ผลผลิต (กก./ไร่)
oxadiazon	80	50.0a 1/	299.3	7,325.3abc
pendimethalin	120	28.7a	300.1	3,444.0gh
alachlor	200	31.3a	286.0	5,685.3cdef
metolachlor	200	61.3a	297.1	4,978.0defg
atrazine	240	28.0a	297.7	8,341.7a
butachlor	160	35.3a	317.5	7,166.0abcd
propisochlor	108	60.0a	310.7	6,181.7abcde
dimethanamid	90	15.3a	305.8	5,798.3cdef
acetochlor	200	18.0a	272.3	2,133.3h
oxyfluorfen	16	31.0a	314.0	7,002.0abcde
alachlor+2,4-D	200+160	30.7a	301.0	5,880.7cdef
alachlor+pyrazosulfuron	200+5	55.3a	294.3	4,841.3efg
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	22.7a	301.7	8,123.0ab
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	132.7b	298.8	3,856.3fgh
CV (%)		73.3	8.6	20.7

1/ ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งวัชพืช ความสูงและผลผลิตน้ำหนักสดของข้าวฟ่างหวานที่มีตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 **%** โดย DMRT

2/ วัชพืชที่พบ

หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link)

หญ้าตีนติด (*Brachiria reptans* (L.) Gard.& Hubb.)

หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.)

หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* Linn.)

การทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารเมทธิลโบรไมด์ และสาร Eco_2 fume ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟกล้วยไม้

Efficacy Test of Methyl Bromide and Eco_2 fume for Controlling Cotton Thrips in Orchid

ไพศาล รัตนเสถียร **ทวีศักดิ์ ชโยภาส**
จีรนุช เอกอำนวย **สมรวย รวมชัยอภิกุล**
พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท **สรรชัย เพชรธรรมรส**
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

รายงานความก้าวหน้า

สารเมทธิลโบรไมด์ อัตรา 20 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรใช้เวลารมนาน 90 นาที สามารถกำจัดเพลี้ยไฟกล้วยไม้ให้ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 3 ชั่วโมง ซึ่งปัจจุบันแนะนำให้เกษตรกรใช้อยู่ ส่วนสาร Eco_2 fume จะได้ทำการทดลองเพื่อหาอัตราที่เหมาะสมต่อไป

รหัสโครงการ 07-01-49-01

คำนำ

กล้วยไม้ เป็นพืชส่งออกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและทำรายได้เข้าประเทศสูงมากชนิดหนึ่ง แต่การผลิตกล้วยไม้เพื่อการส่งออกไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ช่วงระยะเวลา10 ปีผ่านมา กล้วยไม้ที่ส่งไปสหภาพยุโรปเริ่มประสบปัญหาในด้านการส่งออก โดยพบเพลี้ยไฟที่มีชีวิตติดไปกับดอกกล้วยไม้ ทำให้มีการเผาทำลายกล้วยไม้ดังกล่าวหลายครั้ง ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจ เพลี้ยไฟที่ติดไปในดอกกล้วยไม้นั้น เป็นชนิด เพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) จัดอยู่ในอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae การป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟทำลายกล้วยไม้ สามารถดำเนินการได้ตั้งแต่การป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในเรือนปลูกกล้วยไม้ของเกษตรกร โดยวิธีพ่นสารฆ่าแมลงที่เหมาะสม เพื่อลดประชากรของเพลี้ยไฟที่จะทำความเสียหายกล้วยไม้ได้ระดับหนึ่ง แต่ช่อดอกกล้วยไม้เป็นที่ต้องการของต่างประเทศมาก จึงมีวิธีป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกล้วยไม้หลังการเก็บเกี่ยวอีกทางหนึ่งก่อนที่จะนำกล้วยไม้ส่งออก โดยทั่วไปบริษัทหรือเกษตรกรผู้ส่งออกกล้วยไม้นิยมใช้ ได้แก่วิธีการรมสารเมทธิลโบรไมด์และวิธีจุ่มสารฆ่าแมลง แต่เนื่องจากวิธีจุ่มสารฆ่าแมลงไม่สามารถฆ่าไข่ของเพลี้ยไฟได้ จึงหันมานิยมใช้วิธีรมสารเมทธิลโบรไมด์ซึ่งสามารถฆ่าทุกวัยของเพลี้ยไฟรวมทั้งระยะไข่ด้วย เมื่อมีการใช้ สารเมทธิลโบรไมด์ เพิ่มมากขึ้นโดยไม่รู้ว่าสารชนิดนี้เป็นอันตรายต่อชั้นบรรยากาศของโลกอย่างมาก ทุกประเทศจึงรณรงค์เพื่อลดการใช้สารชนิดนี้ อาจโดยการลดอัตราการใช้สารแต่ละครั้งหรือหาสารทดแทนเป็นต้น การทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารเมทธิลโบรไมด์ และสาร Eco_2 fume ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟระยะตัวเต็มวัย ตัวอ่อน และ ระยะไข่ ในตู้ทดลอง เพื่อหาอัตราการใช้ต่อครั้งน้อยที่สุด แต่มีประสิทธิภาพสูงสุด และอาจได้สารทดแทนเพิ่มอีกชนิดหนึ่ง ทั้งนี้ต้องไม่ทำลายคุณภาพของกล้วยไม้ด้วย เพื่อนำผลการวิจัยถ่ายทอดเป็นคำแนะนำต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เพลี้ยไฟกล้วยไม้ ชื่อ *Thrips palmi* Karny
2. ช่อดอกกล้วยไม้
3. ตู้รมขนาด 60x60x60 เซนติเมตร จำนวน 4 ตู้
4. ตู้รมขนาด 50x100x100 เซนติเมตร จำนวน 2 ตู้
5. ถังบรรจุสารเมทธิลโบรไมด์ 1 ถัง
6. ถังบรรจุสาร Eco_2 fume 1 ถัง
7. ตะเกียงเฮไลด์ หน้ากากป้องกันสารพิษ ชุดป้องกันสารพิษ

8. หลอดทดลอง
9. พาราฟิล์ม
10. ตะแกรงวางหลอดทดลอง
11. กล้องจุลทรรศน์ และแว่นขยาย
12. เทปสันปก ปากกาและพู่กัน

วิธีดำเนินการ แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารเมทธิลโบรไมด์เพื่อกำจัดเพลี้ยไฟกล้วยไม้ วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใช้สารเมทธิลโบรไมด์ อัตรา 14 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร และใช้ระยะเวลาการรม 90 นาที

กรรมวิธีที่ 2 ใช้สารเมทธิลโบรไมด์ อัตรา 16 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร และใช้ระยะเวลาการรม 90 นาที

กรรมวิธีที่ 3 ใช้สารเมทธิลโบรไมด์ อัตรา 18 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร และใช้ระยะเวลาการรม 90 นาที

กรรมวิธีที่ 4 ใช้สารเมทธิลโบรไมด์ อัตรา 20 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร และใช้ระยะเวลาการรม 90 นาที

กรรมวิธีที่ 5 ไม่มีการรมสาร

วิธีปฏิบัติการทดลอง นำเพลี้ยไฟกล้วยไม้แต่ละวัยที่เลี้ยงขยายพันธุ์ เขี่ยใส่หลอดทดลอง ปิดด้วยพาราฟิล์ม จำนวน 10 ตัวต่อหลอด รวมจำนวน 50 ตัวต่อกรรมวิธี ทำการทดลองครั้งละ 1 ซ้ำ แต่ละกรรมวิธี ทำการสุ่มเลือกตู้รมสารจำนวน 4 ตู้ เพื่อทดลองเฉพาะกรรมวิธีที่มีการปล่อยสารรมเมทธิลโบรไมด์ แต่ละตู้รมสาร วางหลอดทดลองที่มีเพลี้ยไฟ จำนวน 5 หลอด ปิดฝาตู้ให้สนิทพร้อมปิดเทปกาวตามขอบประตูเพื่อป้องกันการรั่วซึม ปล่อยสารเมทธิลโบรไมด์แต่ละกรรมวิธีจนครบ ยกเว้น กรรมวิธีที่ 5 หลอดทดลองที่มีเพลี้ยไฟจำนวน 5 หลอดไม่มีการรมสาร หลังทดลองครบกำหนดเวลา 90-120 นาที เปิดตู้ระบายอากาศ จากนั้นนำมาทำการตรวจนับเพลี้ยไฟหลังทดลอง 1, 2, 3, 6,24 และ 48 ชั่วโมง โดยทำการแยกหลอดทดลองที่มีเพลี้ยไฟระยะตัวเต็มวัย ระยะตัวอ่อน และระยะไข่ อย่างละ 5 หลอดต่อกรรมวิธี ปฏิบัติการทดลองจนครบ 4 ซ้ำ นำผลการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจคุณภาพของช่อดอกกล้วยไม้ที่ผ่านการรม

การทดลองที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สาร Eco_2 fume ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟกล้วยไม้ วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปล่อยแก๊ส Eco_2 fume ที่ความดัน 40 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 5 วินาที และใช้ระยะ เวลาการรม 120 นาที

กรรมวิธีที่ 2 ปล่อยแก๊ส Eco_2 fume ที่ความดัน 40 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 10 วินาที และใช้ระยะเวลาการรม 120 นาที

กรรมวิธีที่ 3 ปล่อยแก๊ส Eco_2 fume ที่ความดัน 40 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 20 วินาที และใช้ระยะเวลาการรม 120 นาที

กรรมวิธีที่ 4 ปล่อยแก๊ส Eco_2 fume ที่ความดัน 40 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 30 วินาที และใช้ระยะเวลาการรม 120 นาที

กรรมวิธีที่ 5 ปล่อยแก๊ส Eco_2 fume ที่ความดัน 40 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลา 60 วินาที และใช้ระยะเวลาการรม 120 นาที

กรรมวิธีที่ 6 ไม่มีการรมสาร

วิธีปฏิบัติการทดลอง นำเพลี้ยไฟกล้วยไม้แต่ละวัยที่เลี้ยงขยายพันธุ์ เขี่ยใส่หลอดทดลองปิดด้วย พาราฟิล์ม จำนวน 10 ตัวต่อหลอด รวมจำนวน 50 ตัวต่อกรรมวิธี ทำการทดลองครั้งละ 1 ซ้ำ แต่ละกรรมวิธีทำการสุ่มเลือกตู้รมสาร แต่ละตู้ทดลอง วางหลอดทดลองที่มีเพลี้ยไฟจำนวน 5 หลอด ปิดฝาตู้ให้สนิทพร้อมปิดเทปกาวตามขอบประตูเพื่อป้องกันการรั่วซึม ปล่อยสาร Eco_2 fume แต่ละกรรมวิธีจนครบ ยกเว้นกรรมวิธีที่ 6 หลอดทดลองที่มีเพลี้ยไฟจำนวน 5 หลอดไม่มีการรมสาร หลังทดลองครบกำหนดเวลา 120 -150 นาที เปิดตู้ระบายอากาศ 30 นาที จากนั้นทำการตรวจนับเพลี้ยไฟ หลังทดลอง 0, 3, 6,12, 24 และ 48 ชั่วโมง โดยทำการแยกหลอดทดลองที่มีเพลี้ยไฟระยะตัวเต็มวัย ระยะตัวอ่อน และระยะไข่ อย่างละ 5 หลอดต่อกรรมวิธี ปฏิบัติการทดลองจนครบ 4 ซ้ำ นำผลการทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ และตรวจคุณภาพของช่อดอกกล้วยไม้ที่ผ่านการรม

เวลาและสถานที่ทดลอง

ทำการทดลองระหว่างเดือน เมษายน – กันยายน 2550 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สารเมทธิลโบรไมด์ อัตรา 20 กรัมต่อลูกบาศก์เมตรใช้เวลารมนาน 90 นาที สามารถกำจัดเพลี้ยไฟกล้วยไม้ให้ตาย 100 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 3 ชั่วโมง ซึ่งปัจจุบันแนะนำให้เกษตรกรใช้อยู่ ส่วนสาร Eco_2 fume จะได้ทำการทดลองเพื่อหาอัตราที่เหมาะสมต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ยังไม่สามารถสรุปผลการทดลองได้ เพราะเป็นการรายงานความก้าวหน้าเท่านั้น

ศึกษาและพัฒนาเทคนิคการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสในมะม่วง

Study and Improvement on Spraying Technique for Controlling Anthracnose Disease on Mango

ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท
สรรชัย เพชรธรรมรส สิริวิภา พลตรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ปี 2549 ทำการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการพ่นสารทางด้านกายภาพด้วยวิธี Quantitative โดยศึกษาปริมาณการตกค้างของละอองสารบนใบ การสูญเสียของละอองสารบนพื้นดิน และศึกษาการแพร่กระจายของละอองสารบนตำแหน่งต่าง ๆ บนต้นมะม่วง ทำการทดลองกับมะม่วงที่มีความสูง 3.80 – 4.70 เมตร ความกว้างทรงพุ่ม 5.00 – 6.00 เมตร ที่สวนของเกษตรกรบริเวณ อ.บ้านโฮ่ง จ.ลำพูน ระหว่างเดือนเมษายน 2549 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ดังนี้ พ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 3.0 และ 4.0 ลิตร/ต้น และพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 6.5 และ 4.0 ลิตร/ต้น ผลการทดลองพบว่า การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราการพ่น 6.5 และ 4.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณการตกค้างของละอองสารบริเวณริมทรงพุ่ม (และในทรงพุ่ม) เฉลี่ย 1.28 (1.13) และ 2.28 (1.61) ไมโครลิตร/ตร.ซม. ตามลำดับ ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 3.0 และ 4.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณของละอองสารตามตำแหน่งดังกล่าว 2.17 (1.09) และ 2.07 (1.36) ไมโครลิตร/ตร.ซม. ตามลำดับ ส่วนปริมาณการสูญเสียของละอองสารที่วิธีการดังกล่าวมี 24.99, 19.09, 7.55 และ 14.70 % ตามลำดับ จากการทดลองดังกล่าว ควรมีการปรับอัตราการพ่น ตลอดจนการจัดตำแหน่งของหัวฉีด โดยเฉพาะเครื่องพ่นสารแบบ Airblast ให้เหมาะสมกับสภาพของพืช ดังนั้นจึงต้องศึกษาวิธีการพ่นทางด้านกายภาพอีกครั้งหนึ่ง ก่อนที่จะนำไปศึกษาทางด้านการป้องกันกำจัดด้วยสารเคมีต่อไป

ปี 2550 ทำการศึกษาทดลองเช่นเดียวกับปี 2549 แปลงเกษตรกร อ.บ้านโฮ่ง จ.ลำพูน ระหว่างเดือนมกราคม ปี 2550 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้ พ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 5.0 และ 4.0 ลิตร/ต้น และพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 8.0 และ 5.0 ลิตร/ต้น ผลการทดลองพบว่า การพ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสาร

รหัสโครงการ 07-01-49-02

แบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น พบปริมาณสารตกค้างบนใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ ปริมาณ 2.41 ไมโครลิตร/ตร.ซม. แตกต่างกับการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงที่อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น และเครื่อง Airblast ที่อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น ซึ่งมีปริมาณสารตกค้างบนใบมะม่วง 1.68 และ 1.70 ไมโครลิตร/ตร.ซม. ตามลำดับ ส่วนการพ่นด้วยเครื่อง Airblast ที่อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้นมีปริมาณสารตกค้างบนใบน้อยที่สุดคือ 1.47 ไมโครลิตร/ตร.ซม. และแตกต่างจาก 3 วิธีการดังกล่าวข้างต้นทุกวิธีการ ปริมาณสารตกค้างบริเวณด้านริมทรงพุ่มมากกว่าด้านในทรงพุ่มมะม่วง ในทำนองเดียวกันปริมาณสารตกค้างบนช่อดอกพบปริมาณสาร 13.48, 8.04, 8.07 และ 8.75 ไมโครลิตร/ดอก ตามลำดับ โดยการพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงที่อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณสารบนช่อดอกสูงสุดและแตกต่างกับอีก 3 วิธีการดังกล่าวเช่นกัน ส่วนปริมาณการสูญเสียของสารบนพื้นใต้ต้นมะม่วงพบปริมาณสารตามวิธีการพ่นสารดังกล่าวเฉลี่ย 7.30, 2.30, 2.67 และ 1.75 ไมโครลิตร/ตร.ซม. ตามลำดับ จากข้อมูลการทดลองในปี 2549, 2550 จะได้นำไปประยุกต์ใช้กับการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคแอนเทรกโนสในมะม่วงต่อไป

คำนำ

มะม่วงเป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง พบว่าในปี 2549 มีการปลูกมะม่วงรวมทั้งสิ้น 1,975,205 ไร่ ให้ผลผลิต 14,195 ตัน และสามารถส่งออกได้เป็นมูลค่า 597 ล้านบาท (ชูชาติ และ อรุณี, 2550) การปลูกมะม่วงมักพบปัญหาเรื่องแมลงศัตรูพืชแล้ว ยังพบว่า โรคพืชสำคัญ ๆ หลายชนิด เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตของมะม่วงลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าการส่งออกมะม่วงไปต่างประเทศมีปัญหาเรื่องพิษตกค้างของสารเคมี ที่เกินค่าระดับความปลอดภัย โรคแอนแทรกโนส คือว่าเป็นโรคพืชที่สำคัญมากที่สุด เนื่องจากสามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ช่วงออกดอก จนกระทั่งติดผลแล้ว ดังนั้นการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนส ต้องทำการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชในช่วงดังกล่าว เกษตรกรส่วนใหญ่จะพ่นด้วยวิธีการพ่นสารแบบเดิม คือ ใช้เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง ซึ่งวิธีการพ่นดังกล่าว มักไม่ค่อยมีประสิทธิภาพเท่าที่ควร สิ้นเปลืองจากการสูญเสียขณะพ่น นอกจากนี้ยังใช้เวลาและแรงงานค่อนข้างมาก ควรหาวิธีการหรือเครื่องพ่นชนิดใหม่เข้ามาทดแทนวิธีการพ่นสารแบบเดิม เครื่องพ่นสารแบบ Airblast เป็นเครื่องพ่นชนิดใหม่ ที่น่าจะนำมาทดลองพ่นป้องกันกำจัดโรคพืชดังกล่าว เนื่องจากได้มีการศึกษาและพัฒนาให้สามารถพ่นสารกำจัดแมลงบางชนิดและโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ประหยัด และปลอดภัย (ดำรง และคณะ,2539 ก,ข, 2545 และ2548) ดังนั้นจึงควรศึกษาและพัฒนาเครื่องพ่นสารดังกล่าวให้สามารถป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนส ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อจะได้นำไปแนะนำเกษตรกร ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องยนต์พ่นสารแบบใช้แรงลมขนาดใหญ่ (Airblast sprayer)
2. รถแทรกเตอร์ ขนาด 22 แรงม้า
3. เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง พร้อมก้านฉีดแบบธรรมดา
4. สี tartrazine และสารจับใบ
5. หัวฉีดแบบรูปกรวยกลวงที่มีรูฉีดขนาดต่าง ๆ
6. เครื่องวัดความเข้มข้นของสี (Colorimeter)
7. ถุงพลาสติก และ petridish
8. เครื่องวัดอุณหภูมิ ความชื้นสัมพันธ์ ความเร็วลม นาฬิกาจับเวลา และ เทปวัดระยะ
9. ริบบิ้น และกระดาษมัน
10. เครื่องวัดอัตราการไหลของหัวฉีด
11. กระดาษกราฟ และไม้บรรทัด
12. กระบอกตวง
13. มะม่วง
14. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น

วิธีการ

ปี 2549

ทำการพ่นทดลองด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ 4 กรรมวิธี ดังนี้ คือ

- พ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง ประกอบก้านฉีดแบบธรรมดา ด้วยอัตราพ่น 6.5 ลิตร/ต้น
- พ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง ประกอบก้านฉีดแบบธรรมดา ด้วยอัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น
- พ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast ด้วยอัตราพ่น 3.0 ลิตร/ต้น
- พ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast ด้วยอัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น

ทุกกรรมวิธีทำการพ่นด้วยสี tartrazine ที่มีความเข้มข้น 0.4%

ปี 2550

ทำการพ่นทดลองด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ 4 กรรมวิธีดังนี้ คือ

- พ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง ประกอบก้านฉีดแบบธรรมดา อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น

- พ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง ประกอบก้านฉีดแบบธรรมดา อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น
- พ่นด้วย เครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น
- พ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น

ทุกกรรมวิธีทำการพ่นด้วยสี tartrazine ที่มีความเข้มข้น 0.5 %

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 ก่อนทำการทดลองทำการสุ่มเลือกมะม่วง ให้มีขนาดความสูง ความกว้าง และลักษณะความทึบของทรงพุ่มใกล้เคียงกันโดยใช้มะม่วง 1 ต้น เป็น 1 หน่วยการทดลอง

2.2 ติดตั้งอุปกรณ์ต่าง ๆ ของเครื่องพ่นสารแบบ Airblast แล้วตรวจทิศทางของลมที่พ่นออกจากเครื่องพ่นไปยังต้นมะม่วง โดยใช้ริบบิ้นค่อย ๆ ปล่อยเข้าสู่กระแสลมจนถึงต้นมะม่วง ทำให้รู้ตำแหน่งของการปิดและเปิดหัวฉีดและทำการตรวจวัดความเร็วของลมที่ถูกดูดเข้าตามตำแหน่งต่าง ๆ ของใบพัด เพื่อมาคำนวณปริมาตรของลมให้เหมาะสมกับทรงพุ่มของมะม่วง

2.3 ทำการตรวจวัดอัตราการไหลของหัวฉีดแบบกรวยกลวงที่มีรูฉีดขนาดต่าง ๆ ดังนี้ ปรับรอบของเกียร์ฝาก (P.T.O) ให้ได้ประมาณ 520 – 540 รอบ/นาที ทำการวัดอัตราการไหลด้วยเครื่องวัดอัตราการไหลของหัวฉีด (Flow meter) ซึ่งสามารถสวมเข้ากับตัวหัวฉีด ทำการวัดอัตราการไหลของหัวฉีดแต่ละขนาด ขนาดละ 10 หัว ที่แรงดัน 10 15 และ 20 บาร์ ทำการวัดหัวฉีดทุกขนาดทุกหัวที่แรงดันทั้ง 3 โดยวัดจำนวน 3 ครั้ง จดบันทึกเพื่อหาค่าเฉลี่ยของอัตราการไหล

2.4 ทำการตรวจวัดความเร็วของรถแทรกเตอร์ ที่เกียร์ต่าง ๆ โดยทำการปรับรอบเกียร์ฝากและรอบของเครื่องยนต์ เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2.2 และ 2.3 ทดสอบความเร็วในสภาพของสวนที่ทดลองโดยใช้ระยะ 100 เมตร ทำการวิ่งทดสอบแต่ละเกียร์อย่างน้อย 2 ครั้ง

2.5 ทำการทดสอบการพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง ประกอบก้านฉีดแบบธรรมดา โดยการปรับมุมพ่นให้กว้างมากที่สุดที่สามารถพ่นได้จนถึงระดับยอดของมะม่วง หลังจากนั้นทำการตรวจวัดอัตราการไหลของฉีดที่จะทำมาทดลองพ่น จำนวน 5 ครั้ง

2.6 ทำการวาง petridish ได้ต้นมะม่วง โดยแบ่งออกตามตำแหน่งของลมที่พัดเข้าต้นมะม่วง 8 ตำแหน่ง ดังนี้ ตำแหน่งด้านเหนือลมซ้ายและขวา ตำแหน่งด้านใต้ลมซ้ายและขวาแต่ละตำแหน่งจะวางทั้งริมทรงพุ่มและในทรงพุ่ม

2.7 ทำการติดกระดาษมัน ขนาด 1.5 x 10.0 ซม. ทั้งหน้าใบและหลังใบมะม่วง โดยติดที่จุดต่าง ๆ ดังนี้ คือ แบ่งมะม่วงเป็น 2 ระดับ คือ ระดับยอดและกลาง แต่ละระดับแบ่งออกเป็น 4 ตำแหน่ง คือ ด้านหลังลมซ้ายและขวา ด้านใต้ลมซ้ายและขวา โดยแต่ละตำแหน่งทำการสุ่มติดเพียง 3 จุด ทำการสุ่มติดทั้งภายนอกและภายในทรงพุ่ม และทำการติดกระดาษมันวิธีการละ 2 ต้น เพื่อนำข้อมูลดังกล่าวไปสนับสนุนข้อมูลอื่น ๆ ในการประเมินผลประสิทธิภาพของการพ่นสารแต่ละวิธีการ

2.8 ขณะพ่นทดลองทำการวัดอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ความเร็วและทิศทางลม และเวลาขณะพ่นทดลอง

2.9 การเก็บตัวอย่าง หลังจากพ่นทดลองแล้วประมาณ 30 นาที ทำการเก็บตัวอย่างในมะม่วงตามตำแหน่งต่าง ๆ ดังนี้ แบ่งต้นมะม่วง เป็น 2 ระดับ คือ

ระดับกลาง มีความสูงระหว่าง 1.50 – 2.00 เมตร

ระดับยอด มีความสูงมากกว่า 3.00 เมตร

ในแต่ละระดับแยกเก็บยอดเป็น 4 ส่วน โดยใช้ทิศทางของลมที่พัดเข้าต้นมะม่วง คือ ตำแหน่งด้านเหนือลมซ้ายและขวา ตำแหน่งด้านใต้ลมซ้ายและขวา ในแต่ละส่วนจะสุ่มแยกเก็บ 3 จุด และในแต่ละจุด จะสุ่มแยกเก็บริมและในทรงพุ่ม ทำการสุ่มใบมะม่วงจุดละ 5 ใบ นำมะม่วงทุกใบที่นำมาทดลองวัดความกว้างและความยาว เพื่อนำไปคำนวณหาพื้นที่ของใบต่อไป

2.10 นำตัวอย่างของน้ำล้างใบมะม่วงมาวัดด้วยความเข้มข้นของสี จดบันทึกเพื่อนำไปวิเคราะห์ผลและนำ petridish ที่เก็บใส่ถุงพลาสติกแต่ละถุง ที่บันทึกรายละเอียดแล้วมาล้างด้วยน้ำที่ทราบปริมาณ แล้วนำตัวอย่างที่ล้างไปวัดหาความเข้มข้นของสี จดบันทึกเพื่อนำไปวิเคราะห์ผล

2.11 สุ่มตัวอย่างใบมะม่วงที่วัดแล้วหลาย ๆ ขนาดอย่างน้อย 50 ใบ มาวาดลงในกระดาษกราฟ เพื่อนำไปหาค่าความสัมพันธ์ระหว่าง ความกว้าง ความยาว และพื้นที่ใบ นำมาคำนวณหาพื้นที่จริงของใบมะม่วงแต่ละถุงที่เก็บมาทดลอง

2.12 นำตัวอย่างของสี tartrazine ที่พ่นทดลองโดยเก็บจากหัวฉีดหลังพ่นทดลองทันทีมาประมาณ 20 มล. ทำการศึกษาหาค่าสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มของสี (Optical density) กับค่าความเข้มข้นของสี (Concentration) แต่ละระดับเพื่อทำเป็นตารางมาตรฐาน (Standard table) ดังนี้ วัดค่าความเข้มของสี (O.D) จากตัวอย่างน้ำสีที่ทดลอง ซึ่งทราบความเข้มข้นของน้ำสีแล้วทำการเจือจางลงครึ่งหนึ่ง ทำการวัดค่า O.D แต่ละครั้งทำการเจือจางลงตามลำดับ จนวัดหาค่า O.D ได้ ประมาณ 0.02 จากนั้นนำค่าความเข้มข้นของสีกับค่าความเข้มของสี (O.D) ไปหาค่าความสัมพันธ์แล้วทำไปตารางมาตรฐานต่อไป

2.13 นำค่าความเข้มของสี (O.D) จากตัวอย่างทดลองมาเปรียบเทียบเพื่อหาค่าความเข้มข้นของสี แล้วนำมาวิเคราะห์ผลรวมกับพื้นที่ของใบมะม่วง แต่ละจุด เพื่อหาค่าปริมาณของละอองสารที่ตกต่อตารางเซนติเมตรต่อไป

2.14 ในปี 2550 ทำการสุ่มกับช่อมะม่วง ด้านละ 10 ช่อ หลังจากนั้นสุ่มตัดช่อดอกมะม่วงผลประมาณ10 ซม. นำไปล้างเพื่อวัดค่า O.D และนับจำนวนดอกมะม่วงของแต่ละช่อ เพื่อนำไปด้านคำนวณหาค่าปริมาณของละอองสารที่ตกบนช่อดอกมะม่วง

เวลาและสถานที่ ทดลองที่สวนของเกษตรกรบริเวณ อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ระหว่างเมษายน 2549 และมกราคม 2550

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี 2549 ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 1 – 7 ดังนี้

- ปริมาณตกค้างของละอองสารบนใบมะม่วง จากการทดลองพบว่า ปริมาณของละอองสารที่ตกค้างบนระดับยอดตำแหน่งริมและ (นอกทรงพุ่ม) และระดับกลางตำแหน่งเดียวกัน จากการพ่นด้วยวิธีการต่าง ๆ คือ พ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 6.5 ลิตร/ต้น (HP1) มีดังนี้ 1.26(1.37), 1.30 (0.90) $\mu l/cm^2$ ตามลำดับ ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นเดียวกัน แต่ใช้อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น (HP2) มีปริมาณของละอองสาร 2.35 (2.24), 2.12 (0.98) $\mu l/cm^2$ ตามลำดับ ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 3.0 ลิตร/ต้น (AB1) มีปริมาณของละอองสาร 2.23 (1.33), 2.12 (0.86) และการพ่นด้วยอัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น (AB2) มีปริมาณของละอองสาร 1.86 (1.38), 2.29 (1.35) $\mu l/cm^2$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงอัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณของละอองสารที่ระดับยอด ทั้งริมและในทรงพุ่ม มากที่สุด และแตกต่างทางสถิติกับวิธีการอื่น ส่วนเครื่องพ่นสารแบบ Airblast ให้ปริมาณของละอองสารที่ระดับกลาง ทั้งริมและในทรงพุ่ม มากที่สุด (ตารางที่ 3) เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ กล่าวคือการพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 4.0 ลิตร มีปริมาณละอองสารมากที่สุด 1.94 $\mu l/cm^2$ แตกต่างทางสถิติกันทุกวิธีการ การพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตรา 3.0 และ 4.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณของละอองสาร 1.63 และ 1.71 $\mu l/cm^2$ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มากกว่าและแตกต่างทางสถิติกันวิธีการพ่นด้วย เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 6.5 ลิตร/ต้น ที่มีปริมาณละอองสาร 1.20 $\mu l/cm^2$ (ตารางที่ 4)

- ปริมาณการสูญเสียของละอองสารบนพื้นดิน จากการทดลองพบว่า ปริมาณการสูญเสียที่บริเวณริมทรงพุ่มและในทรงพุ่ม ของแต่ละวิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อวิเคราะห์รวมของแต่ละวิธีการแล้ว พบว่าการพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 6.5 ลิตร/ต้น สูญเสียละอองสาร 6.54 $\mu l/cm^2$ หรือ 24.99% มากที่สุด ซึ่งแตกต่างทางสถิติ จากวิธีการพ่นเดียวกันแต่ใช้อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น ซึ่งสูญเสียละออง 3.33 $\mu l/cm^2$ หรือ 19.07% และการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น มีสูญเสียละอองสาร 2.76 $\mu l/cm^2$ หรือ 14.7% ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 3.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณสูญเสียละอองสารน้อยที่สุดคือ 1.18 $\mu l/cm^2$ หรือ 7.55% (ตารางที่ 5)

- ความหนาแน่นของละอองสาร จากการทดลอง พบว่า การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 6.5 และ 4.0 ลิตร/ต้น มีความหนาแน่นของละอองสาร ทั้งบนใบและใต้ใบ ที่ตำแหน่งต่าง ๆ บริเวณริมทรงพุ่ม เฉลี่ยระหว่าง 141.80 – 464.0 และ 74.10 – 464.0 ละอองสาร/ตร.ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ส่วนบริเวณในทรงพุ่มมีความหนาแน่นของละอองสารเฉลี่ย 46.6 – 428.10 และ 8.7 – 447.10 ละอองสาร/ตร.ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 7) พบว่า การพ่นด้วยเครื่องพ่นสารดังกล่าวมีค่าความแปรปรวนอย่างมาก บางตำแหน่งมีค่า CV สูงถึง 285.60% และบางตำแหน่งมีค่า CV = 0% พบว่า การพ่นที่ระดับกลางทั้งริมทรงพุ่ม และในทรงพุ่ม ความหนาแน่นของละอองสารใต้ใบ มีค่า CV สูงมาก ส่วนตำแหน่งที่มีค่า CV = 0% พบว่า จะอยู่ตำแหน่งบนใบระดับยอดริมทรงพุ่ม ทั้งนี้เนื่องจากมีละอองสารมากกว่า 464 ละอองสาร/ตร.ซม. จนเกิดการหยดลงพื้นดินในตำแหน่งดังกล่าว ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 3.0 และ4.0 ลิตร/ต้น มีความหนาแน่นของละอองสารทั้งบนใบและใต้ใบที่ตำแหน่งต่าง ๆ บริเวณริมทรงพุ่มเฉลี่ย ระหว่าง 148.30 – 355.20 และ 147.0 – 377.67 ละอองสาร/ตร.ซม. ตามลำดับ ส่วนบริเวณบริเวณในทรงพุ่มมีความหนาแน่นของละอองสาร เฉลี่ย 66.0 – 270.10 และ 62.3 – 262.10 ละอองสาร/ตร.ซม. ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า การพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast มีค่า CV ไม่สูงมากนัก ยกเว้น บางตำแหน่งใต้ใบระดับกลางในทรงพุ่มที่มีค่า CV บางตำแหน่งสูงถึง 138.70 % แต่พิจารณาเปรียบเทียบกับการพ่นสารเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง พบว่า การพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast มีค่า CV น้อยกว่า แสดงให้เห็นว่าการแพร่กระจายของละอองสารดีกว่า (ตารางที่ 6 และ 7)

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการต่าง ๆ ที่ทำการทดลองมาแล้ว พบว่าการพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 6.5 ลิตร/ต้น มีปริมาณการตกค้างของละอองสารบนใบน้อยกว่าวิธีการอื่น ๆ อาจเป็นเพราะว่า มีการสูญเสียของละอองจากการรวมตัวแล้วหยดลงพื้นดิน จะเห็นได้ว่า การพ่นด้วยวิธีนี้มีการสูญเสีย ถึง 24.99% (ตารางที่5) และเมื่อพิจารณาความหนาแน่นของละอองสาร พบว่า มีหลาย ๆ ตำแหน่งที่ละอองสารมีมากเกินกว่าที่พื้นที่ใบจะรับได้ จึงหยดลงพื้นดิน (ตารางที่ 6 และ 7) นอกจากนี้พบว่าการพ่นด้วยวิธีดังกล่าวมีบางตำแหน่งที่ความหนาแน่นของละอองสารน้อยกว่า 70 ละอองสาร/ตร.ซม. ซึ่งไม่น่าจะมีประสิทธิภาพ พอที่จะป้องกันกำจัดโรคพืชได้ (Matthews, 2000) ส่วนวิธีการพ่นด้วยวิธีเดียวกันแต่ใช้อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น ให้ปริมาณตกค้างของละอองสารมากที่สุด แต่ก็มีการสูญเสียของละอองสารถึง 19.07% (ตารางที่ 5) และเมื่อพิจารณาความหนาแน่นของละอองสาร พบว่า มีบางตำแหน่งที่มีมากเกินไป และมีหลายตำแหน่งที่ความหนาแน่นของละอองสาร ต่ำกว่า 70 ละออง/ตร.ซม. (ตารางที่ 7) ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตรา 3.0 และ 4.0 ลิตร/ต้น ให้ผลไปในทางเดียวกัน คือ มีปริมาณละอองสารตกค้างบนใบใกล้เคียงกัน ส่วนอัตรา 4.0 ลิตร/ต้น มีการสูญเสียของละอองสารมากกว่า ทั้งนี้เกิดจากปลิวของละอองสาร ขณะพ่นในบางช่วงเกิดมีลมหวน (ตารางที่ 2) และเกี่ยวข้องกับการจัดหัวฉีดที่มีหลายขนาด และใช้ขนาดโตจัดอยู่ในส่วนล่างของเครื่องพ่นสาร ซึ่งมีส่วนให้

ละอองสารขนาดใหญ่ปะทะกับในมะม่วงที่อยู่ใกล้หัวฉีดแล้วเกิดอาการหยดลงบนพื้นดิน (ตารางที่ 1) เมื่อพิจารณาถึงความหนาแน่นของละอองสาร พบว่า การพ่นด้วยเครื่องพ่นสาร Airblast มีข้อดีที่มีลมช่วยพัดให้ใบมะม่วงพลิกไปมาและละอองสารจะเข้าแพร่กระจายได้ดี จากการทดลองครั้งนี้ มีเพียงบางตำแหน่งที่มีความหนาแน่นของละอองสารน้อยกว่า 70 ละอองสาร/ตร.ซม. และพบว่ามีค่า CV ที่ไม่สูงมากนัก ทั้ง 2 อัตราพ่น อย่างไรก็ตามควรมีการจัดหัวฉีด และเพิ่มอัตราพ่น เพื่อให้มีปริมาณของละอองสารมากขึ้น และพยายามจัดหัวฉีดให้มีขนาดเดียวกัน โดยเลือกขนาดที่เหมาะสม จะช่วยลดปริมาณสารสูญเสียของละอองสารได้

ปี 2550 ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 1-2 ,8-10 ดังนี้

- ปริมาณตกค้างของละอองสารบนใบมะม่วง จากการทดลองพบว่า การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง (HP1) อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น มีละอองสารตกค้างที่ระดับยอดตำแหน่งเหนือลม (ใต้ลม) และระดับกลางตำแหน่งเหนือลม (ใต้ลม) มีปริมาณ 2.54 (2.70) และ 2.38 (2.02) µl/cm^2 ตามลำดับซึ่งมากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับวิธีการอื่น ๆ ทุกตำแหน่ง ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารชนิดเดียวกัน (HP2) อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณละอองสารที่ตำแหน่งดังที่กล่าวมาแล้ว คือ 2.05 (1.79) และ 1.54 (1.34) µl/cm^2 ตามลำดับ ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast 5.0 ลิตร/ต้น (AB1) มีปริมาณละอองสารไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ตำแหน่งเหนือลม ทั้ง 2 ระดับ ส่วนตำแหน่งใต้ลมที่ระดับกลางการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast มีปริมาณของละอองสารมากกว่าและแตกต่างทางสถิติ เนื่องจากการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast สามารถแพร่กระจายละอองสารได้ดีกว่า ยกเว้นที่ระดับยอด พบว่า การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง มีปริมาณของละอองสารมากกว่า เนื่องจากทรงพุ่มของมะม่วงที่พ่นด้วยเครื่องพ่นสาร Airblast มีความสูงและค่อนข้างทึบกว่า (ตารางที่ 2) ดังนั้นการแพร่กระจายของละอองสารในระดับยอด คงไม่ทั่วถึง ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น (AB2) มีปริมาณละอองสารตกค้างน้อยกว่าวิธีเดียวกันทุกตำแหน่ง ยกเว้นที่ตำแหน่งใต้ลมระดับยอด (ตารางที่ 8) เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติระหว่างปริมาณละอองสารที่บริเวณริมและในทรงพุ่ม พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อวิเคราะห์ผลรวมทั้งต้น พบว่า การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณของละอองสาร 2.41 µl/cm^2 ซึ่งมากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับทุกวิธีการ ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นชนิดเดียวกัน อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น และเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่นเท่ากันมีปริมาณละอองสาร 1.68 และ 1.70 µl/cm^2 ตามลำดับไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่มากกว่า และแตกต่างทางสถิติกับการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น ที่มีปริมาณละอองสาร 1.47 µl/cm^2 (ตารางที่ 9) เมื่อพิจารณาปริมาณการตกค้างของละอองสารบนช่อดอกพบว่า การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง มีละอองสารตกค้างบนดอกมะม่วง 13.48 µl/ดอก มากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับทุกวิธีการ กล่าวคือ การพ่นด้วยเครื่องพ่นชนิดเดียวกัน อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น และการพ่นด้วยเครื่อง

พ่นสารแบบ Airblast อัตรา 5.0 และ 4.0 ลิตร/ต้น มีละอองสารตกค้างบนช่อดอก 7.04, 7.07 และ 8.76 µl/ดอก ตามลำดับ และไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 9)

- ปริมาณการสูญเสียของละอองสารบนพื้นดิน จากการทดลองพบว่า การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น และ 5.0 ลิตร/ต้น การพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast 5.0 และ 4.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณละอองสารสูญเสีย 7.30, 2.30, 2.67 และ 1.75 µl/cm^2 ตามลำดับหรือคิดเป็น 18.0 8.2 8.4 และ 7.0 เปอร์เซ็นต์ การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันที่สูงอัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น มีปริมาณสูญเสียมากที่สุดและแตกต่างทางสถิติกับวิธีการอื่น ๆ ส่วนวิธีการทั้งสามไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 10)

- ความหนาแน่นของละอองสาร ในปี 2550 ไม่ได้ทำการศึกษา เนื่องจากมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องการตกค้างของละอองสารบนช่อดอก เพื่อเพิ่มเติมข้อมูลในกรณีที่ต้องการพ่นป้องกันกำจัดโรค Anthracnose ที่จะเข้าทำลายช่อดอก

เมื่อพิจารณาถึงประสิทธิภาพในพ่นสารด้วยเครื่องพ่นสารทั้ง 2 ชนิด ที่อัตราต่าง ๆ ด้วยวิธีทางกายภาพ เมื่อนำไปศึกษาทางด้านการป้องกันกำจัดด้วยสารเคมีต่อไป นั้น พบว่า การพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น กับมะม่วงที่มีความสูงระหว่าง 3.80 – 4.80 เมตร และมีความกว้างของทรงพุ่ม 4.10 – 5.00 เมตร ลักษณะทรงพุ่มค่อนข้างทึบ น่าจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค Anthracnose ได้ดีกว่าอัตรา 5.0 ลิตร/ต้น ถึงแม้ว่าจะมีการสูญเสียมากกว่า 9.8% ซึ่งสามารถจะแก้ไขได้ด้วยการเปลี่ยนรูฉีดเป็นขนาด 1.5 – 1.6 มม. และใช้เวลาพ่นนานขึ้น นอกจากนี้วิธีการพ่นควรให้ผู้พ่นห่างจากต้นมะม่วงพอสมควร จะทำให้มีมุมพ่นกว้างขึ้น การทดลองนี้พบว่า ผู้พ่นอยู่ใกล้ต้นมะม่วงทำให้ละอองสารที่ออกจากหัวฉีดอยู่ชิดต้นมะม่วงทำให้เกิดการสูญเสียบริเวณริมทรงพุ่มค่อนข้างมาก ส่วนการพ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 4.0 – 5.0 ลิตร/ต้นน่าจะมีประสิทธิภาพในการพ่นป้องกันกำจัดโรค Anthracnose ที่ทำลายใบได้ดี เนื่องจากการแพร่กระจายของละอองสารบนใบมีความหนาแน่นมากอย่างไรก็ตาม ถ้าต้องการพ่นเพื่อป้องกันกำจัดที่ช่อดอก อัตราพ่น 4.0–5.0 ลิตร/ต้น อาจจะมีประสิทธิภาพต่ำ ควรเพิ่มอัตราพ่นขึ้นประมาณ 20% อย่างไรก็ตามการศึกษาทางด้านกายภาพ ไม่สามารถเป็นตัวชี้วัดถึงประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดด้วยสารเคมีได้ จึงควรนำเอาวิธีการต่าง ๆ ไปศึกษาด้วยสารเคมีเพื่อป้องกันกำจัดโรค Anthracnose ต่อไป

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาทางด้านกายภาพ ในปี 2549 และ 2550 พบว่า การพ่นเพื่อป้องกันกำจัดโรคแอนแทรกโนสที่เข้าทำลายมะม่วง ที่มีความสูงระหว่าง 3.80 – 4.80 เมตร ความกว้างของทรงพุ่มระหว่าง 4.10 – 6.00 เมตร ควรพ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น ส่วนเครื่องพ่นสารแบบ Airblast ควรใช้อัตราพ่น 5.0 – 6.0 ลิตร/ต้น เพื่อยืนยันผลการทดลองจำเป็นต้องศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดด้วยสารเคมี ในปี 2551 และ 2552 ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. ชูชาติ วัฒนวรรณ และ อุรณี วัฒนวรรณ 2550. ยกระดับการผลิตมะม่วงไทยเพื่อการส่งออก. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 กรมวิชาการเกษตร 64 หน้า.
2. ดำรง เวชกิจ ปัญญา พุกสุ่น ประคอง ภมร สมบูรณ์ ทองสกุล. 2539 ก. การศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องพ่นสาร Airblast **ใน** รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 10 (ภาคบรรยาย) กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 465 – 484.
3. ดำรง เวชกิจ และ W.J. King. 2539 ข. เปรียบเทียบการใช้เครื่องพ่นสารแบบ Airblast และเครื่องพ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงในส้มเขียวหวาน. **ใน** รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 10 (ภาคแผ่นภาพ) กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 215 – 233.
4. ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย ประคอง ภมร สรรชัย เพชรธรรมรส 2545. เทคนิคการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูมะม่วงด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast **ใน** รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 13 (ภาคแผ่นภาพ) กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 219 – 243.
5. ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย สุพัตรา อินทวิมลศรี สรรชัย เพชรธรรมรส อันธิกา พลตรี 2548. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคศัตรูส้มโอ **ใน** รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. ปี 2548 หน้า 516 – 579.
6. G.A. Matthews. 2000. Pesticide Application Methods. Blackwell Science. 432 p.

ตารางที่ 1 แสดงรายละเอียดของเครื่องพ่นสาร หัวฉีด แรงดัน อัตราการไหล (ลิตร/นาที) ของแต่ละวิธีการ ทำการพ่นทดลองกับมะม่วง ทดลองที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ในปี 2549 และ 2550

ปี 2549 เดือนเมษายน

วิธีการ	เครื่องพ่นสาร	หัวฉีด	ขนาด (มม.)	จำนวน	แรงดัน (บาร์)	อัตราการไหล (ลิตร/นาที)
HP1	เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 6.5 ลิตร/ต้น	แบบกรวยกลวง	1.2	1	20	3.25
HP2	เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น	แบบกรวยกลวง	1.2	1	20	3.25
AB1	เครื่องพ่นสารแบบ Airblast (ยี่ห้อ Hardi)	แบบกรวยกลวง	แดง	3	10	5.7
	อัตราพ่น 3.0 ลิตร/ต้น		ส้ม	1	10	1.3
			น้ำตาล	1	10	0.6
AB2	เครื่องพ่นสารแบบ Airblast (ยี่ห้อ Hardi)	แบบกรวยกลวง	เขียว	2	10	4.8
	อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น		แดง	2	1.0	3.8
			ส้ม	1	10	1.3

ปี 2550 เดือนมกราคม

วิธีการ	เครื่องพ่นสาร	หัวฉีด	ขนาด (มม.)	จำนวน	แรงดัน (บาร์)	อัตราการไหล (ลิตร/นาที)
HP1	เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น	แบบกรวยกลวง	1.8	1	20	6.5
HP2	เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น	แบบกรวยกลวง	1.5	1	20	4.25
AB1	เครื่องพ่นสารแบบ Airblast (ยี่ห้อ Hardi) อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น	แบบกรวยกลวง	เขียว	10	10	24.4
AB2	เครื่องพ่นสารแบบ Airblast (ยี่ห้อ Hardi) อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น	แบบกรวยกลวง	แดง	10	10	19.1

1879

ตารางที่ 2 แสดงอัตราการพ่น (ลิตร/ต้น) ขนาดความสูง และทรงพุ่มของ มะม่วง เวลาขณะพ่นสาร อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และความเร็วของลม ขณะทดลอง ทำการ ทดลองที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ในปี 2549 และ ะ 2550

ปี 2549

วิธีการ	อุณหภูมิ (°C)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	เวลาขณะพ่นสาร (ชม:นาที)	ความเร็วลม (เมตร/วินาที)	ทรงพุ่ม	
					สูง (ม.)	กว้าง (ม.)
HP1	พ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 6.5 ลิตร/ต้น					
	32.0-32.5	78-82	9.30-9.45	0.1-0.6	4.20-4.70	5.20-6.00
HP2	พ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น					
	32.5-33.0	70-74	10.15-10.32	1.1-2.7	4.00-4.50	5.00-6.00
AB1	พ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 3.0 ลิตร/ต้น					
	31.0-31.5	84-86	8.50-8.55	0.3-0.7	3.80-4.60	4.50-5.50
AB2	พ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น					
	31.5-32.0	80-84	8.57-9.05	0.4-1.5	3.80-4.20	7.70-5.60

ปี 2550

วิธีการ	อุณหภูมิ (°C)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	เวลาขณะพ่นสาร (ชม:นาที)	ความเร็วลม (เมตร/วินาที)	ทรงพุ่ม	
					สูง (ม.)	กว้าง (ม.)
HP1	พ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 8.0 ลิตร/ต้น					
	24.0-26.0	72-84	9.50-10.05	- [1/]	3.80-4.60	4.10-5.00
HP2	พ่นด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น					
	26.0-28.0	68-72	10.10-10.14	-	3.80-4.65	4.50-4.80
AB1	พ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 5.0 ลิตร/ต้น					
	23.0-24.0	84-86	9.30-9.35	-	3.90-4.80	4.10-5.00
AB2	พ่นด้วยเครื่องพ่นสารแบบ Airblast อัตราพ่น 4.0 ลิตร/ต้น					
	23.0-24.0	84-86	9.42-9.45	-	3.80-4.15	4.20-4.80

[1/] เครื่องวัดลมชำรุดไม่สามารถวัดลมได้

1880

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณตกค้างของละอองสาร (µl/cm^2) บนใบมะม่วงที่ตำแหน่งต่างๆ ของต้นมะม่วง จากการพ่นด้วยวิธีการต่างๆ ทำการทดลองที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ระหว่างเดือนเมษายน 2549

วิธีการ	ปริมาณตกค้างของละอองสาร (µl/cm^2) ที่ระดับ			
	ยอด		กลาง	
	ริมทรงพุ่ม	ในทรงพุ่ม	ริมทรงพุ่ม	ในทรงพุ่ม
HP1 [1/]	1.26 d [2/]	1.37 b [2/]	1.30 c [2/]	0.90 bc [2/]
HP2	2.35 a	2.24 a	2.22 ab	0.98 b
AB1	2.23 b	1.33 b	2.12 b	0.86 c
AB2	1.86 c	1.38 b	2.29 a	1.35 a

[1/] เหมือนตารางที่ 1 [2/] ค่า LSD= 0.11 ; CV= 18.95%

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณตกค้างของละอองสาร (µl/cm^2) บนใบมะม่วงที่ตำแหน่งริมและในทรงพุ่ม และ เฉลี่ยทั้งต้น จากการพ่นด้วยวิธีการต่างๆ ทำการทดลอง ที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ระหว่างเดือนเมษายน 2549

วิธีการ	ปริมาณตกค้างของละอองสาร (µl/cm^2)		
	ริมทรงพุ่ม	ในทรงพุ่ม	เฉลี่ยทั้งต้น
HP1 [1/]	1.28	1.13	1.20 c [2/]
HP2	2.28	1.61	1.94 a
AB1	2.17	1.09	1.63 b
AB2	2.07	1.36	1.71 b

[1/] เหมือนตารางที่ 1 [2/] ค่า LSD = 0.15 ; CV= 18.95%

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณละอองสารที่สูญเสียบนพื้นดิน (µl /cm^2) จากการพ่นด้วยวิธีการต่างๆ กับมะม่วง ทำการทดลองที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ระหว่างเดือนเมษายน 2549

วิธีการ	ปริมาณละอองสารที่สูญเสียบนพื้นดิน (µl /cm^2)			เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย (%)
	ริมทรงพุ่ม	ในทรงพุ่ม	เฉลี่ย	
HP1 [1/]	8.23	4.86	6.54 a [2/]	24.99
HP2	4.50	2.16	3.33 b	19.07
AB1	1.28	1.08	1.18 c	7.55
AB2	3.27	2.26	2.76 b	14.7

[1/] เหมือนตารางที่ 1 [2/] ค่า LSD = 1.31 ; CV= 53.41%

ตารางที่ 6 แสดงความหนาแน่นของละอองสารเฉลี่ย (ละออง/ตร.ซม.) บนใบและใต้ใบมะม่วง ที่ตำแหน่งต่างๆ ริมทรงพุ่ม ทำการทดลองที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ระหว่างเดือนเมษายน 2549

วิธีการ	ระดับ								
	ยอด					กลาง			
	เหนือลม			ใต้ลม		เหนือลม		ใต้ลม	
	บนใบ		ใต้ใบ	บนใบ	ใต้ใบ	บนใบ	ใต้ใบ	บนใบ	ใต้ใบ
HP1[1/]	X	464.00	283.00	448.10	259.20	430.10	141.80	327.80	146.10
	CV (%)	0	72.40	12.31	65.98	27.32	109.53	62.02	109.36
HP2	X	464.00	237.20	451.50	234.80	396.90	74.10	392.00	83.00
	CV (%)	0	74.11	9.15	73.79	32.32	148.77	28.41	130.04
AB1	X	345.90	206.00	316.60	148.30	355.20	234.10	347.60	272.00
	CV (%)	29.58	74.36	45.70	76.47	43.38	69.22	45.52	67.20
AB2	X	307.50	246.70	307.30	147.00	350.80	359.50	377.67	286.70
	CV (%)	53.64	72.62	56.58	78.03	37.32	39.27	28.50	57.14

[1/] เหมือนตารางที่ 1

ตารางที่ 7 แสดงความหนาแน่นของละอองสารเฉลี่ย (ละออง/ตร.ซม.) บนใบและใต้ใบมะม่วง ที่ตำแหน่งต่างๆ ริมทรงพุ่ม ทำการทดลองที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ระหว่างเดือนเมษายน 2549

วิธีการ	ระดับ								
	ยอด					กลาง			
	เหนือลม			ใต้ลม		เหนือลม		ใต้ลม	
	บนใบ		ใต้ใบ	บนใบ	ใต้ใบ	บนใบ	ใต้ใบ	บนใบ	ใต้ใบ
HP1[1/]		408.50	192.20	428.10	76.10	160.10	99.00	333.60	96.60
	CV (%)	31.81	90.35	21.13	99.93	102.72	145.84	48.90	285.60
HP2	X	447.10	151.30	444.70	55.00	219.10	8.70	272.50	13.10
	CV (%)	11.89	95.70	15.06	115.95	90.41	132.30	57.39	153.58
AB1	X	215.70	134.10	99.30	132.10	193.80	107.6	270.10	66.00
	CV (%)	56.52	117.46	62.37	123.27	60.20	109.38	65.24	138.70
AB2	X	163.10	72.10	213.90	62.30	206.30	121.10	262.10	84.00
	CV (%)	75.49	63.99	73.64	108.78	69.91	98.60	69.26	68.89

[1/] เหมือนตารางที่ 1

ตารางที่ 8 แสดงปริมาณตกค้างของละอองสาร (µl /cm^2) บนใบมะม่วงที่ตำแหน่งต่างๆ ของต้นมะม่วง จากการพ่นสารวิธีการต่าง ๆ ทำการทดลองที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ระหว่างเดือนมกราคม 2550

วิธีการ	ปริมาณตกค้างของละอองสาร (µl/cm^2) ที่ระดับ			
	ยอด		กลาง	
	เหนือลม	ใต้ลม	เหนือลม	ใต้ลม
HP1 [1/]	2.54 a	2.70 a	2.38 a	2.02 a
HP2	2.05 b	1.79 b	1.54 bc	1.34 c
AB1	2.14 b	1.40 c	1.65 b	1.62 b
AB2	1.48 c	1.47 c	1.47 c	1.48 c

[1/] เหมือนตารางที่ 1 ค่า LSD= 0.12 ; CV= 18.45%

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณตกค้างของละอองสาร (µl /ดอก) บนใบและดอกมะม่วง จากการพ่นด้วยวิธีการต่าง ๆ ทำการทดลองที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ระหว่างเดือนมกราคม 2550

วิธีการ	ปริมาณตกค้างของละอองสารบนใบมะม่วง			ดอกมะม่วง
	ริมทรงพุ่ม	ในทรงพุ่ม	เฉลี่ย	(µl /ดอก)
HP1 [1/]	2.50	2.32	2.41 a [2/]	13.48 a [3/]
HP2	2.07	1.30	1.68 b	8.04 b
AB1	2.03	1.37	1.70 b	8.07 b
AB2	1.64	1.30	1.47 c	8.76 b

[1/] เหมือนตารางที่ 1 [2/] ค่า LSD = 0.17 ; CV= 18.45% [3/] ค่า LSD = 1.93 ; CV= 12.60%

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณละอองสารที่สูญเสียบนพื้นดิน (µl /cm^2) จากการพ่นด้วยวิธีการต่าง ๆ กับมะม่วง ทำการทดลองที่สวนเกษตรกร อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ระหว่างเดือนมกราคม 2550

วิธีการ	ปริมาณละอองสารที่สูญเสียบนพื้นดิน (µl /cm^2)			เปอร์เซ็นต์การสูญเสีย (%)
	ริมทรงพุ่ม	ในทรงพุ่ม	เฉลี่ย	
HP1 [1/]	9.62	4.99	7.30 b [2/]	18.00
HP2	3.43	1.17	2.30 a	8.20
AB1	3.16	2.17	2.67 a	8.40
AB2	1.93	1.57	1.75 a	7.00

[1/] เหมือนตารางที่ 1 [2/] ค่า LSD = 1.52 ; CV= 60.94%