กรมวิชาการเกษตร
Department of Agriculture
แหล่งความรู้ แหล่งพัฒนา แหล่งก้าวหน้า

36 ปี กรมวิชาการเกษตร

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๑
เล่มที่ ๒

ลำดับเลขที่ 1/2552

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คำนำ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้จัดทำรายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 ขึ้น โดยรวบรวมผลงานค้นคว้าวิจัยของข้าราชการจาก กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช และกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ซึ่งมีเนื้อหาเกี่ยวข้องกับ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช โรคพืช วัชพืช และวิชาการกักกันพืช ทั้งนี้ในรายงานประจำปี 2551 มีผลงานทดลองอยู่ในแผนงานวิจัยของกรมวิชาการเกษตร ทั้งสิ้น 12 แผน เป็นโครงการวิจัย 26 โครงการ มี 50 กิจกรรม และการทดลอง 207 เรื่อง การทดลองย่อย 23 เรื่อง รายงานผลงานวิจัยนี้ ประกอบด้วย การทดลองที่เสร็จสมบูรณ์ ในปี พ.ศ. 2551 และรายงานความก้าวหน้าที่ต้องทำการทดลองต่อไป

การจัดทำรายงานประจำปี 2551 เสร็จสมบูรณ์ด้วยความร่วมมือจากหัวหน้างานทดลองทุกกลุ่มงานเป็นอย่างดี ดังนั้นสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช หวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานประจำปีดังกล่าว จะเป็นเอกสารใช้เผยแพร่ความรู้ทางวิชาการอันจะเกิดประโยชน์กับนักวิชาการ และผู้สนใจงานอารักขาพืชสืบไป

(นายพีระพงศ์ เชาวน์เสฏฐกุล)
ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
มิถุนายน 2552

สารบัญ

หน้า

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาอ้อย

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตอ้อย 01-05-49-01

กิจกรรม การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตอ้อย

กิจกรรมย่อย วิจัยวิธีการดูแลรักษาอ้อยที่เหมาะสม

การทดลอง - การวิจัยหาวิธีการกำจัดวัชพืชหลังอ้อยงอกที่เหมาะสม 1
ในแต่ละแหล่งปลูก
โดย นางสาวตรียนัย ตุงคะเสน และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนาอารักขาพืช

โครงการวิจัย ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่ 07-01-49-01

กิจกรรม ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่

กิจกรรมย่อย ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่

การทดลอง - ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารเมทธิลโบรไมด์.....25
และสาร Eco_2 fume ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในมังคุด
โดย นายทวีศักดิ์ ชโยภาส และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพการใช้สารเมทธิลโบรไมด์.....35
และสาร Eco_2 fume ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟศัตรูกล้วยไม้
โดย นายทวีศักดิ์ ชโยภาส และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและสารสกัดธรรมชาติ.....47
กับแมลงศัตรูที่สำคัญในส้มเขียวหวาน
โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่นในมะม่วง.....87
โดย นางสาวสราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช น้ำมันปิโตรเลียม.....91
และสารฆ่าไร เพื่อทดแทนสารเฝ้าระวังในการป้องกันกำจัดไรขาวพริก
โดย นายพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าหอย niclosamide 104
และ metaldehyde รูปแบบใหม่กับหอยเชอรี่ *Pomacea* sp.
โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ
- ทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช.....118
ในการป้องกันกำจัดหอยเชอรี่ *Pomacea* sp.
โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ
- ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา น้ำมันปิโตรเลียมและสารฆ่าแมลง.....124
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ
- ประสิทธิภาพแบคทีเรีย ไวรัส และสารฆ่าแมลงในการ.....127
ป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอมในหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....130
เพลี้ยแป้งในงาเพื่อทดแทนสารเฝ้าระวัง
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....144
หนอนเจาะฝักถั่วเหลือง
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....148
แมลงศัตรูสำคัญของกระเพราและโหระพา
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....162
ศัตรูที่สำคัญในทานตะวัน
โดย นางสาวเตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธ์ และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดวัชพืชชนิดใหม่.....174
ในพืชเศรษฐกิจ
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงบางชนิดป้องกันกำจัด.....182
แมลงปากดูดในกระเจี๊ยบเขียวโดยวิธีการราดบริเวณโคนต้น
โดย นายทวีศักดิ์ ชโยภาส และคณะ

- ประสิทธิภาพแบคทีเรีย ไวรัส และสารฆ่าแมลงในการ.....188
ป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผักและผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติในพริก
โดย นายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ
- ประสิทธิภาพของสารควบคุมไส้เดือนฝอยเพื่อป้องกันกำจัด.....194
โรครากปมในพริก
โดย นายมนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....202
หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) (Hubner)
ในกระเจี๊ยบเขียว
โดย นายสมรวย รวยชัยอภิกุล และคณะ
- ประสิทธิภาพน้ำมันปิโตรเลียมและสารฆ่าแมลงบางชนิด.....206
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยและเพลี้ยแป้งในขิง
โดย นายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....209
แมลงศัตรูสำคัญในผักชีฝรั่ง
โดย นางอัจฉรา หวังอาษา และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและสารสกัดธรรมชาติ.....213
ป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง *Dysmicoccus* sp. ในน้อยหน่า
โดย นางสาวพวงผกา คมสัน และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาการจัดการศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ 07-01-49-02
กิจกรรม การจัดการศัตรูพืชสำคัญของพริก
กิจกรรมย่อย การจัดการโรคแอนแทรคโนสของพริก
การทดลอง - การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส…….....222
ของพริก
โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ
- ประสิทธิภาพของวิธีการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัด.....…….....228
โรคแอนแทรคโนสในพริก
โดย นางจีรนุช เอกอำนวย และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคเหี่ยวของพริก

การทดลอง - การจัดการโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.....1954

โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ในพริก

การทดลอง - การศึกษาชนิดแมลงวันผลไม้ ศัตรูธรรมชาติและฤดูการระบาด.....235
ของแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในแหล่งปลูกพริก

โดย นางสาววิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

- การพัฒนาการเพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ชนิด 252
Bactrocera latifrons (Hendel)

โดย นางสาวสัญญาณี ศรีคชา และคณะ

- การศึกษาชีววิทยาของแมลงวันผลไม้ชนิด.....256
Bactrocera latifrons (Hendel)

โดย นางสาวสัญญาณี ศรีคชา และคณะ

- ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา น้ำมันปิโตรเลียมและสารฆ่าแมลง.....267
ในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ และผลกระทบต่อแมลงศัตรู
ธรรมชาติในพริก

โดย นายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น และคณะ

กิจกรรม การจัดการด้านวัชพืช

กิจกรรมย่อย การจัดการด้านวัชพืช

การทดลอง - ศึกษาการจัดการวัชพืชในพืชผักสวนครัว.....281

● การจัดการวัชพืชในผักชี (*Coriandrum sativum* L.)

โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของส้มเขียวหวาน

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูสำคัญของส้มเขียวหวาน

การทดลอง - ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ.....307
และไรศัตรูส้มเขียวหวานด้วยเครื่องพ่นสาร แบบ Air blast

โดย นายพฤทธิชาติ ปุญวัฒโท และคณะ

กิจกรรม การจัดการโรคสำคัญของข้าวโพด

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคสำคัญของข้าวโพด

การทดลอง - การควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่โดยชีววิธีในข้าวโพด.....311
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

- ปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวโพดต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่.....316
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

กิจกรรม การจัดการโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง

การทดลอง - การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์.....324
ในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

- ประสิทธิภาพของสารเสริมประสิทธิภาพที่ใช้ร่วมกับ 332
สารป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิดในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้
ของหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญในมะม่วง

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

การทดลอง - ศึกษาการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโดยเชื้อปฏิปักษ์.....343
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

- ศึกษาและพัฒนาวิธีการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัด 348
โรคแอนแทรคโนสในมะม่วง
โดย นายดำรง เวชกิจ และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญในพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการเพลี้ยไฟพริก

การทดลอง - ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการพ่นสารแบบต่าง ๆ 349
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟศัตรูพริก
โดย นายพฤทธิชาติ ปุญวัฒโท และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ในมะม่วง

การทดลอง - การศึกษาชนิด ชีววิทยา และประสิทธิภาพการกินของ.....356
แมงมุมตัวห้ำต่อแมลงวันผลไม้ในสวนมะม่วง
โดย นางวิภาดา วังศิลาบัตร และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชและ.....389
น้ำมันปิโตรเลียมเพื่อยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ในมะม่วง
โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ
- ศึกษาความหนาแน่นของช่วงฤดูการระบาดของแมลงวันผลไม้.....404
ในมะม่วง
โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

กิจกรรม การจัดการด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน

กิจกรรมย่อย การจัดการด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน

การทดลอง - ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดด้วงหนวดยาว.....416
เจาะลำต้นทุเรียนในระยะหนอน
โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ
- ศึกษาเทคนิคการป้องกันกำจัดตัวเต็มวัยด้วงหนวดยาว.....420
เจาะลำต้นทุเรียนอย่างเหมาะสมในสภาพสวน
โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพกับดักแสงไฟสีต่าง ๆ เพื่อดึงดูด.....425
ตัวเต็มวัยด้วงหนวดยาวเจาะทำลายทุเรียน
โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูสำคัญของฝรั่ง

การทดลอง - การใช้เหยื่อโปรตีนเพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในฝรั่ง.....1946
โดย นางสาววิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

กิจกรรม การจัดการโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน

การทดลอง - การใช้สารไคโตซานในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นเน่า.....429
ของปาล์มน้ำมัน
โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของลำไย

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคราน้ำฝนของลำไย

การทดลอง - การจัดการโรคราน้ำฝนของลำไย.....437
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของชมพู่

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูสำคัญของชมพู่

การทดลอง - ศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้ศัตรูธรรมชาติและการระบาด.....448
ของแมลงวันผลไม้สำคัญในแหล่งปลูกชมพู่
โดย นางสาวสัญญาณี ศรีคชา และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ และแมลงที่มีประโยชน์ 07-01-49-03

กิจกรรม ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ และแมลงที่มีประโยชน์

กิจกรรมย่อย ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติ และแมลงที่มีประโยชน์

การทดลอง - ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันแมลงต่อศัตรูธรรมชาติ.....460
ในข้าวโพดหวาน
โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ

- การศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลงต่อประชากรแมงมุมตัวห้ำ.....482
ในสวนมะม่วง
โดย นายพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ

- ผลของสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชต่อผึ้งพันธุ์.....488
โดย นางสาวพวงผกา อ่างมณี และคณะ

- ศึกษาเทคโนโลยีการป้องกันกำจัดไรศัตรูผึ้ง.....492
โดย นายยุทธนา แสงโชติ และคณะ

- ศึกษาเทคโนโลยีการจัดการรังผึ้งให้ได้ต่อเนื่องตลอดปี.....498
โดย นางสาวพวงผกา อ่างมณี และคณะ

- การทดสอบความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช.....516
ชนิดต่าง ๆ ที่มีต่อไรตัวห้ำ
โดย นางสาวมานิตา คงชื่นสิน และคณะ

- ผลกระทบของสารฆ่าแมลงที่มีต่อมวนเพชฌฆาต.....522
Sycanus versicolor Dohm.
โดย นางรัตนา นชะพงษ์ และคณะ

- ระดับความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงต่อหนอนใยผัก 535
Plutella xylostella (Linneaus) จากพื้นที่ปลูกสำคัญ 3 แห่ง
โดย นายสุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน 07-01-49-04

กิจกรรม การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน

กิจกรรมย่อย การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน

การทดลอง - การบริหารศัตรูมะม่วงแบบผสมผสาน.....539
โดย นางสาวสราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ
- การบริหารศัตรูลำไยแบบผสมผสาน 556
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
- การบริหารศัตรูส้มโอแบบผสมผสาน 564
โดย นางสาวสุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ
- การบริหารศัตรูกล้วยไม้แบบผสมผสาน.....571
โดย นายทวีศักดิ์ ชโยภาส และคณะ
- การบริหารศัตรูส้มเขียวหวานแบบผสมผสาน.....582
โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชทดแทนสารเคมี 07-01-49-05

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหล เพื่อกำจัดสัตว์ศัตรูพืช
- วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหล 592
เพื่อกำจัดหนูศัตรูพืช
โดย นางกรแก้ว เสือสะอาด และคณะ
- ศึกษาการใช้หนอนตายหยากและหางไหล 602
เพื่อกำจัดหอยเชอรี่และหอยทากบก
โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชควบคุมศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมวัชพืช

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาสารจากแมงลักป่า เพื่อการป้องกันกำจัดวัชพืช

- ศึกษาความคงทนของสารสกัดจากแมงลักป่าที่เก็บรักษา 614
ในสภาพธรรมชาติ
โดย นางชอุ่ม เปรมัษเฐียร และคณะ
- ศึกษาอัตราของสารสกัดจากแมงลักป่าที่เหมาะสม 624
ในการควบคุมวัชพืชก่อนและหลังพืช และวัชพืชงอก
โดย นางชอุ่ม เปรมัษเฐียร และคณะ

- การศึกษาผลทางอัลลิโลพาธิกของพืชที่รุกรานในประเทศไทย.....637
และการนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมวัชพืช
โดย นางสาวศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ
- ผลของสารสกัดจากใบมะขามต่อการเจริญเติบโตของวัชพืช.....644
บางชนิดและการนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมวัชพืช
โดย นางสาวศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

โครงการวิจัย การผลิตและการใช้ชีวภาพและชีวินทรีย์ 07-01-49-06

กิจกรรม การผลิตและการใช้แมลงและไรศัตรูธรรมชาติควบคุมศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แมลงเบียนควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง

- วิจัยพัฒนาการผลิตขยายแตนเบียนเป็นปริมาณมาก 1960
เพื่อควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว *Brontispa longissima* โดยชีววิธี
โดย นางอัมพร วิโนทัย และคณะ
- การเพาะเลี้ยงแตนเบียนชนิด *Tetrastichus brontispae* 649
Ferriere เพื่อใช้ควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว
โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แมลงและไรตัวห้ำควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง

- การใช้ไรตัวห้ำควบคุมเพลี้ยไฟและไรศัตรูพืช.....660
โดย นางสาวมานิตา คงชื่นสิน และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - การคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพสูง.....664
ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bt. และไวรัส NPV.....668
เพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในทานตะวัน
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ
- การใช้สูตรผสมของ *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับไวรัส NPV.....671
รูปสารแขวนลอยเข้มข้น (Flowable liquid) เพื่อควบคุมหนอน
ผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไวรัส NPV ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก.....675
โดย นางสาวอัจฉรา ตันติโชดก และคณะ
- รูปแบบการผลิตขยายไวรัส NPV หนอนกระทู้ผัก.....678
ในระดับกึ่งอุตสาหกรรม
โดย นางสาวอัจฉรา ตันติโชดก และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพและกรรมวิธีการอบแห้งไวรัส NPV กำจัดหนอน
กระทู้ผัก
● ศึกษาการผลิตไวรัส เอ็น พี วี ชนิดผงด้วยวิธีการอบแห้ง.....697
แบบแช่เยือกแข็ง
โดย นายสมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว 701
Metarhizium anisopliae
โดย นางเสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ
- การเก็บรักษาเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* ในรูปผง.....710
โดย นางเสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีน *Metarhizium* 720
Anisopliae ในรูปแบบผงในห้องปฏิบัติการ
โดย นางเสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยสูตรผง.....727
ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดย นายสาทิพย์ มาลี และคณะ

- ศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพ.....736
ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง
โดย นายสาทิพย์ มาลี และคณะ

- การศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุม.....742
หนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก
โดย นายสาทิพย์ มาลี และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมสัตว์ศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนารูปแบบเหยื่อที่เหมาะสมต่อการผลิตเหยื่อโปรโตซัว ในเชิงธุรกิจ

การทดลอง - ศึกษาสูตรอาหารและรูปแบบใหม่ของเหยื่อโปรโตซัว.....749
โดย นางสาวดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

- คัดเลือกสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยและทดสอบ.....765
ประสิทธิภาพควบคุมหอยทากบกและหอยเชอรี่
โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

- คัดเลือกสายพันธุ์บาซิลลัสและทดสอบประสิทธิภาพควบคุม.....772
หอยเชอรี่และหอยทากบก
โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมโรคพืช

กิจกรรมย่อย การใช้ชีวินทรีย์ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปม

การทดลอง - การใช้จุลินทรีย์และศัตรูธรรมชาติควบคุมโรครากปม.....785
ในกระเจี๊ยบเขียว
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง

การทดลอง - พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุม.....2034
โรคเหี่ยวในขิง
โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
- การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์.....795
Bacillus subtilis ควบคุมโรคเหี่ยวของขิง
โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
- การพัฒนาการผลิตเชื้อ *Bacillus subtilis* ในเชิงพาณิชย์.....818
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยการกักกันพืช 07-01-49-07

กิจกรรม การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ

การทดลอง - ศึกษาชนิดแมลง สัตว์ศัตรูพืชส่งออก 824
(หน่อไม้ฝรั่ง และถั่วลันเตา) และพืชนำเข้า (พืชตระกูลแตง
พืชตระกูลกะหล่ำ)
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ
- ศึกษาชนิดของโรคพืชเพื่อการส่งออก หน่อไม้ฝรั่ง และถั่วลันเตา.....831
และพืชนำเข้า พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำ
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
- การศึกษาชนิดวัชพืชในพืชส่งออกและพืชนำเข้า
  - การศึกษาชนิดวัชพืชในพืชส่งออก : หน่อไม้ฝรั่ง..... 837
    โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ
  - การศึกษาชนิดวัชพืชในพืชส่งออก : ถั่วลันเตา..... 842
    โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ
  - ชนิดวัชพืชพืชตระกูลแตงนำเข้าบางชนิด..... 847
    โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

การทดลอง - การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชนำเข้า

- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....853
  สำหรับการนำเข้าหัวพันธุ์ลิลลี่จากต่างประเทศ
  โดย นางณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ
- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....883
  สำหรับการนำเข้าหัวพันธุ์แกลดิโอลัสจากต่างประเทศ
  โดย นางณัฏฐพร อุทัยมงคล และคณะ
- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1970
  ของส้มสายพันธุ์อุนชูนำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น
  โดย นางวลัยกร รัตนเดชากุล และคณะ
- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....1978
  ของวัสดุภัณฑ์ไม้
  โดย นางวลัยกร รัตนเดชากุล และคณะ
- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....918
  เชื้อ *Spongospora subterranea* ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง
  โดย นางสาวปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และคณะ
- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....939
  ขององุ่นนำเข้าจากประเทศชิลี
  โดย นางสาวชลธิชา รักใคร่ และคณะ
- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....944
  ของกีวีนำเข้า
  โดย นางวรัญญา มาลี และคณะ
- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....951
  สำหรับการนำเข้าแครอท
  โดย นางสาวสุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ
- การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....962
  ของผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากต่างประเทศ
  โดย นางสาวนงพร มาอยู่ดี และคณะ

การทดลอง - การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชส่งออก

● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....967
ของฝรั่งส่งออกสหรัฐอเมริกา
โดย นางวรัญญา มาลี และคณะ

กิจกรรมย่อย ศึกษาศัตรูพืชกักกันพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า

การทดลอง - การศึกษาชนิดไรศัตรูพืชในหัวหอมและกระเทียมที่นำเข้า.....972
จากประเทศจีน
โดย นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ

- การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ.....977
นำเข้าจากต่างประเทศ
โดย นางสาวชลธิชา รักใคร่ และคณะ

- การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่.....982
นำเข้าจากต่างประเทศ
โดย นายวานิช คำพานิช และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - พัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์กับส่วนขยายพันธุ์.....989
ของส้ม
โดย นายปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และคณะ

- การพัฒนาการตรวจสอบเชื้อ Cucumber Green Mottle.....1006
Mosaic Virus กับพืชสกุลแตงบางชนิด
โดย นางสาวศรีวิเศษ เกษสังข์ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันเพื่อการส่งออก

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกันเพื่อการส่งออก

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลง.....1011
ด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในลำไยเพื่อการส่งออก
โดย นางสลักจิต พานคำ และคณะ

- วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลง.....1018
ด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่เพื่อการส่งออก
โดย นางสาวรัชฎา อินทรกำแหง และคณะ
- วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัด.....1026
แมลงวันทองในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวย
เพื่อการส่งออก
โดย นางสาวรัชฎา อินทรกำแหง และคณะ
- วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัด.....1034
แมลงวันผลไม้ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวา
เพื่อการส่งออก
โดย นายอุดร อุณหวุฒิ และคณะ
- วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัด.....1044
แมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลเงาะ
เพื่อการส่งออก
โดย นางสลักจิต พานคำ และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อ.....1071
Acidovorax avenae subsp. *Citrulli* กับเมล็ดพันธุ์
พืชสกุลแตงบางชนิดเพื่อการส่งออก
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ

โครงการวิจัย การเฝ้าระวังศัตรูพืช 07-01-51-01

กิจกรรม การเฝ้าระวังเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย การเฝ้าระวังเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของรา *Guignardia*.....1080
citricarpa สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อรา *Guignardia citricarpa* 1086
สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

- การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของรา *Sclerophthora* 1094
rayssiae และ *S. macrospora* สาเหตุโรคน้ำค้างของข้าวโพด
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ
- การเฝ้าระวังการเกิดโรคและการแพร่กระจายของแบคทีเรีย.....2044
Pantoea stewartii
โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
- การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย.....1099
Acidovorax avenae subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืช
ตระกูลแตง
โดย นางปิยะรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* 1108
subsp. *citrulli* ในพืชตระกูลแตง
โดย นางสาวบูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ
- การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย *Radopholus*.....1114
similis ในไม้น้ำและไม้ดอกไม้ประดับ
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของไส้เดือนฝอย *Radopholus* 1125
similis ในไม้น้ำและไม้ดอกไม้ประดับ
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

กิจกรรม การเฝ้าระวังแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย การเฝ้าระวังแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง 1133
Sternochetus mangiferae ในมะม่วง
โดย นางสาวสราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ
- สถานการณ์การแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง *Cataenococcus*.....1142
hispidus Green และ *Planococcus lichi* Cox ในลำไย
โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทา และคณะ

กิจกรรม การเฝ้าระวังวัชพืช

กิจกรรมย่อย การเฝ้าระวังวัชพืช

การทดลอง - การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของ Congress grass.....1149
(*Parthernium hysterophous* L.)
โดย นางสาวศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ
- การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของ *Euphorbia dentata* 1154
และ *Agrostis* spp. ในพืชไร่
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

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

กิจกรรม วิจัยชีวโมเลกุล (Molecular biology) ในการสร้างเอกลักษณ์พันธุกรรมพืช และจุลินทรีย์

กิจกรรมย่อย วิจัยชีวโมเลกุลในการสร้างเอกลักษณ์พืชและจุลินทรีย์

การทดลอง - ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรม.....1158
รา *Fusarium* spp. ในประเทศไทย
โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
- ลายพิมพ์ดี เอ็น เอ และความหลากหลายทางพันธุกรรม.....1168
รา *Phytophthora parasitica*
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
- ศึกษาลายพิมพ์ดี เอ็น เอ ของเชื้อรา *Phytophthora capsici*.....1182
โดย นางสาวศรีสุข พูนผลกุล และคณะ

กิจกรรม วิจัยชีวโมเลกุล (Molecular biology) ในการตรวจสอบ

กิจกรรมย่อย การศึกษาความปลอดภัยทางชีวภาพมะละกอดัดแปรพันธุกรรม

การทดลอง - การทดสอบความปลอดภัยจากการบริโภคมะละกอ.....1188
ดัดแปรพันธุกรรมของหนูนอร์เวย์สายพันธุ์ Wistar
โดย นางสาวพวงทอง บุญทรง และคณะ

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชเพื่อเฝ้าระวังและควบคุมคุณภาพสินค้าเกษตร

การทดลอง - การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งส้มโดยใช้.....1983
ระบบเซลล์แบคทีเรีย
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

- การผลิตแอนติซีรัมจากไก่ที่จำเพาะต่อเชื้อ *Streptomyces* 1204
scabies สาเหตุโรคแผลสะเก็ดของมันฝรั่ง
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ

- การผลิตแอนติซีรัมของไวรัส Pineapple mealybug 1995
Wilt-associated virus-2 สาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรด
โดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

- การตรวจสอบคลอสเตอโรไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวของสับปะรด.....1211
โดยใช้กรดนิวคลีอิคตัวตรวจ
โดย นางสาวเยาวภา ตันติวานิช และคณะ

- วิธีการตรวจสอบราสาเหตุโรค Black spot ของส้ม 1223
Guignardia citricarpa โดยเทคนิค PCR
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาทุเรียน

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตทุเรียน 01-09-49-02

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตทุเรียน

กิจกรรมย่อย การป้องกันศัตรูทุเรียนแบบผสมผสานเพื่อผลิตทุเรียนคุณภาพ

การทดลอง - ศึกษาการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน.....1229
โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชทดแทนพลังงาน

โครงการวิจัย ศึกษาระบบการจัดการการผลิตวัตถุดิบจากพืชสำหรับผลิตพลังงาน 10-01-49-01

กิจกรรม ศึกษาระบบการจัดการการผลิตวัตถุดิบจากพืชสำหรับผลิตแก๊สโซฮอล์

กิจกรรมย่อย ศึกษาระบบการจัดการการผลิตข้าวฟ่างหวานเพื่อผลิตเอทานอล

การทดลอง - การจัดการวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน.....1239
ในสภาพไร่
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ
- การจัดการวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวาน.....1249
ในสภาพนา
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาสับปะรด

โครงการวิจัย การวิจัยศึกษาระบบการผลิตสับปะรด 01-08-49-01

กิจกรรม ศึกษาระบบการผลิตสับปะรดเพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยวของสับปะรด

กิจกรรมย่อย ศึกษาการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยวของสับปะรด

การทดลอง - ศึกษาการชุบหน่อพันธุ์สับปะรดด้วยสารฆ่าแมลง.....1259
เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ
- การคัดเลือกและขยายหน่อพันธุ์สับปะรดปลอดจากไวรัส.....2009
สาเหตุโรคเหี่ยว
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรม

โครงการวิจัย ศึกษาและสำรวจเชื้อพันธุ์พืช จุลินทรีย์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ 09-02-49-01

กิจกรรม ศึกษาและสำรวจเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์และเห็ด

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนกและหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

การทดลอง - สำรวจ รวบรวมและจำแนกราไมคอร์ไรซากล้วยไม้.....1267
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

กิจกรรม สำรวจ รวบรวมและศึกษาเชื้อพันธุ์พืช

กิจกรรมย่อย การสำรวจ รวบรวมและศึกษาวัชพืช

- การสำรวจและรวบรวมวัชพืชในมันฝรั่ง.....1281
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ

- การสำรวจและรวบรวมวัชพืชในมันสำปะหลัง.....1285
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ
- การสำรวจและรวบรวมวัชพืชในพืชผัก ภาคตะวันออก.....1290
เฉียงเหนือและภาคกลาง
โดย นางสาวศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

กิจกรรม การศึกษาและสำรวจเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์และเห็ด

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนกและหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

การทดลอง - สำรวจ รวบรวม และจำแนกราเขม่าดำ.....1311
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และ.คณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา สกุล Cercosporoid.....1350
fungi และ Teleomorph
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา Fusaruim 1358
สาเหตุโรคพืช
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราสกุล Curvularia 1375
สาเหตุโรคพืช
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา Phythium 1384
สาเหตุโรคพืช
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราแป้งสาเหตุโรคพืช.....1396
โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ
- สำรวจ รวบรวม จำแนก และศึกษาพืชอาศัยของรา.....1401
Sclerotium สาเหตุโรคพืช
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล Macrophomina.....1409
สาเหตุโรคของพืชไร่เศรษฐกิจ
โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ

- สำรวจ รวบรวม จำแนกและประเมินความรุนแรง.....1415
แบคทีเรีย สกุล Xanthomonad สาเหตุโรคของพืชผัก
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
- สำรวจ และจำแนกเชื้อไวรอยด์ในพืชตระกูลส้ม.....1431
โดย นางสาวนภสร ปุญญพิทักษ์ และคณะ
- สำรวจ และจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งในประเทศไทยด้วยเทคนิค.....1435
ทางอนูชีววิทยา
โดย นางสาวนภสร ปุญญพิทักษ์ และคณะ
- ฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection.....1440
โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ
- ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อรา *Colletotrichum* spp. 1445
โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนกและหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่ผลิตสารชีวภัณฑ์และมีศักยภาพในการป้องกันกำจัดโรคศัตรูพืช

การทดลอง - สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย.....1464
ควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
- สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรีย
Bacillus sp. ควบคุมจุลินทรีย์โรคพืช
● ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม Bacillus ที่มีศักยภาพ.....1475
ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ
โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
● การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ 1497
Bacillus spp. ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ

การทดลอง - สำรวจ รวบรวม จุลินทรีย์ที่มีต่อแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ
● การสำรวจ และรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* 1505
thuringiensis และเชื้อไวรัส NPV
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ
- ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง.....1508
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนกชนิดแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง

- อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในสบู่ดำ.....1515
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ
- อนุกรมวิธานของแมลงศัตรูที่พบในเบญจมาศ.....1518
โดย นางชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ
- อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในไม้ดอก สกุล Curcuma.....1522
(ปทุมมา และกระเจียว)
โดย นางสาวสุนัดดา เชาวลิต และคณะ
- อนุกรมวิธานเพลี้ยแป้ง สกุล Pseudococcus 1526
โดย นางชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ
- อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 1530
โดย นางลักขณา บำรุงศรี และคณะ
- อนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล Bactrocera.....1534
โดย นางสาวยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ
- การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์.....1545
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ
- การศึกษาชนิดและความแปรปรวนประชากรเพลี้ยไฟ.....1554
หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้งในกระเพรา
และโหระพาเพื่อการส่งออก
โดย นางสาวสัญญาณี ศรีคชา และคณะ
- อนุกรมวิธานไรศัตรูในโรงเก็บของประเทศไทย.....1559
โดย นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
- การศึกษาอนุกรมวิธานไร แมงมุมในสกุล Oligonychus 1565
โดย นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
- ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่ 1570
โดย นางสาวปิยาณี หนูกาฬ และคณะ
- ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่ง.....1573
สงวนชีวมณฑลสะแกราช
โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ

- สำรวจและศึกษาชนิดสัตว์ศัตรูธรรมชาติของหนู.....1578
ในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่
โดย นางสาวพวงทอง บุญทรง และคณะ
- สำรวจ และศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่.....1582
โดย นางกรแก้ว เสือสะอาด และคณะ
- ชีววิทยาหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) 1588
โดย นางสาวดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

กิจกรรม การเก็บรักษาพืช ตัวอย่างโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในพิพิธภัณฑ์

กิจกรรมย่อย การเก็บ-รักษาตัวอย่างโรคพืช แมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง - การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์.....1603
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มพืชผัก และเห็ด

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตพริก 01-16-49-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์พริกเพื่อเพิ่มผลผลิตและทนทานต่อโรค

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่

การทดลอง - การปรับปรุงพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่เพื่อต้านทาน.....1609
โรคแอนแทรคโนส
โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ
- การปรับปรุงพริกขี้หนูผลใหญ่เพื่อต้านทานโรคเหี่ยว 1621
จากแบคทีเรีย
โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์พริกชี้ฟ้า

การทดลอง - การปรับปรุงพันธุ์พริกชี้ฟ้าเพื่อต้านทานโรคแอนแทรคโนส.....1634
โดย นายศิริพงษ์ คุ้มภัย และคณะ

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูพริก

การทดลอง - การบริหารจัดการโรคใบหงิกเหลืองของพริก.....2019
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

- การแพร่ระบาดของโรครากปมและการประเมินความเสียหาย.....1648
ในแหล่งปลูกพริก
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียวในการผลิตเพื่อผลผลิตที่ปลอดจากสารพิษ

การทดลอง - ความสัมพันธ์ของไวรัสสาเหตุโรคเส้นใบเหลืองกับพันธุ์.....2026
กระเจี๊ยบเขียวในแต่ละแหล่งปลูก
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเห็ด 01-16-49-03

กิจกรรม การพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาเห็ด

กิจกรรมย่อย การแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อนในแม่เชื้อเห็ดและการป้องกันกำจัด

การทดลอง - ศึกษาสาเหตุ และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อรา.....1655
ปนเปื้อนในการผลิตเชื้อเห็ด
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์เห็ด

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์เห็ดตีนแรด

การทดลอง - การทดสอบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดเพื่อเป็นพันธุ์ทางการค้า.....1678
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่มีศักยภาพ

การทดลอง - การประเมินสายพันธุ์เห็ดต่งฝนเพื่อการใช้ประโยชน์.....1689
โดย นางสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และคณะ

กิจกรรม การเขตกรรมและการจัดการผลิตเห็ด

กิจกรรมย่อย กระบวนการผลิตเห็ดนางรม

การทดลอง - กระบวนการผลิตปุ๋ยหมักเพื่อเพาะเห็ดฟางคุณภาพ.....1694
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ
- การใช้ฟางข้าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดนางรม.....1702
โดย นางสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และคณะ

กิจกรรม การพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาเห็ด

กิจกรรมย่อย การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไร *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิ

การทดลอง - การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง.....1708
Dolichocybe indica Mahunka ในเห็ดยานางิ โดยการใช้สารฆ่าไร
โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดแมลงหางดีดในเห็ด

การทดลอง - การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดแมลง.....1714
หางดีดในเห็ด
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดไรในเห็ด

การทดลอง - การสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเห็ด.....1716
ที่ผลิตเป็นการค้า
โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ
- การแก้ปัญหาไรดีดในพื้นที่เพาะเห็ดนางรมฮังการี.....1718
ภาคกลางของประเทศไทย
โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ

กิจกรรมย่อย เชื้อราสกุล Hypomyces สาเหตุโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ และการป้องกันกำจัด

การทดลอง - การป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล Hypomyces 1721
สาเหตุโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย สาเหตุและการแพร่กระจายของราเมือกที่ทำความเสียหาย ในการเพาะเห็ดถุงในประเทศไทย

การทดลอง - สาเหตุและการแพร่กระจายของราเมือกที่ทำความเสียหาย.....1729
ในการเพาะเห็ดถุงของประเทศไทย
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายเห็ดที่ผลิตเพื่อการค้า และการป้องกันกำจัด

การทดลอง - การป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรม.....1741
ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย กลุ่ม Pseudomonas
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง 01-16-49-05

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การผลิตพันธุ์มันฝรั่งคุณภาพ

การทดลอง - การประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่ง.....1748
ที่ติดเชื้อ PVY

โดย นายสิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูมันฝรั่ง

การทดลอง - การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมันฝรั่ง.....1760
ที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยวิธีผสมผสาน

โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ

- ประสิทธิภาพของสาร abamectin ในการควบคุมไส้เดือนฝอย.....1773
รากปมในมันฝรั่ง

โดย นายไตรเดช ข่ายทอง และคณะ

- การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Paecilomyces lilacinus*.....1783
ควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูมันฝรั่ง

โดย นายมนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตขิงที่ได้คุณภาพ 01-16-49-06

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตขิงคุณภาพ

กิจกรรมย่อย การเขตกรรมและการจัดการผลิตขิงอย่างยั่งยืน

การทดลอง - ศึกษาวิธีการผลิตขิงเพื่อลดการใช้สารเคมีและได้ผลผลิต 1788
ปลอดจากสารพิษตกค้างและศัตรูพืช

● การบริหารจัดการวัชพืชในขิง : ปี 2550

โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพร

โครงการวิจัย ศึกษาการผลิตกระชายดำเชิงพาณิชย์ 01-12-49-04

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตการเก็บเกี่ยวและแปรรูปกระชายดำ

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกระชายดำในแหล่งปลูกต่าง ๆ

การทดลอง - การจัดการวัชพืชก่อนงอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโต.....1808
ของกระชายดำ
โดย นางสาวเพ็ญศรี นันทสมสราญ และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาการผลิตฟ้าทะลายโจร 01-12-49-06

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเขตกรรมเพื่อเพิ่มคุณภาพและสารสำคัญฟ้าทะลายโจร

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาการกำจัดศัตรูพืชและการจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาการกำจัดศัตรูพืชและการกำจัดวัชพืช.....1823
ในฟ้าทะลายโจร
โดย นางสาวเพ็ญศรี นันทสมสราญ และคณะ

โครงการวิจัย การศึกษาพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่มีศักยภาพ 01-12-51-02

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรอื่นที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์

กิจกรรมย่อย ศึกษารวบรวมและพัฒนาวัชพืชสมุนไพรและไม้น้ำ

การทดลอง - ศึกษา รวบรวม สายพันธุ์วัชพืชสมุนไพรและไม้น้ำ.....1835
โดย นางสาวศิริพร ซึงสนธิพร และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ 01-15-49-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์การค้า

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์การค้าสกุลอื่น

การทดลอง - การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.....1840
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยเพื่อแก้ไขปัญหาการส่งออกกล้วยไม้ 01-15-52-01

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดและควบคุมศัตรูกล้วยไม้

การทดลอง - ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด..... 1857
เพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้
โดย นายสมรวย รวยชัยอภิกุล และคณะ

- ศึกษาเทคนิคการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกล้วยไม้.....1863
บางชนิด
โดย นายพฤทธิชาติ ปุญวัฒโท และคณะ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว 01-15-49-03

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว

กิจกรรมย่อย การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมาโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

การทดลอง - ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ใน.....2049
การควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงเกษตรกร
โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

แผนงานวิจัย การศึกษาและพัฒนากลุ่มพืชไร่เศรษฐกิจอื่น ๆ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 01-17-49-06

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน

กิจกรรมย่อย การประเมินสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าที่เกิดจากเชื้อรา

การทดลอง - ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรค.....1867
ช่อดอกไหม้และยอดบิดที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme*
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ
- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรค.....1872
ลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina*
โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ
- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรค.....1878
แอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum*
โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ
- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัท.....1884
ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาส้มโอ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตส้มโอ 01-10-49-02

กิจกรรม การอารักขาส้มโอ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงศัตรูสำคัญในส้มโอ

การทดลอง - ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....1890
หนอนเจาะผลส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore
โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคในส้มโอ

- การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแคงเกอร์.....1900
ของส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ
- ศึกษาสาเหตุและเทคโนโลยีการจัดการโรครากเน่าและโคนเน่า.....1907
ของส้มโอ
โดย นางสาวสุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ
- การใช้พืชสมุนไพรเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ.....1913
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ
- ศึกษาสาเหตุและเทคโนโลยีการจัดการโรคผลเน่าของส้มโอ.....1921
โดย นางสาวสุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ
- ศึกษาช่วงเวลาการพ่นสารป้องกันกำจัดโรงแคงเกอร์ของส้มโอ.....1927
ให้มีประสิทธิภาพ
โดย นางสาวบูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ
- ศึกษาการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอ.....1936
โดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

ศึกษาการผลิตไวรัส เอ็น พี วี ชนิดผงด้วยวิธีการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

Study on Production of Wettable Powder Formulations of Nucleaoplyhedrovirus by Using Freeze Dry Method

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี **อิศเรส เทียนทัด**

อัจฉรา ตันติโชดก **รัตนา นชะพงษ์**

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาการผลิตไวรัส เอ็น พี วี ชนิดผงด้วยวิธีการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ดำเนินการทดลองที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2553 ผลการศึกษาพบว่า เมื่อนำไวรัส เอ็น พี วี ในรูปสารละลายแขวนลอยไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเวียล เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อหาโครงสร้างน้ำของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นสารละลายแขวนลอยเข้มข้น มีการปะปนของเศษซากหนอนอยู่ทั่วไปในผลิตภัณฑ์ ทำให้การเคลื่อนที่ของน้ำจะเป็นแบบการกระจายตัวซึมผ่าน (Diffusion mechanism) เปอร์เซ็นต์ความชื้นสุดท้ายเท่ากับ 10.54 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทำการทดสอบการอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เพื่อหาจุด Eutetic point สำหรับใช้กำหนดค่าเพื่อหาอุณหภูมิในการแช่แข็งผลิตภัณฑ์ พบว่า เครื่องไม่สามารถประมวลผลเพื่อหาจุดนี้ได้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีอินทรีย์วัตถุปะปนค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงต้องหาแนวทางในการลดปริมาณอินทรียวัตถุให้น้อยลง เพื่อให้ความดันไอของน้ำในผลิตภัณฑ์ไม่สูงจนเกินไป

คำนำ

หนอนกระทู้ผัก (Common cutworm) เป็นแมลงศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง มีการระบาดทำลายพืชได้หลายชนิด พบได้ทั่วไปในประเทศไทย การป้องกันกำจัดโดยใช้ไวรัส เอ็น พี วี จึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยกับเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภค แต่กรรมวิธีการผลิตไวรัส เอ็น พี วี มีต้นทุนค่อนข้างสูง โดยเฉพาะการผลิตในรูปผง ซึ่งเป็นรูปแบบที่ค่อนข้างสะดวกในการเก็บรักษาและการขนส่ง การผลิตไวรัส เอ็น พี วีในรูปผงต้องผ่านขบวนการอบแห้ง

รหัสการทดลอง 07-01-49-06-04-02-05-51

ด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) โดยอบภายใต้ความดันสุญญากาศ และอุณหภูมิต่ำกว่า 10องศาเซลเซียส และวิธีที่ปฏิบัติอยู่เดิม ต้องใช้เวลาในการอบแต่ละครั้งไม่ต่ำกว่า 3 วัน จึงทำให้ต้องสิ้นเปลืองทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย เช่น ค่าไฟฟ้า และจำนวนรอบของการอบต้องใช้เวลาไม่น้อยกว่า 3 วันต่อการผลิต 1 รอบ จึงจำเป็นต้องหาวิธีการอบที่รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังคงคุณภาพเหมือนเดิม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- เชื้อไวรัส NPV หนอนกระทู้ผัก
- เครื่องอบแห้ง (Freeze Dryer)
- ตู้อบแห้ง (Hot oven)
- หนอนกระทู้ผัก
- อาหารเทียมเลี้ยงแมลง
- ภาชนะเลี้ยงแมลง และขวดพลาสติกบรรจุผลิตภัณฑ์
- ไวรัส NPVของหนอนกระทู้ผัก
- กล้องจุลทรรศน์
- น้ำกลั่น

วิธีการ แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 การหาอัตราการอบแห้ง (Drying rate)

1. เตรียมสารละลายเชื้อไวรัส NPV 24 ถ้วย ถ้วยละ 30 มล.ที่ผลิตได้จากห้องปฏิบัติการกลุ่มงานการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ ไปอบด้วยเครื่องอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

2. เก็บตัวอย่างเชื้อไวรัส NPV ทุก 1 ชั่วโมง แล้วนำไปหาค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้น

3. นำค่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเวลาที่ใช้ในการอบแห้งไปเขียนกราฟเพื่อหาอัตราการอบแห้งของเชื้อไวรัส NPV ต่อไป

ขั้นตอนที่ 2 การอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze Dry)

วางแผนการทดลองแบบ CRD จัดสิ่งทดลองแบบ 2x 5 factorial มี 4 ซ้ำประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่หนึ่ง ได้แก่สารละลายเชื้อไวรัสผสมสารเพิ่มฤทธิ์ที่ใช้ในการผลิตสูตรสำเร็จรูป และสารละลายเชื้อไวรัสเพียงอย่างเดียว

ปัจจัยที่สอง ได้แก่ ระดับความดันต่างๆที่ใช้ในการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 5 ระดับ คือ 1,000 mT, 750 mT, 500 mT, 250 mT และ อบแห้งแบบปกติ Automatic mode

เตรียมสารละลายเชื้อไวรัส NPV ที่ผลิตได้จากห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ จำนวน 1,600 มล. แบ่งเป็น 2 ส่วนเท่าๆกัน สารละลายเชื้อไวรัสส่วนที่ 1นำไปผสมสารเพิ่มฤทธิ์ชนิดต่างๆที่ใช้ในการผลิตสูตรสำเร็จรูป และสารละลายเชื้อไวรัสส่วนที่ 2 ไม่ผสมสารเพิ่มฤทธิ์ใดๆ ไปอบด้วยเครื่องอบแห้ง (Freeze Dryer) ภายใต้ความดันที่แตกต่างกัน โดยใช้เชื้อไวรัส NPVในการอบกรรมวิธีละ100 มล. และกำหนดอุณหภูมิสุดท้ายที่ชั้น (Shelf temperature) เท่ากับ 20 องศาเซลเซียล

2.นำตัวอย่างที่ได้จากการอบแห้งด้วยกรรมวิธีต่างๆไปตรวจหาค่าเปอร์เซนต์ความชื้น ทดสอบการละลาย

ขั้นตอนที่ 3 การศึกษาประสิทธิภาพและหาอายุการเก็บผลิตภัณฑ์

นำตัวอย่างที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพที่สุดซึ่งได้จากการอบแห้งในขั้นตอนที่ 2 เลือกตัวอย่าง แบ่งบรรจุใส่ขวดพลาสติกขาวและขวดพลาสติกสีชา ปริมาณเท่าๆกัน ขวดละ 30 มก. จำนวน 24 ขวดต่อชนิดของขวดที่ใช้บรรจุ เมื่อบรรจุเสร็จจึงแบ่งผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดในจำนวนเท่าๆกัน นำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และในห้องเก็บห้องที่มีอุณหภูมิห้องประมาณ 30 องศาเซลเซียส แล้วนำตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้มาทดสอบด้วยวิธี Bioassay กับหนอนกระทู้ผักวัย 3 กรรมวิธีละ 30 ตัว ด้วยวิธี Feeding method ทุกเดือน เป็นเวลา 12 เดือน

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลน้ำหนักก่อนและหลังการอบแห้งของไวรัส NPV ในแต่ละกรรมวิธี, ความสามารถในการละลายในน้ำกลั่นบริสุทธิ์วัดเป็นวินาที, เปอร์เซนต์ความชื้นหลังการอบแห้งของไวรัส NPVในแต่ละกรรมวิธี และบันทึกการตายของหนอนกระทู้ผักจากการทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด

เวลาและสถานที่ดำเนินงาน : เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553

ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เมื่อนำไวรัส เอ็น พี วี ในรูปสารละลายแขวนลอยไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเวียล เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อหาโครงสร้างน้ำของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นสารละลายแขวนลอยเข้มข้น มีการปะปนของเศษซากหนอนอยู่ทั่วไปในผลิตภัณฑ์ ทำให้การเคลื่อนที่ของน้ำจะเป็นแบบการกระจายตัวซึมผ่าน (Diffusion mechanism) เปอร์เซ็นต์ความชื้นสุดท้ายเท่ากับ 10.54 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทำการทดสอบการอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เพื่อหาจุด Eutetic point สำหรับใช้กำหนดค่าเพื่อหาอุณหภูมิแช่แข็งของผลิตภัณฑ์พบว่า เครื่องไม่สามารถประมวลผลเพื่อหาจุดนี้ได้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีอินทรีย์วัตถุปะปนค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงต้องหาแนวทางในการลดปริมาณอินทรียวัตถุให้น้อยลง เพื่อให้เครื่อง

การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae*

Selection and efficacy test of green muscadine fungus, *Metarhizium anisopliae*.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ เกรียงไกร จำเริญมา สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* โดยเน้นการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าว ได้แก่ หนอนด้วงแรดมะพร้าว, หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว ได้ทำการวิจัยในช่วงเดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2553 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร การดำเนินงานที่ผ่านมาได้ทำการรวบรวมเชื้อราเขียว *M. anisopliae* จากแหล่งต่างๆ ซึ่งในปัจจุบันมีเชื้อราเขียวในห้องปฏิบัติการจำนวนทั้งสิ้น 10 สายพันธุ์ ในจำนวนนี้ 3 สายพันธุ์เป็นเชื้อที่ได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยงานที่มีการใช้และเผยแพร่สู่ผู้สนใจรวมทั้งเกษตรกร ได้แก่ ศูนย์พันธุวิศวกรรม (M0), กรมส่งเสริมการเกษตร (M2) และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (M3) ส่วนอีก 7 สายพันธุ์ เป็นเชื้อที่เก็บได้จากแมลงเป็นโรคในธรรมชาติในพื้นที่ต่างๆกัน และนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ในห้องปฏิบัติการ

การดำเนินงานในครั้งแรกได้ทำการคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบกับเชื้อราเขียวที่แยกได้จากธรรมชาติ นำเชื้อราเขียว 3 สายพันธุ์ คือ M0, M2 และ M3 มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 ^{o}ซ.) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นล้างโคนิเดียออกโดยใช้น้ำผสม tween ปรับกำลังโคนิเดียให้เท่ากันทุกไอโซเลท (ประมาณ 1 X 10^{9} โคนิเดีย/มล.) นำมาทดสอบกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว โดยนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาคลุกกับขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับในอัตรา 30 ม.ล./กล่อง ใส่หนอนด้วงแรดมะพร้าว อัตรา 1 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ตัว) ปิดฝาให้สนิทแล้ววางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้น เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน ในช่วงเวลา 1 เดือน ผลการทดลองพบว่าเชื้อราเขียว M2 และ M0 ทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าวติดโรคได้ดีเท่ากันที่ 93% แต่เชื้อราเขียว M2 มีความเหมาะสมในการใช้เป็นเชื้อเปรียบเทียบ (control) มากกว่าเนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นกว่าในการทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าวติดโรค

รหัสการทดลอง 07-01-49-06-04-03-01-51

จากนั้นนำเชื้อราเขียวที่เก็บได้จากแมลงเป็นโรคในธรรมชาติในพื้นที่ต่างๆ กัน อีก 7 สายพันธุ์ มาคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว โดยเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อราเขียวทั้ง 7 สายพันธุ์ บนข้าวโพดบดหยาบที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นล้างโคนิเดียออกโดยใช้น้ำผสม tween ปรับกำลังโคนิเดียให้เท่ากันทุกไอโซเลท (ประมาณ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล.) นำมาทดสอบกับหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว ผลการทดลองพบว่าเชื้อราเขียว (M5) ซึ่งแยกได้จากหนอนด้วงแรดมะพร้าว จ.ปทุมธานี ทำให้หนอนด้วงแรดติดโรคได้ดีที่ 83% เมื่อเทียบกับเชื้อเปรียบเทียบ M2 ทำให้หนอนเป็นโรคที่ 80% ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว จะได้ดำเนินการและรายงานผลการทดลองในครั้งต่อไป

คำนำ

ปัจจุบันการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับของเกษตรกร รวมทั้งผู้บริโภคมากขึ้นจะสังเกตได้จากผลิตภัณฑ์อาหารปลอดสารพิษที่มีขายเพิ่มขึ้นในท้องตลาด ถึงแม้จะมีราคาสูงกว่าปกติเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดเดียวกัน แต่ยังเป็นที่นิยมและยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นเกษตรกรจึงเริ่มหันมาให้ความสนใจต่อการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีมากขึ้น เพราะนอกจากจะขายผลผลิตได้ราคาดีแล้ว ยังมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้ รวมถึงผู้บริโภคด้วย การใช้เชื้อจุลินทรีย์เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกร เชื้อจุลินทรีย์ที่มีการใช้แพร่หลายในปัจจุบันเช่น ไส้เดือนฝอย เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา เป็นต้น

เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* จัดเป็นจุลินทรีย์ประเภทหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมัน เป็นเชื้อราที่พบในดินใช้กำจัดแมลงในกลุ่มหนอนด้วง โดยเฉพาะด้วงแรดมะพร้าว ซึ่งในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมันกันมากในเขตภาคใต้ การกองเศษซากพืช ขุยมะพร้าว หรือกากของปาล์มน้ำมัน ทิ้งไว้เป็นเวลานานๆ จะกลายเป็นแหล่งขยายพันธุ์ของด้วงแรด ซึ่งปัจจุบันเริ่มมีการระบาดของด้วงชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น การป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่สิ้นเปลืองและเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังนั้นการป้องกันกำจัดในปัจจุบันจึงมักใช้วิธีการป้องกันกำจัดแบบผสมผสาน เชื้อราเขียวเป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจผลิตใช้ทางการค้าในหลายประเทศ ได้แก่ แอฟริกาใต้ ภายใต้ชื่อการค้า Green Muscle (Thomas *et al*., 2000) ออสเตรเลีย และอเมริกาภายใต้ชื่อการค้า BioGreen และ BioBlast (Milner, 2000) เป็นต้น

จากผลงานค้นคว้าวิจัยตั้งแต่ปี 2525 -2539 ของมลิวัลย์ ปันยารชุน กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา ได้มีการเก็บรวบรวมและแยกเชื้อราเขียวจากสถานที่ต่างๆ และนำมาเลี้ยงขยายในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งการศึกษาและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเขียวที่แยกได้ ทำให้ทราบว่าเชื้อราดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

หลายชนิดได้แก่ ด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros*), มอดเจาะผลกาแฟ (*Hypothenemus hampei*) และ มวนโกโก้ (*Helopeltis* spp) (มลิวัลย์ และ สุรพล, 2537; มลิวัลย์, 2537 ก.; มลิวัลย์2537 ข.)

การศึกษาเชื้อราเขียวตั้งแต่ปี 2547 ถึงปัจจุบัน ได้เริ่มเก็บรวบรวมเชื้อราเขียวจากแหล่งต่างๆ โดยได้รับความอนุเคราะห์จากนักวิชาการในกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ และจากกลุ่มงานอื่นๆ ในกลุ่มกีฏและสัตววิทยา รวมทั้งการขอความอนุเคราะห์เชื้อราเขียวจากหน่วยงานอื่นๆ ได้แก่ กรมส่งเสริมการเกษตร และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ เพื่อนำมาใช้ในการเปรียบเทียบ ปัจจุบันมีเชื้อราเขียวที่เก็บจากพื้นที่ต่างๆ และแยกเป็นไอโซเลทได้ในห้องปฏิบัติการจำนวน 7 ไอโซเลท ซึ่งไอโซเลทเหล่านี้ยังไม่ได้มีการทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงศัตรูพืช

การดำเนินงานในปี 2552 จึงมุ่งเน้นการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวที่เก็บรวบรวมได้ในห้องปฏิบัติการเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่างๆ โดยจะเน้นการควบคุมแมลงศัตรูมะพร้าว ได้แก่ หนอนด้วงแรดมะพร้าว, หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตขยายต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

<u>สิ่งที่ใช้ทดลอง</u>

1. เชื้อราเขียวมัสคาดีน *M. anisopliae* ที่แยกได้ในห้องปฏิบัติการจำนวน 7 ไอโซเลท
2. เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์พันธุวิศวกรรม
3. เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากกรมส่งเสริมการเกษตร
4. เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ
5. แมลงศัตรูพืชที่ต้องการทดสอบ ได้แก่ หนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว, หนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว
6. ข้าวโพดบดหยาบ
7. Potato Dextrose Broth (PDB)
8. กล่องเลี้ยงแมลง
9. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
10. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
11. ตู้เขี่ยเชื้อ
12. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
13. กล้องจุลทรรศน์
14. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
15. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
16. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.

วิธีการทดลอง

1.1 หนอนด้วงแรดมะพร้าว

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกสายพันธุ์ราเขียวเพื่อใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบ

แผนการทดลอง: นำเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่มีการเผยแพร่ใช้อย่างแพร่หลายในหน่วยงานต่างๆ มาทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว เพื่อใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบกับเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากธรรมชาติในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 4 กรรมวิธี โดยใช้เชื้อราอายุ 14 วัน และอัตราความเข้มข้นของเชื้อราเขียวมัสคาดีนเท่าๆ กันที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. กรรมวิธีต่างๆได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์พันธุวิศวกรรม (รหัส BCC 2481)

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากกรมส่งเสริมการเกษตร

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ

กรรมวิธีที่ 4 ใช้น้ำเปล่าเป็น control

เลี้ยงเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ศูนย์พันธุวิศวกรรม กรมส่งเสริมการเกษตร และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ บนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 50 กรัม เติมน้ำ 50 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำถุงเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับกำลังโคนิเดียให้เท่ากันทุกไอโซเลท (ประมาณ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล.) เตรียมขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับโดยการแช่น้ำทิ้งไว้ข้ามคืน บีบน้ำออกแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งใส่กล่องเลี้ยงแมลงขนาดประมาณ 7 X 10 ซ.ม. ในอัตรากล่องละ 70 กรัม จากนั้นนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาคลุกกับขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับในอัตรา 30 ม.ล./กล่อง ใส่หนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว อัตรา 1 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ตัว) ปิดฝาให้สนิทแล้ววางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้น เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากธรรมชาติ

แผนการทดลอง: นำเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากธรรมชาติในห้องปฏิบัติการ มาทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว โดยใช้ราเขียวที่ได้จาก ขั้นตอนที่ 1 เป็นตัวเปรียบเทียบ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี โดยใช้เชื้อราอายุ 14 วัน และอัตราความเข้มข้นของเชื้อราเขียวมัสคาดีนเท่าๆ กันที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. กรรมวิธีต่างๆได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากแมลงดำหนาม จ.ประจวบคีรีขันธ์ (รหัส M1)

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากแมลงดำหนาม จ.สมุทรปราการ (รหัส M4)

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว จ.ปทุมธานี (รหัส M5)

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย จ.นครสวรรค์ (รหัส M6)

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว จ.ราชบุรี (รหัส M7)

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงกินรากสับปะรด (รหัส M8)

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงกินรากสับปะรด (รหัส M9)

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่ได้จาก ขั้นตอนที่ 1 ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control)

กรรมวิธีที่ 9 น้ำเปล่า ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control)

เตรียมการทดลองเช่นเดียวกับวิธีการในขั้นตอนที่ 1 โดยเลี้ยงเชื้อราเขียวมัสคาดีนแต่ละกรรมวิธีบนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ เตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. ใส่ในกล่องที่มีขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับโดยใส่ในอัตราสารแขวนลอยโคนิเดีย 30 ม.ล./ขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับ 70 กรัม จากนั้นใส่หนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว อัตรา 1 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (3 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ตัว) ปิดฝาให้สนิทแล้ววางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้น เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

1.2 หนอนแมลงดำหนามมะพร้าว

แผนการทดลอง: นำเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ มาทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้เชื้อราอายุ 14 วัน และอัตราความเข้มข้นของเชื้อราเขียวมัสคาดีนเท่าๆ กันที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. กรรมวิธีต่างๆได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์พันธุวิศวกรรม (รหัส BCC 2481 = M0)

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากแมลงดำหนาม จ.ประจวบคีรีขันธ์ (รหัส M1)

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากกรมส่งเสริมการเกษตร (รหัส M2)

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (รหัส M3)

กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากแมลงดำหนาม จ.สมุทรปราการ (รหัส M4)

กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว จ.ปทุมธานี (รหัส M5)

กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย จ.นครสวรรค์ (รหัส M6)

กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว จ.ราชบุรี (รหัส M7)

กรรมวิธีที่ 9 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงกินรากสับปะรด (รหัส M8)
กรรมวิธีที่ 10 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงกินรากสับปะรด (รหัส M9)
กรรมวิธีที่ 11 น้ำเปล่า ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control)

วิธีการทดลอง

เลี้ยงเชื้อราเขียวมัสคาดีนแต่ละกรรมวิธีบนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 50 กรัม เติมน้ำ 50 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำถุงเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับกำลังโคนิเดียให้เท่ากันทุกไอโซเลท (ประมาณ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล.) ตัดใบมะพร้าวแก่ขนาดความยาวประมาณ 4 นิ้ว จุ่มลงในสารแขวนลอยโคนิเดียที่เตรียมไว้ จากนั้นใส่กล่องพลาสติกขนาดประมาณ 7 X 10 ซ.ม.. เขี่ยหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว วัย 4 (อายุประมาณ 17 วัน) ลงบนใบมะพร้าว จำนวน 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ ปิดฝาให่สนิทวางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้นเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

1.3 หนอนหัวดำมะพร้าว

แผนการทดลอง: นำเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ มาทำการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพการทำให้เกิดโรคกับหนอนหัวดำมะพร้าว

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ 11 กรรมวิธี โดยใช้เชื้อราอายุ 14 วัน และอัตราความเข้มข้นของเชื้อราเขียวมัสคาดีนเท่าๆ กันที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. กรรมวิธีต่างๆได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์พันธุวิศวกรรม (รหัส BCC 2481 = M0)
กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากแมลงดำหนาม จ.ประจวบคีรีขันธ์ (รหัส M1)
กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากกรมส่งเสริมการเกษตร (รหัส M2)
กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวมัสคาดีนจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (รหัส M3)
กรรมวิธีที่ 5 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากแมลงดำหนาม จ.สมุทรปราการ (รหัส M4)
กรรมวิธีที่ 6 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว จ.ปทุมธานี (รหัส M5)
กรรมวิธีที่ 7 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงหนวดยาวอ้อย จ.นครสวรรค์ (รหัส M6)
กรรมวิธีที่ 8 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว จ.ราชบุรี (รหัส M7)
กรรมวิธีที่ 9 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงกินรากสับปะรด (รหัส M8)
กรรมวิธีที่ 10 เชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากหนอนด้วงกินรากสับปะรด (รหัส M9)
กรรมวิธีที่ 11 ใช้น้ำเปล่า ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ (control)

วิธีการทดลอง

เลี้ยงเชื้อราเขียวมัสคาดีนแต่ละกรรมวิธีบนเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ โดยชั่งเมล็ดข้าวโพดบดหยาบ 50 กรัม เติมน้ำ 50 มิลลิลิตร ปิดปากถุงด้วยจุกสำลีและหุ้มทับด้วยกระดาษ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121° ซ ความดัน 15 ปอนด์/ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในอัตรา 1 มล./ถุง คลุกให้เชื้อ กระจายทั่วอาหาร นำไปวางบนชั้นที่อุณหภูมิห้อง (27 – 30 °ซ.) เป็นเวลา 14 วัน นำถุงเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่เลี้ยงได้มาเติมน้ำผสม tween ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ถุง เขย่าให้โคนิเดียหลุด แล้วปรับกำลังโคนิเดียให้เท่ากันทุกไอโซเลท (ประมาณ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล.) ตัดใบมะพร้าวแก่ขนาดความยาวประมาณ 4 นิ้ว จุ่มลงในสารแขวนลอยโคนิเดียที่เตรียมไว้ จากนั้นใส่กล่องพลาสติกขนาดประมาณ 7 X 10 ซ.ม. เขี่ยหนอนหัวดำอายุประมาณ 1 เดือน ลงบนใบมะพร้าว จำนวน 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ วางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้น เลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

การบันทึกข้อมูล

: เก็บรวบรวมข้อมูล และจดบันทึกความผิดปกติทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างทำการทดลอง ได้แก่

- อาการและการเกิดโรคของแมลงที่ใช้ทดสอบ
- ระยะเวลาที่ทำให้เกิดโรคของเชื้อแต่ละ isolate ที่ใช้ในการทดลอง
- จำนวนหนอนที่ติดโรคจากเชื้อในแต่ละ isolate

: วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2550 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2553
- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.1 หนอนด้วงแรดมะพร้าว

ขั้นตอนที่ 1 คัดเลือกสายพันธุ์ราเขียวเพื่อใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบ

จากการนำเชื้อราเขียว 3 สายพันธุ์ คือ เชื้อราเขียวจากศูนย์พันธุวิศวกรรม (M0), กรมส่งเสริมการเกษตร (M2) และศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ (M3) มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบ แล้วนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาปรับกำลังให้เท่ากันทุกไอโซเลทที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. เมื่อนำมาทดสอบกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว จากการสังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน ในช่วงเวลา 1 เดือน พบว่าเชื้อราเขียว M2 และ M0 ทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าว

ติดโรคได้ดีเท่ากันที่ 93% แต่เมื่อพิจารณาความเหมาะสมพบว่าเชื้อราเขียว M2 มีความเหมาะสมในการใช้เป็นเชื้อเปรียบเทียบ (control) มากกว่าเนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นกว่าในการทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าวเป็นโรค

ขั้นตอนที่ 2 คัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากธรรมชาติ

เมื่อนำเชื้อราเขียวที่เก็บได้จากแมลงเป็นโรคในธรรมชาติในพื้นที่ต่างๆ กัน อีก 7 สายพันธุ์ มาทำการคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมในการควบคุมหนอนด้วงแรดมะพร้าว โดยนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนข้าวโพดบดหยาบแล้วนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาปรับกำลังให้เท่ากันทุกไอโซเลท ที่ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. เมื่อนำมาทดสอบกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว จากการสังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน ในช่วงเวลา 1 เดือน พบว่าเชื้อราเขียว M5 ซึ่งแยกได้จากหนอนด้วงแรดมะพร้าว จ.ปทุมธานี ทำให้หนอนด้วงแรดติดโรคได้ดีที่ 83% เมื่อเทียบกับเชื้อเปรียบเทียบ M2 ทำให้หนอนเป็นโรคที่ 80%

ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนแมลงดำหนาม และหนอนหัวดำมะพร้าว จะได้ดำเนินการและรายงานผลการทดลองในครั้งต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการหาเชื้อราเปรียบเทียบพบว่าเชื้อราเขียวจากศูนย์พันธุวิศวกรรม (M0) และจากกรมส่งเสริมการเกษตร (M2) ทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าวติดโรคได้ดีเท่ากันที่ 93% แต่เมื่อพิจารณาความเหมาะสมพบว่าเชื้อราเขียว M2 มีความเหมาะสมในการใช้เป็นเชื้อเปรียบเทียบ (control) มากกว่าเนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นกว่าในการทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าวติดโรค และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่แยกได้จากธรรมชาติ ทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราเขียว M5 ซึ่งแยกได้จากหนอนด้วงแรดมะพร้าว จ.ปทุมธานี ทำให้หนอนด้วงแรดมะพร้าวติดโรคได้ดีที่ 83% เมื่อเทียบกับเชื้อ M2 ทำให้หนอนเป็นโรคที่ 80%

เอกสารอ้างอิง

มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2537 ก. ศึกษาอัตราการใช้เชื้อราเขียวกำจัดมอดเจาะผลกาแฟ ในห้องปฏิบัติการ, น.1-6. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

มลิวัลย์ ปันยารชุน. 2537 ข. รายงานผลวิจัยก้าวหน้าศึกษาเปรียบเทียบอัตราการใช้เชื้อราเขียวต่อมวนโกโก้ ในห้องปฏิบัติการ, น.16-19. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

มลิวัลย์ ปันยารชุน และ สุรพล ตรุยานนท์. 2537. รายงานผลวิจัยก้าวหน้าการใช้เชื้อราเขียวควบคุมด้วงแรดมะพร้าวในท้องที่ประสบวาตะภัยจากพายุเกย์, น.6-15. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี 2537 กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Milner, R.J. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. *Biocontrol* News and Information. 21(2): 47N – 50N.

Thomas, M.B., J. Klass and S. Blanford. 2000. The year of the locust. Pesticide Outlook. 11:192-195

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีน *Metarhizium anisopliae* ในรูปแบบผงในห้องปฏิบัติการ

Efficacy test of dust formulation of green muscadine fungus, *Metarhizium anisopliae* in laboratory.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ เกรียงไกร จำเริญมา สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีน *Metarhizium anisopliae* ในรูปแบบผงในห้องปฏิบัติการ ได้เริ่มทำการวิจัยในช่วงเดือน ตุลาคม 2551 - กันยายน 2553 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร การทดลองเบื้องต้นทดสอบการเตรียมเชื้อราเขียวในรูปผง โดยเลี้ยงเชื้อราเขียวบนข้าวโพดบดหยาบประมาณ 7 - 14 วัน จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราเขียวปรับกำลังโคนิเดียตั้งต้นให้ได้ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. นำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาผสมกับดิน Pumice ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้อัตราส่วนสารแขวนลอยโคนิเดียต่อดิน เท่ากับ 1: 3, 1: 4 และ 1:5 ตามลำดับ คลุกส่วนผสมให้ทั่ว สังเกตลักษณะความชื้นของผงเชื้อที่ทำการทดสอบ พบว่าที่อัตราส่วน 1: 4 มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากผงเชื้อมีลักษณะไม่แห้ง และไม่แฉะจนเกินไป จากนั้นนำอัตราส่วนนี้มาทำการศึกษาต่อ ในช่วงแรกได้ศึกษาอัตราการใช้ผงเชื้อที่เหมาะสม โดยเลือกเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่มีประสิทธิภาพดีในการกำจัดหนอนด้วงแรดมะพร้าวมาเตรียมให้อยู่ในรูปเชื้อผงใช้อัตราส่วนสารแขวนลอยโคนิเดียต่อดิน Pumice ที่ 1: 4 และศึกษาอัตราการใช้ผงเชื้อต่ออาหาร (มะพร้าวสับ) ที่เหมาะสม โดยใช้มะพร้าวสับ 1,000 กรัม ต่อเชื้อผง 250, 500, 750 และ 1,000 กรัม ใส่หนอนด้วงแรดมะพร้าวอัตรา 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (4 ซ้ำ/กรรมวิธี) ปิดฝากล่องให้สนิท วางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 1 เดือน ผลการทดลองพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในหนอนด้วงแรดบางส่วน จึงได้ดำเนินการเตรียมเชื้อผงในชุดที่ 2 โดยในครั้งนี้ได้ผสมสารปฏิชีวนะกันแบคทีเรียลงในสารแขวนลอยโคนิเดียที่ใช้เตรียมผงเชื้อในอัตราสารปฏิชีวนะ 5 กรัม ต่อสารแขวนลอยโคนิเดีย 2,500 มล. และนำมาทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าวเหมือนชุดที่ 1 ผลการทดสอบยังคงพบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในหนอนด้วงแรดมะพร้าว จึงได้ทำการทดลองซ้ำเป็น

รหัสการทดลอง 07-01-49-06-04-03-02-51

ครั้งที่ 3 ในครั้งนี้ได้เพิ่มสารปฏิชีวนะเป็น 10 กรัม ต่อสารแขวนลอยโคนิเดีย 2,500 มล. และได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนด้วงแรดมะพร้าวเหมือนชุดที่ 1 ผลการทดสอบยังคงพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในหนอนด้วงแรด ดังนั้นจึงได้ดำเนินการเตรียมเชื้อผงในชุดที่ 4 โดยครั้งนี้ใส่สารปฏิชีวนะ 5 กรัม ต่อสารแขวนลอยโคนิเดีย 2,500 มล. แต่ได้เปลี่ยนวิธีเตรียมหนอนด้วงแรดมะพร้าว จากการใส่กล่องอัตรา 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (4 ซ้ำ/กรรมวิธี) เป็นการแยกหนอนใส่กล่องละ 1 ตัว (จำนวน 3 ซ้ำ, ซ้ำละ 20 กล่อง) ทั้งนี้เพื่อป้องกันบาดแผลที่อาจเกิดจากหนอนกัดกันในระหว่างที่ทำการทดลอง ซึ่งปัจจุบันยังอยู่ในระหว่างดำเนินการ ผลการทดลองจะได้นำมาเสนอในครั้งต่อไป

คำนำ

ปัจจุบันการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับของเกษตรกร รวมทั้งผู้บริโภคมากขึ้นจะสังเกตได้จากผลิตภัณฑ์อาหารปลอดสารพิษที่มีขายเพิ่มขึ้นในท้องตลาด ถึงแม้จะมีราคาสูงกว่าปกติเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดเดียวกัน แต่ยังเป็นที่นิยมและยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นเกษตรกรจึงเริ่มหันมาให้ความสนใจต่อการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีมากขึ้นเพราะนอกจากจะขายผลผลิตได้ราคาดีแล้ว ยังมีความปลอดภัยต่อสุขภาพของตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมถึงผู้บริโภคด้วย การใช้เชื้อจุลินทรีย์เป็นวิธีหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกร เชื้อจุลินทรีย์ที่มีการใช้แพร่หลายในปัจจุบันเช่น ไส้เดือนฝอย เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา เป็นต้น

เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* จัดเป็นจุลินทรีย์ประเภทหนึ่งที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมัน เป็นเชื้อราที่พบในดินใช้กำจัดแมลงในกลุ่มหนอนด้วงโดยเฉพาะ ด้วงแรดมะพร้าว ซึ่งในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกมะพร้าวและปาล์มน้ำมันกันมากในเขตภาคใต้ การกองเศษซากพืช ขุยมะพร้าว หรือกากของปาล์มน้ำมัน ทิ้งไว้เป็นเวลานานๆ จะกลายเป็นแหล่งขยายพันธุ์ของด้วงแรด ซึ่งปัจจุบันเริ่มมีการระบาดของด้วงชนิดนี้เพิ่มมากขึ้น การป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่สิ้นเปลืองและเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังนั้นการป้องกันกำจัดในปัจจุบันจึงมักใช้วิธีการป้องกันกำจัดแบบผสมผสาน เชื้อราเขียวเป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจผลิตใช้ทางการค้าในหลายประเทศ ได้แก่ แอฟริกาใต้ ภายใต้ชื่อการค้า Green Muscle (Thomas *et al*., 2000) ออสเตรเลีย และอเมริกาภายใต้ชื่อการค้า BioGreen และ BioBlast (Milner, 2000) เป็นต้น

เสาวนิตย์และคณะ (2548) ได้ศึกษาและพัฒนาวิธีการเลี้ยงเชื้อราเขียว เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในเชิงการค้า โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราเขียว ได้แก่ ชนิดธัญพืช ความชื้น ปริมาณการใช้โมลาส และยูเรีย ที่เหมาะสม งานทดลองของเสาวนิตย์ และคณะ (2549) ได้ศึกษาสารพา (carriers) ที่เหมาะสมในการใช้ร่วมกับผลิตภัณฑ์แป้ง โดยใช้สารพา 5

ชนิด ได้แก่ pumice, smectite, clinoptilolite, ดินลพบุรี และดินลำปาง ผสมร่วมกับแป้งสาลี เพื่อเลี้ยงเชื้อราเขียว ในอัตราส่วน 1: 1 ผลการศึกษาครั้งนั้นพบว่า pumice มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากราเขียวจะสร้างโคนิเดียได้สูงสุด นอกจากนี้ยังมีต้นทุนการผลิตที่ไม่มากเมื่อเทียบกับการเลี้ยงโดยใช้สารพาชนิดอื่น ตลอดจนการทดลองผลิตเชื้อราเขียวในรูปแบบผง เพื่อประโยชน์ต่อการเก็บรักษา ต่อมาในปีงบประมาณ 2551 ได้ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเชื้อราเขียวรูปแบบผงที่ผลิตได้ โดยเก็บในอุณหภูมิต่างๆ 3 อุณหภูมิคือ อุณหภูมิห้อง (27 $\pm$ 3 ^{O}C), อุณหภูมิตู้เย็น (12 $\pm$ 2 ^{O}C), และอุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) ในช่วงระยะเวลา 1 ปี พบว่าเชื้อที่เก็บในห้องเย็นและในตู้เย็นจะรักษาประสิทธิภาพการงอกของเชื้อได้นานที่สุด

วัตถุประสงค์ของการดำเนินงานในปีงบประมาณ 2552 มุ่งเน้นในการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวที่ผลิตในรูปแบบผง เพื่อการควบคุมด้วงแรดศัตรูมะพร้าว ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลในการตัดสินใจในการผลิตขยายต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

<u>สิ่งที่ใช้ทดลอง</u>

1. เชื้อราเขียวมัสคาดีน *Metarhizium anisopliae*
2. ดิน Pumice
3. หนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว
4. ข้าวโพดบดหยาบ
5. Potato Dextrose Broth (PDB)
6. กล่องเลี้ยงแมลง
7. ที่ดูดสปอร์ (Micropipet)
8. เครื่องนับสปอร์ (Hemacytometer)
9. ตู้เขี่ยเชื้อ
10. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
11. กล้องจุลทรรศน์
12. บีกเกอร์ ขนาด 250, 500, 1000 มล.
13. กระบอกตวง ขนาด 250, 500, 1000 มล.
14. ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 มล.

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาอัตราการใช้ผงเชื้อที่เหมาะสม

แผนการทดลอง: นำเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่มีประสิทธิภาพดีในการกำจัดหนอนด้วงแรดมะพร้าวมาเตรียมให้อยู่ในรูปเชื้อผง ศึกษาอัตราการใช้ผงเชื้อต่ออาหาร (มะพร้าวสับ) ที่เหมาะสม

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อราเขียวมัสคาดีนในรูปผง 250 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อราเขียวมัสคาดีนในรูปผง 500 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อราเขียวมัสคาดีนในรูปผง 750 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 เชื้อราเขียวมัสคาดีนในรูปผง 1,000 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 ดินที่ไม่ผสมเชื้อราเขียวมัสคาดีน 1,000 กรัม ต่อ มะพร้าวสับ 1,000 กรัม

วิธีการทดลอง

เลี้ยงเชื้อราเขียวลงบนข้าวโพดบดหยาบประมาณ 7 - 14 วัน จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยโคนิเดียเชื้อราเขียว ตรวจนับโคนิเดียและปรับกำลังสปอร์ตั้งต้นให้ได้ 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล. นำสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้มาผสมกับดิน Pumice ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้อัตราส่วนสารแขวนลอยโคนิเดียต่อดิน เท่ากับ 1: 4 คลุกส่วนผสมให้ทั่ว เตรียมขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับโดยการแช่น้ำทิ้งไว้ข้ามคืน บีบน้ำออกแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121^{o} ซ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งใส่กล่องเลี้ยงแมลงขนาดประมาณ 18 X 27 ซ.ม. อัตรากล่องละ 1,000 กรัม จากนั้นนำผงเชื้อที่เตรียมได้ใส่ตามกรรมวิธีต่างๆ คลุกผงเชื้อให้กระจายทั่วขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับ จากนั้นใส่หนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าวอัตรา 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (4 ซ้ำ/กรรมวิธี) ปิดฝากล่องให้สนิท วางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 1 เดือน จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

หมายเหตุ ปัจจุบันทดลองโดยแยกหนอนใส่กล่องละ 1 ตัว (จำนวน 3 ซ้ำ, ซ้ำละ 20 กล่อง) ทั้งนี้เพื่อป้องกันบาดแผลที่อาจเกิดจากหนอนกัดกันในระหว่างที่ทำการทดลอง

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อผงที่เก็บในระยะเวลา 1 ปี

แผนการทดลอง: นำอัตราที่เหมาะสมจากขั้นตอนที่ 1 มาศึกษาประสิทธิภาพการก่อให้เกิดโรคกับหนอนด้วงแรดมะพร้าว ภายในระยะเวลา 1 ปี

วิธีการทดลอง

เตรียมเชื้อราเขียวในรูปผงตามวิธีการขั้นตอนที่ 1 นำไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเย็น (6 $\pm$ 1 ^{O}C) (เสาวนิตย์และคณะ, 2551) นำเชื้อผงที่เก็บไว้มาตรวจสอบประสิทธิภาพการเกิดโรคกับหนอนด้วง

แรดมะพร้าว ทุกๆ 2 เดือน โดยเตรียมขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับใส่กล่องเลี้ยงแมลงขนาดประมาณ 18 X 27 ซ.ม. อัตรากล่องละ 1,000 กรัม นำผงเชื้อราเขียวมัสคาดีนที่เตรียมไว้แล้วมาผสมกับขุยมะพร้าวหรือมะพร้าวสับ ในอัตราที่เลือกจากขั้นตอนที่ 1 คลุกส่วนผสมให้ทั่ว จากนั้นนำหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าว ใส่ในอัตรา 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (5 ซ้ำ) ปิดฝากล่องให้สนิท วางกล่องเลี้ยงแมลงบนชั้นเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเป็นโรคของหนอนทุกๆ 2 วัน ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อผงทุกๆ 2 เดือน จนครบระยะเวลา 1 ปี จดบันทึกข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

: เก็บรวบรวมข้อมูล และจดบันทึกความผิดปกติทั้งหมดที่เกิดขึ้นระหว่างทำการทดลอง ได้แก่

- อาการและการเกิดโรคของหนอนด้วงแรดมะพร้าวที่ใช้ทดสอบ
- ระยะเวลาที่ทำให้เกิดโรค
- จำนวนหนอนที่ติดโรค

: วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2551 สิ้นสุด กันยายน 2553
- ห้องปฏิบัติการเชื้อราโรคแมลง กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองเบื้องต้นเมื่อนำสารแขวนลอยโคนิเดียที่มีความเข้มข้น 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล.มาผสมกับดิน Pumice ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้อัตราส่วนผสมสารแขวนลอยโคนิเดียต่อดิน 1: 3, 1: 4 และ 1:5 ตามลำดับ จากการสังเกตลักษณะความชื้นของผงเชื้อที่เตรียมพบว่า ที่อัตราส่วน 1: 4 มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากผงเชื้อมีลักษณะไม่แห้ง และไม่แฉะจนเกินไป และเมื่อนำผงเชื้อที่เตรียมมาศึกษาอัตราการใช้ต่อหนอนด้วงแรดมะพร้าว โดยใช้มะพร้าวสับ 1,000 กรัม ต่อเชื้อผง 250, 500, 750 และ 1,000 กรัม ใส่หนอนด้วงแรดมะพร้าวอัตรา 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (4 ซ้ำ/กรรมวิธี) พบว่าในครั้งที่ 1 มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในหนอนด้วงแรดมะพร้าวบางส่วน จึงได้ทำการทดลองในชุดที่ 2 โดยในครั้งนี้ได้ผสมสารปฏิชีวนะกันแบคทีเรียลงในสารแขวนลอยโคนิเดียที่ใช้เตรียมผงเชื้อในอัตราสารปฏิชีวนะ 5 กรัม ต่อสารแขวนลอยโคนิเดีย 2,500 มล. และนำมาทำการทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนด้วงแรดมะพร้าวเหมือนชุดที่ 1 ผลการทดสอบยังคงพบการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียในหนอนด้วงแรด จึงได้ทำการทดลองซ้ำเป็นครั้งที่ 3 ในครั้งนี้ได้เพิ่มสาร

ปฏิชีวนะเป็น 10 กรัม ต่อสารแขวนลอยโคนิเดีย 2,500 มล. และได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพกับหนอนด้วงแรดศัตรูมะพร้าวเหมือนชุดที่ 1 ผลการทดสอบยังคงพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในหนอนด้วงแรดมะพร้าว ดังนั้นต่อมาจึงได้ดำเนินการเตรียมเชื้อผงชุดที่ 4 โดยครั้งนี้ใส่สารปฏิชีวนะ 5 กรัม ต่อสารแขวนลอยโคนิเดีย 2,500 มล. แต่ได้เปลี่ยนวิธีเตรียมหนอนด้วงแรดมะพร้าว จากการใส่กล่องอัตรา 20 ตัว/กล่อง/ซ้ำ (4 ซ้ำ/กรรมวิธี) เป็นการแยกหนอนใส่กล่องละ 1 ตัว (จำนวน 3 ซ้ำ, ซ้ำละ 20 กล่อง) ทั้งนี้เพื่อป้องกันบาดแผลที่อาจเกิดจากหนอนกัดกันในระหว่างที่ทำการทดลอง ซึ่งปัจจุบันยังอยู่ในระหว่างดำเนินการ ผลการทดลองจะได้นำมาเสนอในครั้งต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่าการผสมสารแขวนลอยโคนิเดียความเข้มข้น 1 X 10^9 โคนิเดีย/มล.กับดิน Pumice ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้อัตราส่วนผสมสารแขวนลอยโคนิเดียต่อดิน 1: 4 มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากผงเชื้อมีลักษณะไม่แห้ง และไม่แฉะจนเกินไป เมื่อนำผงเชื้อที่เตรียมมาศึกษาอัตราการใช้ต่อหนอนด้วงแรดมะพร้าว จากการทดสอบทั้ง 3 ครั้งที่ผ่านมาการใส่หนอนอัตรา 20 ตัว/กล่อง พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในหนอนด้วงแรดมะพร้าวซึ่งอาจเกิดจากความหนาแน่นของหนอนที่ใส่รวมกันในกล่อง ทำให้หนอนเกิดความเครียด กัดกัน เกิดบาดแผล ทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียจากภายนอก ปัจจุบันเปลี่ยนวิธีทดลองโดยการแยกหนอนใส่กล่องละ 1 ตัว เพื่อป้องกันบาดแผลที่อาจเกิดจากหนอนกัดกันในระหว่างทำการทดลอง ซึ่งจะได้นำผลการทดลองมานำเสนอในครั้งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ อนุวัฒน์ จันทรสุวรรณ. 2548. การวิจัยและพัฒนาการผลิตและใช้เชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* เพื่อประโยชน์ทางการเกษตร. หน้า 543 - 565. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2548 เล่ม 1. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, วัชรี สมสุข, อภิรัชต์ สมฤทธิ์, สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และสาทิพย์ มาลี 2549. พัฒนาการผลิตเชื้อราเขียว *Metarhizium anisopliae* (metsch) Sorokin. ในรูปแบบผงเชื้อ. หน้า 131 - 143. *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8 ระหว่างวันที่ 20 – 22 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อ. เมือง จ.พิษณุโลก

Milner, R.J. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. *Biocontrol* News and Information. 21(2): 47N – 50N.

Thomas, M.B., J. Klass and S. Blanford. 2000. The year of the locust. Pesticide Outlook. 11:192-195.

การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยสูตรผง ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

Study on Efficacy of Entomopathogenic Nematode (WP) for Controlling Insect Pests

สาทิพย์ มาลี
วัชรี สมสุข วิไลวรรณ เวชยันต์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* Weiser สูตรผงในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* (Fabricius) ในดอกดาวเรือง ดำเนินงานระหว่างเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม 2551 ที่แปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี คือ การใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 1,000, 2,000 และ 4,000 ตัว/มล. เปรียบเทียบกับ การใช้ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ที่บรรจุในชิ้นฟองน้ำอัตรา 2,000 ตัว/มล. และแปลงไม่พ่นไส้เดือนฝอย ตรวจนับหนอนก่อนทำการพ่นไส้เดือนฝอยและหลังพ่นไส้เดือนฝอย 5 วัน ตรวจนับปริมาณดอกที่มีคุณภาพและดอกที่ถูกทำลาย นำข้อมูลที่ได้เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่ากรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 2,000, 4,000 ตัว/มล.และใช้ไส้เดือนฝอยที่บรรจุในชิ้นฟองน้ำอัตรา 2000 ตัว/มล. มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในดาวเรืองได้ดีที่สุดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างจากกรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผง อัตรา 1,000 ตัว/มล.และแปลงไม่พ่นไส้เดือนฝอย กรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 2,000, 4,000 ตัว/มล.และใช้ไส้เดือนฝอยที่บรรจุในชิ้นฟองน้ำอัตรา 2,000 ตัว/มล. มีปริมาณดอกที่ไม่ถูกทำลายสูงที่สุดไม่แตกต่างทางสถิติ

รหัสการทดลอง 07-01-49-06-04-04-05-51

คำนำ

จากปัญหาแมลงศัตรูพืชหลายชนิดสร้างความต้านทานต่อสารเคมีฆ่าแมลง การปนเปื้อนของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมและผลิตผลทางการเกษตร แนวทางในการแก้ไขเพื่อให้สอดคล้องกับนโยบาย GAP ของกรมวิชาการเกษตร คือการเกษตรแบบถูกสุขลักษณะ หลีกเลี่ยงการทำลายสิ่งแวดล้อม และลดการใช้สารเคมีซึ่ง อาจมีพิษตกค้างในผลิตผลทางการเกษตร ส่งผลกระทบต่อการส่งออกสินค้าเกษตร การใช้ไส้เดือนฝอยวิจัย ควบคุมแมลงศัตรูพืชเป็นทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้เพื่อลดการใช้สารเคมี โดยเฉพาะไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* เนื่องจากข้อดีของไส้เดือนฝอย คือ สามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูได้หลายชนิด เช่น หนอนกินใต้ผิวเปลือกลองกอง (*Cossus* sp.) ตัวอ่อนด้วงหมัดผักในผักกาดหัว(*Phyllotretra sinuate* Stephens) (วัชรี และคณะ, 2534ก) ด้วงงวงมันเทศ (*Cylas formicarius* Fabricius) (วัชรี และคณะ, 2534ข) หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง *Spodoptera exigua* (Hubner) (วัชรี และคณะ, 2537) หนอน Sciarid ในโรงเห็ด (Grewal and Smith; 1995) หนอนหญ้าสนาม (Hatsukade , 1994) โดยเข้าทำลายทั้งระยะตัวอ่อน ระยะก่อนเข้าดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยที่เพิ่งฟัก

ในประเทศไทยมีคำแนะนำให้ใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด คือ หนอนกินผิวใต้เปลือกลองกอง ใช้ไส้เดือนฝอยอัตรา 2 ล้านตัว/ลิตร ตัวอ่อนด้วงหมัดผักแถบลาย ใช้ไส้เดือนฝอย 4 ล้านตัว/น้ำ 2 ลิตร หนอนกระทู้หอมในดาวเรือง ใช้ไส้เดือนฝอย 40 ล้านตัว/น้ำ 20 ลิตร หนอนผีเสื้อ *Dasyses* sp. กินก้อนเชื้อเห็ดใช้ 4 ล้านตัว/น้ำ 2 ลิตร ด้วงขนสัตว์ในสนามหญ้า ใช้ 128 ล้านตัว/พื้นที่ 1 ไร่/น้ำ 160 ลิตร (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2551) ซึ่งอัตราดังกล่าวเป็นคำแนะนำที่ใช้กับไส้เดือนฝอยชนิดบรรจุในชิ้นฟองน้ำ ซึ่งไส้เดือนฝอยที่ผลิตได้นั้นจะบรรจุในชิ้นฟองน้ำ เมื่อต้องการใช้ต้องขยำชิ้นฟองน้ำให้ไส้เดือนฝอยหลุดออกมาอยู่ในน้ำเสียก่อน ทำให้การนำไส้เดือนฝอยไปใช้ในสภาพไร่เกิดความยุ่งยาก สิ้นเปลืองเวลา และปัจจุบันได้มีการพัฒนาการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยให้อยู่ในรูปผงละลายน้ำเพื่อสะดวกต่อการนำไปใช้ ดังนั้นจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยสูตรผงละลายน้ำ โดยทำการทดสอบในดาวเรืองซึ่งเป็นไม้ดอกที่นิยมปลูกกันทั่วไป อีกทั้งได้มีการแนะนำให้ใช้ไส้เดือนฝอยชนิดที่บรรจุในชิ้นฟองน้ำในการควบคุมหนอนกระทู้หอมอยู่แล้ว รวมทั้งศึกษาผลกระทบของไส้เดือนฝอยสูตรผงที่มีต่อพืช และแมลงศัตรูธรรมชาติอื่นๆ ก่อนที่จะแนะนำหรือถ่ายทอดให้เกษตรกรและภาคเอกชนนำไปใช้ต่อไป

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1.ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* สูตรผงของกรมวิชาการเกษตร (NEMA-DOA 50)

2.ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ที่บรรจุในชิ้นฟองน้ำของกรมวิชาการเกษตร

3.เครื่องพ่นสารเคมี

4.ถังน้ำพลาสติก

วิธีการ

ทำการทดลองที่แปลงดาวเรืองของเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้ ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* สูตรผง อัตรา 1,000, 2,000 และ 4,000 ตัว/มล., ไส้เดือนฝอย *S. carpocapsae* ชนิดที่เก็บในชิ้นฟองน้ำ อัตรา 2,000 ตัว/มล. และไม่พ่นไส้เดือนฝอย เตรียมแปลงปลูกดาวเรืองโดยปลูกแบบแถวคู่ ข้างสันร่องทั้งสองข้าง ระยะระหว่างต้น 50 เซนติเมตร แบ่งเป็นแปลงย่อย ขนาด 5 x 5 เมตร แปลงย่อยละ 8 แถว แถวละ 11 ต้น เริ่มพ่นตามกรรมวิธีที่กำหนด เมื่อมีหนอนกระทู้ผักระบาด โดยพ่นทุก 5 วัน จำนวน 4 ครั้ง ตรวจนับหนอนกระทู้ผักบริเวณดอกก่อนพ่นไส้เดือนฝอยทุกครั้งและ 5 วันหลังพ่นไส้เดือนฝอยครั้งสุดท้าย แปลงย่อยละ 25 ต้น ต้นละ 2 ดอก รวม 50 ดอก/แปลงย่อย บันทึกจำนวนหนอนที่ตรวจพบ หลังจากพ่นไส้เดือนฝอยครบ 4 ครั้งสุ่มนับดอกดาวเรืองที่ไม่ถูกหนอนเข้าทำลายจาก 4 แถวกลาง แปลงย่อยละ 25 ต้น ต้นละ 2 ดอก รวม 50 ดอก/แปลงย่อย บันทึกข้อมูลและเปรียบเทียบทางสถิติ

ระยะเวลาดำเนินการทดลอง เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2551

สถานที่ดำเนินการ แปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยสูตรผงในการควบคุมหนอนกระทู้ผักในดอกดาวเรือง ดำเนินงานระหว่างเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม 2551 ที่แปลงเกษตรกร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม จากการตรวจนับปริมาณหนอนที่เข้าทำลายดาวเรือง พบหนอนที่เข้าทำลายดอกดาวเรืองมากที่สุดคือ หนอนกระทู้ผัก *S. litura* ได้สุ่มนับปริมาณหนอนกระทู้ผักบริเวณดอกแปลงย่อยละ 50 ดอก ก่อนทำการพ่นไส้เดือนฝอยพบว่า ปริมาณหนอนกระทู้ผักไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธีเฉลี่ยระหว่าง 31.75 – 43.50 ตัว/แปลงย่อย (ตารางที่ 1)

หลังพ่นไส้เดือนฝอยครั้งที่ 1 ปริมาณหนอนกระทู้ผักในทุกกรรมวิธีลดลง กรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผง 2,000 และ 4,000 ตัว ที่พบหนอนน้อยที่สุด 2.5 ตัว/แปลงย่อยเท่ากันทั้งสองกรรมวิธี และไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีการใช้ไส้เดือนฝอยสูตรฟองน้ำอัตรา 2,000 ตัว ซึ่งเป็นอัตราที่มีการแนะนำให้ใช้ในดาวเรือง โดยพบหนอนเฉลี่ย 8.75 ตัว/แปลงย่อย ส่วนกรรมวิธีพ่น

ไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 1,000 ตัว พบหนอนไม่แตกต่างจากกรรมวิธีไม่พ่นไส้เดือนฝอย พบหนอนกระทู้ผัก 23.75 และ 28.00 ตัว/แปลงย่อย ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

หลังพ่นไส้เดือนฝอยครั้งที่ 2 ปริมาณหนอนกระทู้ผักในกรรมวิธีพ่นไส้เดือนฝอยทุกกรรมวิธีเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ปริมาณหนอนแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี และเป็นไปในแนวทางเดียวกันกับหลังพ่นไส้เดือนฝอยครั้งที่ 1 โดยกรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผง 2,000 และ 4,000 ตัว พบหนอนกระทู้ผักน้อยที่สุดเฉลี่ย 11.25 และ 9.00 ตัว/แปลงย่อย ตามลำดับ ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยที่บรรจุในชิ้นฟองน้ำอัตรา 2,000 ตัวที่พบหนอน 13.25 ตัว/แปลงย่อย ส่วนกรรมวิธีพ่นไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 1,000 ตัว พบหนอนเฉลี่ย 32.75 ตัว/แปลงย่อย ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีไม่พ่นไส้เดือนฝอย พบหนอนเฉลี่ย 24.75 ตัว/แปลงย่อย (ตารางที่ 1)

หลังพ่นไส้เดือนฝอยครั้งที่ 3 ปริมาณหนอนกระทู้ผักในกรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 2,000 และ 4,000 ตัว และกรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยที่บรรจุในชิ้นฟองน้ำอัตรา 2,000 ตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ พบหนอนเฉลี่ย 17.00, 13.75 และ 16.75 ตัว/แปลงย่อย แต่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 1,000 ตัว และกรรมวิธีไม่พ่นไส้เดือนฝอยที่พบหนอนกระทู้ผัก 31.25 และ 28.25 ตัว/แปลงย่อย (ตารางที่ 1)

หลังพ่นไส้เดือนฝอยครั้งที่ 4 ปริมาณหนอนกระทู้ผักในกรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 4,000 ตัว พบหนอนน้อยที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธี พบหนอน 17.50 ตัว/แปลงย่อย รองลงมาได้แก่กรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 2,000 ตัวและกรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยที่บรรจุในชิ้นฟองน้ำอัตรา 2,000 ตัวพบหนอนกระทู้ผัก 23.75 และ 24.25 ตัว/แปลงย่อย ตามลำดับ แต่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นไส้เดือนฝอยสูตรผงอัตรา 1,000 ตัว และกรรมวิธีไม่พ่นไส้เดือนฝอย พบหนอนกระทู้ผักมากที่สุดโดยพบหนอน 30.25 และ 34.00 ตัว/แปลงย่อย เป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณหนอนกระทู้ผักหลังการพ่นไส้เดือนฝอยครั้งที่ 4 นี้ ค่อนข้างสูงกว่าในครั้งที่ผ่านๆ มา เนื่องจากหลังการพ่นไส้เดือนฝอยครั้งที่ 4 นี้ มีฝนตกหนักติดต่อกันหลายวัน ไส้เดือนฝอยอาจถูกชะล้างไปบางส่วน ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนลดลง(ตารางที่ 1, ภาพที่ 1)

ปริมาณดอกดาวเรืองที่ไม่ถูกหนอนกระทู้ผักทำลายในแต่ละกรรมวิธีพบว่า กรรมวิธีพ่นไส้เดือนฝอยสูตรผง อัตรา 2,000, 4,000 ตัว มีเปอร์เซ็นต์ดอกไม่ถูกทำลายมากที่สุดในระดับเดียวกับกรรมวิธีใช้ไส้เดือนฝอยที่บรรจุในชิ้นฟองน้ำอัตรา 2,000 ตัว มีเปอร์เซ็นต์ดอกที่ไม่ถูกทำลายเฉลี่ย 69.50, 75.00 และ 72.00 ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่นไส้เดือนฝอยสูตรผง อัตรา 1,000 ตัว และกรรมวิธีไม่พ่นไส้เดือนฝอย มีเปอร์เซ็นต์ดอกที่ไม่ถูกหนอนทำลายเฉลี่ย 50.50 และ 51.00 (ตารางที่ 2, ภาพที่ 2)

จากการสังเกตพบว่าตลอดระยะเวลาที่พ่นไส้เดือนฝอยควบคุมศัตรูพืชในแปลงดาวเรืองนั้น กรรมวิธีพ่นไส้เดือนฝอยสูตรผงทุกกรรรมวิธีไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช (Phytotoxic) และต้นดาวเรืองในทุกกรรมวิธีมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบแมลงศัตรูธรรมชาติในแปลงทดลองเพิ่มขึ้นหลายชนิด ได้แก่ แมงมุม ด้วงเต่า และแตนเบียน

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ วัชรี(2537) ที่ได้ทำการทดลองใช้ไส้เดือนฝอยชนิดบรรจุในชิ้นฟองน้ำ อัตรา 4,000, 2,000, 1,000 ตัว/มล. เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลง methomyl และไม่ควบคุมศัตรูพืชในการควบคุมหนอนกระทู้หอมในดาวเรือง สรุปว่าการใช้ไส้เดือนฝอยอัตรา 4000 ตัว/มล.ให้ผลดีที่สุด และผลผลิตในกรรมวิธีการใช้ไส้เดือนฝอยทุกอัตราสูงกว่ากรรมวิธีไม่ควบคุมศัตรูพืช

สรุปผลการทดลอง

การใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผง อัตรา 2,000 ตัว และ 4,000 ตัว มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผักในดาวเรืองได้ไม่แตกต่างกับการใช้ไส้เดือนฝอยชนิดบรรจุในชิ้นฟองน้ำ อัตรา 2,000 ตัว ทั้งยังไม่เป็นพิษต่อพืช และแมลงศัตรูธรรมชาติ การใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผง อัตรา 2,000 ตัว จะประหยัดกว่าการใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผง อัตรา 4,000 ตัว ดังนั้นการใช้ไส้เดือนฝอยสูตรผง อัตรา 2,000 ตัว สามารถจะนำมาทดแทนการใช้ไส้เดือนฝอยชนิดบรรจุในชิ้นฟองน้ำที่มีการแนะนำให้เกษตรกรใช้ในดาวเรืองได้

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2551. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืช ปี 2551. กรุงเทพฯ

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

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

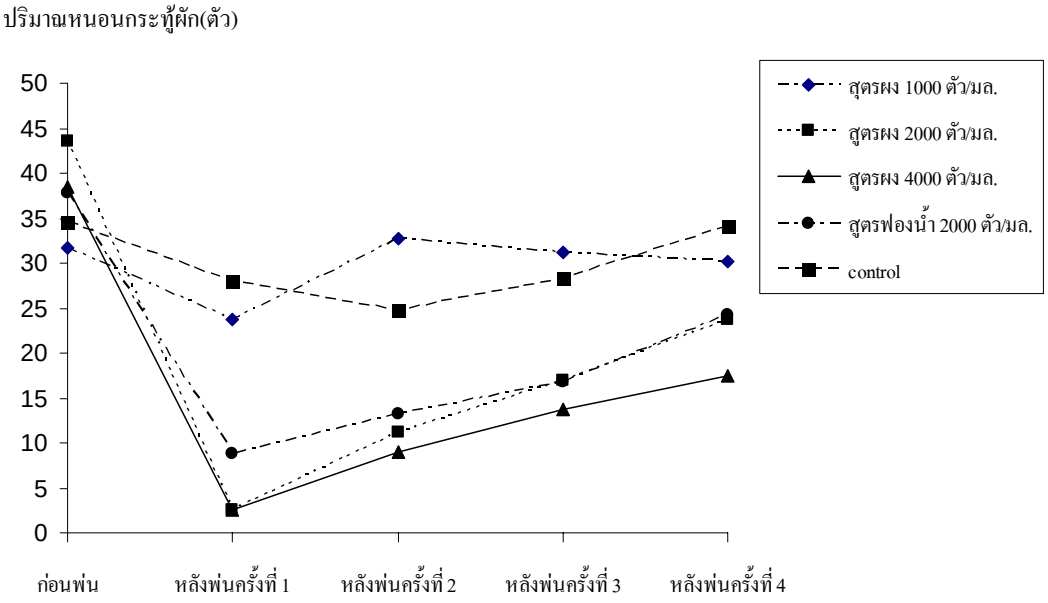
ตารางที่ 1 ปริมาณหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* Fabricius ในแปลงดาวเรืองก่อนและหลังพ่นไส้เดือนฝอยในแปลงทดลอง อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

กรรมวิธี	จำนวนหนอนกระทู้ผักในแปลงดาวเรือง (ตัว/แปลงย่อย)				
	ก่อนพ่น	หลังพ่นครั้งที่ 1	หลังพ่นครั้งที่ 2	หลังพ่นครั้งที่ 3	หลังพ่นครั้งที่4
S. carpocapsae สูตรผง อัตรา 1,000 ตัว	31.75	23.75b[1/]	32.75c	31.25b	30.25c
S. carpocapsae สูตรผง อัตรา 2,000 ตัว	43.50	2.5a	11.25a	17.00a	23.75b
S. carpocapsae สูตรผง อัตรา 4,000 ตัว	38.50	2.5a	9.00a	13.75a	17.50a
S. carpocapsae สูตรฟองน้ำ อัตรา 2,000 ตัว	37.75	8.75a	13.25ab	16.75a	24.25b
ไม่พ่นไส้เดือนฝอย	34.50	28.00b	24.75bc	28.25b	34.00c
CV%	37.2	33.33	39.60	29.00	14.60

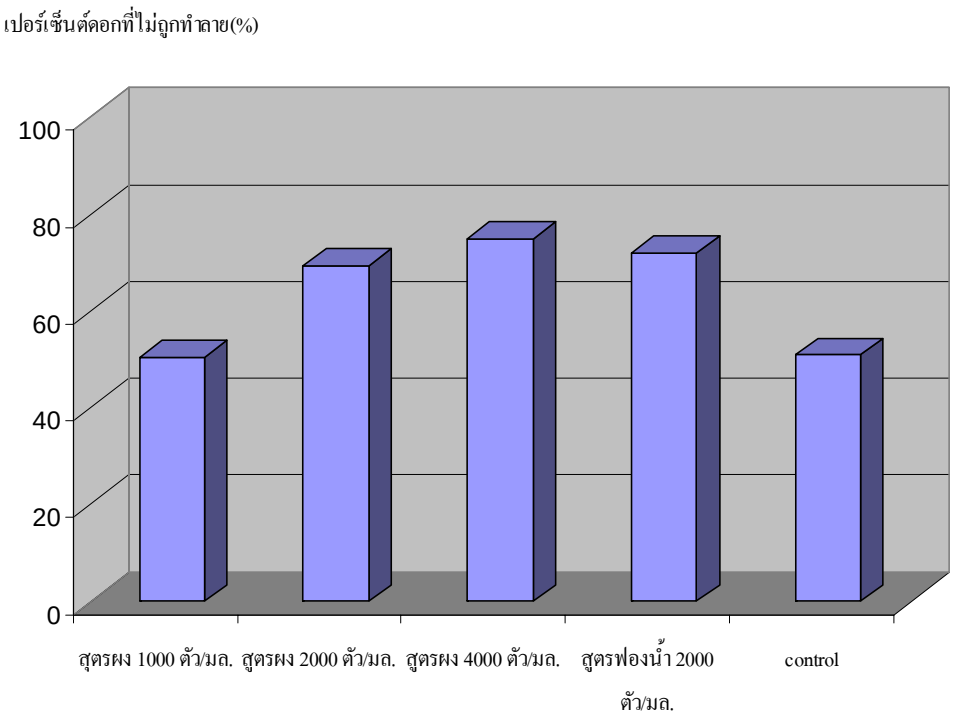
[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ทดสอบโดยใช้ DMRT)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ดอกดาวเรืองที่ไม่ถูกทำลายจากหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* Fabricius หลังพ่นไส้เดือนฝอยจำนวน 4 ครั้ง ในแปลงทดลอง อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ดอกที่ไม่ถูกทำลาย(%)
S. carpocapsae สูตรผง อัตรา 1,000 ตัว	50.50
S. carpocapsae สูตรผง อัตรา 2,000 ตัว	69.50
S. carpocapsae สูตรผง อัตรา 4,000 ตัว	75.00
S. carpocapsae สูตรฟองน้ำ อัตรา 2,000 ตัว	72.00
ไม่พ่นไส้เดือนฝอย	51.00



ภาพที่ 1 ปริมาณหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* Fabricius ในแปลงดาวเรืองก่อนและหลังพ่นไส้เดือนฝอยในแปลงทดลอง อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์ดอกดาวเรืองที่ไม่ถูกทำลายจากหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* Fabricius หลังพ่นไส้เดือนฝอยจำนวน 4 ครั้ง ในแปลงทดลอง อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม

ศึกษาสูตรอาหารและรูปแบบใหม่ของเหยื่อโปรโตซัว

Studies on Ground Bait Formulation and New Methods of Protozoan Bait Production

ดาราพร รินทะรักษ์ ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ กรแก้ว เสือสะอาด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการทดสอบเพื่อประเมินความชอบของหนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus)* จำนวน 30 ตัว (เพศผู้15 ตัว, เพศเมีย 15 ตัว) โดยทดลองให้อาหาร 10 ชนิด ๆละ 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD ให้อาหารเป็นเวลานาน 5 วันติดต่อกัน พบว่าอาหารที่หนูชอบกินมากที่สุด 3 อันดับแรก คือ ปลาซาร์ดีน ข้าวกล้อง และอาหารหนูชนิดเม็ด คิดเป็น 100.00% ,72.40% และ 70.25% ตามลำดับ จึงเลือกอาหาร 3 ชนิดดังกล่าว มาปรับปรุงเป็นเหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลง 3 สูตร และทดสอบความชอบของหนูต่อเหยื่ออาหารสูตรใหม่ 3 สูตร ได้แก่ เหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงสูตรผสมปลาซาร์ดีน , เหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงสูตรผสมข้าวกล้อง และเหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงสูตรผสมอาหารหนูชนิดเม็ด พบว่าหนูท้องขาวบ้านทั้งเพศผู้และเพศเมีย ชอบกินเหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงทั้ง 3 สูตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ทำการคัดเลือกเชื้อโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ที่มีความรุนแรงด้วยวิธี bio assay โดยให้เชื้อแก่หนูด้วย feeding tube ปริมาณ $2x10^5$ สปอร์โรซีสต์ ได้เชื้อที่มีความรุนแรงทำให้หนูตาย 100% จากมูลงูเหลือมเบอร์ S-24 และหลังจากได้ทดสอบคุณสมบัติของ food additives ชนิดต่างๆ เช่น เจลาติน ผงวุ้นและแซนแทนกัม (Caldic ®) พบว่าชนิดที่เหมาะสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการผลิตเหยื่อโปรโตซัวสำเร็จรูป คือแซนแทนกัม และเมื่อศึกษาการมีชีวิตของเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* ที่แขวนลอยอยู่ในรูปแบบเจลจากผงแซนแทนกัม ด้วยการย้อมเชื้อด้วยสี nucleic acid แล้วทิ้งไว้นาน 1 เดือน 2 เดือน และ 3 เดือน พบว่าเชื้อยังคงมีชีวิต 100%, 100 % และ 99% ตามลำดับ จึงนำเชื้อ *S. singaporensis* ชุดดังกล่าวมาประยุกต์เป็นเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบเจล ที่มีปริมาณเชื้อ $2x10^5$ สปอร์โรซีสต์/ เม็ด และทดสอบประสิทธิภาพของเหยื่อโปรโตซัวด้วยวิธี bio assay พบว่าเชื้อในรูปแบบเจล ทำให้หนูทดลองตาย 70 % , 50 % และ 60 % ภายใน 27 วัน โดยเฉลี่ย (17-42 วัน; n=30)

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

ประเทศไทย เป็นประเทศเกษตรกรรมที่สามารถผลิตและส่งออกสินค้าเกษตรหลายชนิด แต่เกษตรกรมักประสบปัญหาเกี่ยวกับศัตรูพืชที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ พืชผลทางเกษตรกรรมหลายชนิดที่มีประวัติถูกหนูทำลาย โดยเฉพาะพืชในกลุ่มธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวโพด ถั่วเหลือง ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น ซึ่งหนูจะทำลายและทำให้เกิดความเสียหายแก่พืชเหล่านี้ได้เกือบทุกระยะ ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ความเสียหายของพืชเศรษฐกิจในประเทศไทยที่เกิดจากการทำลายของหนู พบว่าในข้าวความเสียหายเฉลี่ยประมาณ 1.53% ข้าวบาร์เลย์ประมาณ 6.53% ถั่วเหลืองประมาณ 9.1-17.2% อ้อยประมาณ 5.3% ปาล์มน้ำมันประมาณ 36% มะพร้าวประมาณ 8.7% และโกโก้ประมาณ 10% ซึ่งความเสียหายเหล่านี้ ประมาณมูลค่าไม่ต่ำกว่า 1,000 ล้านบาทต่อปี (เสริมศักดิ์, 2536)

หนูที่พบในประเทศไทยมีทั้งหมด ประมาณ 36 ชนิด ประกอบด้วย 3 สกุล (genus) คือสกุลหนูพุก (*Bandicota*) สกุลหนูท้องขาว (*Rattus*) สกุลหนูหริ่ง (*Mus*) โดยพบว่าหนูที่เป็นศัตรูพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ หนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*) หนูพุกเล็ก (*B.savilei*) หนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer*) หนูนาเล็ก (*R.losea*) หนูท้องขาวบ้าน (*R.rattus*) หนูป่ามาเลย์ (*R.tiomanicus*) หนูนอรเวย์ (*R.norvegicus*) หนูจี๊ด (*R. exulans*) หนูหริ่งหางยาว (*Mus caroli*) และหนูหริ่งหางสั้น (*R.cervicolor*) นอกจากจะทำลายพืชทางการเกษตรแล้ว หนูยังเป็นแหล่งรังโรคสำคัญที่ถ่ายทอดสู่มนุษย์และสัตว์เลี้ยง เช่น กาฬโรค โดยมีหมัดที่อาศัยอยู่บนตัวหนูเป็นพาหะของโรค และโรคเลปโตสไปโรซิสหรือไข้ฉี่หนูที่เกิดจากแบคทีเรีย *Leptospira interrogans* เป็นต้น

การป้องกันกำจัดหนูโดยการใช้สารกำจัดหนู (rodenticide) ในปัจจุบัน มีการใช้สารกำจัดหนู 2ประเภทหลัก คือสารกำจัดหนูประเภทออกฤทธิ์เร็ว (acute rodenticide หรือ single dose rodenticide) เป็นกลุ่มที่มีความเป็นพิษสูง ทั้งต่อมนุษย์และสัตว์อื่น และมีข้อเสียคือทำให้หนูเข็ดขยาดต่อเหยื่อพิษ (bait shyness) และสารกำจัดหนูประเภทออกฤทธิ์ช้า (chronic rodenticide หรือ multiple dose rodenticide) แต่ถ้าใช้เป็นระยะเวลานานทำให้หนูสามารถสร้างความต้านทานขึ้นมาได้ ในสถาณการณ์ที่ทั่วโลกให้ความสำคัญของการลดใช้สารเคมีและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น วิธีการป้องกันกำจัดหนูโดยชีววิธี จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่อาจแก้ปัญหาที่เกิดจากการใช้สารเคมีดังกล่าวได้

อย่างไรก็ตาม ปัจจัยที่เกี่ยวข้องและควรคำนึงถึงในการใช้ปรสิตชนิดใดๆกำจัดหนู ได้แก่ มีความจำเพาะเจาะจงต่อสัตว์อาศัย สามารถในการลดการสืบพันธุ์หรือขยายพันธุ์ของสัตว์อาศัยได้ และต้องมีระยะติดเชื้อ (infective phase) ที่รุนแรงและสม่ำเสมอ ซึ่งอาจต้องมีการช่วยเหลือจาก

สัตว์อาศัยตัวกลาง (Anderson and May,1978) ซึ่งใน ปี ค.ศ. 1975 Zaman and Colly ได้ค้นพบเชื้อโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ในมูลงูเหลือม (*Python reticulatus*) ซึ่งเชื้อโปรโตซัวชนิดนี้จัดอยู่ใน Phylum Apicomplexa, Class Sporozoasida, Order Eucoccidiorida, Family Sarcocystidae , Genus Sarcocystis โปรโตซัวชนิดนี้มีการสร้างซีสต์ระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโต โดยต้องการสัตว์อาศัย 2 ชนิด ในการเจริญและขยายพันธุ์ ได้แก่ สัตว์อาศัยตัวกลาง (intermediate host) และสัตว์อาศัยสุดท้าย (definitive host) โปรโตซัวชนิดนี้พบในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีความจำเพาะสูงต่อสัตว์อาศัยระหว่างหนูและงูเหลือม (Haefner and Frank, 1984) โดยมีการขยายพันธุ์เป็นแบบมีเพศภายในเซลล์บุผิวลำไส้ของงูเหลือม ได้สปอร์โรซีสต์ (sporocysts) เป็นผลผลิตสุดท้ายของการเจริญเติบโต โดยพบว่าระยะสปอร์โรซีสต์ของเชื้อชนิดนี้สามารถทำให้หนูสกุลหนูท้องขาวป่วยและตายในที่สุด โดยสปอร์โรซีสต์จะปะปนออกมาพร้อมมูลงูสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก เข้าสู่สัตว์อาศัยที่เป็นพาหะคือหนู ซึ่งโปรโตซัวชนิดนี้จะขยายพันธุ์แบบไม่มีเพศในเซลล์บุผิวหลอดเลือดในอวัยวะสำคัญเช่น หัวใจ ปอด ตับ ไต และเจริญพัฒนาเป็นแบรดิซ้อยต์ (bradyzoites) ฝังในกล้ามเนื้อของหนู (sarcocysts) เพื่อรอให้งูซึ่งเป็นสัตว์อาศัยแบบจำเพาะมากินและเข้าสู่วัฏจักรต่อไป (ภาพที่ 1)

ตั้งแต่ปี 2536 – 2545 กรมวิชาการเกษตร องค์การความช่วยเหลือทางด้านวิชาการของสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน (GTZ) และบริษัทไบเออร์ จำกัด ได้ร่วมกันทำการวิจัยด้านต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* และพบว่าปรสิตโปรโตซัวชนิดนี้เป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนูที่มีประสิทธิภาพสูง ทำให้หนูสกุลท้องขาวและสกุลหนูพุกป่วยและตายทั้งหมดในระดับห้องปฏิบัติการ และ 71% - 92% ในแปลงทดลองในฟาร์มไก่ นาข้าว และสวนปาล์มน้ำมัน (ยุวลักษณ์ และคณะ,2539 ; ยุวลักษณ์ และคณะ,2540; ยุวลักษณ์ และคณะ,2542) โดยไม่มีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่นในสภาพแวดล้อม โดยโปรโตซัวชนิดนี้ไม่สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาต่อไปได้ในกบ คางคก จิ้งเหลน ตุ๊กแก จิ้งจก และแม้กระทั่งสกุลหนูหริ่ง (Jaekel *et*. al.,1999)

Dr.Endopol ผู้เชี่ยวชาญด้านหนูของสถาบันสุขภาพสัตว์ของบริษัทไบเออร์ ในสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี ได้มอบเหยื่อแบบแป้งนุ่ม (เหยื่อไบเออร์) สำหรับกำจัดหนู ให้แก่กรมวิชาการเกษตร เพื่อนำมาผลิตเหยื่อโปรโตซัวสำเร็จรูปกำจัดหนู และทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลอง พบว่ามีประสิทธิภาพสูงในการทำให้หนูสกุลท้องขาว และสกุลหนูพุก ป่วยและตาย 100% (ยุวลักษณ์ และคณะ,2544)

เหยื่อ ควรมีส่วนผสมที่สามารถล่อหรือดึงดูดให้หนูมากินได้ โดยปกติมักใช้เมล็ดธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าว ปลายข้าว ข้าวโพด ซึ่งการเลือกเหยื่อมีความสำคัญมาก จะต้องเลือกให้เหมาะสม

เหยื่อที่ดีควรมีลักษณะที่หนูชอบกิน ราคาไม่แพง หาได้ง่ายในท้องถิ่น และเก็บได้นานโดยคุณสมบัติ หรือประสิทธิภาพในการกำจัดหนูไม่เปลี่ยนแปลง (Henderson *et*. al., 2002) ซึ่งในการผลิตเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูสำเร็จรูปที่ใช้ในปัจจุบันได้ปรับปรุงองค์ประกอบของอาหารบางชนิดโดยใช้วัสดุที่มีในประเทศไทยทดแทนสูตรดั้งเดิม อย่างไรก็ตาม พบว่าการผลิตเหยื่อโปรโตซัวสำเร็จรูป ยังมีข้อจำกัดอยู่หลายประการ เช่น มีขีดความสามารถน้อยในการแข่งขันกับอาหารในธรรมชาติของหนู เหยื่อสำเร็จรูปมีอายุการเก็บรักษาสั้นเพียง 1 เดือน เนื่องจากรูปแบบของเหยื่อที่ยังไม่เหมาะสมพอที่จะให้เชื้อมีชีวิตอยู่ได้นาน ปัจจัยที่ทำให้โปรโตซัวตาย คือน้ำมันพืชที่เป็นส่วนผสมหนึ่งของเหยื่อ ปิดกั้นการใช้ออกซิเจนของสปอร์โรซ้อยต์ (sporozoite) ที่อยู่ในสปอร์โรซีสต์ มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดหนูลดลง (ยุวลักษณ์ และคณะ, 2542) (ภาพที่ 2)

ดังนั้น ในการปรับปรุงเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบเดิมที่ยังคงมีข้อจำกัดดังกล่าว เพื่อให้ได้เหยื่อรูปแบบใหม่ที่หนูชอบกิน ราคาถูก มีอายุในการเก็บรักษาได้นานไม่น้อยกว่า 3 เดือน โดยยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดหนู และมีศักยภาพในการแข่งขันกับอาหารในธรรมชาติของหนูได้ จึงควรมีการศึกษาวิจัยและปรับปรุงสูตรอาหารและรูปแบบของเหยื่อโปรโตซัวกำจัดหนูสำเร็จรูป ให้เหมาะสมยิ่งขึ้นสำหรับการผลิตเป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนูและสามารถถ่ายทอดให้แก่ภาคเอกชนและผู้ที่สนใจได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- สัตว์ทดลองสำหรับผลิตเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* และสำหรับทดสอบเหยื่อโปรโตซัว ได้แก่ งูเหลือม *(Python reticulatus*) หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus* rattus) และหนูทดลองสายพันธุ์วิสตาร์ *(Rattus novegicus*; Wistar rat)
- กรงทดลองประเภทต่างๆ ได้แก่ กรงเลี้ยงงู กรงเลี้ยงหนู กรงดักหนูเป็น กรงทดสอบเดี่ยวพร้อมขวดน้ำ
- เหยื่อแป้งนุ่ม ประกอบด้วย แป้งสาลี เมล็ดข้าวโพดบด น้ำตาลทราย น้ำมันข้าวโพด และแป้งทัลคัม (talcum powder)
- อาหาร 10 ชนิด สำหรับทดสอบความชอบของหนูท้องขาวบ้าน ดังนี้ ปลาซาร์ดีนในซอสมะเขือเทศ ยี่ห้อโรซ่า ข้าวกล้อง ข้าวสาลี ปลายข้าว เมล็ดข้าวโพดแห้ง อาหารสุนัขชนิดเม็ดยี่ห้อเพ็ดดีกรี อาหารปลาดุก อาหารหนูชนิดเม็ด ปลาป่น และถั่วลิสงแห้ง
- อาหารหนูสำเร็จรูป วัสดุเกษตรอื่นๆสำหรับเป็นอาหารเสริมให้สัตว์ทดลอง และใช้ดักหนู
- สารเคมี เช่น น้ำตาลกลูโคส gelatin ,nucleic acid , ethyl alcohol, xanthan gum,
- อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ขวดพลาสติกขนาดต่างๆ สำหรับการปั่นตกตะกอนโปรโตซัว

เครื่องมือผ่าตัด beaker, petri-dish , blood couting chamber, เป็นต้น

- อุปกรณ์อื่นๆที่จำเป็น เช่น กระดาษทิชชูอเนกประสงค์ ถุงมือยางสำหรับแพทย์ ผ้าปิดจมูก สำลี ฯลฯ

วิธีการ

1. <u>คัดเลือกชนิดของอาหารที่หนูท้องขาวบ้านชอบกินเพื่อให้ได้ข้อมูลสูตรอาหารเบื้องต้น</u>

1.1 ชั่งอาหาร 10 ชนิด/ กรรมวิธี ๆ ละ 15 กรัม ดังนี้ ปลาซาร์ดีน ข้าวกล้อง ข้าวสาลี ปลายข้าว เมล็ดข้าวโพดแห้ง อาหารสุนัขชนิดเม็ดยี่ห้อเพ็ดดีกรี อาหารปลาดุก อาหารหนูชนิดเม็ด ปลาป่น และถั่วลิสงแห้ง

1.2 ดักหนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) จากแหล่งเกษตรกรรมและสถานที่ราชการ ทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยใช้ข้าวโพดหวานเป็นเหยื่อดักหนู มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 1 สัปดาห์ คัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย สมบูรณ์ แข็งแรง และมีน้ำหนักระหว่าง 95-120 กรัม จำนวน 30 ตัว (เพศผู้ 15 ตัว, เพศเมีย 15 ตัว) มาทดสอบความชอบต่อของอาหารทั้ง 10 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ตัว ดังนี้

ชั่งน้ำหนักหนู/บันทึกเพศหนู → แยกใส่กรงทดลอง ละ 1 ตัว → อดอาหารหนูก่อนทดลอง 24 ชั่วโมง

↓

ชั่งอาหารหนูแต่ละกรรมวิธีๆ ละ 15 กรัม

↓

ให้อาหารหนูแต่ละกรรมวิธี

จดบันทึกน้ำหนักอาหารที่หนูกิน /สังเกตข้อมูลอื่นๆ ← ตามแผน CRD เป็นเวลานาน 5 วัน และนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2. <u>ทดลองสูตรอาหารเพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะพัฒนารูปแบบของเหยื่อใหม่ที่เหมาะสม</u>

อาศัยผลการทดลองจากขั้นตอนที่ 1 โดยเลือกชนิดของอาหารที่หนูชอบมากที่สุด 3 ชนิด ที่สามารถดึงดูดหนูได้ดี (70%ขึ้นไป) นำมาปรับปรุงเป็นเหยื่อแป้งนุ่มสูตรดัดแปลง ดังนี้

สูตรที่ 1 ประกอบด้วย น้ำมันข้าวโพด : แป้งทัลคัม : เมล็ดข้าวโพดบด : น้ำตาลทราย : แป้งสาลี : ปลาซาร์ดีนในซอสมะเขือเทศยี่ห้อโรซ่า = 20 : 5 : 7 : 8 : 50 : 10

สูตรที่ 2 ประกอบด้วย น้ำมันข้าวโพด : แป้งทัลคัม : เมล็ดข้าวโพดบด : น้ำตาลทราย : แป้งสาลี : ข้าวกล้อง = 20 : 5 : 7 : 8 : 50 : 10

สูตรที่ 3 ประกอบด้วย น้ำมันข้าวโพด : แป้งทัลคัม : เมล็ดข้าวโพดบด : น้ำตาลทราย :

แป้งสาลี : อาหารหนูชนิดเม็ด = 20 : 5 : 7 : 8 : 50 : 10

ทดสอบเหยื่อแป้งนุ่มสูตรดัดแปลงทั้ง 3 สูตร กับหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 30 ตัว เป็นเวลานาน 5 วันติดต่อกัน ทำการทดลองและบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1 และทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ *Sarcocystis singaporensis* ในเหยื่อสูตรแป้งนุ่มในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธี bio assay และนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3. คัดเลือกหนูทดลองและคัดเลือกเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* ที่มีประสิทธิภาพสูง

3.1 คัดเลือกหนูทดลองโดยดักหนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) จากแหล่งเกษตรกรรม และจากสถานที่ราชการทั้งเพศผู้และเพศเมีย มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 1 สัปดาห์ และคัดเลือกหนูที่โตเต็มวัย สมบูรณ์ แข็งแรง และมีน้ำหนักตัวระหว่าง 95 -120 กรัม จำนวน 30 ตัว (เพศผู้ 15 ตัว, เพศเมีย 15 ตัว) บันทึกน้ำหนักและเพศของหนู แล้วแยกใส่กรงทดลอง ละ 1 ตัว อดอาหารหนูก่อนทำการทดลอง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2 คัดเลือกเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* ที่มีประสิทธิภาพทำให้หนูป่วยและตาย 100% โดยการให้หนูติดเชื้อ (infected rat) สายพันธุ์วีสตาร์ ที่มีซีสต์ของ *S. singaporensis* ในกล้ามเนื้อ ปริมาณสูง แก่งูเหลือม จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพเชื้อโปรโตซัวที่ได้จากมูลงูเหลือมกับหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 10 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว, เพศเมีย 5 ตัว) ด้วยวิธี bio assay

4. ทดสอบการมีชีวิตของเชื้อโปรโตซัวและคุณสมบัติทางกายภาพส่วนประกอบของหยื่อ

4.1 หลังจากได้สปอร์โรซีสต์ของเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* จากขั้นตอนที่ 3 แล้ว ทดสอบการมีชีวิตของเชื้อทันที โดยการย้อมด้วยสี nucleic acid ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบการมีชีวิตของเชื้อ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงฟลูโอเรสเซนส์ และคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของเชื้อจากสูตร

$$\% \text{ Death} = \frac{[\text{number of stained sporocyst}]}{[\text{total number - number of ghost})\ ]} \times 100$$

4.2 ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ (เช่น การละลาย การแข็งตัว) ของ food additives ชนิดต่างๆ เช่น เจล เจลาติน ผงวุ้นและแซนแทนกัม (Caldic ®) ในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้ชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะที่สุด ที่สามารถทำให้เชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* แขวนลอยและมีชีวิตอยู่ได้นานอย่างน้อย 3 เดือน

4.3 เตรียมเหยื่อแป้งนุ่มสูตรดัดแปลง โดยนำส่วนประกอบบางชนิดที่คาดว่าหนูชอบกินตามความเหมาะสมจากขั้นตอนที่ 2 มาประยุกต์เป็นเหยื่อรูปแบบเจล สำหรับทดสอบต่อไป

5. ทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบใหม่ ในห้องปฏิบัติการ

5.1 บรรจุสปอร์โรซีสต์ของเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* ที่แขวนลอยอยู่ในรูปแบบเจล (ที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 4) ลงในเหยื่อแป้งนุ่ม แล้วแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มแรกนำไปทดสอบการมีชีวิตของเชื้อ โดยการย้อมด้วยสี nucleic acid และกลุ่มที่ 2 นำไปทดสอบประสิทธิภาพในการทำให้หนูป่วยและตาย ด้วยวิธี bio assay กับหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 30 ตัว (เพศผู้ 15 ตัว, เพศเมีย 15 ตัว) ในห้องปฏิบัติการ

5.2 สังเกตผลและผ่าพิสูจน์หนูทดลองที่ตาย เพื่อตรวจสอบอวัยวะภายใน บันทึกการทดลอง และถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope)

5.3 เตรียมเหยื่อและทดสอบประสิทธิภาพ เช่นเดียวกับข้อ 1. หลังทิ้งเหยื่อไว้นาน 1 , 2 , 3 4 , 5 และ 6 เดือน พร้อมบันทึกผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร โรงเรือนเลี้ยงงูเหลือม โรงเลี้ยงหนู และดักหนูทดลองในพื้นที่เกษตรกรรม รวมถึงสถานที่ราชการภายในกรมวิชาการเกษตร ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 - กันยายน 2553 รวม 5 ปี (การทดลองยังไม่เสร็จสิ้น)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.<u>คัดเลือกชนิดของอาหารที่หนูท้องขาวบ้านชอบกินเพื่อให้ได้ข้อมูลสูตรอาหารเบื้องต้น</u>

จากที่ได้กำหนดชนิดของอาหาร 10 ชนิด ได้แก่ ปลาซาร์ดีน ข้าวกล้อง ข้าวสาลี ปลายข้าว เมล็ดข้าวโพด อาหารสุนัข อาหารปลาดุก อาหารหนูสูตรชนิดเม็ด ปลาป่น และถั่วลิสงแห้ง มาทดสอบความชอบของหนูท้องขาวบ้านจำนวน 30 ตัว ในห้องปฏิบัติการ พบว่าอาหารที่หนูท้องขาวบ้านชอบกินมากที่สุด 3 อันดับแรก คือ ปลาซาร์ดีน ข้าวกล้อง และอาหารหนูชนิดเม็ด คิดเป็น 100.00% , 72.40% และ 70.25% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ซึ่งแตกต่างจากอาหารชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าความชอบของหนูท้องขาวบ้านต่ออาหารทั้ง 10 ชนิด ไม่ขึ้นอยู่กับเพศของหนู ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ กรแก้ว และคณะ (2539) ที่ทดสอบความชอบในหนูสกุลท้องขาวอีกชนิด คือหนูนอร์เวย์ *(Rattus norvegicus)* และ พวงทอง และคณะ (2539) ทดสอบความชอบในหนูป่ามาเลย์ *(Rattus tiomanicus)* พบว่าหนูทั้งสองชนิดชอบปลาซาร์ดีนมากกว่าอาหารชนิดอื่นๆ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน

2. <u>ทดลองสูตรอาหารเพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะพัฒนารูปแบบของเหยื่อใหม่ที่เหมาะสม</u>

อาหารที่หนูชอบมากที่สุด 3 ชนิด จากข้อ 1. สามารถดึงดูดหนูได้ดี 70% ขึ้นไป จึงนำมาปรับปรุงเป็นเหยื่อแป้งนุ่มสูตรดัดแปลง และทดสอบความชอบของหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 30 ตัว

ต่อเหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงทั้ง 3 สูตร ได้แก่ เหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงสูตรผสมปลาซาร์ดีน , เหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงสูตรข้าวกล้อง และเหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงสูตรผสมอาหารหนูชนิดเม็ด พบว่าหนูท้องขาวบ้านจำนวน 30 ตัว ทั้งเพศผู้และเพศเมียชอบกินเหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงทั้ง 3 สูตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 2) ซึ่งแตกต่างจากหนูพุกใหญ่และหนูป่ามาเลย์ ที่ทดสอบในแปลงนาข้าว โดยหนูพุกใหญ่ชอบเหยื่อดัดแปลงไบเออร์ +ข้าวสาลีมากที่สุด (กรแก้ว และคณะ ,2539) และหนูป่ามาเลย์ ชอบเหยื่อดัดแปลงไบเออร์+ข้าวโพดมากที่สุด (พวงทอง และคณะ,2539)

3. <u>คัดเลือกเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* ที่มีประสิทธิภาพ</u>

คัดเลือกเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* ที่มีประสิทธิภาพสูงทำให้หนูป่วยและตาย ด้วยวิธี bio assay โดยให้เชื้อแก่หนูด้วย feeding tube ปริมาณ $2x10^5$ สปอร์โรซีสต์ ได้เชื้อที่มีความรุนแรงทำให้หนูตาย 100% จากมูลงูเหลือมเบอร์ S-24

4. <u>ทดสอบการมีชีวิตของเชื้อโปรโตซัวที่เป็นส่วนประกอบของหยื่อ</u>

เชื้อโปรโตซัวที่แขวนลอยอยู่ในรูปแบบเจล แล้วทิ้งไว้นาน 1 เดือน 2 เดือน และ 3 เดือน เมื่อนำมาทดสอบการมีชีวิต โดยการย้อมด้วยสี nucleic acid ซึ่งสีย้อมที่ชี้วัดการมีชีวิตของสปอร์โรซีสต์ได้ดีที่สุด คือสี Hexidium และ Syto-9 (Belosevic *et* al., 1997) หลังจากย้อมทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงฟลูโอเรสเซนส์ และคำนวณเปอร์เซ็นต์การมีชีวิต พบว่าสปอร์โรซีสต์ที่แขวนลอยอยู่ในรูปแบบเจลยังคงมีชีวิต 100%, 100 % และ 99% ตามลำดับ

5. <u>ทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบใหม่ ในห้องปฏิบัติการ</u>

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการทำให้หนูป่วยและตายด้วยวิธี bio assay กับหนูท้องขาวบ้านในห้องปฏิบัติการ โดยให้เชื้อปริมาณ $2x10^5$ สปอร์โรซีสต์ สังเกตผลและผ่าพิสูจน์หนูท้องขาวบ้านที่ตาย เพื่อตรวจสอบอวัยวะภายใน พบว่าเชื้อในรูปแบบเจลที่เก็บไว้นาน 1 เดือน 2 เดือน และ 3 เดือน ทำให้หนูตาย 70 % , 50 % และ 60 % ภายในเวลา 17 - 42 วัน ซึ่งหนูที่ตายส่วนใหญ่มีอาการตาแฉะ น้ำหนักลด เมื่อผ่าพิสูจน์อวัยวะภายใน พบว่าเนื้อเยื่อปอดและหัวใจมีเลือดคั่ง บางตัวมีอาการน้ำท่วมปอด ซึ่งอาการดังกล่าว เกิดจากเชื้อเจริญเติบโต และเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วในเนื้อเยื่อปอด และเนื้อเยื่อหัวใจ (วิยะดา และคณะ, 2539) นอกจากนี้ยังพบว่า หนูที่

ตายหลังจากได้รับเชื้อ 40 วันขึ้นไป จำนวน 2 ใน 3 มักตรวจพบซิสต์ในกล้ามเนื้อปริมาณสูง โดยเฉพาะบริเวณเนื้อเยื่อบริเวณช่องท้องและกล้ามเนื้อโคนขา (ภาพที่ 3)

จากการปรับปรุงเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบเจล พบว่าหนูยังชอบกิน และมีอายุในการเก็บรักษาได้นานไม่น้อยกว่า 3 เดือน โดยยังคงมีประสิทธิภาพในการกำจัดหนูได้ 50-70 % จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ควรจะพัฒนาต่อไปได้ เนื่องจากเจลมีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างของแข็งและของเหลว โครงสร้างเจลเกิดจากโมเลกุลของสายโพลิเมอร์ จับกันด้วยพันธะชนิดต่างๆ ที่สามารถจับกับน้ำหรือสารอื่นที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ไว้ภายในได้ (McClements, 1999) ซึ่งในธรรมชาติ มีโพลิเมอร์ชีวภาพหลายชนิด ที่มีคุณสมบัติการเกิดเจล เนื่องจากโพลิเมอร์ชีวภาพเหล่านี้ มีขนาดโมเลกุลใหญ่และสามารถละลายน้ำได้ เช่น โพลิเมอร์กลุ่มโพลิแซคคาไรด์ alginate จากเชื้อ *Pseudomonas*, dextran จากเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* และสาร xanthan จากเชื้อ *Xanthomonas compestris* สารแซนแทนกัม (xanthan gum) เป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ ที่แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* สร้างขึ้นบริเวณผนังเซลล์ โดยแบคมีเรียชนิดที่นิยมนำมาผลิตสารแซนแทนได้แก่ *X. campestris* และ *X.phaseoli* (บุษราคัม,2548)

อย่างไรก็ตาม พบว่าเหยื่อโปรโตซัวสำเร็จรูปที่เก็บรักษาไว้นานมากกว่า 3 เดือน มีประสิทธิภาพลดลง ดังนั้น เพื่อการปรับปรุงประสิทธิภาพของเชื้อและควบคุมคุณภาพของเหยื่อรูปแบบเจล จึงต้องมีการศึกษาและพัฒนาเพิ่มเติมถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของหนู การเพาะเลี้ยงเซลล์ รวมถึงปัจจัยอื่นๆเกี่ยวกับความแข็งแรงของเชื้อ ซึ่ง Rehg (1996) พบว่าสาร dexamethasone สามารถลดระบบภูมิคุ้มกันของหนูทดลองต่อเชื้อโปรโตซัว *Cryptosporidium pavum* ได้ และ Schmatz (1997) รายงานว่า manitol มีความสำคัญต่อการมีชีวิตและความแข็งแรงของขบวนการขยายพันธุ์ของโปรโตซัว *Eimeria* ในระยะสุดท้ายของการเจริญเติบโตในสัตว์อาศัย โดยพบว่าระยะโอโอซีสต์มี manitol สูงถึง 0.3 โมล (Mol.) ซึ่งได้จาก manitol cycle ในขบวนการเมตาบอลึซึมของการขยายพันธุ์โปรโตซัวแบบมีเพศ ซึ่งจะเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของโอโอซีสต์ของโปรโตซัวชนิดนี้ เมื่อถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการทดสอบความชอบของหนูท้องขาวบ้าน จำนวน 30 ตัว (เพศผู้ 15 ตัว, เพศเมีย 15 ตัว) ในห้องปฏิบัติการ ต่ออาหาร 10 ชนิด ได้แก่ ปลาซาร์ดีน ข้าวกล้อง ข้าวสาลี ปลายข้าว เมล็ดข้าวโพด อาหารสุนัข อาหารปลาดุก อาหารหนูสูตรชนิดเม็ด ปลาป่น และถั่วลิสงแห้ง พบว่าอาหารที่หนูท้องขาวบ้านชอบกินมากที่สุด 3 อันดับแรก ที่สามารถดึงดูดหนูได้ดี 70% ขึ้นไป คือ ปลาซาร์ดีน ข้าวกล้อง และอาหารหนูชนิดเม็ด คิดเป็น 100.00% , 72.40% และ 70.25% ตามลำดับ

และทดสอบความชอบของหนูต่อเหยื่ออาหารสูตรใหม่ 3 สูตร คือ เหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงสูตรผสมปลาซาร์ดีน , เหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงสูตรผสมข้าวกล้อง และเหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงสูตรผสมอาหารหนูชนิดเม็ด พบว่าหนูท้องขาวบ้านชอบกินเหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลงทั้ง 3 สูตร ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากนั้นจึงทำการคัดเลือกเชื้อโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ที่มีความรุนแรงด้วยวิธี bio assay โดยให้เชื้อแก่หนูด้วย feeding tube ปริมาณ $2x10^5$ สปอร์โรซีสต์ ได้เชื้อที่มีความรุนแรงทำให้หนูตาย 100% จากมูลงูเหลือมเบอร์ S-24 และหลังจากได้ทดสอบคุณสมบัติของ food additives ชนิดต่างๆ เช่น เจล เจลาติน ผงวุ้นและแซนแทนกัม (Caldic ®) พบว่าชนิดที่เหมาะสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการผลิตเหยื่อโปรโตซัวสำเร็จรูป คือแซนแทนกัม และเมื่อศึกษาการมีชีวิตของเชื้อโปรโตซัว *S. singaporensis* ที่แขวนลอยอยู่ในรูปแบบเจล (จากผงแซนแทนกัม) ด้วยการย้อมเชื้อด้วยสี nucleic acid แล้วทิ้งไว้นาน 1 เดือน 2 เดือน และ 3 เดือน พบว่าเชื้อยังคงมีชีวิต 100%, 100 % และ 99% ตามลำดับ จากนั้นจึงนำเชื้อ *S. singaporensis* ชุดดังกล่าว มาประยุกต์เป็นเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบเจล ที่มีปริมาณเชื้อ $2x10^5$ สปอร์โรซีสต์/ เม็ด ทดสอบประสิทธิภาพของเหยื่อโปรโตซัวด้วยวิธี bio assay พบว่าเชื้อในรูปแบบเจล ทำให้หนูทดลองตาย 70 % , 50 % และ 60 % ภายใน 27 วัน โดยเฉลี่ย (17 - 42 วัน ; n=30)

จากการผ่าพิสูจน์หนูที่ตาย พบว่าหนูที่ตายส่วนใหญ่ตาแฉะ น้ำหนักลด น้ำท่วมปอด และหนูที่ตายหลังจากได้รับเชื้อ 40 วันขึ้นไป ประมาณ 70 % มักตรวจพบซิสต์ในกล้ามเนื้อปริมาณสูง โดยเฉพาะบริเวณเนื้อเยื่อบริเวณช่องท้องและกล้ามเนื้อโคนขา

จากการปรับปรุงเหยื่อโปรโตซัวรูปเจล พบว่าหนูยังชอบกิน และมีอายุในการเก็บรักษาได้นานไม่น้อยกว่า 3 เดือน โดยยังมีประสิทธิภาพดีในการกำจัดหนูได้ 50 -70 % ดังนั้นเหยื่อดัดแปลงรูปแบบเจล จากผงแซนแทนกัม จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ควรจะพัฒนาต่อไปได้ เนื่องจากเจลที่ได้จากแซนแทนกัมมีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างของแข็งและของเหลว สามารถจับกับน้ำหรือสารอื่นที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำไว้ภายในได้ ซึ่งลักษณะดังกล่าว จะช่วยให้สปอร์โรซีสต์มีชีวิตนานขึ้น

อย่างไรก็ตาม พบว่าเหยื่อโปรโตซัวสำเร็จรูปที่เก็บรักษาไว้นานมากกว่า 3 เดือน มีประสิทธิภาพลดลง ดังนั้น เพื่อการปรับปรุงประสิทธิภาพของเชื้อและควบคุมคุณภาพของเหยื่อรูปแบบเจล จึงต้องมีการศึกษาและพัฒนาเพิ่มเติมถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันของหนู การเพาะเลี้ยงเซลล์ รวมถึงปัจจัยอื่นๆเกี่ยวกับความแข็งแรงของเชื้อ เพื่อให้เหมาะสมยิ่งขึ้นสำหรับการผลิตเป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนูในเชิงพาณิชย์ และสามารถถ่ายทอดให้แก่ผู้ที่สนใจได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณบุษราคัม อุดมศักดิ์ นักวิชาการโรคพืช 8 ว กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ได้มอบสารแซนแทนกัม สำหรับการทดลองในครั้งนี้ และขอขอบคุณ นายทรงทัพ แก้วตา เจ้าพนักงานการเกษตร 6 และนายโยฆินทร์ โพธิ์ศรี เจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา ที่ช่วยดักหนู ดูแลหนูทดลอง เช่น ให้อาหาร เปลี่ยนกรง ทำความสะอาดกรง และชั่งน้ำหนักหนู ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง และท้ายที่สุด ขออุทิศผลงานให้แก่สัตว์ทดลองทุกชีวิต ที่มีส่วนทำให้งานวิจัย สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรแก้ว เสือสะอาด เสริมศักดิ์ หงส์นาค ปิยาณี หนูกาฬ และทรงทัพ แก้วตา. 2539. ทดสอบความชอบในการกินเหยื่อของหนูพุกใหญ่ .รายงานผลการวิจัย ปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 248-249.

กรแก้ว เสือสะอาด เสริมศักดิ์ หงส์นาค ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และธีระเดช เจริญรักษ์. 2539. ทดสอบความชอบในการกินเหยื่อของหนูนอร์เวย์ .รายงานผลการวิจัย ปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 250-251.

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ.2548. คัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการสร้างแซนแทนกัม. รายงานผลการวิจัยปี 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช.

พวงทอง บุญทรง กรแก้ว เสือสะอาด เสริมศักดิ์ หงส์นาค และ วิยะดา สีหะบุตร. 2539. ทดสอบความชอบในการกินเหยื่อของหนูป่ามาเลย์ .รายงานผลการวิจัย ปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 246-247.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ วิยะดา สีหะบุตร เสริมศักดิ์ หงส์นาค และกรแก้ว เสือสะอาด .2539. การศึกษาชนิดของโปรโตซัวที่เป็นปรสิต ในหนูพุกใหญ่และหนูพุกเล็ก. รายงายผลการวิจัย ปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 254.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ วิยะดา สีหะบุตร เสริมศักดิ์ หงส์นาค และกรแก้ว เสือสะอาด .2539. ผลของโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ต่อหนูพุกใหญ่. รายงายผลการวิจัย ปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 255-256.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ วิยะดา สีหะบุตร เสริมศักดิ์ หงส์นาค และกรแก้ว เสือสะอาด .2539. ผลของโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ต่อหนูนอร์เวย์. รายงายผลการวิจัย ปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 257.

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

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ เสริมศักดิ์ หงส์นาค T. Jaekel กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด และ ชูวิทย์ สุขปราการ. 2542. การใช้โปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* ชีวินทรีย์กำจัดหนู ชนิดใหม่ เพื่อควบคุมหนูในประเทศไทย. 43 หน้า.

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ เสริมศักดิ์ หงส์นาค กรแก้ว เสือสะอาด เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ปิยาณี หนูกาฬ และพวงทอง บุญทรง,2544. หนูและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย 136 หน้า.

วิยะดา สีหะบุตร ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และกรแก้ว เสือสะอาด.2539. การก่อพยาธิสภาพของ *Sarcocystis singaporensis* (Zaman and Colley, 1975) ในหนูพุกใหญ่. รายงานผลการวิจัยปี 2539. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 238.

เสริมศักดิ์ หงส์นาค พวงทอง บุญทรง เกษมทองทวี ชมพูนุท จรรยาเพศ กรแก้ว เสือสะอาด ทรงทัพ แก้วตา และยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ. 2536. การประเมินความเสียหายของข้าวที่เกิดจากหนูศัตรูข้าวในประเทศไทย. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2536. กองกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.หน้า 10-18.

Anderson,R.M. and May, R.1978. Regulation and stability of host-parasite population Interaction:

Bartoshuk,L.M., Harned,M.A. and Parks,L.H. 1971. Taste of water in the cats: effects on sucrose preference, Science 171 : pp.699-701.

Beaver, P.C., and Maleckar, J.R. 1981. *Sarcocystis singaporensis* Zaman & Colley (1975)

1976.*Sarcocystis villivillosi* sp.p, and *Sarcocystis zamani* sp.n: Development, morphology and persistence in the laboratory rat, *Rattus norvegicus*. J.I of Parasitology, 67: 241-256.

McClements, D.J. 1999. Food Emulsions: Principles, Practice & Techniques. CRC Press. pp. 275 - 278.

Fayer, R. and Nerad, T. 1996. Effect of low Temperatures on Viability of *Cryptosporidium Pavum* Oocysts. Appl. And Envi.Microbiol. 62(4) : 1431-1433.

Grote,F.W.and Brown,R.T. 1971. Condition Taste aversions: two stimulus taste are more sensitive than one stimulus taste. Behavior. Res.& Met. and Instru. 3 : pp. 311-312.

Haefner, U and Frank, W. 1984. Host specificity and host range of the genus Sarcocystis in three snake-rodent life cycles. Zb1.Bak.Hyg., Orig. A 256, 296-299.

Henderson, R., Ross, J. and Frampton, C. 2002. Development of a long life bait for control of stoats. DOC Sci. Int. Ser. 51 ,Department of conservation. Wellington.: 15 p.

Jaekel, T., Burgstaller, H. and Frank, W. 1996. *Sarcocystis singaporensis* : Studies on host specificity, pathogenicity, and potential use as a biocontrol agent of wild rats. J.Parasitol. 82, 280-287.

Jaekel,T., Khprasert,Y ., Endepol,S., .Acher-Baumann,C.,Suesa-ard, K., Promkerd,K., Kliemt, D.,Boonsong ,P. and Hongnark,S.1999. Biological Control of rodents using *Sarcocystis singaporensis*. Int., J., Parasitol. 29 : 1321-1330.

Rehg, J.E., 1996. Effect of Di-ethyldithiocarbamate on *Cryptosporidium pavum* infection in Immune - supressed rats. J.Parsitol. 82(1) : 158-162.

Schmatz,D.M. 1997. The Manitol cycle in Eimeria. Parasitology : 114.

ตารางที่ 1 : แสดงความชอบของหนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) ที่มีต่ออาหาร 10 ชนิด ที่หนูกิน เป็นเวลานาน 5 วัน ติดต่อกัน

ชนิดอาหาร	ปริมาณอาหารเฉลี่ย ที่หนูกิน (กรัม) 1/ $\bar{X}$ ± S.D.	เปอร์เซ็นต์
ปลาซาร์ดีน	15.00 ± 0 a	100.00
ข้าวกล้อง	10.86 ± 1.90 b	72.40
อาหารหนู ชนิดเม็ด	10.53 ± 1.02 b	70.25
อาหารสุนัข ชนิดเม็ด	9.07 ± 0.35 bc	60.46
อาหารปลาดุก	8.96 ± 2.66 bc	59.73
ข้าวสาลี	8.75 ± 2.33 cd	58.25
เมล็ดข้าวโพดแห้ง	8.62 ± 1.33 d	55.46
ปลาป่น	5.37 ± 1.98 e	33.87
ปลายข้าว	4.58 ± 0.05 e	30.54
ถั่วลิสง	4.40 ± 1.33 e	29.34

1/ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับตัวเลข ถ้าอักษรเหมือนกัน หมายถึงค่านั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยวิธี DMRT (Dancan's New Multiple Range Test)

ตารางที่ 2 : แสดงความชอบของหนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) ที่มีต่อเหยื่อแป้งนุ่มดัดแปลง 3 สูตร ที่หนูกิน เป็นเวลานาน 5 วันติดต่อกัน

ชนิดอาหาร	ปริมาณอาหารเฉลี่ย ที่หนูกิน (กรัม) *1/* $\bar{X}$ ± S.D.
สูตรที่ 1 ประกอบด้วย น้ำมันข้าวโพด : แป้งทัลคัม : เมล็ดข้าวโพดบด : น้ำตาลทราย : แป้งสาลี : ปลาซาร์ดีน (20 : 5 : 7 : 8 : 30 : 30)	14.16 ± 0.24 ab
สูตรที่ 2 ประกอบด้วย น้ำมันข้าวโพด : แป้งทัลคัม : เมล็ดข้าวโพดบด : น้ำตาลทราย : แป้งสาลี : ข้าวกล้อง (20 : 5 : 7 : 8 : 30 : 30)	13.76 ± 1.17 ab
สูตรที่ 3 ประกอบด้วย น้ำมันข้าวโพด : แป้งทัลคัม : เมล็ดข้าวโพดบด : น้ำตาลทราย : แป้งสาลี : อาหารหนูชนิดเม็ด (20 : 5 : 7 : 8 : 30 : 30)	13.48 ± 1.32 ab

1/ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับตัวเลข ถ้าอักษรเหมือนกัน หมายถึงค่านั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยวิธี DMRT (Dancan's New Multiple Range Test)

ก

ข

ภาพที่ 1 : หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) ที่ตายหลังจากกินเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบใหม่
ก หนูท้องขาวบ้าน ที่ตายภายหลังได้รับเชื้อ 19 วัน มีอาการตาแฉะ และน้ำหนักลด
ข หนูท้องขาวบ้าน ที่ตายภายหลังได้รับเชื้อ 42 วัน พบซีสต์ปริมาณสูงในกล้ามเนื้อโดยเฉพาะ บริเวณหน้าท้องและกล้ามเนื้อบริเวณโคนขา

คัดเลือกสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยและทดสอบประสิทธิภาพควบคุมหอยทากบกและหอยเชอรี่

Efficacy Test and Nematodes Selection for the Controlling Land Snail and Golden Apple Snail

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ วิไลวรรณ เวชยันต์ สาทิพย์ มาลี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ปี 2549 ศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอย 5 สายพันธุ์ คือ*Steinernema capocapsae, S. siamkoyai , S. riobave, S.glaseri* และ *Heterorhabditis bacteriophora* กับหอยเชอรี่ และหอยทากบก 5 ชนิด ในห้องปฏิบัติการตามแผนการทดลอง 4 ซ้ำ หลังทดสอบ 72 ชั่วโมงพบว่าหอยเชอรี่ที่ความเข้มข้น 100,000 ตัวต่อบิคเกอร์ หอยตาย 75.0 ± 0.95, 75.0 ± 0.5, 66.0 ± 0.8 , 91.0 ± 0.5 และ 8.33 ± 0.5 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % หอยเลข 1 ที่ความเข้มข้น 20,000 ตัว หอยตาย 45.0 ± 1.89, 15.0 ± 0.95, 95.0 ± 0.5ล 85.0 ± 0.95 และ 5.0 ± 0.5 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % หอยเจดีย์ที่ความเข้มข้น 20,000 ตัว หอยตาย 0 % ทุกกลุ่มหอย หอยดักดานใช้ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง หอยตาย 50.0 ± 0.7, 50.0 ± 0.7 , 100 , 100 และ 0 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % หอยสาริกาและหอยทากยักษ์ใช้ไส้เดือนฝอยเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง หอยสาลิกาตาย 16.7 ± 0.5 , 0,0, 83.33 ± 0.7 และ 0% ตามลำดับ หอยทากยักษ์ตาย 0, 50.0 ±2.12, 33.33 ±1.41,83.33 ± 0.7 และ 0 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 %ปี 2550 ทำการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหอยแต่ละชนิดหลังทดสอบด้วยไส้เดือนฝอยโดยทำสไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินหลังทดสอบ 24,48และ72 ชม.พบไส้เดือนฝอยอยู่ในอวัยวะปอด กระเพาะอาหาร ลำไส้และท่ออวัยวะสืบพันธุ์ในหอยจึงเป็นสาเหตุให้หอยตายและปี 2551 ทดสอบประสิทธิภาพ *Steinernema capocapsae* และ *S. riobave* กับหอยเชอรี่และหอยทากยักษ์ในอ่างซีเมนต์โดยใช้ไส้เดือนฝอยทั้ง 2 ชนิดอัตราความเข้มข้น 1.5ล้านตัว/อ่างด้วยการพ่นและผสมกับอาหารให้หอยกินเทียบกับกรรมวิธีควบคุมหลังทดสอบ 4วันไส้เดือนฝอยทั้ง 2 ชนิดทำให้หอยเชอรี่ตาย 18.75-43.75%ส่วนหอยทากยักษ์ไม่ตายในทุกกรรมวิธีซึ่งจะทำการทดสอนต่อไป

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

หอยฝาเดียว (gastropods) มีแหล่งที่อยู่อาศัยได้ทั้งในน้ำและบนบกบางชนิดสามารถอาศัยได้บนต้นไม้ตลอดชีวิตของมัน จึงกินอาหารได้หลากหลายทั้งพืชน้ำ พืชผัก ผลไม้ บางชนิดเป็นผู้ล่าสัตว์อื่นเป็น อาหาร บางชนิดกินซากพืชซากสัตว์ บางชนิดเป็นพาหะนำโรคและมีหอยหลายชนิดที่กินพืชอาหารของมนุษย์จึงกลายเป็นศัตรูของมนุษย์ และหอยมีการเคลื่อนที่ได้ไกลจึงทำความเสียหายให้กับพืชอาหารอย่างมาก เช่น หอยเชอรี่เป็นหอยน้ำจืดกินพืชผักเศรษฐกิจที่อยู่ในน้ำหลายชนิด เช่น ผักบุ้ง ผักกระเฉด บัว กระจับเป็นต้นโดยเฉพาะข้าวจะกัดกินในระยะกล้าอายุ 10 – 30 วัน (ชมพูนุทและคณะ 2532) เกษตรกร มีวิธีการต่างๆ ป้องกันกำจัดหอยเชอรี่ เช่น วิธีเขตกรรมด้วยการใช้ตาข่ายขวางทางน้ำเข้าออก ใช้ชีววิธีด้วยการปล่อยเป็ดลงไปกินลูกหอย วิธีกลด้วยการเก็บทั้งตัวและไข่หอยออกมาทุบทำลายหรือนำไปเป็นอาหารสัตว์ นำไปทำปุ๋ยหมัก แต่หอยก็ยังระบาดทำลายอยู่ เนื่องจากหอยเชอรี่สามารถเพิ่มประชากรได้อย่างรวดเร็ว สามารถวางไข่มากถึง 3,000 ฟองต่อกลุ่ม และฟักเป็นลูกหอยได้มาก 90 % (ชมพูนุทและคณะ 2534) นอกจากนี้ยังมีหอยทากบกหลายชนิดเป็นศัตรูพืชทั้งพืชผัก ผลไม้ และไม้ดอก ได้แก่ หอยสาริกา หอยดักดาน หอยทากยักษ์ หอยเจดีย์ เป็นต้น โดยจะกัดกินทั้ง ราก ลำต้น ใบ ดอก และผลของพืช โดยเฉพาะต้นกล้าพืชเกือบทุกชนิดจะถูกกัดกินได้รับความเสียหายอย่างมาก (Jahan and Raut , 1994) และยังกัดกินส่วนต่างๆของพืชทำให้เกิดความเสียหายจนชะงักการเจริญเติบโต (Srivastava ,1992) แม้ กระทั่งส่วนลำต้น รากที่เก็บสะสมอาหารอยู่ใต้ดินยังถูกกัดกิน (Barker and Addison ,1992) นอกจากนี้หอยทากบกจะมีเมือกจำนวนมาก เมื่อกัดกินพืชและคลานไปบนส่วนต่างๆ ของพืชจะเป็นพาหะนำโรคพืชระบาดได้ (Watson et. al. ,1989) และอาจนำโรคมาสู่มนุษย์หรือสัตว์อื่นๆ ตลอดจนทำให้เกิดความสกปรกหรือก่อความรำคาญได้ จึงมีการป้องกันกำจัดหอยเหล่านี้หลากหลายวิธีตามความเหมาะสมของหอยแต่ละชนิด แต่ที่นิยมนำมาใช้คือการใช้สารเคมีกำจัด เช่น ใช้เมทัลดีไฮด์ที่มีทั้งชนิดผงและเหยื่อพิษ กำจัด(Port and Port ,1986) การทำความสะอาดแปลงปลูกด้วยการกำจัดวัชพืชที่ขึ้นปกคลุมทำให้แหล่ง อาศัยหมดไปเป็นการช่วยลดประชากรได้ (Stringer et. al. 1974) การเก็บทั้งตัวและไข่หอยออกไปทำลาย จะทำให้ปริมาณหอยลดลง การใช้ชีววิธีก็เป็นวิธีการหนึ่งที่นำมาใช้ควบคุมประชากรหอย เช่น ปล่อยเป็ด ไก่ กินหอยบริเวณบ้านที่อยู่อาศัยหรือโรงเรือนปลูกพืช การใช้ไส้เดือนฝอย *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Schneider) มากำจัดหอยในแปลงปลูกพืชในช่วงเวลาที่เหมาะสม สามารถทดแทนการใช้สารเคมีได้ (Glen et. al.1998) ซึ่งการใช้ชีววิธีมาป้องกันกำจัดเป็นวิธีการที่ค่อยข้างปลอดภัยต่อผู้ใช้และสภาพแวดล้อม เพราะมีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อเหยื่อ ดังนั้นจึงมีการศึกษาคัดเลือกสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยที่มีประสิทธิภาพฆ่าหอยเชอรี่และหอยทากบกที่เป็นศัตรูพืชเศรษฐกิจชนิดต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ในสภาพไร่ของเกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง
   - ไส้เดือนฝอย 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Steinernema capocapsae, S. siamkoyai , S. riobave*, *S. glaseri* และ *Heterorhabditis bacteriophora*
   - หอยเชอรี่ หอยทากบก 5 ชนิดได้แก่ หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ หอยทากยักษ์ หอยสาริกา และหอยดักดาน
2. เครื่องมือ
   - กล่องพลาสติกขนาด 75และ 300 ตารางเซนติเมตร
   - บีคเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
   - กระดาษทิชชู
   - กล้องจุลทรรศน์และกล้องสเตอริโอ
   - อ่างซีเมนต์ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 1เมตรที่บรรจุดิน และอาหารเลี้ยงหอย
   - เครื่องมือทางเนื้อเยื่อวิทยา
   - สีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน

วิธีการ

1. สัตว์ทดลอง

1.1 ไส้เดือนฝอยทั้ง 5 สายพันธุ์ได้มาจากกลุ่มงานชีววิธี กลุ่มกีฏและสัตววิทยาที่เตรียมอยู่ในรูปของความเข้มข้นที่นับจำนวนประชากรที่เป็นฝอยแล้ว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.2 หอยชนิดต่างๆ

- หอยเชอรี่เก็บจากแปลงนาเกษตรกรจังหวัดสุพรรณบุรีมาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ในโรงเรือนของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ให้อาหารปลาชนิดเม็ดและพืชน้ำ เช่น จอก แหน สาหร่าย เป็นต้น
- หอยทากบกได้แก่ หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ เก็บรวบรวมจากแปลงสวนกล้วยไม้จังหวัดกาญจนบุรีจังหวัดสมุทรสาครมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด300ตารางเซนติเมตรเพื่อเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

-หอยทากยักษ์ หอยสาริกา หอยดักดาน เก็บรวบรวมจากสวนผลไม้ของเกษตรกรจังหวัดจันทบุรีจังหวัดลพบุรีมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด300ตารางเซนติเมตรเพื่อเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

2. การทดลอง ปี2549

2.1 หอยเชอรี่คัดเลือกหอยที่โตเต็มวัยและสมบูรณ์มาใส่บีคเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตรที่บรรจุน้ำไว้แล้ว 300 มิลลิลิตร บีคเกอร์และ 3 ตัว เมื่อหอยเปิดฝาเคลื่อนที่ดีแล้วจึงใส่ไส้เดือนฝอย

จำนวน 100,000 ตัวต่อบีคเกอร์ตามแผนการทดลอง 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หลังทดสอบ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตรวจดูการตายของหอยแต่ละกรรมวิธี

2.2 หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์คัดเลือกหอยที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 75 ตารางเซนติเมตร จำนวนชนิดละ 5 ตัวต่อกล่อง แต่ละกล่องโดยที่พื้นกล่องบุด้วยกระดาษทิชชูที่ฉีดน้ำพอชุ่มชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดจำนวน 20,000 ตัวต่อกล่อง ตามแผนการทดลอง 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หลังทดสอบ 24 , 48 และ 72 ชั่วโมง ตรวจดูการตายของหอยภายใต้กล้องสเตอริโอ

2.3 หอยทากยักษ์คัดเลือกหอยที่สมบูรณ์มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 300 ตารางเซนติเมตร จำนวน 3 ตัวต่อกล่อง โดยพื้นกล่องจะบุด้วยกระดาษทิชชูฉีดน้ำพอชุ่มชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดจำนวน 50,000 ตัวต่อกล่องตามแผนการทดลอง 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ หลังทดสอบ 24 , 48 และ 72 ชั่วโมง ตรวจดูการตายของหอยภายใต้กล้อง สเตอริโอ

2.4 หอยดักดานและหอยสาริกาปฏิบัติการทดลองเหมือนกับหอยทากยักษ์

3. ปี 2550 ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาด้วยการเก็บหอยแต่ละชนิดที่มีชีวิตมาคงสภาพด้วยฟอร์มาลีน 10%แล้วผ่านขบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยาได้สไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซินตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

4. ปี 2551ทดสอบประสิทธิภาพ *Steinernema capocapsae* และ *S. riobave* กับหอยเชอรี่และหอยทากยักษ์ในอ่างซีเมนต์โดยใช้ไส้เดือนฝอยทั้ง 2 ชนิดอัตราความเข้มข้น 1.5ล้านตัว/อ่างด้วยการพ่นและผสมกับอาหารให้หอยกินเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

5. บันทึกข้อมูล

- อัตราการตายของหอยแต่ละชนิดที่ 24 , 48 และ72 ชั่วโมง และ 4วัน
- การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหอยชนิดต่างๆ

เวลาและสถานที่ ระยะเวลาเริ่มตุลาคม 2548 สิ้นสุดกันยายน 2550

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี2549 จากการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย 5 สายพันธุ์กับหอยเชอรี่และหอยทาก บก 5 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดด้วยน้ำพบว่า

1.หอยเชอรี่ ที่72ชั่วโมงหลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น100,000ตัวต่อบีคเกอร์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 75.0 ±0.95 ,75.0 ±0.5 ,66.0 ±0.8 ,91.0 ± 0.5 , 8.33 ± 0.5 และ 0 % ตามลำดับ

2.หอยเลขหนึ่ง ที่72ชั่วโมงหลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 20,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 45.0 ±1.89 ,15.0 ± 0.95 , 95.0 ± 0.5 , 85.0 ± 0.95 , 5.0 ± 0.5 และ 0% ตามลำดับ

3. หอยเจดีย์ที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 20,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 0 % ทุกกรรมวิธีเท่ากับกลุ่มควบคุม

4.หอยดักดานที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 50.0 ±0.7,50.0 ±0.7, 100 , 100 , 0 และ0 % ตามลำดับ

5.หอยสาลิกา ที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 16.7 ± 0.5 , 0 , 0 , 83.33 ± 0.7 , 0 และ0 % ตามลำดับ

6.หอยทากยักษ์ ที่72ชั่วโมงหลังทดสอบไส้เดือนฝอยที่ความเข้มข้น 50,000 ตัวต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่าหอยมีอัตราการตายเป็น 0 ,50.0 ±2.12 , 33.33 ±1.41 , 83.33 ± 0.7 , 0 และ0 % ตามลำดับ

ปี 2550 ผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของหอยแต่ละชนิดพบว่าหลังทดสอบ 24,48และ72 ชม.พบไส้เดือนฝอยอยู่ในอวัยวะปอด กระเพาะอาหาร ลำไส้และท่ออวัยวะสืบพันธุ์ในหอยจึงเป็นสาเหตุให้หอยตาย (ภาพที่ 1)

ปี 2551 ทดสอบประสิทธิภาพ *S. capocapsae* และ *S. riobave* กับหอยเชอรี่และหอยทากยักษ์ในอ่างซีเมนต์

หอยเชอรี่ที่ทดสอบใช้ไส้เดือนฝอย *S. capocapsae* และ *S. riobave* อัตราความเข้มข้น 1.5ล้านตัว/อ่างด้วยการพ่นและผสมกับอาหารให้หอยกินเทียบกับกรรมวิธีควบคุมหลังทดสอบ 4วัน หอยตาย 31.25,18.75,31.25,43.75และ 0% ตามลำดับ

หอยทากยักษ์ที่ทดสอบใช้ไส้เดือนฝอย *S. capocapsae* และ *S. riobave* อัตราความเข้มข้น 1.5ล้านตัว/อ่างด้วยการพ่นและผสมกับอาหารให้หอยกินเทียบกับกรรมวิธีควบคุมหลังทดสอบ 4วันพบว่าทุกกรรมวิธีหอยไม่ตาย จะทำการทดสอบต่อไป

จากผลการทดลองไส้เดือนฝอยทุกสายพันธุ์สามารถฆ่าหอยเชอรี่ได้ โดยเฉพาะฆ่าหอยได้มากถึง 91% ส่วน ไม่สามารถฆ่าหอยเชอรี่ได้และเมื่อนำมาทดสอบกับหอยทากบกคือ หอยเลขหนึ่ง พบว่ามีประสิทธิภาพฆ่าหอยได้ดี สำหรับหอยเจดีย์นั้นไส้เดือนฝอยไม่สามารถฆ่าได้ หากเป็นเพราะ แบคทีเรียไม่เฉพาะเจาะจงกับหอยเจดีย์ ส่วนหอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์ จะมีประสิทธิภาพ ฆ่าหอยได้ แสดงว่าไส้เดือนฝอยทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถเข้าไปในลำตัวหอยแล้วปล่อยแบคทีเรียเข้าไปในช่องว่างลำตัวหอยได้สอดคล้องกับรายงานของวัชรี(2546) ที่เป็นกลไกการทำลายของแมลงหรืออาจจะเป็นเพราะไส้เดือนฝอยสร้างสารพิษทำให้หอยตายได้ดังรายงานของที่เกิดกับแมลง

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าไส้เดือนฝอยทุกสายพันธุ์สามารถฆ่าหอยเชอรี่ได้ดี โดยเฉพาะ *S .glaseri* ฆ่าหอยได้ถึง 91 % ส่วน *H. bacteriophora* ไม่สามารถฆ่าหอยได้ และไม่มีไส้เดือนฝอยชนิดใดฆ่าหอยเจดีย์ได้ ส่วนหอยเลขหนึ่ง หอยสาริกา หอยดักดานและหอยทากยักษ์ *S. riobave* และ *S. glaseri* สามารถฆ่าหอยได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่นๆ ยังจะพบได้ว่า , *S. riobave* และ *S .glaseri* น่าจะมีแนวโน้มในการนำไปประยุกต์ใช้กำจัดหอยทากบกได้เมื่อศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาพบไส้เดือนฝอยอยู่ในอวัยวะปอด กระเพาะอาหาร ลำไส้และท่ออวัยวะสืบพันธุ์ และเมื่อนำ *S. capocapsae* และ *S. riobave* มาทดสอบกับหอยเชอรี่ในอ่างซีเมนต์ พบว่าหอยตาย43.75%ส่วนหอยทากยักษ์ไม่ตาย จะต้องศึกษาทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคมและทรงทัพ แก้วตา. 2532. ทดสอบอัตราการกินต้นข้าวของหอยเชอรี่.รายงานผลการด้านค้นคว้าและวิจัยกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพ ฯ หน้า 115 – 125.

----------.2534. ชีววิทยาชองหอยเชอรี่.รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพ ฯ หน้า 94 – 102.

Barker, G.M. and P.J.Addison.1992.Pest status of slug in two Newzealand Pastures. Crop Protection11:439 – 442.

Glen,O.M.,M.J.Wilson,L.Hughes,P.Cargeeg and A.Hajijar.1996.Exploring and exploiting the potential of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphradita* as a biocontrol agent for sluge. PP.271 – 280. In LF. Hendensom (ed.) Slug and Snail Pests in Agriculture.Monograph No.66,British crop Protection Council, Farsham.

Jahan,M.S. and S.K. Raut. 1994.Distribution and food preference of the giant African land snail, *Achatina fulica* Bowdich in Bangladesh. *J*. Asia Soci . Banglad. Sci .20: 111 – 115.

Port, G.R.,J.M. Hogan and C.M. Port.1992.Factors affecting the time of slug control in winter wheat. PP.257 –261.In.Proceeding of the ninth International Malacological Congress,1986.Unitas Malacologica, the Netherlands,

Srivastava,P.P. 1992. Problem of land Snail Pests in Agriculture a study of the Giant African Snail Concept Publishing of Company, New Delhi. 234 P.

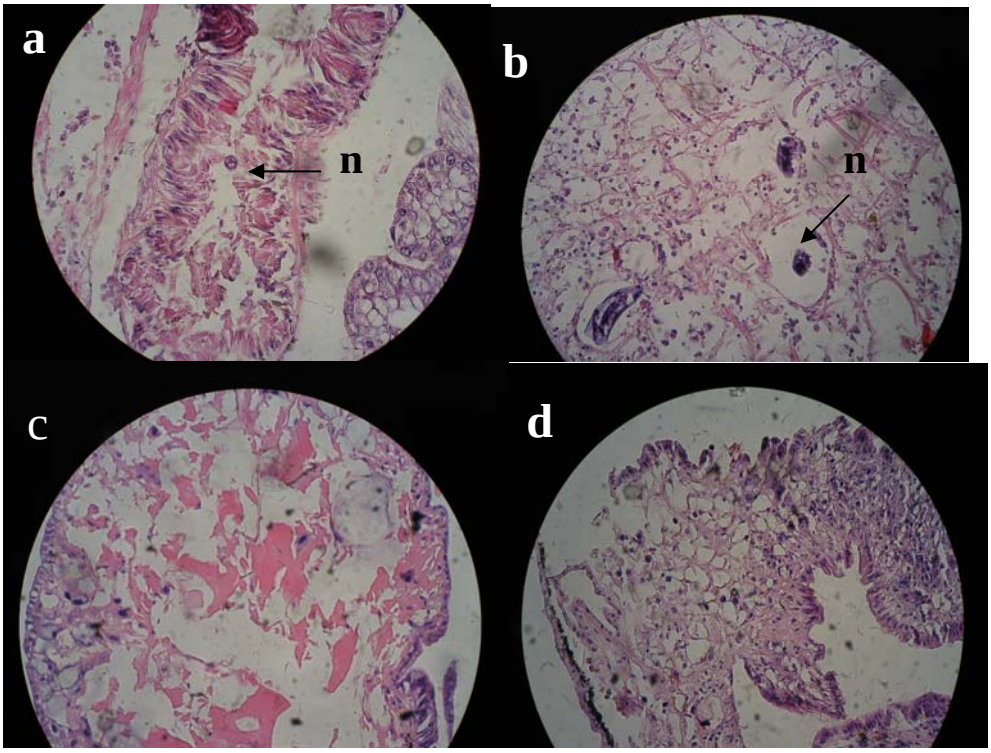
Stringer,A.,C.H.Lyons and N.C.Morgan. 1974. Report of Long Ashton Research station for 1973,Long Ashton Research Station, Bristol. P.122 – 123.

Watson,R.N.,R.A. Skipp and B.I.P. Barratt. 1989. Initatives in Pest and disease control in New Zealand towards in proving legume production and persistenu. PP.441 – 464. In. G.C.Marten, A.Q.Matches,R.F.Barnes, R.W. Brongham, R.J.Clemeats and G.W. Sheathc (ed.),Persistence of Forage Legumes. American society of Agronomy crop Science Society of America / Soil Science Society of America, Madison Wisconsin.

ภาพที่ 1 เนื้อเยื่อหอยที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน (40x)

a,ไส้เดือนฝอยในเนื้อเยื่อปอด b, ไส้เดือนฝอยในเนื้อเยื่อลำไส้เล็ก

c, เนื้อเยื่อปอดถูกทำลาย d, เนื้อเยื่อปอดปกติ ne. ไส้เดือนฝอย



คัดเลือกสายพันธุ์บาซิลลัส และทดสอบประสิทธิภาพควบคุมหอยเชอรี่และหอยทากบก

Efficacy Test and Bacillus Selection for Controlling Land Snail and Golden Apple Snail

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ
อัจฉรา ตันติโชดก ดาราพร รินทะรักษ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ปี 2549 ศึกษาประสิทธิภาพของบีที; *Bacillus thuringiensis* 11 สายพันธุ์กับหอยเชอรี่และหอยทากบก 6 ชนิดในห้องปฏิบัติการตามแผนการทดลอง CRD 12 กรรมวิธี 3 ซ้ำ หลังทดสอบ 72 ชั่วโมง พบว่าหอยเชอรี่ที่ทดสอบด้วย บีที สายพันธุ์ 1-6 ที่อัตรา 10^{7} เซลล์ต่อ บีคเกอร์ หอยทุกกลุ่มตาย 0 % สายพันธุ์ 7-9 ที่อัตรา 1 กรัมต่อ บีคเกอร์ หอยตาย 66.66 ± 1.41, 100 และ 100 % ตามลำดับ สายพันธุ์ 10-11 ที่อัตรา 1 มล. ต่อบีคเกอร์ หอยตาย 0 และ100 % ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0% หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ที่ทดสอบด้วย บีที สายพันธุ์ 1-6 ที่อัตรา 10^{6} เซลล์ต่อ กล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่อัตรา 0.4 กรัมต่อ กล่อง สายพันธุ์ 10-11 ที่อัตรา 0.1 มล.ต่อกล่อง พบว่าหอยซัคซิเนียที่ทดสอบด้วยบีทีสายพันธุ์ที่1-6 ตาย 0 % ส่วนที่ทดสอบด้วยบีทีสายพันธุ์ที่ 7-11หอยตาย 100 % ทุกกลุ่มทดลอง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมหอยตาย 0 % หอยเลขหนึ่งและหอยเจดีย์ที่ทดลอง บีที สายพันธุ์ 1-6 หอยทั้งสองชนิดไม่ตาย สายพันธุ์ 7-9 ตาย 100, 100, 100 และ 86.33 ± 1.15 , 100, 86.33 ± 1.15 % ตามลำดับ ที่ทดสอบด้วย บีที สายพันธุ์ 10-11 ตาย 5 ± 0.5 , 25 ± 1.89 และ0 , 0 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % ส่วนหอยดักดาน สาริกา และหอยทากยักษ์ที่ทดสอบด้วย บีที สายพันธุ์ 1-6 ที่อัตรา 3 x10^{7} เซลล์ ต่อ กล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่อัตรา 0.8 กรัมต่อ กล่อง สายพันธุ์ 10-11 ที่อัตรา 0.5 มล.ต่อ กล่อง พบว่า สายพันธุ์ 1-6 หอยทั้ง 3 ชนิด ตาย 0 % สายพันธุ์ 7-9 หอยดักดานตาย 66.67 ± 0.7,100 และ 0 % ตามลำดับ หอยสาริกาตาย 100, 100 และ 11.0 ± 1.41 % ตามลำดับ หอยทากยักษ์ตาย 50 ± 2.12 , 100 และ 22.33 ± 0.7 % ตามลำดับ สายพันธุ์ 10 หอย ตาย 100 ,100และ 75± 0.57%ตามลำดับ และสายพันธุ์ 11 หอยทั้ง 3 ชนิด ตาย 0 % เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 0 % ปี 2550ทำการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาของหอยแต่ละชนิด หลังทดสอบด้วยบีที โดยทำ

รหัสโครงการ 07-01-49-06

สไลด์ถาวรที่ย้อมสีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน พบว่า หอยที่ตายมีเซลล์และเนื้อเยื่ออวัยวะตับของหอยเชอรี่ หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ถูกทำลายหลังทดสอบ 48 ชั่วโมงและหอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์ ที่ 72ชั่วโมงและ ปี 2551ทดสอบประสิทธิภาพบีที;Bactospeine และ Xenteri กับหอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่งและหอยเจดีย์ในอ่างซีเมนต์แล้วใส่หอยทั้ง 3ชนิดๆละ10ตัว/อ่างตามแผนการทดลอง RCB 5 กรรมวิธี 4ซ้ำคือใส่ Bactospeine และ Xenteri อัตรา 40กรัม/อ่าง ด้วยการพ่นให้ถูกตัวหอยและผสมอาหารหว่านให้หอยกินเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม หลังทดสอบ 4วัน พบว่าบีทีทั้ง 2 ชนิดฆ่าหอยทั้ง 3 ชนิด ได้ 20 -75% จะทำการทดสอบต่อไป

คำนำ

หอยฝาเดียว (gastropods) จะมีแหล่งอาศัยได้ทั้งในน้ำและบนบกและบางชนิดอาศัยอยู่บนต้นไม้ หอยจึงกินอาหารได้หลากหลายทั้งพืชน้ำ พืชผัก ผลไม้ ซากพืช ซากสัตว์ เป็นต้นจึงมีหอยหลายชนิดที่เป็นศัตรูพืชเศรษฐกิจ ที่เป็นพืชน้ำได้แก่ หอยเชอรี่กัดกินข้าว บัว ผักบุ้ง ผักกระเฉดกระจับเป็นต้น โดยเฉพาะข้าว หอยกัดกินข้าวในระยะกล้า อายุ 10-20 วัน (ชมพูนุทและคณะ 2532) กินเก่งสามารถกินได้ถึง 50% ของน้ำหนักตัว (Gurrero, 1989) สามารถเพิ่มประชากรได้รวดเร็ว เนื่องจากหอยเจริญเติบโตและวางไข่ครั้งละจำนวนมากอาจมากถึง 3,000 ฟองต่อกลุ่มไข่และฟักเป็นลูกหอยได้มากกว่า 90 % (ชมพูนุทและคณะ 2534) จึงมีการแพร่ระบาดและทำความเสียหายอย่างมาก เกษตรกรจึงทำการป้องกันกำจัดด้วยสารเคมี ชมพูนุทและคณะ (2542) ได้ทดสอบและแนะนำสารเคมีกำจัดหอยคือ นิโคลซาไมด์และเมทัลดีไฮด์ สามารถนำมาฆ่าหอยได้ดี นอกจากนี้ยังมีการทดลองใช้สารสกัดจากพืชหลายชนิดมากำจัดหอย เช่น สะเดา หางไหล มะคำดีควาย มะไฟนกคุ่ม เทียนหยด ลำโพงเป็นต้น ปราสาททองและคณะ (2545) ได้พบว่าสารสกัดมะคำดีควายสามารถนำมากำจัดหอยเชอรี่ และหอยทากบกได้โดยสารซาโปนินในสารสกัดมะคำดีควายมีผลทำให้เซลล์ในอวัยวะต่างๆ ของหอยถูกทำลาย ส่งผลให้หอยเหล่านั้นตายในที่สุด นอกจากนี้ยังมีหอยทากบกหลายชนิดที่เป็นศัตรูพืชทั้ง พืชผัก ไม้ผลและไม้ดอกได้แก่ หอยอำพัน หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ และ หอยทากยักษ์เป็นต้น จะกัดกินทั้ง ราก ลำต้น ใบ ดอก และผลของพืช โดยเฉพาะต้นกล้าพืชเกือบทุกชนิดจะถูกกัดกินได้รับความเสียหาย อาจต้องทำการปลูกใหม่หลังจากทำการกำจัดหอยแล้ว (Jahan and Raut, 1994) ส่วนไม้ผลจะกัดกินส่วนต่าง ๆของพืช (Srivastava , 1992) เช่น กล้วย จะกัดกินตั้งแต่ระยะผลอ่อนทำให้เกิดแผลและมีผิวสีน้ำตาลบางครั้งอาจเน่าเสียและถูกแบคทีเรียเข้าทำลาย (Dawkins et.al. 1985) เนื่องจากหอยทากบกหากินในเวลากลางคืนหรือหลังฝนตกใหม่ๆ จึงยากที่จะทำการพ่นสารป้องกันกำจัดหอย จึงนิยมใช้เหยื่อพิษกำจัดหอย ได้แก่ เมทัลดีไฮด์ วางเป็นจุดๆห่างกันประมาณ 2 เมตรตามแหล่งที่หอยอาศัยอยู่ (Davidson et.al.,1993) การทำความสะอาดแปลงด้วยการกำจัดวัชพืชจะทำให้ประชากรหอยลดลงได้ การป้องกันกำจัดด้วยชีววิธี เป็นอีกทางเลือกหนึ่งได้แก่การใช้เป็ด ไก่

กินหอยตามพื้นดินในโรงเรือนปลูกพืช การใช้ใส้เดือนฝอย *Phasmarhabditis hermaphrodita* กำจัดหอยทดแทนสารเคมีได้ (Ester and Geleen, 1996) และยังมีการศึกษาใช้แบคทีเรีย เชื้อรา โปรโตซัว มาควบคุมประชากรหอย (Rueda,1989a)แบคทีเรียที่ใช้ได้แก่ *Aeromonas hydrophilia* กำจัดหอยทากยักษ์(Mead, 1979a) เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้ชอบอยู่ในที่ชื้นซึ่งเป็นบริเวณเดียวกับหอยอาศัยอยู่ และเมื่อพ่นลงดินหรือตามแหล่งอาศัยของหอย ก็จะยังคงอาศัยอยู่บริเวณนั้น เมื่อหอยเดินมากินหรือสัมผัสจุลินทรีย์ก็จะติดโรคและตายในที่สุดจึงเป็นการควบคุมโดยสภาพธรรมชาติและยั่งยืน ดังนั้นจึงทำการศึกษาคัดเลือกแบคทีเรียโดยเฉพาะ บีที มาควบคุมหอยทากบก ซึ่ง บีที เหล่านี้จะเฉพาะเจาะจงกับหอยและไม่เป็นอันตรายกับสัตว์อื่น บีทีหลายสายพันธุ์ได้นำมาใช้กำจัดแมลงได้ผลดีและถูกนำมาใช้ ในการตลาดสารกำจัดแมลงทางการเกษตรนานกว่า 30 ปี (อนุเทพ, 2542)โดยบีทีจะสร้างสารพิษขึ้นภายในเซลล์ สารพิษนี้เมื่อแมลงกินเข้าไปอยู่ในรูปของ protoxin (ยังไม่เป็นพิษ) เมื่อเข้าไปอยู่ในกระเพาะอาหาร น้ำย่อยที่เป็นด่างสูงจำพวก proteolytic enzyme จะย่อย protoxin ให้เป็น active toxin สารพิษนี้จะไปที่ผนังเซลล์ของกระเพาะอาหาร และทำลายผนังเซลล์ให้เป็นแผลส่งผลให้แมลงตายในที่สุด (อัจฉรา,2544) จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะคัดเลือกสายพันธุ์ บีที มาทดสอบประสิทธิภาพกับหอยเชอรี่และหอยทากบก ในห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.จุลินทรีย์

- บีที (*Bacillus thuringiensis*) 11สายพันธุ์ ได้แก่

สายพันธุ์ 1 แยกจากดินที่เก็บจาก อ. แม่สอด จ. ตาก

สายพันธุ์ 2 และ 3 แยกจากดินที่เก็บจาก อ. สันทราย จ. เชียงใหม่

สายพันธุ์ 4และ 6 แยกจากดินที่เก็บจาก อ. แม่อาย จ. เชียงใหม่

สายพันธุ์ 5 สายพันธุ์ แยกจากดินที่เก็บจาก อ. ฝาง จ. เชียงใหม่

สายพันธุ์ 7 Bactospeine,HPWP,*Bacillus thuringiensis var kurstaki* (serotype303 b)

สายพันธุ์ 8 Xenteri , *Bacillus thuringiensis var aizawai* 35,000 DBMU/ mg

สายพันธุ์ 9 Dipel , wp. 3.2 % *Bacillus thuringiensis var kurstaki* 16,000 IU/ mg

สายพันธุ์ 10 Florbac , F.C. , *Bacillus thuringiensis var aizawai*(serotype 7)

สายพันธุ์ 11 Novodor F.C. , *Bacillus thuringiensis sub. tenebrionis*

2. สัตว์ทดลอง

- หอยเชอรี่ *Pomacea canaliculata* Lamark

- หอยทากบก 6 ชนิดได้แก่ หอยซัคซิเนีย (*Succinea sp.*) หอยเลขหนึ่ง (*Ovachamys fulgens*) หอยทากยักษ์ (*Achatina fulica*) หอยดักดาน (*Cryptozona siamensis*) หอยเจดีย์ (*Prosopeas walkeri*) และหอยสาริกา (*Sarika sp.*)

3.เครื่องมือ

- กล่องพลาสติกขนาด 75 และ 300 ตารางเซนติเมตร
- อ่างซีเมนต์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1เมตรที่บรรจุดินครึ่งอ่าง
- กล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ
- อาหารเลี้ยงหอย
- เครื่องมือทางเนื้อเยื่อวิทยา

4. สารเคมี

- สีฮีมาท็อกไซลินและอีโอซิน
- แอลกอฮอลล์ 70, 95 และ 100 %
- ฟอร์มาลิน 10 %
- พาราฟิน
- ไซลีน
- 10 % เอสิค แอลกอฮอลล์

วิธีดำเนินการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพ บีที ในห้องปฏิบัติการ
2. ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของหอยเชอรี่ และหอยทากบกทั้ง 6 ชนิด
3. ทดสอบประสิทธิภาพบีที;Bactospeine และ Xenteri กับหอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ในอ่างซีเมนต์

วิธีการ

1.เตรียมจุลินทรีย์

- บีที ทั้ง 11 สายพันธุ์ได้จากกลุ่มงานวิจัยปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา โดย สายพันธุ์ 1-6 เตรียมจาก บีที ที่แยกจากดินที่เก็บมาจาก จ.ตากและ จ. เชียงใหม่ ซึ่งเก็บไว้ในอาหารแข็งในหลอดทดสอบ (slant solid media) ทำการเพิ่มปริมาณ บีที ด้วยการเขี่ยจุลินทรีย์บีทีจากอาหารแข็งลงในอาหารเหลวโดยวิธีปราศจากเชื้ออื่นปนเปื้อนแล้วทำให้อยู่ในรูปความเข้มข้น ที่มีจำนวนบีที 10^{7} เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนสายพันธุ์ 7-9 และ สายพันธุ์ 10-11 เป็นบีทีที่เป็นการค้าที่อยู่ในรูปผงและของเหลวข้นตามลำดับ

2. เตรียมสัตว์ทดลอง

2.1 หอยเชอรี่ เก็บรวบรวมจากแปลงนาของเกษตรกร จ. สุพรรณบุรี มาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ในโรงเรือนของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรให้อาหารปลาชนิดเม็ดและพืชน้ำ เช่น สาหร่าย จอกแหน เป็นต้นเป็นอาหาร

2.2 หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ เก็บรวบรวมจากแปลงสวนกล้วยไม้ จ. กาญจนบุรี และจ. สมุทรสาคร มาเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 300 ตารางเซนติเมตรเพื่อเตรียมไว้สำหรับการทดลองต่อไป

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

3. ปี2549 การทดสอบประสิทธิภาพ บีที ในห้องปฏิบัติการ

3.1 หอยเชอรี่ คัดเลือกหอยที่ตัวเต็มวัยและสมบูรณ์ แข็งแรง มีขนาดความสูงเฉลี่ย 43.45 มม.มาใส่บิคเกอร์ขนาด 1,000มล. ที่บรรจุน้ำไว้ 500 มล. บิคเกอร์ละ 3 ตัว เมื่อหอยเปิดฝาคลานดีแล้วใส่ บีทีสายพันธุ์ 1-6 จำนวน 10^{7} เซลล์ต่อบิคเกอร์ สายพันธุ์ 7-9 ใส่ในอัตรา 1 กรัมต่อบิคเกอร์ และ สายพันธุ์ 10-11 ใส่ในอัตรา 1 มล.ต่อบิคเกอร์เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่เป็นน้ำ ตามแผนการทดลอง12 กรรมวิธี 3 ซ้ำ หลังทดสอบ 24,48,และ 72 ชั่วโมงตรวจนับหอยตาย

3.2 หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ คัดเลือกหอยที่สมบูรณ์ แข็งแรง มีขนาดความสูงเฉลี่ย 9.79, 4.71และ 9.47 มม.ตามลำดับมาใส่กล่องพลาสติกขนาด 75 ตารางเซนติเมตร จำนวน 5 ตัวต่อกล่อง ที่พื้นกล่องแต่ละกล่องบุด้วยกระดาษทีชชูที่พ่นน้ำพอชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่บีที สายพันธุ์ 1-6 จำนวน 10^{6} เซลล์ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ใส่ในอัตรา 0.4 กรัมต่อกล่อง และสายพันธุ์ 10-11 ใส่ในอัตรา 0.1 มล.ต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นน้ำ โดยทำการทดสอบกับหอยแต่ละชนิดตามอัตราที่กำหนด ตามแผนการทดลอง 12 กรรมวิธี 3 ซ้ำ หลังทดสอบ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตรวจนับหอยตาย

3.3. หอยดักดาน หอยสาลิกา และหอยทากยักษ์ คัดเลือกหอยที่สมบูรณ์ แข็งแรง มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 28.5,18.66มม.ตามลำดับและหอยทากยักษ์มีความสูงเฉลี่ย 76.53 มม. มาใส่กล่องพลาสติกขนาด 300 ตารางเซนติเมตร จำนวน 3 ตัวต่อกล่อง ที่พื้นกล่องแต่ละกล่องบุด้วยกระดาษทีชชูที่ พ่นน้ำพอชื้น เมื่อหอยคลานดีแล้วใส่ บีทีสายพันธุ์ 1-6 จำนวน 3 x10^{7} เซลล์ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9ใส่ในอัตรา 0.8 กรัมต่อกล่อง และสายพันธุ์ 10-11 ใส่ในอัตรา 0.5 มล.ต่อกล่อง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นน้ำ โดยทำการทดสอบกับหอยแต่ละชนิดตามอัตราที่กำหนดตามแผนการทดลอง 12 กรรมวิธี 3 ซ้ำ หลังทดสอบ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตรวจนับหอยตาย

4. ปี2550 ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาด้วยการสุ่มเก็บหอยแต่ละชนิดที่มีชีวิตอยู่หลังทดสอบด้วยบีทีนาน48ชั่วโมงของแต่ละกรรมวิธีๆละ1ตัวมาทุบเอาเปลือกออกทำให้คงสภาพด้วยฟอร์มาลิน10 %

นาน24ชั่วโมงล้างชิ้นเนื้อหอยด้วยน้ำประปาที่ไหลนาน1-2ชั่วโมงเก็บรักษาชิ้นเนื้อเยื่อในเอธานอล 70%หรือนำมาทำพาราฟินบล็อกเนื้อเยื่อ(embedding)ตัดด้วยเครื่องไมโครโตมให้ขนาดชิ้นเนื้อหนา 6ไมโครเมตร นำแผ่นชิ้นเนื้อที่ตัดได้ติดบนแผ่นสไลด์แก้ว ทำการย้อมสี ฮีมาท็อกไซลิน และอีโอซินปิดด้วย cover glass และอุ่นบนเครื่องอุ่นสไลด์จนแห้งดีแล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

5.ปี 2551 ทดสอบประสิทธิภาพบีที;Bactospeine **และ**Xenteri กับหอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง และหอยเจดีย์ในอ่างซีเมนต์แล้วใส่หอยทั้ง 3 ชนิดๆละ10ตัว/อ่างตามแผนการทดลอง RCB 5กรรมวิธี 4 ซ้ำคือใส่ Bactospeine และ Xenteri อัตรา 40กรัม/อ่างด้วยการพ่นให้ถูกตัวหอยและผสมอาหารหว่านให้หอยกิน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

6. บันทึกข้อมูล

6.1 อัตราการตายของหอยเชอรี่ หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ที่ 24, 48 ,72 ชม. และ 4 วัน ส่วนหอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์ ที่ 2 ,3 และ 4 วัน

6.2 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหอยชนิดต่างๆ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่ม ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2551

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี 2549 จากการทดสอบประสิทธิภาพบีที 11 สายพันธุ์ กับหอยเชอรี่ และหอยทากบก 6 ชนิด เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่พ่นน้ำพบว่า

1.หอยเชอรี่

หอยเชอรี่ ที่ 24 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีที สายพันธุ์ 1-6 ที่ความเข้มข้น 10^7 เซลล์ ต่อบิคเกอร์ หอยทุกกลุ่มตาย 0 % สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อบิคเกอร์ หอยตาย 0, 77.77± 0.5,และ 0 %ตามลำดับ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 1.0 มล. ต่อบิคเกอร์หอยตาย 0 และ0% ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยเชอรี่ ที่ 48 ชั่วโมง หลังทดสอบ ด้วย บีที สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^7 เซลล์ต่อบิคเกอร์หอยทุกกลุ่มตาย 0 % สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อบิคเกอร์หอยตาย 33.33 ± 0.57, 100และ 100%ตามลำดับ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 1.0 มล. ต่อบิคเกอร์หอยตาย 0 และ 100 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยเชอรี่ ที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบ ด้วย บีที สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^7 เซลล์ต่อบิคเกอร์หอยทุกกลุ่มตาย 0 % สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อบิคเกอร์หอยตาย 66.66 ± 1.41, 100และ 100%ตามลำดับ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 1.0 มล. ต่อบิคเกอร์หอยตาย 0 และ 100 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

2. หอยซัคซิเนีย

หอยซัคซิเนีย ที่ 24 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีที สายพันธุ์1- 6 ที่ความเข้มข้น 10^{6} เซลล์ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่องและ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยซัคซิเนีย ที่ 48 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีที สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^{6} เซลล์ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่อง.หอยตาย 55.0± 2.67, 80.0± 1.15 และ65.0± 2.36 % ตามลำดับ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยตาย 60.0± 2.30และ 55.0± 2.21 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยซัคซิเนีย ที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีที สายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^{6} เซลล์ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0 % สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่องและ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1มล.ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย100 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

3. หอยเลขหนึ่ง

หอยเลขหนึ่ง ที่ 24 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^{6} เซลล์ ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่องและ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยเลขหนึ่ง ที่ 48 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^{6} เซลล์ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่องหอยตาย 100,100และ 100% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยตาย 5 ± 0.5และ 25 ± 1.89 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยเลขหนึ่ง ที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^{6} เซลล์ ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่องหอยตาย 100,100และ 100% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยตาย 5 ± 0.5และ 25 ± 1.89 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

4. หอยเจดีย์

หอยเจดีย์ ที่ 24 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^{6} เซลล์ ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่อง และ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยเจดีย์ ที่ 48 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^{6} เซลล์ ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่องหอยตาย 73.33± 0.57,

100และ60.0 ±1.0% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่องหอยตาย0และ 0 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยเจดีย์ ที่ 72 ชั่วโมง หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 10^{6} เซลล์ ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.4 กรัมต่อกล่องหอยตาย 86.33± 1.15, 100 และ 86.33 ±1.15% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.1 มล. ต่อกล่อง หอยตาย 0 และ 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

5. หอยดักดาน

หอยดักดาน ที่ 2วัน หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 3 x10^{7}เซลล์ ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่อง และ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.5 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยดักดาน ที่ 3 วัน หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 3 x10^{7} เซลล์ ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่อง และ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.5 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยดักดาน ที่ 4 วัน หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 3 x10^{7} เซลล์ ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่องหอยตาย 66.67 ± 1.15, 100และ0% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.5 มล. ต่อกล่องหอยตาย100และ 0 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

6. หอยสาริกา

หอยสาริกา ที่ 2 วัน หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 3 x10^{7} เซลล์ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่อง และ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.5 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยสาริกา ที่ 3 วัน หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 3 x10^{7} เซลล์ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่องและ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.5 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยสาริกา ที่ 4 วัน หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 3 x10^{7} เซลล์ต่อกล่อง หอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่องหอยตาย 100, 100และ 11.0 ± 1.41% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.5 มล. ต่อกล่องหอยตาย100และ 0 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

7. หอยทากยักษ์

หอยทากยักษ์ ที่ 2 วัน หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 3 x10 ^{7}เซลล์ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่องและ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.5 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยทากยักษ์ ที่ 3 วัน หลังทดสอบด้วย บีทีสายพันธุ์1-6 ที่ความเข้มข้น 3 x10 ^{7}เซลล์ต่อกล่อง สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่องและ สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.5 มล. ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

หอยทากยักษ์ที่ 4วัน หลังทดสอบด้วยบีทีสายพันธุ์1-6ที่ความเข้มข้น3 x10 ^{7}เซลล์ต่อกล่องหอยทุกกลุ่มตาย 0% สายพันธุ์ 7-9 ที่ความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อกล่องหอยตาย 50± 2.12,100 และ 22.33± 0.7% ตามลำดับ. สายพันธุ์ 10-11 ที่เข้มข้น 0.5 มล. ต่อกล่องหอยตาย75.0±0.57และ 0 %ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตาย 0 %

ปี 2550 ผลการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของหอยทั้ง 7 ชนิดที่ทดสอบด้วยบีที 11 สายพันธุ์ดังนี้

1.หอยเชอรี่ที่ทดสอบด้วยบีที ที่มีประสิทธิภาพฆ่าหอย พบว่า เซลล์ผลิตน้ำย่อยและเนื้อเยื่อในอวัยวะตับถูกทำลาย ส่วนสายพันธุ์บีที ที่ไม่มีประสิทธิภาพฆ่าหอย พบเซลล์ผลิตน้ำย่อยเป็นปกติเหมือนกับกลุ่มควบคุม คือเซลล์ผลิตน้ำย่อยมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกเรียงตัวเป็นเยื่อบุผิวของท่อผลิตน้ำย่อยมีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงอยู่ที่ฐานเซลล์ส่วนไซโตพลาสซึ่มติดสีชมพู และพบเซลล์สะสมสารซึ่งภายในเซลล์ติดสีดำเกือบเต็มเซลล์เรียงอยู่ปะปนระหว่างเซลล์ผลิตน้ำย่อย ตรงกลางท่อผลิตน้ำย่อยมีช่องว่างเรียกว่า lumen (ภาพที่ 1)

2.หอยทากบกทั้ง 6 ชนิดคือ หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ หอยดักดาน หอยสาริกาและหอยทากยักษ์ ที่ทดสอบด้วยบีที ที่มีประสิทธิภาพฆ่าหอย พบว่า เซลล์ผลิตน้ำย่อยและเนื้อเยื่อในอวัยวะตับถูกทำลาย ส่วนสายพันธุ์บีที ที่ไม่มีประสิทธิภาพฆ่าหอย พบเซลล์ผลิตน้ำย่อยเป็นปกติเหมือนกับกลุ่มคาบคุมคือเซลล์ผลิตน้ำย่อยมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกเรียงตัวเป็นเยื่อบุผิวของท่อผลิตน้ำย่อยมีนิวเคลียสกลมติดสีม่วงแดงอยู่ที่ฐานเซลล์ส่วนไซโตพลาสซึ่มติดสีชมพู และพบเซลล์สะสมสารซึ่งภายในเซลล์ติดสีดำเกือบเต็มเซลล์เรียงอยู่ปะปนระหว่างเซลล์ผลิตน้ำย่อย ตรงกลางท่อผลิตน้ำย่อยมีช่องว่างเรียกว่า lumen (ภาพที่ 1)

ปี 2551 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ บีที; Bactospeine และ Xenteri กับ หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่งและหอยเจดีย์ในอ่างซีเมนต์ พบว่า

1.หอยซัคซิเนีย ที่ทดสอบด้วย Bactospeineด้วยการพ่นและผสมอาหารหว่านและXenteri ที่ใช้การพ่นและผสมอาหารหว่าน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมพบว่าที่ 4วันหอยตาย 60.0, 45.0, 75.0 ,65.0และ 0% ตามลำดับ

2.หอยเลขหนึ่ง ที่ทดสอบด้วย Bactospeine ด้วยการพ่นและผสมอาหารหว่านและXenteri

ที่ใช้การพ่นและผสมอาหารหว่าน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมพบว่าที่ 4วันหอยตาย 20.0, 35.0, 20.0 ,30.0และ 0% ตามลำดับ

3. หอยเจดีย์ที่ทดสอบด้วย Bactospeine ด้วยการพ่นและผสมอาหารหว่านและXenteri ที่ใช้การพ่นและผสมอาหารหว่าน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมพบว่าที่ 4วันหอยตาย 40.0,30.0, 60.0 ,20.0และ 0% ตามลำดับ

การที่หอยเชอรี่ หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ หอยดักดาน หอยสาริกาและหอยทากยักษ์หลังทดสอบด้วย บีที 11 สายพันธุ์ตามความเข้มข้นที่กำหนดตามแผนการทดลองพบว่า บีทีที่เป็นการค้าคือ บีทีสายพันธุ์ 7-11 มีประสิทธิภาพฆ่าหอยได้เกือบทุกชนิด จึงสามารถนำไปศึกษาประยุกต์ใช้ต่อไปได้ โดยสารพิษที่ผลิตขึ้นมาจะไปทำลายเซลล์และเนื้อเยื่ออวัยวะตับของหอยส่งผลให้หอยตายดังภาพที่1 สอดคล้องกับรายงานของอัจฉรา (2544) ส่วนสายพันธุ์ที่ 1-6 ไม่สามารถฆ่าหอยทั้ง 7ชนิดได้อาจเป็นเพราะบีทีเหล่านั้นไม่มีความเฉพาะเจาะจงกับหอยและสารพิษที่ผลิตขึ้นมาจึงไม่ทำลายเซลล์และเนื้อเยื่ออวัยวะตับของหอยเหล่านั้นดังภาพที่ 1 หอยจึงไม่ตาย

สรุปผลการทดลองและเสนอแนะ

จากผลการทดลองพบว่า บีที สายพันธุ์ 7-9 สามารถฆ่าหอยทั้ง 7 ชนิดได้โดยสายพันธุ์ที่ 8 มีประสิทธิภาพดีสูงสุดสามารถฆ่าหอยทั้ง 7 ชนิดที่นำมาทดสอบได้ถึง 100% โดยสารพิษที่บีทีผลิตขึ้นมาจะไปทำให้เซลล์และเนื้อเยื่ออวัยวะตับของหอยถูกทำลายและเมื่อทดสอบประสิทธิภาพบีที;Bactospeine และ Xenteri กับหอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่งและหอยเจดีย์พบหอยตาย 20-75% ซึ่งจะต้องทำการศึกษาต่อไปเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในแปลงทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคมและทรงทัพ แก้วตา.2532. ทดสอบอัตราการกินต้นข้าวของหอยเชอรี่. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 115-125.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคมและทรงทัพ แก้วตา.2534. ชีววิทยาของหอยเชอรี่. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 94-102

ชมพูนุท จรรยาเพศ ทักษิณ อาชวาคมและทรงทัพ แก้วตา. 2542. หอยเชอรี่. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนา หอยเชอรี่ โรงแรมโซฟิเทลราชาออคิด ขอนแก่น 15 หน้า.

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ เรวดี พรหมเกิด.2546. ประสิทธิภาพของสารสกัดปะคำดีควายต่อเซลล์และอัตราการตายของหอยเชอรี่. การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 41

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพมหานคร หน้า 393-401.

อนุเทพ ฟองสมุทร 2542. บีที: การตลาดและการใช้ในประเทศไทย หน้า 41-43 ในการประชุมวิชาการ สารชีวินทรีย์กำจัดศัตรูพืชในศตวรรษที่ 21 วันที่ 15-16 กรกฎาคม 2542 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์คอนเวนชั่น หลักสี่ กรุงเทพมหานคร

อัจฉรา ตันติโชดก 2544. บีที : การควบคุมแมลงศัตรูพืช หน้า 183-208 ใน เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพมหานคร

Dawkins,G.,G.Sislop,m.Luxton and C. Bishop. 1985. Transmission of Liquorice rot of carrotsby slugs. J.mollusc. stu. 51, 1985.

Davidson, R.,G.Sondrson and M.Schache.1993. snail control studies in vines. Australian Dried Fruits news 20(3.12-14.)

Ester, A. and P.M. t. M.Geleen. 1996. Integrated control of slugs in sugar beet growing in a rye cover crop, pp. 445-450. In R.F. Henderson (ed.) slug and snail pests in agriculture. Monograph no. 66.british crop protection council, farnham.

Guerrero, L. 1989. The Biology of golden snail in relation to Philippines. Condition (EN.)Workshop on environment impact of the Golden snail on rice Farming system in the Philippines, Munoz, nuevr Ecij Philippines. 5 p.

Jahan, M. S. and S.K. Raut. 1994. distribution and Food preference of the giant African land snail, *Achatina fulica* Bowdich in Bangladesh J. Asia. Soci. Banglad. Sci. 20, 111-115.

Mead, A.R. 1979a. Economic malacology with Particular, reference to *Achatina fulica* pp. 150. In V. Fretter and J.Peake. (ed.) Pulmonattes. Vol. 2b. Academic Press, London.

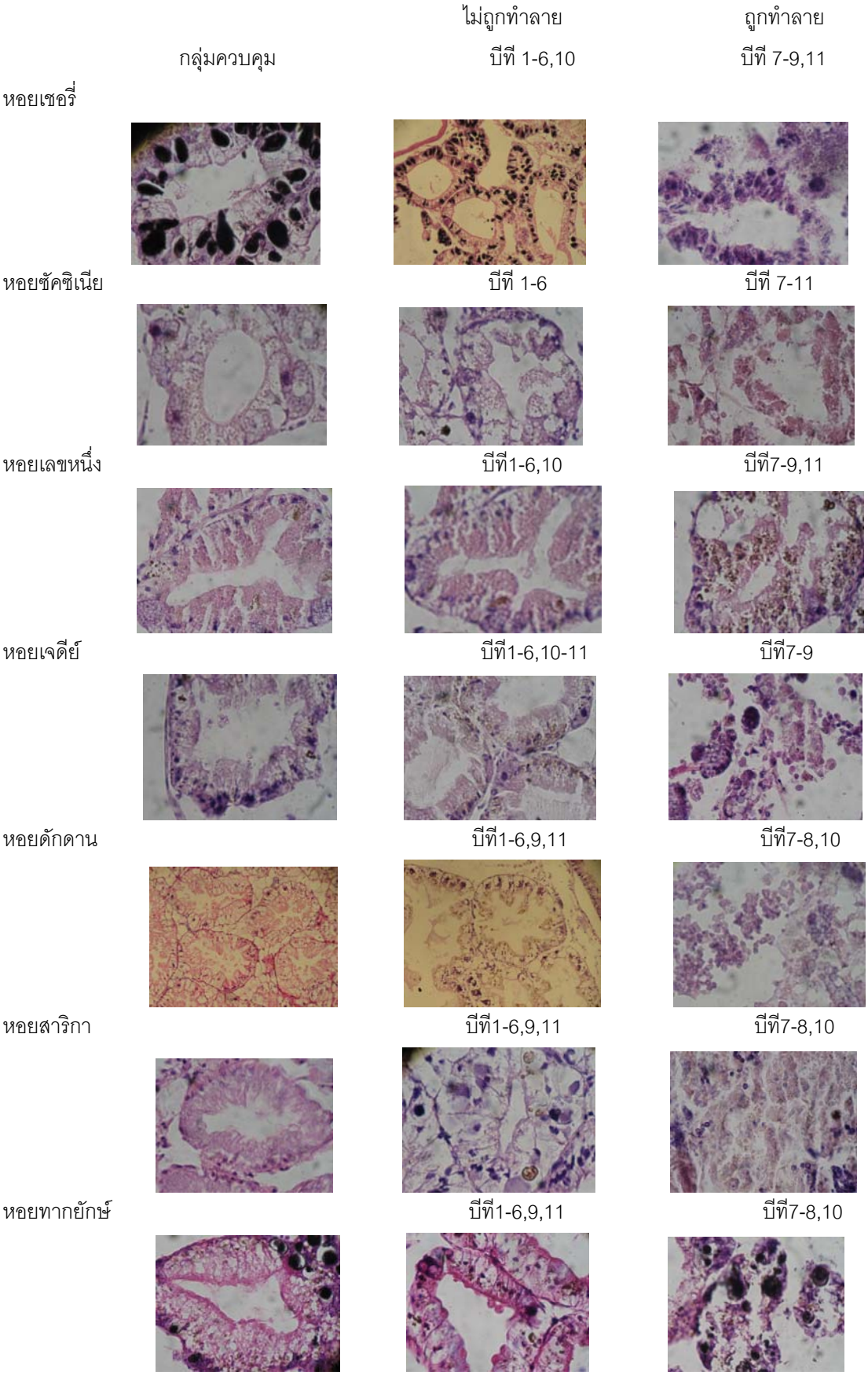
Rueda, A. 1989 a. Biology nutritional ecologyn and natural enemies of the slug *Sarasinula plebeia* Msc. Thesis ,University of florida Gainesville Florida.

Srivastava, P.D. 1992. Problem of Land Snial Pests in Agriculture a Study of the Giant African Snail Concept Publishing Company, New Delhi 234 p.

ตารางที่ 1 อัตราการตายของหอยเชอรี่และหอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์หลังทดสอบด้วยบีที 11 สายพันธุ์นาน 72ชั่วโมง และหอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์ที่ 4วัน

บีที สายพันธุ์ที่	อัตราการตายของหอย(%)						
	หอยเชอรี่	หอยซัคซิเนีย	หอยเลขหนึ่ง	หอยเจดีย์	หอยดัดดาน	หอยสาริกา	หอยทากยักษ์
1 จ. ตาก	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2 อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3 อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4 อ.แม่อาย จ.เชียงใหม่	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5 อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6 อ.แม่อาย จ.เชียงใหม่	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
7 Bactospeine	66.66 ±1.41	100	100	86.33 ±1.15	66.67 ±1.15	100	50.0 ±2.12
8 Xenteri	100	100	100	100	100	100	100
9 Dipel	100	100	100	86.33 ±1.15	0.0	11.0 ±1.41	22.33 ±0.70
10 Florbac	0.0	100	5.0± 0.50	0.0	100	100	75.0 ±0.57
11 Novodor	100	100	25.0± 1.89	0.0	0.0	0.0	0.0
ควบคุม	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

ภาพที่ 1.เซลล์และเนื้อเยื่อของอวัยวะตับของหอยเชอรี่ หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์ ที่ 48 ชั่วโมง และที่72 ชั่วโมงสำหรับหอยดักดาน หอยสาริกา หอยทากยักษ์ที่ทดสอบด้วยบีที 11 สายพันธุ์



การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง

Formulation of *Bacillus subtilis* Endospore for Controlling Ginger Wilt

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ในปีพ.ศ. 2548-2550 ได้ทำการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวของขิง เริ่มจากการทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างเอ็นโดสปอร์ของ *B.subtilis* จำนวน 21 สูตร ทดสอบปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเอ็นโดสปอร์ ได้แก่ ทดสอบความเร็วรอบในการเขย่าเพื่อการบ่มเชื้อ อุณหภูมิ และแสงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อเพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ ทดสอบความทนทานของ *B.subtilis* ที่อยู่ในระยะเอ็นโดสปอร์ในสภาพอุณหภูมิต่างๆ และศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์ *B.subtilis* ในรูปเอ็นโดสปอร์ ผลการทดลองพบว่าอาหารสูตร N1 B N2 N5 N4 N3 และ FFS1 สามารถกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ได้สูงถึง10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยสูตร N3 สามารถกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ได้สูงสุดถึง 3.10 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 480 ชั่วโมง (20 วัน) และสูตร FFS1 สามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ได้ 2.1 x 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 120 ชั่วโมง (5 วัน) การเลี้ยงแบคทีเรียในสภาพเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 และ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิปกติ (26 องศาเซลเซียส) ภายใต้แสงธรรมดา เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย *B.subtilis* ในการกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ และพบว่า แบคทีเรีย *B.subtilis* สามารถทนอุณหภูมิได้ต่ำถึง 8 องศาเซลเซียสและสูงถึง 100 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับสภาพแปลงปลูกปริมาณเอ็นโดสปอร์ไม่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ที่อุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส) ในการทดสอบการแปรรูปผลิตภัณฑ์ในรูปของเหลว ผลการทดลอง พบว่า หลังการทดสอบ 3 เดือน ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์ที่ใส่สารนำพา (หางนม) ลดลงเพียงเล็กน้อย คือจาก 1.1 x 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร เป็น 0.2x 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร แต่หลังเก็บผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 5 เดือน ปริมาณเซลแบคทีเรียที่มี

รหัสโครงการ 07-01-49-06

ชีวิตเริ่มลดลงอย่างรวดเร็ว จาก 10^7 เป็น 10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร การทดสอบการแปรรูปผลิตภัณฑ์ในรูปผง พบว่า หลังการแปรรูปปริมาณแบคทีเรียเริ่มต้นมีปริมาณเท่ากันคือ10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร แต่การใช้แป้งข้าวโพดเป็นสารนำพามีข้อเสียคือ การเกาะติดค่อนข้างยากเนื่องจากแป้งข้าวโพดมีลักษณะมันลื่น ต้องใช้เวลานานในการคลุกเคล้า ข้อดีคือ ผลิตภัณฑ์ละลายน้ำได้ดี ในขณะที่การใช้สารทัลคัม การละลายน้ำจะมีตะกอนตกค้าง หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 เดือนพบว่า ปริมาณเอ็นโดสปอร์ยังไม่แตกต่างกันและยังไม่ลดลง หลังการเก็บรักษา 7 เดือน พบว่า ปริมาณแบคทีเรียจากทั้งสองผลิตภัณฑ์มีปริมาณเท่ากันแต่ลดลงเหลือ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรียจากผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากการเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหาร PSA ซึ่งไม่มีการกระตุ้นให้สร้างเอ็นโดสปอร์ ไม่มีแบคทีเรีย *B.subtilis* ที่มีชีวิตรอด เมื่อเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตพบว่า ราคาของสารนำพาทั้งสองชนิดที่นำมาใช้แปรรูปไม่แตกต่างกัน ในปี 2550-2551 ได้ทำการปรับวิธีการแปรรูปผลิตภัณฑ์เหลวโดยลดปริมาณหางนมซึ่งใช้เป็นสารนำพา ลง 2 เท่า ศึกษาการเก็บรักษา และทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์เหลวในโรงเรือนทดลอง ผลการทดลองพบว่า การปรับวิธีการแปรรูปผลิตภัณฑ์เหลว โดยลดหางนมลง 2 เท่า พบว่า ปริมาณเซล Bs ที่มีชีวิตรอดมีค่าไม่คงที่ แต่ปริมาณกลับเพิ่มขึ้นจากปริมาณเซลเริ่มต้น เมื่อเก็บเป็นเวลา 5 เดือน และไม่มีความแตกต่างกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมหางนม แต่จะมีปริมาณมากกว่าในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากอาหาร PSB เปรียบเทียบการเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาพอุณหภูมิห้องปกติและในตู้เย็น พบว่า เมื่อเก็บเป็นเวลา 5 เดือน ปริมาณเซล Bs ที่มีชีวิตรอดมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยในสภาพอุณหภูมิปกติมีปริมาณมากกว่าที่เก็บในตู้เย็น แต่สำหรับผลิตภัณฑ์ผงปริมาณเซล Bs ที่มีชีวิตรอด มีปริมาณลดลงเท่ากันทั้ง 2 แหล่งเก็บ

คำนำ

เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญมาก ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา การควบคุมโรคด้วยสารเคมีค่อนข้างยาก และมักก่อให้เกิดผลกระทบต่อผู้บริโภคและสภาพแวดล้อมตามมา จึงได้มีการศึกษาเพื่อหาวิธีควบคุมโรคเหี่ยวที่มีความปลอดภัยหลายวิธี เช่น การเขตกรรม การปรับปรุงพันธุ์ และการควบคุมโรคโดยชีววิธีโดยการนำเชื้อจุลินทรีย์ ที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ถูกต้องเหมาะสม และเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นantagonist ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย จนกระทั่งแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ และจำหน่ายเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลาย เช่น เชื้อรา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ณัฏฐิมาและคณะ (2548) จึงได้ทำการศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ และพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงถึง 60% แต่จากงานวิจัยที่ผ่านมาการนำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ทำโดยใช้สารละลายเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลวแล้วนำไปจุ่มหัวพันธุ์ และ/หรือราดลงบนดิน ซึ่งวิธีการปฏิบัติเช่นนี้ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มักไม่คงที่ เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม ซึ่งส่วนใหญ่ประสิทธิภาพมักจะลดลงอันเนื่องมาจากเซลแบคทีเรียตายลง

เนื่องด้วยแบคทีเรียในสกุล*Bacillus* มีคุณสมบัติในการสร้างสปอร์ที่เรียกว่าเอ็นโดสปอร์ (endospore) ซึ่งเป็นอวัยวะที่อยู่ในเซลแบคทีเรีย (vegetative cell) โดยเอ็นโดสปอร์จะมีผนังหนาคงทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น รังสี แรงกระแทก ร้อนจัดหรือเย็นจัดหรือสภาพขาดแคลนอาหาร และเอ็นโดสปอร์จะสามารถงอกกลับมาเป็น vegetative cell ได้ใหม่เมื่อใส่ลงไปในดินและสภาพแวดล้อมเหมาะสมและมีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อโรคได้ทันที (http://www.splammo. net/bact102/102/bacillus.html) โดยมหาวิทยาลัยน้อททิ่งแฮม (University of Nottingham) ของประเทศอังกฤษได้ทำการศึกษาและคัดเลือกแบคทีเรีย *B. subtilis* และรูปแบบผลิตภัณฑ์ในรูปของเอ็นโดสปอร์และได้รับการจดทะเบียนจาก EPA แล้วในชื่อ MBI 600 โดย มีคุณสมบัติทนทานต่อสภาพแวดล้อม สามารถเก็บในสภาพแห้งได้ไม่ต่ำกว่า 2 ปี สามารถใช้ร่วมกับสารเคมีชนิดอื่นได้อย่างกว้างขวางและสปอร์สามารถงอกกลับมาเป็น vegetative cell และเข้าครอบคลุม (colonise) รากพืชได้ทันที เมื่อใส่ลงไปในดิน (http://www.microbiogroup.com/BS1.htm)

วาสนา และคณะ, 2547 ได้ศึกษาการยืดอายุผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* TISTR 001 เพื่อใช้ในฟาร์มเลี้ยงสัตว์ พบว่า ถ้าเติมสารตัวพา (carrier) ได้แก่ zeolite, talcum, และ calcium carbonate ลงไปในการรูปแบบผลิตภัณฑ์ชนิดผง แม้เพิ่มอุณหภูมิถึง 150 องศาเซลเซียสในระหว่างกระบวนการผลิตก็ตาม สปอร์ของแบคทีเรียก็สามารถทนอยู่ได้และจำนวนของเอ็นโดสปอร์ก็ไม่ลดลง และพบว่าความเข้มข้นของเอ็นโดสปอร์จะคงที่กว่าผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของเหลว (http://www.nowledge.biotec.or.th/doc_upload /200411495822 .doc)

เพ็ญจันทร์,2546 ได้ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อขบวนการหมักสปอร์ของ *B.subtilis* TISTR 001 เพื่อเป็นโพรไบโอติก พบว่า การใช้โมลาสและกากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบของสูตรอาหารที่ใช้หมัก จะสามารถกระตุ้นการสร้างสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* TISTR 001 ได้ถึง 10^9 สปอร์/มิลลิลิตร

งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อพัฒนาสูตรสำเร็จของแบคทีเรีย *B. subtilis* ให้อยู่ในรูปของเอ็นโดสปอร์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ ให้มีความคงทน เนื่องการมีชีวิตรอดในรูปสปอร์ของเชื้อ และสามารถนำไปใช้ได้ทุกสภาพแม้กระทั่งในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง โดยอาศัยคุณสมบัติความทนทานของเอ็นโดสปอร์และการงอกกลับมาเป็นเซลใหม่ได้โดยง่ายของเอ็นโดสปอร์ดังกล่าว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แบคทีเรีย *B.subtilis* 1 ไอโซเลท (ไอโซเลทที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* (ณัฏฐิมาและคณะ, 2547)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย PSA (Potato sucrose agar)
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ เครื่องเขย่า (incubator shaker) ฯลฯ
4. สารเคมีในห้องปฏิบัติการ
5. สารที่ได้จากของเหลือภาคเกษตร เช่น หางนม กากน้ำตาล กากถั่วเหลือง โปรตีนปลา (เศษปลาหมัก) ฯลฯ

วิธีการ

1. การทดสอบสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* เพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์

<u>สูตรอาหารทดสอบ</u> (ภาคผนวก) ได้แก่

- **ชุดที่ 1** สูตรอาหารทั่วไป 15 สูตร ได้แก่ : CA MY NGA PSB (Wakimoto'broth) CPG YP NA NTG GMP B N1 N2 N3 N4 และ N5

- **ชุดที่ 2** สูตรอาหารที่มีส่วนผสมของส่วนเหลือจากภาคเกษตร ได้แก่ : SM1 SM2 FM1 FM2 FFS1 และ FFS2

ปฏิบัติดังนี้

1.1 การเตรียมหัวเชื้อ : เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบ *B. subtilis* บนอาหารแข็ง PSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อแบคทีเรียจำนวน 1 ลูป (loop) มาตรฐานลงในอาหารเหลว PSB ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุในฟาสก์ขนาด 25 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงในสภาพเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.2 การทดสอบในสูตรอาหารต่างๆ : ถ่ายหัวเชื้อ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลวที่ใช้ทดสอบ ซึ่งบรรจุอยู่ในฟาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 99 มิลลิลิตร นำไปบ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

1.3 การบันทึกผล : ตรวจผลโดยนับจำนวนเอ็นโดสปอร์โดยการย้อมสีและนับด้วย counting chamber ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทุก 24 ชั่วโมง

2. การทดสอบความเร็วรอบที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* เพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์

ปฏิบัติดังนี้

2.1 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B.subtilis* ในอาหารสูตร N3 (Parry,J.M. และคณะ,1988) โดยปฏิบัติการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2 นำไปบ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบต่างๆ ได้แก่ 50 100 150 และ 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 360 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (26 องศาเซลเซียส)

2.3 ตรวจผลโดยนับจำนวนเอ็นโดสปอร์โดยการย้อมสีและนับด้วย counting chamber ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การทดสอบความทนทานของเอ็นโดสปอร์ที่แบคทีเรีย *B.subtilis* สร้างขึ้น ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ปฏิบัติดังนี้

3.1 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B.subtilis* ในอาหารเหลว N1 N2 N3 N4 และ N5 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 240 ชั่วโมง

3.2 นำไปแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 8 40 60 80 และ100 องศาเซลเซียสเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิปกติ (26 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที

3.3 นำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง PSA เพื่อนับจำนวนเซลที่มีชีวิตรอด โดยวิธี serial dilution plate method

4. ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis*

4.1 ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* ในรูปของเหลว

4.1.1 <u>การแปรรูปผลิตภัณฑ์เหลว โดยใช้หางนมเป็นสารนำพา 4 เท่า</u>

1. เลี้ยงแบคทีเรีย *B.subtilis*ในอาหารเหลว FFS1 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

2. เติมสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$ 0.1 M 10 มิลลิลิตร ลงไปในอาหารเหลว (ข้อ1) อัตรา 10 % ของปริมาตร

3. เติมหางนมลงไป 4 เท่า เขย่าให้เข้ากัน

4. บรรจุขวดแก้ว ปิดฝา วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

4.1.2 <u>การแปรรูปผลิตภัณฑ์เหลว โดยใช้หางนมเป็นสารนำพา 2 เท่า</u>

ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 4.1 แต่ลดปริมาณหางนมลงเหลือ 2 เท่า

ตรวจนับเซลแบคทีเรียเริ่มต้นและทุก ๆ 1 เดือน เพื่อนับเซลที่มีชีวิต โดยวิธี serial dilution plate technique เปรียบเทียบกับ การเลี้ยงบนอาหารเหลวFFS1 ที่ไม่มีการแปรรูปและในอาหาร PSB

4.2 ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* ในรูปผง

1. ปฏิบัติการทดลองเช่นเดียวกับ การทดลอง 4.1 (ข้อ1-2)

2. เติม Methyl cellulose 2.5 % อัตรา 1:1 ลงในสารละลาย (ข้อ1)

3. เติมผงทัลคัม (Talcum) ลงไป 4 เท่า คนให้เข้ากัน

4. นำไปผึ่งในที่ร่ม จนกระทั่งผงแป้งแห้งสนิท (ประมาณ 2 สัปดาห์) เก็บในถุงพลาสติกใส ปิดปาก วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

5. ตรวจนับเซลแบคทีเรียเริ่มต้นและทุก ๆ 1 เดือน เพื่อนับเซลที่มีชีวิต โดยวิธี serial dilution plate technique เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์แปรรูปแบคทีเรีย *B.subtilis* ที่เลี้ยงบนอาหาร PSA ซึ่งปฏิบัติดังนี้

- เลี้ยงแบคทีเรีย *B.subtilis* บนอาหารแข็ง PSA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- เติมสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$ 0.1 M 10 มิลลิลิตร ขูดเซลแบคทีเรีย
- นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
- รินเอาส่วนใสมาผสมกับ Methyl cellulose 2.5 % อัตรา 1:1
- เติมผงทัลคัม (Talcum) ลงไป 4 เท่า คนให้เข้ากัน

- นำไปผึ่งในที่ร่ม จนกระทั่งผงแป้งแห้งสนิท เก็บในถุงพลาสติกใส ปิดปาก วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

5. ศึกษาเปรียบเทียบการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

5.1. ศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เหลว

นำผลิตภัณฑ์เหลวที่ได้แยกเก็บเป็น 2 แหล่ง คือเก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) และอีกส่วนเก็บที่อุณหภูมิปกติ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) ตรวจผลจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดโดยวิธี serial dilution plate method ทุก ๆเดือน

5.2 ศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

นำผลิตภัณฑ์ผงที่ปรุงแต่งโดยใช้ทัลคัมเป็นสารนำพา บรรจุในถุงพลาสติกปิดฝา แยกเก็บเป็น 2 แหล่ง คือเก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) และอีกส่วนเก็บที่อุณหภูมิปกติ (อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) ปฏิบัติเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์เหลว (ข้อ 5.1)

6. การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ชนิดผง

โดยวิธีการแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก

วิธีปฏิบัติ

1. นำดินที่อบฆ่าเชื้อแล้วมาผสมกับ cell suspension ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดยใช้ปริมาณความเข้มข้นประมาณ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ทิ้งไว้ 24 ชม.

2. นำหัวพันธุ์ขิงที่ล้างทำความสะอาดแล้ว แช่ในผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ *B. subtilis* ปริมาณความเข้มข้นประมาณ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชม.

3. ปลูกในดินที่เตรียมไว้ โดยมีกรรมวิธีเปรียบเทียบคือ

- ปลูกขิงในดินที่ราดแบคทีเรีย *R. solanacearum* (C+)
- ปลูกขิงในดินอบฆ่าเชื้อ (C-)
- ปลูกขิงที่แช่ในผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ *B. subtilis* ที่แปรรูปจากการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PSA ปกติ

4. ตรวจผล โดยเช็คจำนวนต้นเหี่ยว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรค

เวลาและสถานที่ **เริ่มต้น** ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2551
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การทดสอบสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* เพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์

ผลการทดลองพบว่า หลังการเลี้ยงเชื้อ 240 วัน มีอาหาร 8 สูตรได้แก่ YP NB NTG GMP N1 B N2 และ N5 ที่แบคทีเรีย *B.subtilis* สามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ประมาณ 10^2สปอร์ต่อมิลลิลิตร หลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 360 ชั่วโมง พบว่า *B.subtilis* สามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ในอาหารทั้ง 15สูตร โดยที่ในสูตร N3 และ N4 แบคทีเรียสร้างเอ็นโดสปอร์ได้สูงสุด เท่ากับ 2.13×10^6 และ2.34×10^6สปอร์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงเชื้อจนครบ 480 ชั่วโมง พบว่า แบคทีเรียสามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ได้สูงสุดถึง10^8ในอาหาร 6 สูตร ได้แก่ N1 B N2 N5 N4 และ N3 โดยมีปริมาณเอ็นโดสปอร์เท่ากับ 1.10×10^8 1.38×10^8 1.40×10^8 1.43×10^8 2.48×10^8 และ 3.10×10^8สปอร์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

การทดสอบสูตรอาหารที่มีส่วนผสมของส่วนเหลือจากภาคเกษตร 6 สูตร พบว่า เมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *B.subtilis* ในอาหารที่มีส่วนผสมของเศษปลาหมักผสมกับกากถั่วเหลืองอัตรา 1:1 (FFS) แบคทีเรียสามารถสร้างเอ็นโดสปอร์ได้ปริมาณสูงภายใน 5 วัน คือสร้างเอ็นโดสปอร์ได้ถึง 2.1×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2)

ดังนั้นสูตรอาหารทีเหมาะสมในการนำไปแปรรูปคือ สูตร FFS1 ซึ่งมีส่วนผสมที่ราคาถูก หาง่าย และใช้เวลาในการเลี้ยงแบคทีเรียไม่นานมาก

2. การทดสอบความเร็วรอบที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* เพื่อกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์

ผลการทดลอง พบว่า หลังการเลี้ยงเชื้อในอาหาร N3 เป็นเวลา 360 วัน การเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 และ 200 รอบต่อมิลลิลิตร แบคทีเรียสร้างเอ็นโดสปอร์ได้สูงสุด โดยมีปริมาณเท่ากับ 7.1×10^8 และ 9.7×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ทั้งนี้โดยพบว่า การเพิ่มความเร็วรอบของการเขย่ามากขึ้นซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็จะทำให้ปริมาณการสร้างเอ็นโดสปอร์เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ (ตารางที่ 3)

3. การทดสอบความทนทานของเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียทดสอบสามารถทนทานทั้งในสภาพอุณหภูมิต่ำ 8 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงถึง 100 องศาเซลเซียส เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหาร 5 สูตร โดยพบว่า เมื่อแช่ในน้ำเย็นอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส แบคทีเรียยังคงมีชีวิตรอดถึงประมาณ 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ลดปริมาณลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (อุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส) ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และจากการทดสอบการทนทานในสภาพอุณหภูมิสูง พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิซึ่งใกล้เคียงกับสภาพแปลงปลูก แบคทีเรียสามารถมี

ชีวิตรอดประมาณ 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร โดยที่ปริมาณไม่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียประมาณ 10^7โคโลนีต่อมิลลิลิตร และในสภาพอุณหภูมิสูงถึง 100 องศาเซลเซียส แบคทีเรียก็ยังคงมีชีวิตรอดถึง 10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4)

จากการทดลองนี้ การตรวจผลจำเป็นต้องใช้วิธีการนับโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อโดยวิธี serial dilution plate method เพื่อตรวจสอบเซลที่มีชีวิตรอดเท่านั้น และจากลักษณะคุณสมบัติของแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ถ้าแบคทีเรียอยู่ในสภาพเป็นเซลและยังไม่สร้างเอ็นโดสปอร์ แบคทีเรียสามารถเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส (http://yalor.yru.ac.th/~dolah/notes/4034605-2-48/MM_404652038_12.doc) และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเซลแบคทีเรียจะตายลงจนไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ โดยเฉพาะถ้าอุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นการที่โคโลนีแบคทีเรียยังสามารถเจริญอยู่ได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งที่แช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 40-100 องศาเซลเซียส แสดงว่า เอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* เท่านั้นที่ยังทนต่อความร้อนและเจริญกลับมาเป็นเซลปกติได้ตามเดิม

4. ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis*

4.1 <u>ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* ในรูปของเหลว</u>

4.1.1 การแปรรูปผลิตภัณฑ์เหลว โดยใช้หางนมเป็นสารนำพา 4 เท่า

การทดลองแปรรูปผลิตภัณฑ์โดยเติมหางนมลงไป 4 เท่า พบว่า หลังจากเก็บผลิตภัณฑ์ไว้เป็นเวลา 2-3 เดือน ในสภาพอุณหภูมิห้อง ปริมาณเซลมีชีวิตของ Bs ลดลงไม่มากนัก แต่หลังจาก 3 เดือน ปริมาณเซลแบคทีเรียที่มีชีวิตเริ่มลดลงอย่างรวดเร็ว และเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 5 เดือน ปริมาณเซลแบคทีเรียลดลงจาก 10^7 เป็น 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเซลแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร FFS1 ซึ่งไม่มีการแปรรูป พบว่า ปริมาณเซลแบคทีเรียยังมีปริมาณถึง 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

4.1.2 การแปรรูปผลิตภัณฑ์เหลว โดยใช้หางนมเป็นสารนำพา 2 เท่า

การทดลองแปรรูปผลิตภัณฑ์โดยลดปริมาณหางนมลง 2 เท่า ผลการทดลอง พบว่า หลังการเก็บ 1 เดือน ปริมาณเซลมีชีวิตของแบคทีเรีย Bs ลดลงเหลือ 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร แล้วเพิ่มปริมาณเป็น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในเดือนที่ 2 จากนั้นลดลง เหลือ10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในเดือนที่ 3 และ4 และเมื่อเก็บผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 5 เดือน พบว่าปริมาณเซลที่มีชีวิตของ Bs กลับเพิ่มขึ้นเป็น 10^{10} โคโลนีต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณเท่ากับในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากอาหาร FFS1 ที่ไม่มีการเติมหางนม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเลี้ยง Bs ในอาหารPSB ที่เติมหางนมลงไป 2 เท่า เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ครบ 5 เดือนปริมาณ Bs ลดลงเหลือ 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร(ตารางที่ 7)

4.2 ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์แบคทีเรีย *B.subtilis* ในรูปผง

จากการทดลอง พบว่า การแปรรูปผลิตภัณฑ์โดยใช้ ทัลคัมและแป้งข้าวโพดเป็นสารพาหะ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมคือผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากแบคทีเรียที่ล้างบนอาหาร PSA โดยไม่มีการกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ พบว่า ปริมาณเซลแบคทีเรียเริ่มต้นไม่แตกต่างกัน คือเท่ากับ 10^8 cfu/ml. แต่เมื่อเก็บไว้ 5 เดือน พบว่า ไม่พบปริมาณเซลแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในกรรมวิธีควบคุม ในขณะที่กรรมวิธีที่แปรรูปจากการกระตุ้นเอ็นโดสปอร์ในอาหาร FFS1 ที่ใช้ทัลคัมและแป้งข้าวโพด ลดลงเหลือ 10^7 cfu/ml. (ตารางที่ 6)

เมื่อเปรียบเทียบขั้นตอนการผลิต พบว่า การใช้แป้งข้าวโพดจะค่อนข้างยุ่งยาก เนื่องจากแป้งข้าวโพดมีความมันลื่น การเกาะติดในขั้นตอนการผสมเชื้อค่อนข้างยาก ใช้เวลานาน แต่ข้อดีคือผลิตภัณฑ์ที่ได้ละลายน้ำได้ดีกว่าการใช้สารทัลคัม ไม่เหลือตะกอน และราคาไม่ต่างกัน

5. ศึกษาเปรียบเทียบการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

5.1. ศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เหลว

ผลการทดลองเปรียบเทียบการเก็บผลิตภัณฑ์เหลวที่อุณหภูมิห้อง และเก็บในตู้เย็น พบว่า เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์เป็นเวลา 5 เดือน ปริมาณเซล Bs จากทั้ง 2 แหล่งเก็บ มีปริมาณเพิ่มขึ้นจากปริมาณเซลเริ่มต้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตรเป็น10^{10} โคโลนีต่อมิลลิลิตร และ10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บในสภาพอุณหภูมิห้องและในตู้เย็น ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

5.2 ศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผง

ผลการทดลองเปรียบเทียบการเก็บผลิตภัณฑ์ผงที่อุณหภูมิห้อง และเก็บในตู้เย็น พบว่า เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ผงเป็นเวลา 5 เดือน ปริมาณเซล Bs จากทั้ง 2 แหล่งเก็บ ลดลงเท่า ๆ กัน คือ จากปริมาณเริ่มต้น 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เหลือ 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 8)

6. การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์ชนิดผง

โดยวิธีการแช่หัวพันธุ์ก่อนปลูก

ในการทดสอบประสิทธิภาพผง ในโรงเรือน พบว่า ในกรรมวิธีเปรียบเทียบ (C-) ปริมาณต้นขิงที่ปลูกเปรียบเทียบงอกเจริญเป็นต้นไม่ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้ทำการทดสอบอีก 2 ครั้ง ก็ยังประสบปัญหาเดิม จึงไม่สามารถตรวจผลได้ ในปีพ.ศ.2551 จะทำการทดสอบอีกครั้งโดยปรับวิธีการ โดยเพาะหัวพันธุ์ขิงให้งอกก่อนทดสอบ และ อีกส่วนหนึ่งจะไปทำการทดสอบในระดับแปลงปลูกที่จังหวัดลำปาง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า มีอาหารที่ช่วยกระตุ้นการการสร้างเอ็นโดสปอร์ของ *B.subtilis* สูงสุด ได้แก่ N1 B N2 N5 N4 N3 และ FFS1 สามารถกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ได้สูงถึง10^{8} สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยสูตร N3 สามารถกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *B.subtilis* ได้สูงสุดถึง 3.10 x 10^{8} แต่สูตรที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในขบวนการแปรรูปคือสูตร FFS1 เนื่องจากส่วนผสมมีราคาถูก หาซื้อง่าย และใช้เวลาการเลี้ยงในระยะสั้นที่สุด การเลี้ยงแบคทีเรียในสภาพเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 และ 200 รอบต่อนาที เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการสร้างเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรียทดสอบ และพบว่า แบคทีเรีย *B.subtilis* สามารถทนอุณหภูมิได้ต่ำถึง 8 องศาเซลเซียสและสูงถึง 100 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับสภาพแปลงปลูกปริมาณเอ็นโดสปอร์ไม่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมคือที่อุณหภูมิห้อง 25$\pm$2 องศาเซลเซียส

การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ผงโดยใช้สารทัลคัมและแป้งข้าวโพดเป็นสารนำพาปริมาณเซลแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดหลังการเก็บ 7 เดือนไม่มีความแตกต่างกัน แต่ปริมาณลดลงประมาณ 10 ล้านเซล ในขณะที่การแปรรูปจากแบคทีเรียที่เลี้ยงบนอาหาร PSA โดยไม่มีการกระตุ้นการสร้างเอ็นโดสปอร์ ไม่พบการรอดของเซลแบคทีเรีย *B.subtilis* หลังการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ 5 เดือน

การปรับวิธีการแปรรูปผลิตภัณฑ์เหลว โดยลดหางนมลง 2 เท่า พบว่า ปริมาณเซล Bs ที่มีชีวิตรอดมีค่าไม่คงที่ แต่ปริมาณกลับเพิ่มขึ้นจากปริมาณเซลเริ่มต้น เมื่อเก็บเป็นเวลา 5 เดือน และไม่มีความแตกต่างกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่เติมหางนม แต่จะมีปริมาณมากกว่าในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากอาหาร PSB

เปรียบเทียบการเก็บผลิตภัณฑ์ในสภาพอุณหภูมิห้องปกติและในตู้เย็น พบว่า เมื่อเก็บเป็นเวลา 5 เดือน ปริมาณเซล Bs ที่มีชีวิตรอดมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยในสภาพอุณหภูมิปกติมีปริมาณมากกว่าที่เก็บในตู้เย็น แต่สำหรับผลิตภัณฑ์ผงปริมาณเซล Bs ที่มีชีวิตรอด มีปริมาณลดลงเท่ากันทั้ง 2 แหล่งเก็บ

การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ผง จะทำการปรับวิธีการทดสอบในระดับโรงเรือนใหม่ในและจะทดสอบในระดับแปลงปลูกในปี พ.ศ.2551

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รัศมี ฐิติเกียรติพงษ์ , อรพรรณ วิเศษสังข์ และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2548. การใช้เชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิง. หน้า 90-105. *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

Parry, J.M., P.C.B. Turnbull, and J.R. Gibson .1988. A Colot Atlas on Bacillus species. Wolfe Medical Publication Ltd. (http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_3_002c.asp?info_id=237)

Norris J.R., R.C.W. Berkeley, N.A. Logan, and A.G. O'Donnell. 1981. The genera *Bacillus* ana *Sporolactobacillus,* p. 1711-1742. In M.P. Starr, H. Stolp, H.G. Truper, A. Balows, and H.G. Schlegel (ed.), The prokaryotes. A handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria, vol. 2. Springer-Verlag, New York

Retrieve by http://www.splammo. net/bact102/102/bacillus.html

Retrieve by http://www. microbiogroup.com/BS1.htm

Retrieve by วาสนา กิตติกนกรัตน์, ไวรุจ เดชมหิธกุล และเพ็ญจันทร์ เมฆวิจิตรแสง, 2547, "*Study of Formulation and Shelf-life of Bacillus subtilis TISTR 001 Product*", The 15th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology, "Sustainable Development of SMEs Through Biotechnology http://www.nowledge.biotec.or.th/doc_upload /200411495822 .doc

Retrieve by http://yalor.yru.ac.th/~dolah/notes/4034605-2-48/MM_404652038_12.doc

Retrieve by เพ็ญจันทร์ เมฆวิจิตรแสง,2546 การปรับปรุงผลผลิตของกระบวนการหมักสปอร์ของ *Bacillus subtilis* TISTR 001 เพื่อเป็นโพรไบโอติก

http://dcms.thailis.or.th/dcms/basic.php?institute_code=54&option=show&bib=193&query=Bacteria%20&doc_type=0

ตารางที่ 1 ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สร้างขึ้นในอาหาร 15 สูตร หลังการเลี้ยงเชื้อ 240 360 และ 480 ชั่วโมง ตามลำดับ

สูตรอาหาร	ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่เวลาต่าง ๆ (สปอร์/มิลลิลิตร)		
	240 ชั่วโมง (10 วัน)	360 ชั่วโมง (15 วัน)	480 ชั่วโมง (20 วัน)
CA	0	1.02×10^2	1.42×10^2
MY	0	3.36×10^2	5.70×10^3
NGA	0	7.28×10^3	2.60×10^5
PSB	0	8.48×10^3	3.00×10^5
CPG	0	8.97×10^3	7.00×10^5
YP	0	1.36×10^4	1.04×10^6
NB	1.3×10^2	6.45×10^4	1.46×10^6
NTG	1.27×10^2	8.38×10^4	2.00×10^6
GMP	1.63×10^2	3.94×10^5	1.04×10^7
N1	2.23×10^2	7.33×10^5	1.10×10^8
B	2.46×10^2	8.26×10^5	1.38×10^8
N2	3.34×10^2	8.28×10^5	1.40×10^8
N5	3.36×10^2	8.63×10^5	1.43×10^8
N4	0	2.13×10^6	2.48×10^8
N3	0	2.34×10^6	3.10×10^8

ตารางที่ 2 ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สร้างขึ้นในอาหารที่มีส่วนผสมของส่วนเหลือจากภาคเกษตร 6 สูตร หลังการเลี้ยงเชื้อ 72 และ120 ชั่วโมง ตามลำดับ

สูตรอาหาร	ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่เวลาต่าง ๆ (สปอร์/มิลลิลิตร)	
	72 ชั่วโมง (3 วัน)	120 ชั่วโมง (5 วัน)
FFS1	1.9×10^6	2.1×10^8
FFS2	1.1×10^6	9.6×10^7
FM1	1.2×10^6	7.3×10^7
FM2	8.5×10^5	8.2×10^6
SM1	8.1×10^5	2.0×10^6
SM2	2.8×10^5	1.9×10^6

ตารางที่ 3 ปริมาณเอ็นโดสปอร์ที่แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สร้างขึ้นในอาหาร N3 (Parry,J.M. และคณะ,1988) ในสภาพเขย่าที่ความเร็วรอบต่างๆ เป็นเวลา 360 วัน ณ อุณหภูมิห้อง (26 องศาเซลเซียส)

ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที)	**ปริมาณเอ็นโดสปอร์ (สปอร์/มิลลิลิตร)**
50	4.10×10^6
100	5.60×10^6
150	7.10×10^8
200	9.70×10^8

ตารางที่ 4 ปริมาณเอ็นโดสปอร์ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่มีชีวิตรอด ในอาหาร N3 (Parry,J.M.และคณะ,1988) ที่แช่ในน้ำอุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที

อุณหภูมิ (^{0}C)	**ปริมาณเอ็นโดสปอร์ (สปอร์/มิลลิลิตร)**
8	9.20×10^6
26	1.60×10^7
40	1.90×10^7
60	1.38×10^6
80	1.43×10^4
100	1.38×10^4

ตารางที่ 5 ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์แปรรูปชนิดเหลวที่ใช้หางนมเป็นสารนำพา 2 เท่า เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่เลี้ยงในอาหารเศษปลาหมักผสมกากถั่วเหลือง (FFS1) ที่ไม่มีการแปรรูป เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25± 2 ^{0}C)เป็นเวลา 5 เดือน

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย (โคโลนี/มิลลิลิตร)**	
	ในอาหาร FFS1 +หางนม 4 เท่า	**ในอาหารFFS1**
0 [1/]	1.1×10^8	1.0×10^8
1	0.7×10^8	5.3×10^8
2	0.2×10^8	5.9×10^7
3	5.3×10^6	8.0×10^7
4	2.8×10^6	8.6×10^7
5	3.3×10^5	8.3×10^7

[1/] ปริมาณเซลแบคทีเรียเริ่มต้นหลังการแปรรูป

ตารางที่ 6 ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารทัลคัม และแป้งข้าวโพดเป็นสารนำพาเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่เลี้ยงบนอาหาร PSA ก่อนแปรรูป เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25± 2 ^{0}C) เป็นเวลา 7 เดือน

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย (โคโลนี/มิลลิลิตร)**		
	ทัลคัม (อาหาร FFS1)[2/]	**แป้งข้าวโพด (อาหาร FFS1)**[2/]	**ทัลคัม (อาหาร PSA)**[3/]
0 [1/]	1.2×10^8	1.5×10^8	2.1×10^8
1	0.9×10^8	0.6×10^8	1.5×10^8
2	1.7×10^7	1.5×10^7	2.0×10^8
3	2.2×10^7	1.7×10^7	1.5×10^7
4	1.3×10^7	1.5×10^7	4.3×10^7
5	3.2×10^7	3.0×10^7	0
6	1.0×10^7	9.0×10^7	0
7	1.5×10^7	2.5×10^7	0

[1/] ปริมาณเซลแบคทีเรียเริ่มต้นหลังการแปรรูป [2/] ผลิตภัณฑ์แปรรูปที่เลี้ยงบนอาหาร FFS1 ก่อนแปรรูป

[3/] ผลิตภัณฑ์แปรรูปที่เลี้ยงบนอาหาร PSA ก่อนแปรรูป

ตารางที่ 7. ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์แปรรูปชนิดเหลวที่ใช้หางนมเป็นสารนำพา 2 เท่า เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่เลี้ยงในอาหารเศษปลาหมักผสมกากถั่วเหลือง (FFS1) ที่ไม่มีการแปรรูป และในอาหาร PSB เก็บที่อุณหภูมิห้อง (25± 2 ^{0}C) เป็นเวลา 5 เดือน

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย (โคโลนี/มิลลิลิตร)**		
	ในอาหารFFS1 + หางนม 2 เท่า	**ในอาหารFFS1**	**ในอาหาร PSB + หางนม 2 เท่า**
0[1/]	5.3×10^{8}	5.5×10^{8}	8.5×10^{8}
1	1.0×10^{7}	8.3×10^{8}	1.0×10^{6}
2	7.5×10^{8}	4.0×10^{8}	2.0×10^{5}
3	1.0×10^{7}	5.0×10^{9}	4.0×10^{6}
4	5.0×10^{7}	1.1×10^{10}	1.0×10^{7}
5	6.1×10^{10}	1.0×10^{10}	1.0×10^{7}

[1/] ปริมาณเซลแบคทีเรียเริ่มต้นหลังการแปรรูป

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์แปรรูปชนิดเหลว ที่เก็บที่อุณหภูมิปกติ (25±2 ^{o}C) อุณหภูมิตู้เย็น (4 ^{o}C) โดยใช้หางนม 2 เท่าเป็นสารนำพา

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย (โคโลนี/มิลลิลิตร)**	
	อุณหภูมิปกติ (25±2 ^{o}C)	**อุณหภูมิตู้เย็น** (4 ^{o}C)
0[1/]	5.3×10^{8}	5.3×10^{8}
1	1.0×10^{7}	2.5×10^{8}
2	7.5×10^{8}	1.5×10^{10}
3	1.0×10^{7}	2.6×10^{5}
4	5.0×10^{7}	4.9×10^{10}
5	6.1×10^{10}	6.5×10^{9}

[1/] ปริมาณเซลแบคทีเรียเริ่มต้นหลังการแปรรูป

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์แปรรูปชนิดผง ที่เก็บที่อุณหภูมิปกติ (25±2 °C) อุณหภูมิตู้เย็น (4 °C) โดยใช้ทัลคัมเป็นสารนำพา

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย (โคโลนี/มิลลิลิตร)**	
	อุณหภูมิปกติ (25±2 °C)	**อุณหภูมิตู้เย็น** (4 °C)
0[1/]	6.7×10^8	6.7×10^8
1	6.0×10^8	1.2×10^8
2	7.5×10^7	1.5×10^8
3	2.2×10^7	1.7×10^7
4	4.3×10^7	1.1×10^7
5	1.0×10^7	1.7×10^7

[1/] ปริมาณเซลแบคทีเรียเริ่มต้นหลังการแปรรูป

ภาคผนวก

สูตรอาหารทดสอบ 15 สูตร

Malt-yeast extract (MY)

Malt extract	3	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Glucose	10.00	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Peptone-calcium carbonate

Peptone	5	กรัม
$CaCO_3$	3	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

CPG

Casamino acid	1	กรัม
Peptone	10	กรัม
Glucose	10	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

NGA

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

PSB (wakimoto'broth)

Potato	300	กรัม
Sucrose	20	กรัม
$Ca(Na_3)_2 4H_2O$	0.5	กรัม
$NaHPO_4 . 12H_2O$	2	กรัม
Peptone	5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

B

Yeast extract	1	กรัม
Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
$MnSO_4 . H_2O$	50	มิลลิกรัม
$CaCl_2 . 2H_2O$	100	มิลลิกรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	500	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

GMP

Glucose	15	กรัม
Peptone	6	กรัม
Meat extract	3	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
NaCl	5	กรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	0.25	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

YP

Yeast extract	5	กรัม
Peptone	10	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

NB

Peptone	5	กรัม
Beef extract	3	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

NTG

Glucose	20	กรัม
KH_2PO_4	0.4	กรัม
$MgSO_4 . 7H_2O$	0.2	กรัม
NaCl	1	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N1 :Norris J.R และคณะ (1981)

	Peptone	5	กรัม
	Meat extract	3	กรัม
	$Mn_2SO_4 . H_2O$	0.005	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N2 : Parry J.M และคณะ (1988)

	$Mn_2SO_4 . H_2O$	0.03	กรัม
	KH_2PO_4	0.25	กรัม
	Beef extract	3	กรัม
	Peptone	5	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N3 : Parry J.M และคณะ (1988)

	Peptone	15	กรัม
	Yeast extract	3	กรัม
	NaCl	6	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N4

	$Ca(Na_3)_24H_2O$	0.5	กรัม
	$NaHPO_4 . 12H_2O$	2	กรัม
	Peptone	15	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

N5

	$Ca(Na_3)_24H_2O$	0.5	กรัม
	$NaHPO_4 . 12H_2O$	0.5	กรัม
	Peptone	5	กรัม
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

SM1	กากถั่วเหลือง	10	กรัม
	กากน้ำตาล (โมลาสส์;cane molass)	10	มิลลิลิตร
	น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

SM2

กากถั่วเหลือง	10	กรัม
กากน้ำตาล (โมลาสส์;cane molass)	5.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

FM1

ปลาป่น	10	กรัม
กากน้ำตาล (โมลาสส์;cane molass)	10	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

FM2

ปลาป่น	10	กรัม
โมลาสส์ (cane molass)	5.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

FFS1

โปรตีนปลา (เศษปลาหมัก)	10	มิลลิลิตร
กากถั่วเหลือง	10	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

FFS2

โปรตีนปลา (เศษปลาหมัก)	10	มิลลิลิตร
กากถั่วเหลือง	5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Figure 1 *Bacillus subtilis* , on potato sucrose agar**,** 48 hours

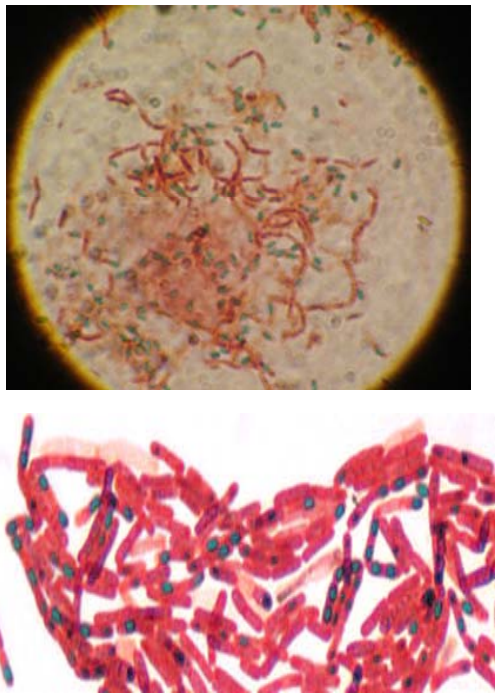


Figure 2 Endospore of *Bacillus subtilis* , malachite green stained (green color), 100 X

Figure 3 Liquid products of *Bacillus subtilis* endospore, skim milk added use for carrier

Figure 4 Wettable powder products of *Bacillus subtilis* endospore, talcum added use for carrier

การพัฒนาการผลิตเชื้อ *Bacillus subtilis* ในเชิงพาณิชย์

วงศ์ บุญสืบสกุล[1]
ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[1] บูรณี พั่ววงค์แพทย์[1] สุรีย์พร บัวอาจ[1] วิวัฒน์ ภานุอำไพ[2]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช[1]
ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่[2]

บทคัดย่อ

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและต่อเนื่องพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ DOA-WB4 จำแนกได้ว่าเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* ตรวจเอกสารได้ข้อมูลว่าเชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ (Common micro flora) โดยเฉพาะในดินบริเวณรากพืช (rhizoplane) เชื้อนี้เป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายในห่วงลูกโซ่อาหาร(food chain) สามารถย่อยสลายวัสดุธรรมชาติได้อย่างกว้างขวาง สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (endospore) ที่ทนต่อความแปรปรวนของสภาพธรรมชาติได้ดีโดยเฉพาะสภาพที่แห้งแล้งขาดแคลนอาหาร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการมีชีวิตอยู่รอดในธรรมชาติระหว่าง *B. subtilis* กับเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยว นอกจากนี้เชื้อ *B. subtilis* สามารถมีชีวิตอยู่รอดในธรรมชาติได้เหนือกว่าเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวและมีคุณสมบัติทางชีวเคมีในการเจริญในอาหารนมได้เป็นอย่างดี ได้ทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตใน ห้องปฏิบัติการของเชื้อ DOA-WB4 และทดสอบการเพิ่มปริมาณเชื้อในอาหารนมชนิดต่าง ๆ ที่มีประสิทธิภาพและได้วิธีการต่าง ๆ ที่ไปปรับให้เกษตรกรสามารถไปเลี้ยงเพิ่มเชื้อ DOA-WB4 ปริมาณมากได้ โดยการทดสอบพัฒนาเป็นชุดสำเร็จใช้ควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกษตรกรสามารถทำได้เอง ซึ่งขณะนี้อยู่ในระหว่างตรวจสอบอายุการใช้งานของชุดสำเร็จใช้ควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง

คำนำ

Ralstonia solanacearum สาเหตุโรคเหี่ยวของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด ปัจจุบันถูกจัดให้เป็นโรคที่สำคัญมากที่สุดของโลกโรคหนึ่ง เพราะสามารถทำให้เกิดโรคกับพืชต่าง ๆ มากกว่า 200 ชนิด และที่สำคัญยังไม่มีวิธีการใดที่สามารถควบคุมโรคนี้ได้ผลดีพอโดยเฉพาะการใช้สารเคมีไม่แนะนำให้ใช้แนวทางในการควบคุมโรคนี้ต้องเน้นที่การป้องกัน เพราะเชื้อสาเหตุโรคนี้มีพืชอาศัยกว้างขวาง สามารถอยู่รอดในดินได้ (soil born disease) สามารถแพร่ระบาดไปกับน้ำได้เป็นอย่างดี และที่สำคัญสามารถติดไปกับส่วนขยายพันธุ์พืชได้ ในประเทศไทยโรคนี้เป็นโรคที่

รหัสโครงการ 07-01-49-06

สำคัญที่ทำให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา ถั่วลิสง พริกต่าง ๆ มะเขือต่าง ๆ งาและยาสูบ เป็นต้น สำหรับการป้องกันกำจัด มีรายงานผลการทดลองที่ดำเนินการก่อนหน้านี้ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* WB4 (BsWB4) ที่แยกได้จากดินบริเวณรากต้นมันฝรั่งที่ไม่เป็นโรคในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคสามารถป้องกันควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ได้ และพบว่าการใช้เชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวเพียงอย่างเดียวสามารถควบคุมการเกิดโรคนี้ได้คุ้มทุนที่สุด ซึ่งถ้ามีการศึกษาหาวิธีการผลิตเชื้อ BsWB4 ในปริมาณมากเพื่อให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ในการควบคุมโรคดังกล่าวได้ จะเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับเกษตรกรผู้เพาะปลูกพืชต่าง ๆ ที่ถูกเชื้อนี้เข้าทำลายโดยเฉพาะมันฝรั่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางโรคพืชวิทยาและจุลชีววิทยา

วิธีการ

วิธีการดำเนินการวิจัย แบ่งเป็นขั้นตอน ดังนี้

1. ตรวจเอกสารคุณสมบัติของเชื้อและทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อหลาย ๆ ชนิด
2. การเชื้อในปริมาณมากด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมและคุ้มทุนที่สุด
3. เก็บรักษาเชื้อในรูปคลังเชื้อที่ 4 องศาเซลเซียส

ผลการทดลองและวิจารณ์

ตรวจเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่า เชื้อ *Bacillus subtilis* เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ (Common micro flora) เป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายในห่วงลูกโซ่อาหาร(food chain) สามารถย่อยสลายวัสดุธรรมชาติได้อย่างกว้างขวาง สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (endospore) ที่ทนต่อความแปรปรวนของสภาพธรรมชาติได้ดีโดยเฉพาะสภาพที่แห้งแล้งขาดแคลนอาหาร ซึ่งเมื่อเปรียนเทียบความสามารถในการมีชีวิตอยู่รอดในธรรมชาติระหว่าง *B. subtilis* กับเชื้อ *R. solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวแล้ว เชื้อ *B. subtilis* สามารถมีชีวิตอยู่รอดในธรรมชาติได้เหนือกว่าและมีคุณสมบัติทางชีวเคมีในการเจริญในอาหารนมได้เป็นอย่างดี จึงได้ทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตใน ห้องปฏิบัติการของเชื้อ DOA-WB4 และทดสอบการเพิ่มปริมาณเชื้อในอาหารนมชนิดต่าง ๆ ที่มีประสิทธิภาพและได้วิธีการต่าง ๆ ที่ไปปรับให้เกษตรกรสามารถไปเลี้ยงเพิ่มเชื้อ DOA-WB4 ปริมาณมาก ได้มีการทดสอบพัฒนาเป็นชุดสำเร็จ

ใช้ควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกษตรกรสามารถทำได้เอง ซึ่งขณะนี้อยู่ในระหว่างตรวจสอบอายุการใช้งานของชุดสำเร็จใช้ควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

(อยู่ในระหว่างดำเนินการทดลอง)

เอกสารอ้างอิง

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, วนิดา ฐิตะฐานและสุเนตตรา เอี่ยมวิจิตร 2540. การศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2540 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 11 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณ์และวนิดา ฐิตะฐาน 2543. การพัฒนาชุดตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในขบวนการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2543 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 17 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุลและรุ่งนภา คงสุวรรณ์ 2546. การพัฒนาชุดตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากน้ำและดินในเขตชลประทานพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2546 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล, วิวัฒน์ ภานุอำไพ, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณ์และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ 2548. การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtillis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า.

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.

Asplras, R.B. and A.R. de le Cruz. 1986. Potential biological control of bacterial with in tomato and potato with Bacillus polymyxa FUB and *Pseudomonas fluorescens*. In:Persley, G.J. (ed.). Bacterial wilt disease in Asia and the south Pacific. ACIAR Proceedings 13, Canberra, Australia. P. 69-92.

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.

Devaux, A., D. Michelante, and M. Bicamumpaka. 1987. Combination of rotation and resistance to control bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum*) in Rwanda. European Asepolation Potato Research X Triennial Conference Abstracts. P. 100-101.

French, E.R. 1994. Strategies for integrated control of bacterial wilt of pottoes. In:Hayward, A.C. and G.L. Hartman (eds.) Bacterial wilt: The disease and its acusative agent, *Pseudomonas solanacearum*. CAB International, U.K. 288 p.

French, E.R., L. Gutarra, and G. Vilchez. 1975. Field survival of *Pseudomonas solanacearum* race 3 in Peru. European Association Potato Research VI Triennial Conference Paper, P. 96.

Frenc, E.R., P. Aley. E. Torres, and U. Nydegger. 1993. Diversity of *Pseudomonas solanacearum* in Peru and Brazil, In: Hartman, G.L. and A.C. Hayward (eds.) Bacterial wilt. Proceedings of an International conference held at Kaohsiung, Taiwan. 28-31 October 1992. ACIAR Proceedlings No. 45. Canberra, Sustralia. P. 70-77.

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.

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.

Lloyd, A.B. 1976. Bacterial wilt in a coid-temperature climate of Australia. In: Planning conference and wordshop on the ecology and control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. North Carolina State University, Raleigh, NC. USA. P. 134-136.

Martin, C. and E.R. French 1985. Bacterial wilt of potato Technioal Information Builetin No. 13. CIP Lima Peru.

Mundundu, N. and N.W.B. Bouwe. 1984. Apercu Bur nos connals-sanoes actueles sur la bacteriose de la pomme de terre au Zaire et reduction du taux Infection par sesotion. In: La reacherche sur le fle'trissement bacterien ouse par *Pseudomonas solanacearum* on Afrique Centrale, PRAPAC-CIP, B.P. 73, Ruhengeri, Rwanda, P. 46-51.

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.

Rueda, J.L. 1980. Seed potato improvement under bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith) pressure: An Integrated approach. Ph.D. Thesis, University of Reading, U.K. 266 p.

Saneviratne, S.N. 1988. Soil survivel of *Pseudomonas solanacearum*. In: Bacterial disease of the potato. Report of the Planning onference on Bacterial Disease of the potato, Mrch, 15-20, 1987. Lima, Peru, CIP. Lima, Peru. P. 85-91.

Shekhawat, Q.S., S.K. Ohakrabarti, and A.V. Gadewar. 1992. Potato bacterial wilt In: India. Central Potato Research Institute-ICAR, Tech. Bull. 28. Shirrte, HP, India. 52 p.

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.

Vander Zaag, P. 1986. Potato production under *Pseudomonas solanacearum* conditions. Sources and management of planting materials. In: Persley, G.J. (ed.) Bacterial wilt disease in Asia and South Pacific. ACIAR Proceedings 13, Canberra, Australia. P. 84-88.

ศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชส่งออก (หน่อไม้ฝรั่งและถั่วลันเตา) และพืชนำเข้า (พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ)

Study on the Species of Insect Pests of Exported Crops (Asparagus and Garden Pea) and Imported Crops (*Cucumis* spp. and *Brassica* spp.)

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

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชส่งออก (หน่อไม้ฝรั่งและถั่วลันเตา) และพืชนำเข้า (พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ) ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 โดยสืบค้นข้อมูลและสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำ จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าว ในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก นำตัวอย่างมาศึกษาทางอนุกรมวิธาน ผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดและตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ดังนี้ **หน่อไม้ฝรั่ง** ตรวจเอกสารได้ข้อมูลแมลงศัตรู 11 ชนิด และจากการสำรวจ พบแมลงศัตรู 3 ชนิด ได้แก่ *Scirtothrips dorsalis* Hood, *Frankliniella schultzei* Trybom และ *Chirothrips spiniceps* Hood **ถั่วลันเตา** : ตรวจเอกสารได้ข้อมูลแมลงศัตรู 7 ชนิด และสำรวจพบแมลงศัตรู 4 ชนิด ได้แก่ *Aphis craccivora* Koch, *Frankliniella occidentalis* Pergande, *Megalurothrips usitatus* Bagnall และ *Thrips palmi* Karny **พืชตระกูลแตง** : ตรวจเอกสารได้ข้อมูลแมลงศัตรู 9 ชนิด และสำรวจพบแมลงศัตรู 5 ชนิด ได้แก่ *Aphis gossypii* Glover, *Frankliniella schultzei* Trybom และ *Thrips palmi* Karny และด้วงเต่าแตงอีก 2 ชนิด **พืชตระกูลกะหล่ำ** : ตรวจเอกสารได้ข้อมูลแมลงศัตรู 18 ชนิด และสำรวจพบแมลงศัตรู 3 ชนิด ได้แก่ *Myzus percicae* (Sulzer), *Plutella xylostella* Linnaeus และ *Trichoplusia ni* Hubner การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุด ดำเนินการต่อในปี 2552

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-01-01-51

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม รายได้จากการส่งออกของประเทศ ส่วนใหญ่มาจากสินค้าเกษตร เช่น ไม้ดอก พืชผัก และไม้ผล จากการเปิดเสรีทางการค้าทำให้ประเทศไทยในฐานะประเทศสมาชิกองค์การค้าโลก (World Trade Organization) ต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตร ภายใต้ความตกลงว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on Application of Sanitary and Phytosanitary Measure หรือ SPS) ซึ่งระบุไว้ชัดเจนว่า ประเทศสมาชิกมีสิทธิ์และพันธกรณีพื้นฐาน (right and obligation) ในการกำหนดมาตรการสุขอนามัยพืชจากต่างประเทศ มิให้เข้าไปเป็นอันตรายหรือเกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช โดยวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis : PRA) อาจจะเป็นโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และวัชพืช ชนิดใดชนิดหนึ่ง ที่เล็ดลอดติดมากับสินค้าเกษตรที่นำเข้า โดยที่ประเทศผู้นำเข้าจะต้องมีการขอบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และข้อมูลด้านศัตรูพืช แต่ละชนิดของสินค้าเกษตรนั้น ๆ ซึ่งประเทศผู้ส่งออกสินค้าเกษตรจะต้องเป็นผู้จัดทำ หากประเทศผู้ส่งออกไม่มีบัญชีรายชื่อศัตรูพืชและข้อมูลศัตรูพืชที่พร้อม หรือครบถ้วนตามความต้องการของผู้นำเข้า ย่อมส่งผลให้การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชไม่อาจกระทำได้ นำไปสู่การกีดกันทางการค้า โดยไม่ได้รับอนุญาตให้นำเข้าสินค้าเกษตรนั้น

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชส่งออก ได้แก่ หน่อไม้ฝรั่ง และถั่วลันเตา และพืชนำเข้า ได้แก่ พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำ มีความจำเป็นต้องเร่งดำเนินการเพื่อเป็นข้อมูลจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชที่ถูกต้องทางวิทยาศาสตร์เป็นปัจจุบันและสามารถตรวจสอบได้จากตัวอย่างแมลงที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง เป็นการเตรียมความพร้อมด้านข้อมูลของศัตรูพืชสำหรับส่งให้ประเทศผู้นำเข้าเมื่อมีการร้องขอซึ่งจะช่วยให้เกิดความสะดวกและรวดเร็วในการเจรจาต่อ รองทางการค้ากับประเทศคู่ค้าและเป็นการเพิ่มโอกาสในการเปิดตลาดการค้ากับประเทศผู้นำเข้ารายอื่น ๆ ต่อไป อีกทั้งใช้ตรวจสอบกับบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืชนำเข้าที่ประเทศผู้นำเข้าส่งมาเพื่อการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในการพิจารณาการนำเข้าสินค้าเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลงศัตรูพืช ได้แก่ สวิงจับแมลง กรรไกรตัดกิ่ง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ กล่องรักษาความเย็น ขวดฆ่าแมลง แว่นขยาย (กำลังขยาย 20X) ขวดดองแมลง สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ 70-80% AGA ฯลฯ

2. อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง โดยวิธีการอบแห้ง ได้แก่ เข็มปักแมลง ไม้จัดรูปร่างแมลง (setting board) ปากคีบ ตู้อบแมลง ฯลฯ

3. อุปกรณ์ที่ใช้ทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ 60-100% โซเดียม-ไฮดรอกไซด์ โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ไซลีน โคลฟออย แคนาดาบัลซัม สารละลายฮอยเออร์ ฯลฯ บีคเกอร์ เตาไฟฟ้า ตะเกียงแอลกอฮอล์ แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์ ตู้อบสไลด์

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป

5. กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ stereo microscope

6. คอมพิวเตอร์ และอุปกรณ์อื่นที่ประกอบคอมพิวเตอร์

7. เอกสารประกอบการวิเคราะห์ชนิดแมลงอันดับต่างๆ

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดศัตรูพืชจากเอกสารที่มีรายงานในประเทศไทย

2. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชส่งออก 2 พืช ได้แก่ หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา และพืชนำเข้า ได้แก่ พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำ จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าว ในเขตภาคเหนือ กลางและภาคตะวันตก โดยใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่งหรือต้นพืชให้แมลงศัตรูพืชตกลงมาบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ / กิ่ง / ยอดพืชที่มีแมลงศัตรูพืชเกาะอยู่ด้วยกรรไกร ใช้พู่กันเขี่ยแมลงใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง หรือนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชพร้อมพืชใส่ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษ เก็บตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น ภายในบรรจุน้ำแข็งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน (เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน) และตัวหนอน (ผีเสื้อและแมลงวันผลไม้) ต้องนำตัวอย่างนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย

3. บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรูพืช และข้อมูลอื่นที่สำคัญ ได้แก่ ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ

4. จัดเตรียมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชสำหรับวิเคราะห์ชนิดโดยการจัดรูปร่าง หรือทำสไลด์ถาวร หรืออบแห้ง

5. ตรวจวิเคราะห์ชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้องจุลทรรศน์และวิเคราะห์ชนิดด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงประกอบการเปรียบ เทียบกับตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์

6. จัดทำป้ายและบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนแผ่นป้ายบันทึกที่ต้องติดไว้กับตัวอย่างแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร วัน / เดือน / ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งวัน / เดือน / ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด

7. เก็บรักษาตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยแล้วไว้ในพิพิธภัณฑ์โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากล แมลงศัตรูพืชทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องมีตัวอย่างจริงเก็บรักษาไว้เพื่อการตรวจสอบ / สืบค้น / อ้างอิง

ระยะเวลา (เริ่มต้น – สิ้นสุด)

เวลา : เดือนตุลาคม 2550 - เดือนกันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ

สถานที่ : 1. แปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำทุกภาคของประเทศไทย

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการสืบค้นและตรวจเอกสารแมลงศัตรูพืชส่งออก (หน่อไม้ฝรั่ง และถั่วลันเตา) และพืชนำเข้า (พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ) ที่มีอยู่ในประเทศไทย ได้ข้อมูลดังนี้ ถั่วลันเตา มีแมลงศัตรู 7 ชนิด หน่อไม้ฝรั่ง มีแมลงศัตรู 11 ชนิด พืชตระกูลแตง มีแมลงศัตรู 9 ชนิดและพืชตระกูลกะหล่ำ มีแมลงศัตรู 18 ชนิด (Wongsiri, 1991)

ผลการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูพืชส่งออก (หน่อไม้ฝรั่ง และถั่วลันเตา) และพืชนำเข้า (พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำ) จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าวในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 ผลการตรวจวิเคราะห์ตามหลักอนุกรมวิธานและตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง สามารถวิเคราะห์ชนิดแมลง ศัตรูพืชของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำ ได้ดังตารางที่ 1 และจากการสำรวจครั้งนี้พบด้วงเต่าแดงอีก 2 ชนิด ซึ่งอยู่ระหว่างการจำแนกชนิด เพื่อหาชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาชนิดแมลงศัตรูพืชการส่งออก (หน่อไม้ฝรั่งและถั่วลันเตา) และพืชนำเข้า (พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ) ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 โดยสืบค้นข้อมูล และสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำ จากแหล่งปลูกพืชดังกล่าวในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันตก ผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดและตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง ดังนี้ **หน่อไม้ฝรั่ง** ตรวจเอกสารได้ข้อมูลแมลงศัตรู 11 ชนิด และ สำรวจพบแมลงศัตรู 3 ชนิด ได้แก่ *Scirtothrips dorsalis*

Hood, *Frankliniella schultzei* Trybom และ *Chirothrips spiniceps* Hood **ถั่วลันเตา** : ตรวจเอกสารได้ข้อมูลแมลงศัตรู 7 ชนิด และสำรวจพบแมลงศัตรู 4 ชนิด ได้แก่ *Aphis craccivora* Koch, *Frankliniella occidentalis* Pergande, *Megalurothrips usitatus* Bagnall และ *Thrips palmi* Karny **พืชตระกูลแตง** : ตรวจเอกสารได้ข้อมูลแมลงศัตรู 9 ชนิด และสำรวจพบแมลงศัตรู 5 ชนิด ได้แก่ *Aphis gossypii* Glover, *Frankliniella schultzei* Trybom และ *Thrips palmi* Karn และด้วงเต่าแตงอีก 2 ชนิด **พืชตระกูลกะหล่ำ** : ตรวจเอกสารได้ข้อมูลแมลงศัตรู 18 ชนิด และสำรวจพบแมลงศัตรู 3 ชนิด ได้แก่ *Myzus percicae* (Sulzer), *Plutella xylostella* Linnaeus และ *Trichoplusia ni* Hubner

เอกสารอ้างอิง

Wangsiri N. 1991. **List of Insect, Mite and Other Zoological Pests of Economic Plant in Thailand.** Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture. Bangkok, 168 pp.

ตารางที่ 1 รายชื่อแมลงศัตรูพืชของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำที่สำรวจพบในช่วงเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2551

ชื่อพืช	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	อันดับ	วงศ์	ลักษณะการทำลาย	สถานที่พบ
หน่อไม้ฝรั่ง	เพลี้ยไฟพริก Chilli Thrips	*Scirtothrips dorsalis* Hood	Thysanoptera	Thripidae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
	เพลี้ยไฟดอกไม้ Flower Thrips	*Frankliniella schultzei* Trybom	Thysanoptera	Thripidae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.ดำเนินสะดวก จ.ราชบุรี
	เพลี้ยไฟ Thrips	*Chirothrips spiniceps* Hood	Thysanoptera	Thripidae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม
ถั่วลันเตา	เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก Western Flower Thrips	*Frankliniella occidentalis* Pergande	Thysanoptera	Thripidae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่
	เพลี้ยไฟดอกถั่ว Cowpea Thrips	*Megalurothrips usitatus* Bagnall	Thysanoptera	Thripidae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง
	เพลี้ยไฟฝ้าย Cotton Thrips	*Thrips palmi* Karny	Thysanoptera	Thripidae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง
	เพลี้ยอ่อนถั่ว Cowpea aphid	*Aphis cracivora* Koch	Homoptera	Aphididae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง

ชื่อพืช	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	อันดับ	วงศ์	ลักษณะการทำลาย	สถานที่พบ
พืชตระกูลแตง	เพลี้ยไฟดอกไม้ Flower Thrips	*Frankliniella schultzei* Trybom	Thysanoptera	Thripidae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.หุบกะพง จ.เพชรบุรี
	เพลี้ยไฟฝ้าย Cotton thrips	*Thrips palmi* Karny	Thysanoptera	Thripidae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.วังชิ้น จ.แพร่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง
	เพลี้ยอ่อนฝ้าย Cotton Aphid	*Aphis gossypii*	Homoptera	Aphididae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
พืชตระกูลกะหล่ำ (กะหล่ำหัวใจ)	เพลี้ยอ่อนท้อ Green Peach Aphid	*Myzus percicae* (Sulzer)	Homoptera	Aphididae	ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน	อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่
	หนอนใยผัก Diamondback Moth	*Plutella xylostella* (Linnaeus)	Lepidoptera	Yponomeu-tidae	ตัวหนอนกัดกินใบ	อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่
	หนอนคืบกะหล่ำ Cabbage looper	*Trichoplusia ni* (Hubner)	Lepidoptera	Noctuidae	ตัวหนอนกัดกินใบ	อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่

การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชส่งออก ได้แก่ หน่อไม้ฝรั่งและถั่วลันเตา พืชนำเข้า ได้แก่ พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกระหล่ำ

Diseases Survey and Diagnosis for Exported Plant : Asparagus and Pea, Imported plant : Cucumber and Crucifer

พรพิมล อธิปัญญาคม พีระวรรณ พัฒนวิภาส สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ทัศนาพร ทัศคร ชนินทร ดวงสอาด ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ตรวจค้นเอกสารและรวบรวมรายชื่อโรคพืชของโรคของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตาพืช พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ ที่เกิดในประเทศไทยพบโรคพืชที่เกิดจากรา แบคทีเรีย ไวรัสและไส้เดือนฝอย และจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืชของหน่อไม้ฝรั่งและ ถั่วลันเตาที่มีรายงานในประเทศไทย

สำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคของหน่อไม้ฝรั่งและถั่วลันเตา พบโรคลำต้นไหม้ และโรคแอนแทรคโนสของหน่อไม้ฝรั่ง พบอาการโรคของถั่วลันเตา ดังนี้ อาการ V-shape ใบจุดแผลไหม้ ใบจุดแผลเล็ก ยอดไหม้ โรคเหี่ยว และราแป้ง สำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคของพืชตระกูล แตงและพืชตระกูลกระหล่ำ ได้ตัวอย่างโรคพืชตระกูลกระหล่ำ จำนวน 60 ตัวอย่าง พบโรคราน้ำค้าง .ใบจุด อาการ V-shape และโรคเน่าเละ ได้ตัวอย่างโรคพืชตระกูลแตง จำนวน 30 ตัวอย่าง พบโรคราแป้ง ราน้ำค้าง ใบจุด เปลือกแตกยางไหล และไวรัส เก็บตัวอย่างโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ในปัจจุบันการนำสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออกและนำเข้านั้นจะต้องมีข้อมูลการระบาดของศัตรูพืชของประเทศที่จะส่งสินค้าออกและประเทศคู่ค้า และประเทศไทยเป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก โดยสมาชิกมีพันธกรณีต้องปฏิบัติภายใต้ข้อตกลงด้วยการใช้บังคับมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement of Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS Agreement) สำหรับพืชส่งออก ได้แก่ หน่อไม้ฝรั่งและถั่วลันเตา ประเทศไทยมีการส่งออกพืชทั้งสองชนิดไปยังหลายประเทศ ประเทศผู้นำเข้าต้องมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูของสินค้าเกษตร ในขณะเดียวกันการนำเข้าสินค้าเกษตร ได้แก่ พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกระหล่ำ ซึ่งประเทศไทยก็ต้องทำการวิเคราะห์ความเสี่บงศัตรูพืช ดังนั้นการสำรวจ การประเมินความรุนแรง และการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุของโรคหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกระหล่ำ จึงมีความสำคัญเนื่องจากได้บัญชีรายชื่อโรคของพืชทั้งสองชนิดซึ่งเป็นข้อมูลการระบาดและความรุนแรงของโรคในปัจจุบัน ตลอดจนทราบชนิดสาเหตุของโรค เพื่อนำข้อมูลเหล่านี้ไปวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชต่อไป โดยการนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาอนุกรมวิธานทั้งหมดไปจัดทำข้อมูลบัญชีรายชื่อศัตรูพืช (Pest List) ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญอย่างยิ่งที่ต้องส่งให้ประเทศคู่ค้าได้นำไปพิจารณาก่อนนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศไทย ในขณะเดียวกันข้อมูลด้านอนุกรมวิธานก็ใช้เป็นข้อมูลสำคัญของประเทศ สำหรับเปรียบเทียบกับข้อมูลบัญชีรายชื่อของประเทศคู่ค้าที่ส่งมา เพื่อประกอบในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis) ก่อนนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศคู่ค้านอกจากนี้ข้อมูลด้านอนุกรมวิธานยังเป็นประโยชน์ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืชกักกัน (Quarantine Pest) เพื่อการควบคุมศัตรูพืชจากต่างประเทศไม่ให้เข้ามาแพร่กระจายในประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%

2. อาหารวุ้นสังเคราะห์ potato dextrose agar (PDA), corn meal agar (CMA), V8 juice agar, RNV เป็นต้น

3. กล้องจุลทรรศน์ชนิด Light microscope (LM) และ Stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายภาพ

4. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ได้แก่ เครื่องแก้ว กระบอกพลาสติก กรวยแก้ว จานเลี้ยงเชื้อพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. และกระดาษกรอง (Whatman #2) เป็นต้น

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลโรคของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำในประเทศไทย

สืบค้นข้อมูลโรคของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ ในประเทศไทย จากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเลคโทรนิค

2. การสำรวจรวบรวม และศึกษาโรคของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ

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

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

3.1 การศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง

ศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคโดยตรงภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ เขี่ยเชื้อจากตัวอย่างดอก ใบ ผล กิ่ง ลำต้น ราก ของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำที่เป็นโรคลงบนแผ่นสไลด์ (slide) แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2 การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค (Tissue transplant)

แยกเชื้อจากส่วนที่เป็นโรคของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ (ตารางที่ 1 และ 2) ตัดตัวอย่างโรคพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติ ขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) แล้วบ่มไว้ในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร potato

dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของราสาเหตุต่อไป

4. การพิสูจน์เชื้อ

ทำการพิสูจน์การเกิดโรคสำหรับโรคพืชที่เป็นโรคใหม่เท่านั้น โดยทำการปลูกเชื้อส่วนของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ โดยทำแผลและไม่ทำแผลอย่างละ 10 เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
ตุลาคม 2550 – กันยายน 2552

สถานที่ แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลโรคของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำในประเทศไทย

ตรวจค้นเอกสารและรวบรวมรายชื่อโรคพืชของโรคของหน่อไม้ฝรั่ง และถั่วลันเตาพืชที่เกิดในประเทศไทยและจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืชของหน่อไม้ฝรั่งและ ถั่วลันเตาที่มีรายงานในประเทศไทย พบโรคพืชเกิดจากรา แบคทีเรีย ไวรัสและไส้เดือนฝอย (ตารางที่ 1)

2. การสำรวจรวบรวม และศึกษาโรคของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคชนิดต่าง ๆ ของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ จำนวน 7 ครั้ง ระหว่างเดือนกันยายน 2550 – เดือนตุลาคม 2551 จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ พะเยา ลำปาง เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ ตาก สระแก้ว สุพรรณบุรี กาญจนบุรี นครราชสีมา พบโรคหน่อไม้ฝรั่งจำนวน 10 ตัวอย่าง ได้แก่ โรคลำต้นไหม้ และโรคแอนแทรคโนสของหน่อไม้ฝรั่ง พบโรคถั่วลันเตา จำนวน 17 ตัวอย่าง ได้แก่ อาการ V-shape ใบจุดแผลไหม้ ใบจุดแผลเล็ก ยอดไหม้ โรคเหี่ยว และราแป้ง สำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคของพืชตระกูล แตงและพืชตระกูลกระหล่ำ ได้ตัวอย่างโรคพืชตระกูลกระหล่ำ จำนวน 60 ตัวอย่าง พบโรคราน้ำค้าง .ใบจุด อาการ V-shape และโรคเน่าเละ ได้ตัวอย่างโรคพืชตระกูล

แตง จำนวน 30 ตัวอย่าง พบโรคราแป้ง ราน้ำค้าง ใบจุด Gummy stem blight และไวรัส เก็บตัวอย่างโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

หน่อไม้ฝรั่ง

พบโรคลำต้นไหม้ สาเหตุเกิดจากรา *Phomopsis asparagi* ระบาดที่จังหวัดกาญจนบุรี พบโรคในเดือนมกราคม กุมภาพันธ์และมีนาคม

โรคแอนแทรคโนส สาเหตุเกิดจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* พบที่จังหวัดกาญจนบุรี

ถั่วลันเตา

พบอาการโรคของถั่วลันเตา มีอาการดังนี้ อาการ V-shape ใบจุดแผลไหม้ ใบจุดสาเหตุเกิดจาก *Ascochyta* ยอดไหม้ โรคเหี่ยว สาเหตุเกิดจาก *Fusarium oxysporum* และราแป้ง พบที่จังหวัดเชียงใหม่

พืชตระกูลแตง

พบโรคราแป้งสาเหตุเกิดจากรา *Oidium* ราน้ำค้างสาเหตุเกิดจากรา *Pseudoperonospora cubensis* ใบจุดสาเหตุเกิดจากรา *Cercospora* เปลือกแตกยางไหลสาเหตุเกิดจากรา *Didymella bryoniae* (teleomorp) และยังพบ *Phoma cucurbitacearum* (anamorph) ด้วย พบระบาดที่จังหวัดเชียงราย และพะเยา ใบด่างที่เกิดจากไวรัส

พืชตระกูลกะหล่ำ

พบโรคใบจุดสาเหตุเกิดจากเกิดจาก *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae* , *Cercospora lactucae-sativa* โรคราน้ำค้างสาเหคุเกิดจาก *Peronospora parasitica* โรครากบวมสาเหตุเกิเดจาก *Plasmodiophora brassicae* โรคเน่าเละ อาการ V shape

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ตรวจค้นเอกสารและรวบรวมรายชื่อโรคพืชของโรคของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตาพืช พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำ ที่เกิดในประเทศไทยพบโรคพืชที่เกิดจากรา แบคทีเรีย ไวรัสและไส้เดือนฝอย และจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืชในประเทศไทย

สำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคของหน่อไม้ฝรั่ง พบโรคลำต้นไหม้ และโรคแอนแทรคโนสง พบอาการโรคของถั่วลันเตา ดังนี้ อาการ V-shape ใบจุดแผลไหม้ ใบจุดแผลเล็ก ยอดไหม้ โรคเหี่ยว และราแป้ง สำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคของพืชตระกูล แตงและพืชตระกูลกระหล่ำ ได้ตัวอย่างโรคพืชตระกูลกระหล่ำ จำนวน 60 ตัวอย่าง พบโรคราน้ำค้าง .ใบจุด อาการ V-shape และโรคเน่าเละ

ได้ตัวอย่างโรคพืชตระกูลแตง จำนวน 30 ตัวอย่าง พบโรคราแป้ง ราน้ำค้าง ใบจุด เปลือกแตกยาง ไหล และไวรัส เก็บตัวอย่างโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

ภาคผนวก (ถ้ามี)

ตารางที่ 1: โรคของหน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลันเตา พืชตระกูลแตงและพืชตระกูลกะหล่ำที่มีรายงานในประเทศไทย

พืช	รา	แบคทีเรีย	ไวรัส	ไส้เดือนฝอย
หน่อไม้ฝรั่ง	10	2	2	5
ถั่วลันเตา	18	2	2	2
พืชตระกูลแตง	35	2	9	4
พืชตระกูลกะหล่ำ	26	5	2	5

การศึกษาชนิดวัชพืชในพืชส่งออก : หน่อไม้ฝรั่ง

Study on Weed Species in Exported Crops : Asparagus.

จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ เบญจมาภรณ์ ลิ้มประเสริฐ
มัตติกา ทองรส
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและศึกษาชนิดวัชพืชในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ได้ดำเนินงานในแหล่งปลูกหน่อไม้ฝรั่งตามจังหวัดต่าง ๆ คือ จังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี กาฬสินธุ์ และประจวบคีรีขันธ์ ช่วงเวลาดำเนินงานคือ ตุลาคม 2550 ถึงกันยายน 2552 ทำการสำรวจชนิด และปริมาณวัชพืชโดยใช้แปลงสุ่ม (Sampling plot ขนาด 0.5 x 0.5 เมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous., 1982) วัชพืชที่พบทั้งหมด 54 ชนิด สามารถแบ่งได้ 3 ประเภทคือ วัชพืชใบกว้าง วัชพืชใบแคบ และกก โดยพบวัชพืชใบกว้าง 38 ชนิด ได้แก่ กะเม็ง ครอบฟันสี เงี่ยงปลา เซ่งใบมน ตดหมูตดหมา ต้อยติ่ง ตำแย ตำลึง ตีนตุ๊กแก ถั่วลิสงนา เทียนนา โทงเทง น้ำนมราชสีห์ บานไม่รู้โรยป่า ปอกระเจา ปอเทือง ปอสีดา ผักขม ผักขมหิน ผักคราดหัวแหวน ผักแครด ผักเบี้ยหิน ผักเบี้ยใหญ่ ผักปลาบไร่ ผักปลาบนา ผักเสี้ยน พรหมพระอินทร์ ลูกใต้ใบ สะอึก สาบเสือ โสนดอน สร้อยนกเขา หญ้ากาบหอย หญ้ายาง หญ้าละออง หูปลาช่อนอุตพิษ วัชพืชใบแคบมี 12 ชนิด ได้แก่ หญ้าไข่เห่า หญ้าดอกขาว หญ้าแดง หญ้าตอแหล หญ้าตีนกา หญ้าตีนติด หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าปากควาย หญ้าแพรก หญ้ารังนก หญ้าหางนกยูงใหญ่ และ กก 3 ชนิด ได้แก่ กกขนาก กกสามเหลี่ยม และหญ้าแห้วหมู

คำค้น Asparagus, weed unrestricted sampling method, sampling plot, relative density, relative frequency. sum domirant ratio และ หน่อไม้ฝรั่ง

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

หน่อไม้ฝรั่ง เป็นพืชผักสำคัญที่ทำรายได้ให้แก่เกษตรกร และประเทศเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ผลผลิตส่วนใหญ่จะส่งออกในรูปหน่อสด และแช่แข็ง เนื่องจากแหล่งปลูกหน่อไม้ฝรั่งแหล่งใหญ่ของโลกมีพื้นที่ปลูกลดลง จึงเป็นโอกาสดีสำหรับประเทศไทย ซึ่งมีศักยภาพดินฟ้าอากาศที่สามารถปลูกหน่อไม้ฝรั่งได้ตลอดปี พื้นที่ปลูกที่เหมาะสมเชิงธุรกิจได้แก่ จังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี และสุพรรณบุรี นอกจากนี้มีพื้นที่ปลูกอื่น ๆ ได้แก่ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เชียงใหม่ กำแพงเพชร นครราชสีมา อุดรธานี ขอนแก่น หนองคาย ร้อยเอ็ด กาฬสินธุ์ และ จังหวัดมหาสารคาม (http : // www.doae.go.th/plant/normi.htm.)

หน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinallis* L.) อยู่ในวงศ์ Lilliaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปยุโรป และเอเชีย เป็นพืชที่มีอายุยาว 3 – 10 ปี เป็นไม้เนื้ออ่อน ต้นสูงประมาณ 1.5 เมตร (Tindall, 1983) ลำต้นเจริญจากเหง้าใต้ดินที่เหง้า (rhizome) ซึ่งเต็มไปด้วยกลุ่มตา ต้นมีกิ่งก้านมาก ระบบรากเป็นระบบรากชั่วคราว เมื่อแก่จะตายและมีรากใหม่ ใบรูปร่างคล้ายเข็ม ใบจริงถูกลดรูปเป็นใบเกล็ดรูปสามเหลี่ยมสีน้ำตาล กิ่งย่อยยาว 1-2 เซนติเมตร ดอกเพศผู้และเพศเมียแยกกันอยู่คนละต้น ขยายพันธุ์เริ่มแรกด้วยเมล็ด แล้วจึงย้ายปลูกลงในแปลง ดูแลกำจัดวัชพืชอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้ได้ต้นแม่หน่อไม้ฝรั่งที่สมบูรณ์แข็งแรง เมื่อต้นหน่อไม้ฝรั่งอายุ 12 สัปดาห์ จึงเริ่มเก็บเกี่ยว เลี้ยงต้นแม่เอาไว้สังเคราะห์แสง 3-5 ต้น เก็บเกี่ยวหน่ออ่อนทุกวัน 30-60 วัน แล้วจึงพักบำรุงต้น และกำจัดวัชพืช สำหรับชนิดวัชพืชที่พบในแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่งนั้น พบทั้งหมด 47 ชนิด แบ่งเป็นวัชพืชใบกว้าง 31 ชนิด วัชพืชใบแคบ 13 ชนิด และ กก 3 ชนิด (เสริมศิริ และคณะ, 2548)

การสำรวจและศึกษาวัชพืชในแปลงหน่อไม้ฝรั่งในครั้งนี้ เป็นการทบทวน หรือ ปรับปรุงข้อมูลเกี่ยวกับชนิดวัชพืชให้เป็นปัจจุบัน หลังจากที่ได้มีการสำรวจมาแล้วในปี พ.ศ. 2548 เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ทันสมัยในการจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืชในหน่อไม้ฝรั่ง สำหรับตรียมส่งให้กับประเทศคู่ค้าในกรณีส่งออกหน่อไม้ฝรั่งตามข้อตกลงมาตรการสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures) นอกจากนี้ยังเป็นหลักฐานในการสืบค้นข้อมูลทางด้านวัชพืชต่อไป

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

- แปลงสุ่ม (Sample plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร
- เลนส์ขยาย

- วัสดุ และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก เฟรมอัดตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์/กระดาษฟาง กระดาษลูกฟูก และเชือกมัดเฟรม

- อุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่นกระดาษ หรือ แบบฟอร์มในการบันทึกข้อมูล และกล้องบันทึกภาพ

วิธีการ

1. การค้นคว้าจากเอกสาร

ค้นคว้าเอกสารวิชาการต่าง ๆ เกี่ยวกับแหล่งปลูกหน่อไม้ฝรั่ง การแพร่กระจายของวัชพืช และการตลาดของหน่อไม้ฝรั่ง

2. การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชจากแปลงปลูกหน่อไม้ฝรั่ง

แผนการสำรวจวัชพืชในหน่อไม้ฝรั่ง ได้แบ่งเขตการสำรวจตามจังหวัดต่าง ๆ คือ จังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี กาฬสินธุ์ และ ประจวบคีรีขันธ์

วิธีสุ่มตัวอย่างวัชพืชในการสำรวจนั้น ใช้แปลงสุ่ม (sample plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted Sampling Method (Anonymous, 1982) ทำการสุ่ม 4 จุดต่อหนึ่งแปลง บันทึกจำนวน ชนิด นับปริมาณวัชพืชแต่ละชนิด และหาชื่อวัชพืช บันทึกภาพ เก็บตัวอย่างวัชพืชที่สมบูรณ์ คือมีส่วนของราก ต้น ใบ และดอก อัดไว้ในแผงไม้ เพื่อนำมาตากแห้งและเก็บรักษาไว้ที่ห้องเก็บตัวอย่างพรรณไม้ เพื่อใช้ในการศึกษา และเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลต่อไป ส่วนการวิเคราะห์ลักษณะเชิงปริมาณ (Quantitative characteristic) ของวัชพืชที่สำรวจพบในแปลง เพื่อจัดลำดับวัชพืชเด่น(Dominant Species) และวัชพืชรอง (Co-Dominant Species) นั้นได้อาศัยค่าของ Sum Dominant Ratio ซึ่งคำนวณได้จากค่า Relative Density และค่า Relative Rrequency จากสมการดังต่อไปนี้

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

$$\text{Relative Frequency (RF)} = \frac{\text{Frequency Value for a Species x 100}}{\text{Total Frequency Value for all Species}}$$

$$\text{Sum Dominant Ratio (SRD)} = \frac{\text{RD} + \text{RF}}{2}$$

การจำแนกชนิดวัชพืช (Classification) และการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ (Identification) นั้นได้อาศัยความชำนาญและประสบการณ์ของนักวิชาการและเอกสารวิชาการดังต่อไปนี้

1. เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่ พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.

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

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

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

ระยะเวลา

ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ จังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี กาฬสินธุ์ และ ประจวบคีรีขันธ์

ผลการทดลองและวิจารณ์

อยู่ในระหว่างการดำเนินงานสำรวจรวบรวมวัชพืชในแปลงหน่อไม้ฝรั่งเพิ่มเติม และการรวบรวมข้อมูลจากการสำรวจในรอบปีที่ผ่านมา

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่ พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.

เสริมศิริ คงแสงดาว. และ จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์. 2548. การศึกษาชนิดวัชพืชในหน่อไม้ฝรั่ง. รายงานผลการทดลอง (ยังไม่ได้ตีพิมพ์). 5 หน้า.

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

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

http : // www. nautilus.co.th/heath-nutrition/herb-freshbeans.asp

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

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

การศึกษาชนิดวัชพืชในพืชส่งออก : ถั่วลันเตา

Study on Weed Species in Exported Crops : Sugar Pea

จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ เบญจมาภรณ์ ลิ้มประเสริฐ มัตติกา ทองรส
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและศึกษาชนิดวัชพืชในแหล่งปลูกถั่วลันเตา ได้ดำเนินงานในพื้นที่ปลูกถั่วลันเตา ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่บริเวณภาคเหนือที่จังหวัดเชียงใหม่ และน่าน ช่วงระยะเวลาดำเนินงาน ตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2552 ทำการสำรวจชนิดและปริมาณวัชพืชโดยใช้แปลงสุ่ม (Sampling plot) ขนาด 0.5 x 0.5 เมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous., 1982) พบวัชพืชทั้งหมด 46 ชนิด สามารถจัดแบ่งได้ 3 ประเภท คือ ประเภทวัชพืชใบกว้าง ใบแคบ และกก สำหรับวัชพืชใบกว้างสำรวจพบ 35 ชนิด ได้แก่ ก้นจ้ำ กะเม็ง กระชับ กระดุมใบเล็ก กระดุมใบใหญ่ ค้อนกลอง เงี่ยง เซ่งใบมน เทียนนา ตำแย น้ำนมราชสีห์ บานไม่รู้โรยป่า บัวบก ผักกระสัง ผักขม ผักขมหนาม ผักแครด ผักคราดหัวแหวน ผักเบี้ยหิน ผักปลาบไร่ ผักปลาบนา ผักเสี้ยน ไมยราบ ลูกใต้ใบ แว่นแก้ว หงอนไก่ป่า สร้อยนกเขา ส้มกบ ดอกชมพู ส้มกบ สาบแร้งสาบกา หญ้ากาบหอย หญ้าคออ่อน หญ้างวงช้าง หญ้ายาง หญ้าสาบ วัชพืชใบแคบพบ 5 ชนิด ได้แก่ หญ้าไข่เห่า หญ้าตีนกา หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู และหญ้าแพรก และกกพบ 3 ชนิด ได้แก่ กกดอกตุ้ม กกสามเหลี่ยม และแห้วหมู

คำค้น : Sugar Pea , Weed , Unrestricted Sampling Method, Sampling Plot, Relative Density, Relative Frequency, Sum Dominant Ratio และ ถั่วลันเตา

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ถั่วลันเตา (Sugar pea) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Pisum satavim* L. เป็นพืชผักประเภทอายุปีเดียว ลำต้นจะเลื้อยพันค้าง เป็นพืชชอบอากาศเย็น ถั่วลันเตาสามารถขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิด โดยเฉพาะดินเหนียวควรเป็นดินที่ค่อนข้างมีความเป็นกรดเล็กน้อย เก็บเกี่ยวหลังปลูก 60-90 วัน ผลผลิตโดยทั่วไป ถ้าปลูกถั่วลันเตา 1 ไร่ จะเก็บฝักสดได้ประมาณ 500 – 900 กิโลกรัม

ถั่วลันเตา เป็นพืชที่ชอบอากาศเย็น จึงนิยมปลูกในช่วงปลายฝน หรือต้นหนาว พื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ที่ทางภาคเหนือตอนบนเช่น จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และลำปาง ภาคเหนือตอนล่าง เช่น จังหวัดเพชรบูรณ์ ตาก และในจังหวัดตะวันตกเช่น จังหวัดกาญจนบุรี ส่วนใหญ่เป็นการปลูกในฤดูหนาว ส่วนการปลูกนอกฤดู เช่น ในฤดูฝนจะมีปลูกในภาคเหนือตอนล่าง บริเวณพื้นที่เขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ และอำเภอพบพระ จังหวัดตาก พันธุ์ส่งเสริมมี 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ฝาง – 7 ซึ่งเป็นพันธ์ฝักใหญ่ ส่วนพันธุ์ฝักเล็กก็คือ พันธุ์ เอ็ม เจ. 12 และ เอ็ม เจ. 55 (http : // www. nautilus.co.th/heath-nutrition/herb-freshbeans.asp

การปลูกถั่วลันเตานั้น จะปลูกบนแปลงขนาดกว้าง 150 ซม. มีร่องระหว่างแปลง 50 ซม. ปลูก 2 แถว ระยะระหว่างแถว 100 ซม. ระยะระหว่างต้น 30 ซม. ปลูกหลุมละ 2 ต้น และปักค้าง ใช้ไม้ไผ่ปักทุกระยะ 2.0 – 2.5 ซม. ใช้เชือกฟาง หรือเชือกไนลอนขึงทำค้างให้ต้นถั่วยึดเกาะ เมื่อต้นถั่วทอดยอด สำหรับวัชพืชที่พบในแปลงนั้นมักเป็นวัชพืชฤดูเดียว ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ วัชพืชใบกว้าง ได้แก่ หญ้ายาง เทียนนา หญ้ากำมะหยี่ ผักเบี้ยหิน ผักเบี้ยใหญ่ ผักขม และสาบแร้งสาบกา วัชพืชใบแคบ ได้แก่ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนติด หญ้าปากควาย และหญ้าไม้กวาด พวกกก ได้แก่ กกทราย และหนวดปลาดุก นอกจากนี้มีวัชพืชข้ามปี ซึ่งเป็นวัชพืชที่ขยายพันธุ์ด้วยหัว เหง้า ไหล ที่พบมากได้แก่ แห้วหมู การป้องกันกำจัดวัชพืชโดยใช้แรงงานตัด หรือคลุมแปลงด้วยวัสดุคลุมดินเช่น ฟางข้าว เศษพืช และวัสดุทึบแสง หรือการใช้สารกำจัดวัชพืช

การสำรวจและศึกษาวัชพืชในแปลงถั่วลันเตา จะได้ข้อมูลในการจัดทำบัญชีรายชื่อวัชพืช เพื่อเตรียมส่งให้กับประเทศคู่ค้าในกรณีส่งออกถั่วลันเตาตามข้อตกลงมาตรการสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures, SPS) นอกจากนี้ยังเป็นหลักฐานในการสืบค้นข้อมูลทางด้านวัชพืชต่อไป

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. การค้นคว้าจากเอกสาร

ค้นคว้าเอกสารวิชาการต่าง ๆ เกี่ยวกับแหล่งปลูกถั่วลันเตา การแพร่กระจายของวัชพืช และการตลาดของถั่วลันเตา

2. การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชจากแปลงปลูกถั่วลันเตา

แผนการสำรวจวัชพืชในถัวลันเตา ได้แบ่งเขตการสำรวจตามจังหวัดต่าง ๆ คือ จังหวัดลำปาง ลำพูน น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย

วิธีสุ่มตัวอย่างวัชพืชในการสำรวจนั้น ใช้แปลงสุ่ม (sample plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted Sampling Method (Anonymous, 1982) ทำการสุ่ม 4 จุดต่อหนึ่งแปลง บันทึกจำนวน ชนิด นับปริมาณวัชพืชแต่ละชนิด และหาชื่อวัชพืช บันทึกภาพ เก็บตัวอย่างวัชพืชที่สมบูรณ์ คือมีส่วนของราก ต้น ใบ และดอก อัดไว้ในแผงไม้ เพื่อนำมาตากแห้งและเก็บรักษาไว้ที่ห้องเก็บตัวอย่างพรรณไม้ เพื่อใช้ในการศึกษา และเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลต่อไป ส่วนการวิเคราะห์ลักษณะเชิงปริมาณ (Quantitative characteristic) ของวัชพืชที่สำรวจพบในแปลง เพื่อจัดลำดับวัชพืชเด่น(Dominant Species) และวัชพืชรอง (Co-Dominant Species) นั้นได้อาศัยค่าของ Sum Dominant Ratio ซึ่งคำนวณได้จากค่า Relative Density และค่า Relative Rrequency จากสมการดังต่อไปนี้

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

$$\text{Relative Frequency (RF)} = \frac{\text{Frequency Value for a Species x 100}}{\text{Total Frequency Value for all Species}}$$

$$\text{Sum Dominant Ratio (SRD)} = \frac{\text{RD + RF}}{2}$$

การจำแนกชนิดวัชพืช (Classification) และการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ (Identification) นั้นได้อาศัยความชำนาญและประสบการณ์ของนักวิชาการและเอกสารวิชาการดังต่อไปนี้

1. เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.
2. Anonymous. 1997. Weeds in the Tropics. Sanbi Printing Co.Ltd. Tokyo. Japan. 304 pp.
3. Noda. K. M. Teerawatsakul. C. Prakongvongs and L. Chaiwiratnukul. 1994. Major Weeds in Thailand. Mass Medias Co.Ltd. Bangkok. Thailand. 164 pp.
4. R. Tavatchai and J.F. Maxwell. 1994. Weeds of Soybean Fields in Thailand. Multiple Cropping Center. Faculty of Agriculture. Chiang Mai University. Chiang Mai Thailand.

ระยะเวลา

ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ จังหวัดลำปาง ลำพูน น่าน เชียงใหม่ และเชียงราย

ผลการทดลองและวิจารณ์

อยู่ในระหว่างการดำเนินงานสำรวจรวบรวมวัชพืชในแปลงถั่วลันเตาเพิ่มเติม และการรวบรวมข้อมูลจากการสำรวจในรอบปีที่ผ่านมา

เอกสารอ้างอิง

1. เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.
3. Anonymous. 1997. Weeds in the Tropics. Sanbi Printing Co.Ltd. Tokyo. Japan. 304 pp.
4. Anonymous. 1982. Weed Surveying Techniques. Paper in ASEN PLANTI Advance Course On Weed Identification. 6-25 June 1982. ASEAN PLANT Quarantine Centre and Training Institute. Malaysia. 20 pp.

5. http : // www. nautilus.co.th/heath-nutrition/herb-freshbeans.asp

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

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

ชนิดวัชพืชในพืชตระกูลแตงนำเข้าบางชนิด

Weeds List in some Import Cucurbitaceae.

เสริมศิริ คงแสงดาว จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดวัชพืชของพืชตระกูลแตงนำเข้า โดยทำการสำรวจวัชพืชในแหล่งปลูกแตงโมที่จังหวัดศรีสะเกษ เชียงราย พิษณุโลก แหล่งปลูกแตงกวา/แตงร้านที่จังหวัดน่าน เพชรบูรณ์และนครสวรรค์นครปฐม แหล่งปลูกแคนตาลูป/เมล่อนที่จังหวัดสระบุรี นครสวรรค์ พะเยา และสระแก้ว เดือน ตุลาคม 2550 ถึง เดือนกันยายน 2551 รวมพบวัชพืชทั้งสิ้น 23 วงศ์ (family) 42 สกุล (genus) 52 พันธุ์ (species) คิดเป็นวัชพืชใบแคบรวม 14 ชนิด วัชพืชใบกว้างรวม 35 ชนิด วัชพืชพวกกกรวม 3 ชนิด กำลังอยู่ระหว่างรวบรวมวิเคราะห์ชนิดวัชพืชที่พบเป็นปัญหามาก และพบบ่อยครั้งต่อไป และยังมีวัชพืชที่รอการจำแนกชื่อและต้องสำรวจเพิ่มเติมในปี 2552 ซึ่งแปลงแตงส่วนใหญ่ใช้เครื่องตัดหญ้า ทำให้การสุ่มนับจำนวนต้นทำได้ยาก

คำนำ

พืชตระกูลแตงจัดอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae ที่นำเมล็ดเข้ามาปลูกในประเทศไทยมีหลายชนิด เช่น แตงกวา/แตงร้าน ชื่อสามัญ cucumber ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cucumis sativus* แตงโม ชื่อสามัญ Watermelon ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai. แคนตาลูป/เมล่อน ชื่อสามัญ cantaloup or muskmelon ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cucumis melo* และมะระจีน/มะระขี้นกชื่อสามัญ bitter melon / Bitter melon small ชื่อวิทยาศาสตร์ *Momordica charantia Linn.* พืชตระกูลแตงเป็นพืชเถาเลื้อย มักปลูกขึ้นพันค้าง ยกเว้นแตงโมที่ปลูกแบบปล่อยให้เลื้อยบนพื้นดิน วัชพืชเป็นปัญหามากในช่วงตั้งแต่เริ่มปลูก เมื่อขึ้นค้างแล้วการกำจัดวัชพืชจะทำได้ง่ายขึ้น โดยกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน หรือตัดโดยใช้เครื่องยนต์สะพายหลัง กำจัดทุกครั้งที่มีการใส่ปุ๋ย หรือเมื่อเกิดวัชพืชขึ้น วัชพืชที่เป็นปัญหาในแปลงปลูก มีหลากหลายชนิดแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ จึงเป็นเรื่องเร่งด่วนที่ต้องรีบดำเนินการ เพื่อให้ได้ข้อมูลชนิดวัชพืชในแปลงปลูกพืชตระกูลแตง ประกอบการนำเข้าเมล็ดพืชตระกูลแตง และเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดวัชพืช

รหัสโครงการ 07-01-49-07

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ยานพาหนะรถยนต์ แผงไม้เก็บตัวอย่างวัชพืชพร้อมด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์และเชือก ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างวัชพืช มีด เสียม กล้องถ่ายภาพดิจิตอล

วิธีการ

สำรวจแหล่งปลูกพืชตระกูลแตงชนิดต่างๆ จากระบบเครือข่ายอินเตอร์เน็ต และตลาดขายส่งผลไม้ที่ปากคลองตลาด สี่มุมเมืองและตลาดไท แล้วจึงเดินทางโดยรถยนต์พาหนะไปยังพื้นที่ที่เป็นแหล่งปลูก ในจังหวัดต่าง ๆ ได้แก่ นครปฐม นครสวรรค์ น่าน เชียงราย พะเยา เพชรบูรณ์ พิษณุโลก ศรีสะเกษ สระบุรี สระแก้ว บันทึกชนิดวัชพืชที่พบ ความหนาแน่น ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามแต่ละท้องที่ บันทึกภาพวัชพืชที่สำคัญในแปลงเก็บตัวอย่างวัชพืชมาอัดลงในแผงไม้ เพื่อนำมาจำแนกชื่อสามัญ และชื่อวิทยาศาสตร์

เวลาและสถานที่

ดำเนินการสำรวจในแหล่งปลูกพืชตระกูลแตง ที่จังหวัดนครปฐม น่าน นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ ตาก ศรีสะเกษ เชียงราย พิษณุโลก สระบุรี พะเยา สระแก้ว ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึง เดือนกันยายน 2551

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี 2551 ผลการสำรวจจากระบบเครือข่ายอินเตอร์เน็ต ตลาดค้าส่งผลไม้ที่ ปากคลองตลาด สี่มุมเมือง และตลาดไท พบว่า

<u>แหล่งปลูกแตงกวา/แตงร้าน</u> จังหวัดราชบุรี ที่อำเภอ โพธาราม ดำเนินสะดวก และจอมบึง จังหวัดนครปฐมที่ อำเภอเมือง สามพรานและดอนตูม จังหวัดอยุธยาที่อำเภอ มหาราช เสนา วังน้อย อุทัย จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดชัยนาท และจังหวัดนครสวรรค์

<u>แหล่งปลูกแตงโม</u> ที่จังหวัดหนองคาย อำเภอโพนพิสัย จังหวัดสกลนคร อำเภอวาปี จังหวัดอยุธยา อำเภอผักไห่ บางบาล จังหวัดนครสวรรค์ที่ หนองปลิง ท่าตะโก จังหวัดยโสธร สระแก้ว กาญจนบุรี กำแพงเพชร สุพรรณบุรี สุโขทัย เชียงใหม่และเชียงราย

<u>แหล่งปลูกแตงแคนตาลูปและเมล่อน</u> จังหวัดลพบุรี อำเภอชัยบาดาล จังหวัดสระแก้ว อำเภออรัญประเทศ เขาฉกรรจ์ และวัฒนา จังหวัดจันทบุรี อำเภอสอยดาว จังหวัดบุรีรัมย์ อำเภอนางรอง และโนนดินแดง จังหวัดอุทัยธานี อำเภอสรรศักดิ์ จังหวัดนครสวรรค์ อำเภอตากฟ้าและตาคลี จังหวัดสระบุรี อำเภอหนองแค จังหวัดสุโขทัย

<u>แหล่งปลูกมะระจีน</u> จังหวัดปทุมธานี อำเภอหนองเสือ อำเภอสามโคก จังหวัดราชบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดอยุธยา

<u>แหล่งปลูกบวบงู</u> ที่ จังหวัดกำแพงเพชร

ชนิดวัชพืชที่สำรวจพบในแหล่งปลูกแตงกว/แตงร้าน

จังหวัดนครปฐม สำรวจเดือนธันวาคม 2550 อำเภอหนองงูเหลือม ปลูกแตงกวาแซมในแปลงหน่อไม้ฝรั่งที่มีอายุมาก

จังหวัดน่าน สำรวจเดือน กุมภาพันธ์ 2551 ที่ อำเภอเมือง ปัว และท่าวังผา ปลูกหลังนา ใช้ฟางคลุมแปลง วัชพืชเด่นคือ สาบแร้งสาบกา ผักปลาบไร่ ที่พบปานกลางคือ หญ้าแพรก ผักขี้ข่วง หญ้างวงช้าง หญ้านกสีชมพู พบน้อยคือ กกทราย โทงเทง หญ้าตีนนก ผักกาดน้ำ ผักไทรริน

จังหวัดนครสวรรค์ สำรวจเดือน มีนาคม 2551 ที่ อำเภอตาคลี เกษตรกรปลูกแตงขึ้นค้างหลังนา หรือหากน้ำน้อยจะปลูกสลับกับถั่วฝักยาว ใช้พลาสติกเทา-ดำคลุมแปลง กำจัดวัชพืชด้วยเครื่องตัดหญ้าสะพายหลัง วัชพืชเด่นคือ หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาวเล็ก หญ้าแพรก หญ้ายาง เซ่งใบมน หญ้าละออง วัชพืชที่พบปานกลางคือ หญ้าตีนนก พะดอเงียว น้ำนมราชสีห์ ผักปลาบไร่ พบน้อยคือ โสนคางคก ปอวัชพืช โทงเทง

จังหวัดเพชรบูรณ์ สำรวจเดือนพฤษภาคม 2551 อำเภอหล่มสัก ปลูกแตงขึ้นค้าง ปลูกตลอดปี วัชพืชที่พบมากคือผักเบี้ยหิน ผักเบี้ยใหญ่ หญ้าตีนกา ผักโขม รองลงมาคือหญ้าแพรก หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู ผักโขมหนาม น้ำนมราชสีห์

จังหวัดตาก สำรวจเดือนกรกฎาคม 2551 อำเภอพบพระ วัชพืชที่พบมากคือ กะเม็ง ก้นจ้ำ ผักโขมหิน หญ้าตีนนก ผักเผ็ดแม้ว กระดุมใบเล็ก ผักเบี้ยใหญ่ น้ำนมราชสีห์ ผักปลาบไร่ ลูกใต้ใบ

ชนิดวัชพืชที่สำรวจพบในแหล่งปลูกแตงโม

จังหวัดศรีสะเกษ สำรวจเดือนมกราคม 2551 อำเภอเมือง กันทรลักษณ์ อุทุมพรพิสัย ขุขันต์ ปลูกหลังนา ใช้ฟางคลุมแปลง วัชพืชเด่นคือ หนวดปลาดุก หญ้าแพรก แห้วหมู หญ้าตีนนกเล็ก ผักเบี้ยหิน ผักไทรริน ที่พบปานกลางคือ หญ้าตีนกา ผักเผ็ดแม้ว หญ้าแดง หญ้าขจรจบดอกเล็ก ผักปลาบไร่ สาบแร้งสาบกา กระต่ายจาม ไมยราบ พะยามุตติ

จังหวัดเชียงราย สำรวจเดือนเมษายน 2551 ปลูกหลังนา อำเภอป่าแดด วัชพืชเด่นคือหญ้าตีนนก กกทราย หนวดปลาดุก เทียนนา สาบแร้งสาบกา หญ้าตีนกา รองลงมาคือผักโขม ผักเผ็ดแม้ว หญ้านกสีชมพู หญ้างวงช้าง โทงเทง ผักขี้ข่วง

จังหวัดพิษณุโลก สำรวจเดือนพฤษภาคม 2551 อำเภอวัดโบสถ์ ปลูกหลังนา วัชพืชเด่นคือ หญ้าตีนกาหญ้าตีนนก หญ้าปากควาย กกทราย เทียนนา หญ้ายาง ผักขี้ข่วง รองลงมาคือ ผักเบี้ยหิน ผักปลาบไร่ ไมยราบเครือ ผักเสี้ยนผี สะอึก ผักเบี้ยใหญ่ หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าขนเล็ก ผักโขมหนาม ผักโขม หญ้าแพรก และที่อำเภอพรหมพิราม เพิ่งเริ่มปลูกแตง วัชพืชที่พบมากคือ หญ้า หญ้าตีนนก รองลงมาคือ หญ้าปากควาย ผักเสี้ยนผี กะเพราผี พะดอเงียว

ชนิดวัชพืชที่สำรวจพบในแหล่งปลูกแคนตาลูป/เมล่อน

จังหวัดสระบุรี สำรวจเดือนธันวาคม 2550 พื้นที่ปลูกเดิมเป็นนาข้าว ใช้พลาสติกเทา-ดำคลุมแปลง กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและเครื่องตัดหญ้าสะพายหลัง ปลูกตลอดปี อำเภอ หนองแค วัชพืชเด่นคือ หญ้ากอ หญ้ารังนก หญ้าตีนกา หญ้ารังนก ตาลปัตรฤาษี ผักเป็ด ผักบุ้ง กระเม็ง ที่พบปานกลางคือ หญ้าดอกขาวเล็ก พะดอเงียว หญ้าละออง ผักเสี้ยนขน หญ้ายาง บานไม่รู้โรยป่า ผักโขม

จังหวัดนครสวรรค์ สำรวจเดือนมีนาคม 2551 ที่ อำเภอตาคลี เกษตรกรปลูกหลังนา หรือหากน้ำน้อยจะปลูกสลับกับถั่วฝักยาว ใช้พลาสติกเทา-ดำคลุมแปลง กำจัดวัชพืชด้วยเครื่องตัดหญ้าสะพายหลัง วัชพืชเด่นคือ หญ้าตีนติด หญ้านกสีชมพู หญ้าดอกขาวเล็ก หญ้าแพรก หญ้ายางเซ่งใบมน หญ้าละออง วัชพืชที่พบปานกลางคือ หญ้าตีนนก พะดอเงียว น้ำนมราชสีห์ ผักปลาบไร่ พบน้อยคือ โสนคางคก ปอวัชพืช โทงเทง

จังหวัดพะเยา สำรวจเดือนเมษายน 2551 เกษตรกรปลูกหลังนา ใช้พลาสติกเทา-ดำคลุมแปลง อำเภอแม่ใจ วัชพืชเด่นคือ หญ้านกสีชมพู ไมยราบเครือ สาบแร้งสาบกา กกทราย รองลงมาคือ หญ้าตีนนก หญ้างวงช้าง หญ้าตีนกา เทียนนา โทงเทง กระเม็ง ผักโขม

จังหวัดสระแก้ว สำรวจเดือนมิถุนายน 2551 อำเภออรัญประเทศ บ้านไทยสามารถ, อำเภอคลองหาด บ้านซับพลู และที่ อำเภอเขาฉกรรจ์ วัชพืชเด่นคือ หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนติด กกทราย ผักโขม เทียนนา หญ้าตีนกา หญ้าตีนนก ผักเบี้ยใหญ่ รองลงมาคือ หญ้าปากควาย หญ้ายาง ผักเบี้ยหิน ผักปลาบไร่ ตีนตุ๊กแก หญ้าข้อ หญ้าละออง ขยุ้มตีนหมา พบว่าแปลงที่มีวัชพืชมากมักจะควบคุมโรคที่เกิดกับแคนตาลูปไม่ได้

การสำรวจครั้งนี้ยังมีวัชพืชที่ไม่ทราบชื่อรอการจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ และเพื่อให้ข้อมูลครบถ้วน จึงต้องมีการสำรวจในแหล่งต่างๆเพิ่มเติมในปี 2552 ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

วัชพืชที่สำรวจพบในแปลงปลูก เดือนธันวาคม พ.ศ. 2550- เดือนกันยายน 2551 มีดังนี้

Family	Genus	Specie	ประเภทวัชพืช	ชื่อไทย
Aizoaceae	*Glinus*	*opposite* Folius (L.) A.D.C.	ใบกว้าง	ผักขี้ข่วง
	Trianthema	*portulacastrum* Linn.	ใบกว้าง	ผักเบี้ยหิน
Amaranthaceae	*Alternanthera*	*sessilis* (L.) DC.	ใบกว้าง	ผักเป็ด
		spinosus L.	ใบกว้าง	ผักโขมหนาม
		viridis Linn.	ใบกว้าง	ผักโขม
	Celosia	*argentia* L.	ใบกว้าง	บานไม่รู้โรยป่า
Asteraceae	*Ageratum*	*conyzoides* Linn.	ใบกว้าง	สาบแร้งสาบกา
	Crassocephalum	*crepidioides* (Benth.) S.Moore.	ใบกว้าง	ผักเผ็ดแม้ว

Family	Genus	Specie	ประเภทวัชพืช	ชื่อไทย
Asteraceae	*Grangea*	*maderaspatana* (L.) Poir.	ใบกว้าง	พะยามุตติ
Brassicaceae	*Rorippa*	*dubia (Pers.) Hara.*	ใบกว้าง	ผักกาดน้ำ
Boraginaceae	*Heliotropium*	*indicum* Linn.	ใบกว้าง	หญ้างวงช้าง
Butomaceae	*Limnochalis*	*flava* (L.) Buchen.	ใบกว้าง	ตาลปัตรฤาษี
Capparidaceae	*Cleome*	*rutidosperma* DC. (Allen) Aellen.	ใบกว้าง	ผักเสี้ยนขน
		viscosa L.	ใบกว้าง	ผักเสี้ยนผี
Commelinaceae	*Commelina*	*benghalensis* L.	ใบกว้าง	ผักปลาบไร่
Compositae	*Eclipta*	*alba* (L.) Hassk.	ใบกว้าง	กะเม็ง
	Tridax	*procumbens* Linn.	ใบกว้าง	ตีนตุ๊กแก
	Vernonia	*cinerea* (L.) Less.	ใบกว้าง	หญ้าละออง
Convolvulaceae	*Ipomoea*	*aquatic* Forsk.	ใบกว้าง	ผักบุ้ง
		gracilis R.Br.	ใบกว้าง	สอึก
		pes-tigridis L.	ใบกว้าง	ขยุ้มตีนหมา
Cyperaceae	*Cyperus*	*iria* Linn.	กก	กกทราย
		rotundus Linn.	กก	แห้วหมู
	Fimbristylis	*miliacea* (L.) Vahl	กก	หนวดปลาดุก
Euphorbiaceae	*Euphorbia*	*geniculata* Ort.	ใบกว้าง	หญ้ายาง
		hirta Linn.	ใบกว้าง	น้ำนมราชสีห์
	Phyllanthus	*amarus* Schum. & Th. Kongl.	ใบกว้าง	ลูกใต้ใบ
Leguminosae	*Aeschynomene*	*aspera* L.	ใบกว้าง	โสนคางคก
Labiatae	*Hyptis*	*sauveolens* (L.) Poit.	ใบกว้าง	กระเพราผี
Mimosoideae	*Mimosa*	*invisa* Mart	ใบกว้าง	ไมยราบเครือ
		pudica Linn.	ใบกว้าง	ไมยราบ
Onagraceae	*Ludwigia*	*hyssopifolia* (G. Don) Exell	ใบกว้าง	เทียนนา
Poaceae	*Brachiaria*	*distachya* (L.) Stapf.	ใบแคบ	หญ้าข้อ
		reptans (L.) Gard. & Hubb.	ใบแคบ	หญ้าตีนติด
	Chloris	*barbata* (L.) Sw.	ใบแคบ	หญ้ารังนก
	Cynodon	*dactylon* (L.) Pers.	ใบแคบ	หญ้าแพรก
	Dactyloctenium	*aegyptium* (L.) P.B.	ใบแคบ	หญ้าปากควาย
	Dichanthium	*annulatum* (Forssk.) Stapf	ใบแคบ	พะดอเงี่ยว
	Digitaria	*adscendens* (H.B.K.) Henr.	ใบแคบ	หญ้าตีนนก
		longifolia *(Retz.) Pers.*	ใบแคบ	หญ้าตีนนกเล็ก
	Echinochloa	*colonum* (L.) Link.	ใบแคบ	หญ้านกสีชมพู
	Eleusine	*indica* (L.) Gaertn.	ใบแคบ	หญ้าตีนกา
	Eriochloa	*procera* (Retz.) C.E.Hubb.	ใบแคบ	หญ้ากอ

Family	Genus	Specie	ประเภทวัชพืช	Thai name
Poaceae	*Ischaemum*	*rugosum* Salisb.	ใบแคบ	หญ้าแดง
	Leptochloa	*panicea* (Retz.) Ohwi.	ใบแคบ	หญ้าดอกขาวเล็ก
	Pennisetum	*polystachyon* (L.) Schult.	ใบแคบ	หญ้าขจรจบดอกเล็ก
Polygonaceae	*Polyganum*	*plebejum* R.Br.	ใบกว้าง	ผักไทรริน
Portulacaceae	*Portulaca*	*oleracea* Linn.	ใบกว้าง	ผักเบี้ยใหญ่
Scrophulariaceae	*Scoparia*	*dulcis* Linn.	ใบกว้าง	กระต่ายจาม
Solanaceae	*Physalis*	*minima* Linn.	ใบกว้าง	โทงเทง
Sterculiaceae	*Melochia*	*corchorifolia* L.	ใบกว้าง	เซ่งใบมน
Tilliaceae	*Corchorus*	*olitorius* Linn.	ใบกว้าง	ปอวัชพืช

คำขอบคุณ

ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมันน่าน และศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต ปราจีนบุรี ที่เอื้อเฟื้อยานพาหนะ และเจ้าหน้าที่ช่วยในการไปสำรวจพืชตระกูลแตงครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช สำหรับการนำเข้าหัวพันธุ์ลิลลี่จากต่างประเทศ

Study on pest Risk Analysis for the Importation of Lillium Bulb

ณัฏฐพร อุทัยมงคล สุคนทิพย์ สมบัติ
วิมล แก้วสีดา[1/] อุดร อุณหวุฒิ[2/]
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ลิลลี่ (Lily) เป็นไม้ดอกที่ปลูกมากทั้งในเขตอากาศร้อนและเขตอากาศหนาว มีสถิติการนำเข้ามาจากประเทศ เนเธอร์แลนด์, สหรัฐอเมริกา และจีน เป็นต้น จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นของดอกลิลลี่ในปี 2549 พบว่ามีศัตรูพืชหลายชนิดไม่มีในประเทศไทยและมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน ซึ่งการนำเข้าในลักษณะหัวพันธุ์จะมีโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาในประเทศได้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงมีการประกาศให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ลิเลียซีอี้Liliaceae ได้แก่ “พืชสกุลลิเลียม Lilium spp” เป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วยจึงจำเป็นต้องศึกษาเพื่อประเมินความเสี่ยงศัตรูของหัวพันธุ์ลิลลี่ให้ทราบชนิดของศัตรูหัวพันธุ์ลิลลี่ว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างที่เป็นศัตรูพืชกักกันและจำเป็นต้องมีการจัดการความเสี่ยงก่อนการนำเข้ามาในราชอาณาจักร

จากการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของหัวพันธุ์ลิลลี่ เริ่มจากการรวบรวมข้อมูลจากเอกสารต่างๆ ที่สำคัญ ได้แก่ ข้อมูลพืช ข้อมูลศัตรูพืช พบว่า มีศัตรูของลิลลี่รวมทั้งหมด 121 ชนิด เป็นไร 4 ชนิด แมลง 31 ชนิด ไวรัส 12 ชนิด แบคทีเรียและไฟโตพลาสมา 7 ชนิด เชื้อรา 27 ชนิด ไส้เดือนฝอย 13 ชนิด วัชพืช 27 ชนิด โดย 47 ชนิดมีรายงานในประเทศไทยและ 2 ชนิดไม่มีข้อมูล และพบว่ามี 54 เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและสามารถติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ โดยเป็นเป็นไร 2 ชนิด แมลง 19 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด แบคทีเรียและไฟโตพลาสมา 2 ชนิด เชื้อรา 14 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด ที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันกับหัวพันธ์ลิลลี่ที่จะนำไปประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชต่อไป

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-02-01-51

[1/] ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ; [2/] สำนักผู้เชี่ยวชาญ

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งปลูกไม้ดอกเมืองร้อนที่สำคัญหลายชนิด ในปี พ.ศ.2548/ 2549 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกไม้ดอกไม้ประดับทั้งหมด 123,057 ไร่ ให้ผลผลิต 44.092.70 ตัน โดยปลูกในลักษณะไม้ตัดดอก ไม้กระถางหรือไม้ชำถุง เช่น เบญจมาศ กุหลาบ กล้วยไม้ หน้าวัว ปทุมมา เป็นต้นและพื้นที่บางแห่งบริเวณภาคเหนือของประเทศซึ่งมีสภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับต่างประเทศ ทำให้สามารถปลูกไม้ดอกเขตหนาวได้เช่นกัน เช่น ลิลลี่ แกลดิโอลัส คาร์เนชั่นเป็นต้น ในปี 2550 มีข้อมูลแจ้งว่ามีการนำเข้าพันธุ์ไม้และไม้ดอกเป็นเงิน 10.7 ล้านบาทโดยไม่ทราบปริมาณที่ชัดเจน และเป็นดอกไม้สด 8.8 ล้านบาทปริมาณ 4,266 เมตริกตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550)

ปัจจุบันประเทศไทยมีการนำเข้าพันธุ์ลิลลี่จากต่างประเทศหลายประเทศ มีสีสัน รูปร่างแปลก มีความหลากหลาย (http://cdoae.doae.go.th, กรมส่งเสริมการเกษตร) มาใช้เป็นไม้ประดับหรือใช้เพื่อปรับปรุงพันธุ์ ข้อมูลระหว่างปี พ.ศ. 2548-2550 ประเทศไทยมีการนำเข้าหัวพันธุ์ จากประเทศเนเธอร์แลนด์ สาธารณรัฐประชาชนจีน ไต้หวัน ปริมาณ426 เมตริกตัน คิดเป็นเงิน 44.9 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร) จึงทำให้มีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดจากต่างประเทศเข้ามาได้

จากการศึกษาการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นของดอกลิลลี่ในปี 2549 พบว่ามีศัตรูพืชหลายชนิดไม่มีในประเทศไทยและมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน ซึ่งเมื่อพิจารณาการนำเข้าในลักษณะหัวพันธุ์จะยิ่งมีโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาลำลายพืชในประเทศได้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงได้มีการประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ ลิเลียซีอี้ Liliaceae ได้แก่ “พืชสกุลลิเลียม Lilium spp” เป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 ในการนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย จึงจำเป็นต้องศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูของหัวพันธุ์ลิลลี่ เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูหัวพันธุ์ลิลลี่ว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างที่เป็นศัตรูพืชกักกันและจำเป็นต้องมีการจัดการความเสี่ยงก่อนการนำเข้ามาในราชอาณาจักร

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้าจากต่างประเทศ
2. เพื่อสืบค้นรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืชของลิลลี่จากข้อมูลทั้งในและนอกประเทศ
3. เพื่อประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชและกำหนดมาตรการด้านสุขอนามัยพืชในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน

วิธีการและขั้นตอนการศึกษา วิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

1. **การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืช**

รวบรวมข้อมูลทั่วไปของหัวพันธุ์ลิลลี่เช่นลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ความสำคัญทางเศรษฐกิจ สถิติการนำเข้าส่งออก การตลาด การเก็บรักษา จากหนังสือ วารสารทางวิชาการเป็นต้น

รวบรวมข้อมูลศัตรูพืช โดยทำการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชจากเอกสารวิชาการต่างๆ ข้อมูลทางวิชาการ งานวิจัยทั้งในและต่างประเทศรายงานการประชุม และสัมมนาทางวิชาการ ทะเบียนวิจัยของกรมวิชาการเกษตร และหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง ข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลกและ จากCrop protection compendium 2007 (CPC, 2007) และจากข้อมูลทางอิเลคโทรนิค เว็บไซท์ต่างๆ เช่น http://www.fao.org, PlantVirusesOnline เป็นต้น .

2. **ข้อมูลที่ได้ทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงมาก่อนแล้วในประเทศและต่างประเทศ** โดยใช้ข้อมูลการศึกษาการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นของดอกลิลลี่ในปี2549 ที่ได้รับเงินสนับสนุนจากสำนักมาตราฐานสินค้าเกษตรแห่งชาติมาศึกษา แต่ต้องมีการเปลี่ยนแปลงข้อมูลในเอกสารอ้างอิงจาก Crop protection compendium 2003 เป็น 2007 และ เปลี่ยนการศึกษาเส้นทางศัตรูพืชจากจากการศึกษาเฉพาะดอกเป็นส่วนหัวพันธุ์แทน .

3. **การตรวจสอบศัตรูจากหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้ามา** (Interception) ดำเนินการโดย

ก. โดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำเพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เชื้อรา อาการฉ่ำน้ำของแบคทีเรีย ไวรัส วัชพืช และไส้เดือนฝอย

ข. การตรวจสอบในขั้นละเอียดหากพืชแสดงอาการถูกทำลายด้วยราหรือแบคทีเรีย ให้นำส่วนที่แสดงอาการมาตรวจสอบ โดยการตัดอาการของชิ้นส่วนพืชให้มีขนาดประมาณ 1x1 มิลลิเมตร นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 0.1% NaOCl ทิ้งไว้ นาน 1 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งภายใต้กระแสลมตู้ปลอดเชื้อแล้วนำไปวางบนอาหาร Nutrient (NA) บ่มเชื้อไว้ 3-7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจว่ามีเส้นใยของเชื้อราหรือลักษณะของแบคทีเรียหรือไม่ ถ้ามีจะนำไปทำให้บริสุทธิ์แล้วเก็บ เพื่อจำแนกชนิดต่อไป

ค. หัวพันธุ์ส่วนหนึ่งจะนำไปปลูกเพื่อตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยเฉพาะอาการโรคที่เกิดจากไวรัส โดยนำไปทดสอบบนพืชทดสอบ หรือตรวจดูอนุภาคไวรัสภายใต้กล้องจุลทรรศ์อิเลคตรอนไมโครสโคป

ง. หากหัวพันธุ์มีส่วนของรากจะนำมาตรวจหาไส้เดือนฝอยด้วยวิธีที่เหมาะสม

4. **การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินตามขั้นตอน** คือ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินการโดยใช้มาตรฐานระหว่างประเทศตามมาตรการสุขอนามัยพืชซึ่งพัฒนาขึ้นภายใต้อนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ มีดังนี้

1. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Guidelines for Pest Risk Analysis, 1995 ; ISPM No.2) FAO. Rome. (FAO, 2006)
2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อมและพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests including Analysis of Environmental Risk and Living Modified organism, 2004 ; ISPM No. 11) FAO. Rome. (FAO, 2006)
3. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของประเทศสหรัฐอเมริกา(Guidelines for Pathway initiated Pest Risk Assessment ver 5.02 ; APHIS ,2000) มาปรับใช้

4.1 การเริ่มต้นการการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage: Initiation) เกี่ยวข้องกับ

4.1.1 เหตุผลที่ต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจำแนกเส้นทางศัตรูพืชและพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงของการนำเข้าหัวพันธุ์ลิลลี่

4.1.2 ศักยภาพหัวพันธุ์ลิลลี่ที่จะกลายเป็นวัชพืช

4.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage: Pest Risk Assessment)

กระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช จะประกอบด้วย 5 ขั้น ดังนี้

ขั้นที่1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) โดยจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชทั้งหมดของลิลลี่ ส่วนของพืชที่ถูกทำลายโดยเฉพาะส่วนของพืชที่นำเข้า (ใช้พิจารณาจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เคยทำมาแล้วปี2549และข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชที่จุดนำเข้า) แล้วจำแนกชนิดศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืช (pathway) คือส่วนของหัวพันธุ์ ว่ามีโอกาสศัตรูพืชติดมาหรือไม่ ซึ่งจะได้ศัตรูพืชที่มีโอกาสเป็นศัตรูพืชกักกันตามคำนิยามศัตรูพืชกักกันของ FAO, 2005 คือ รายชื่อศัตรูพืชที่ไม่ปรากฏพบในประเทศไทยหรือมีอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ และสามารถติดมากับส่วนของพืชนำเข้า.

ขั้นที่2 พิจารณาศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันจะมีโอกาสติดมา(Introduction) กับพืชนำเข้าหรือไม่ สามารถเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Establishment) และสามารถแพร่กระจาย(Spread) ได้หรือไม่

ขั้นที่3 ประเมินผลกระทบที่ตามมาภายหลังจากศัตรูพืชกักกันเข้ามา(Consequences of introduction) จะพิจารณาจากองค์ประกอบ 5 ข้อ โดยกำหนดเกณฑ์ความเสี่ยงเชิงปริมาณดังนี้ ความเสี่ยงต่ำ =1 จุด, ปานกลาง = 2 จุด, สูง =3 จุด และรวมความเสี่ยงแต่ละองค์ประกอบเข้าด้วยกันคือ

องค์ประกอบที่1 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพภูมิอากาศกับพืชอาศัย การที่ศัตรูพืชเข้ามาอยู่ในถิ่นฐานใหม่ที่มีพืชอาศัยและสภาพภูมิอากาศคล้ายคลึงกับถิ่นฐานเดิม สภาพแวดล้อมทั้งที่ไม่มีชีวิตและมีชีวิตเป็นปัจจัยที่ในการแพร่ขยายพันธุ์และนำมาพิจารณาเปรียบเทียบกับอุณหภูมิของกรมอุตุนิยมวิทยา (Thai Meteorological Department, 1998-2007) จัดทำเป็น “Thai plant hardiness Zone” คือแบ่งเป็น 3 โซน (ค่าสูงสุด-ต่ำสุด) ดังนี้

โซน 1. :ปริมาณน้ำฝน(1,525-1,225 มม/ปี),ความชื้นสัมพัทธ์ (83-60%),อุณหภูมิ (39- 15 $^{\circ}$ เซลเซียส)

โซน 2. :ปริมาณน้ำฝน (1,546 -921 มม./ปี),ความชื้นสัมพัทธ์ (79-61%),อุณหภูมิ (39-16 $^{\circ}$เซลเซียส)

โซน 3. :ปริมาณน้ำฝน(2,625-1,616มม./ปี),ความชื้นสัมพัทธ์ (83-61%),อุณหภูมิ (37-18 $^{\circ}$เซลเซียส)

ความเสี่ยงต่ำ (1): สภาพแวดล้อมในถิ่นฐานเดิมคล้ายคลึงกับ plant hardiness 1 โซน

ความเสี่ยงปานกลาง (2): สภาพแวดล้อมในถิ่นฐานเดิมคล้ายคลึงกับ plant hardiness 2 โซน

ความเสี่ยงสูง(3):สภาพแวดล้อมในถิ่นฐานเดิมคล้ายคลึงกับ plant hardiness 3 โซน

องค์ประกอบที่.2 ชนิดพืชอาศัย(host range)ศัตรูพืชมีความสามารถในการดำรงชีพ การแพร่พันธุ์ และศักยภาพในการทำลายพืช โดยแมลงจะมีความสัมพันธ์กับพืชอาศัย และเชื้อราขึ้นอยู่กับความหลากหลายของพืชอาศัย ความรุนแรง และความสามารถในก่อให้เกิดโรค

ความเสี่ยงต่ำ (1): ศัตรูพืชเข้าทำลายพืชหนึ่งชนิดหรือหลายชนิด

ความเสี่ยงปานกลาง (2): ศัตรูพืชเข้าทำลายพืชหลายชนิดใน 1 วงศ์

ความเสี่ยงสูง (3) ศัตรูพืชเข้าทำลายพืชหลายชนิดและหลายวงศ์

องค์ประกอบที่.3 ศักยภาพการแพร่กระจายพิจารณาจากรูปแบบการขยายพันธุ์ ความสามารถในการเคลื่อนที่ ปัจจัยส่งเสริมการแพร่กระจาย (ลม น้ำ พาหะ มนุษย์ ฯลฯ)

ความเสี่ยงต่ำ (1): ศัตรูพืชมีการสืบพันธุ์ออกลูกหลานต่ำการแพร่กระจายช้า

ความเสี่ยงปานกลาง(2):ศัตรูพืชมีการสืบพันธุ์ได้ดีมีการแพร่กระจายว่องไว

ความเสี่ยงสูง (3): ศัตรูพืชมีลูกหลานหลายรุ่นในหนึ่งปี มีลูกมากและมีการแพร่กระจายเร็วและไกล แพร่พันธุ์ด้วยตนเองหรือโดยอาศัยธรรมชาติ ลม น้ำ พาหะ หรือมนุษย์

องค์ประกอบที่.4 ผลกระทบทางเศรษฐกิจ พิจารณาจากทำให้ผลผลิตตกต่ำ ทำให้พืชตายหรือเป็นพาหะนำโรค เพิ่มต้นทุนการผลิต ลดมูลค่าผลผลิต สูญเสียตลาดเนื่องจากการมีศัตรูพืชกักกัน

ความเสี่ยงต่ำ (1): ศัตรูพืชไม่อยู่ภายใต้หลักเกณฑ์ หรือใต้หลักเกณฑ์กรณีเดียว

ความเสี่ยงปานกลาง (2) ศัตรูพืชอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์มากกว่าหรือเท่ากับ 2 หลักเกณฑ์

ความเสี่ยงสูง (3) ศัตรูพืชอยู่ภายใต้ทุกหลักเกณฑ์

<u>องค์ประกอบที่.5</u> ผลกระทบด้านสิ่งแวดล้อม พิจารณาจากเกณฑ์ ดังนี้ มีผลกระทบอย่างยิ่ง เช่นทำลายสภาพนิเวศน์วิทยา สูญเสีย ความหลากหลายทางชีวภาพ ผลกระทบรุนแรงต่อสิ่งแวดล้อม คุกคามสิ่งมีชีวิตที่ใกล้สูญพันธุ์ เช่น รายชื่อพืชที่ใกล้สูญพันธุ์ (เอกสารแนบ) มีมาตรการกำจัดศัตรูพืชหลังจากศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

ความเสี่ยงต่ำ (1): ศัตรูพืชไม่อยู่ใต้หลักเกณฑ์

ความเสี่ยงปานกลาง (2) ศัตรูพืชอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์ 1 หลักเกณฑ์

ความเสี่ยงสูง (3) ศัตรูพืชอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์มากกว่าหรือเท่ากับ 2 หลักเกณฑ์

จากนั้นผลรวมของ 5 องค์ประกอบ นำมาพิจารณาว่าเป็นปัจจัยด้านชีววิทยาที่ทำให้ศัตรูพืชกักกันมีศักยภาพในการดำรงชีพถาวร แพร่กระจาย และมีผลต่อเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อม ดังนี้

ความเสี่ยงต่ำ: มีผลรวม 5-8 จุด

ความเสี่ยงปานกลาง: มีผลรวม 9-12 จุด

ความเสี่ยงสูง: มีผลรวม 13-15 จุด

ขั้นที่4 เป็นการประเมินศักยภาพในการเข้ามาเจริญแพร่พันธุ์และดำรงชีพอย่างถาวร พิจารณาความเสี่ยงจาก โอกาสที่ศัตรูพืชจะรอดชีวิต และเคลื่อนย้ายไปยังสภาพนิเวศน์ที่เหมาะสม และพบพืชอาศัย พิจารณา ดังนี้

4.1 ปริมาณการนำเข้าในรอบหนึ่งปี โอกาสที่ศัตรูพืชจากต่างประเทศเข้ามาขึ้นอยู่กับศัตรูพืชที่ปะปนมากับสินค้าคาดจากปริมาณการนำเข้า

ความเสี่ยงต่ำ (1) < 10 กก.ต่อปี

ความเสี่ยงปานกลาง (2) 10-100 กก.ต่อปี

ความเสี่ยงสูง (3) > 100 กก.ต่อปี

4.2 การรอดชีวิตหลังผ่านการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ การบริหารจัดการ การกำจัดศัตรูพืชในสินค้าที่จะส่งออก เช่น การคัดแยก ล้าง การใช้สารเคมี การเก็บรักษาในห้องเย็น ฯลฯ ถ้าไม่มีวิธีกำจัดศัตรูพืชจะประเมินความเสี่ยงที่ระดับสูง

4.3 การรอดชีวิตระหว่างการขนส่งพิจารณาที่การขนส่งที่ดำเนินการอยู่ในปัจจุบัน

4.4 การรอดจากการตรวจพบที่จุดนำเข้า หากมาตรการตรวจหาศัตรูพืชที่มีอยู่แล้วไม่มีประสิทธิภาพพอ จะกำหนดให้ศัตรูพืชชนิดนั้นความเสี่ยงสูง

4.5 การนำเข้าหรือเคลื่อนย้ายไปที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการดำรงชีวิต พิจารณาตำแหน่งและสภาพภูมิประเทศที่คาดว่าสินค้าจะนำมาวางจำหน่ายเพื่อประเมินว่า

สภาพแวดล้อมและภูมิอากาศของพื้นที่นั้นมีความเหมาะสมต่อการรอดชีวิตของที่มากับพืชนำเข้าได้หรือไม่

4.6 การพบกับพืชอาศัย แม้ศัตรูพืชจะเข้ามาถึงพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการมีชีวิตรอด แต่พืชอาศัยเพื่อเป็นอาหารและแหล่งขยายพันธุ์เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ศัตรูพืชรอดชีวิต ศัตรูพืชแต่ละชนิดต้องพิจารณาความหลากหลายของพืชอาศัย

ขั้นที่5 สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชโดยรวมการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชแต่ละชนิดระหว่าง **ผลรวมการประเมินผลที่ตามมาภายหลังจากศัตรูพืชกักกันเข้ามา** กับ **ผลรวมการประเมิน ศักยภาพในการเข้ามาเจริญแพร่พันธุ์และดำรงชีพอย่างถาวร** โดยกำหนดความเสี่ยงคือ ความเสี่ยงต่ำ 11-18 จุด , ความเสี่ยงปานกลาง 19-26 จุด , ความเสี่ยงสูง 27-33 จุด โดยมีหลักเกณฑ์ ดังนี้

ความเสี่ยงต่ำ: ไม่ต้องมีมาตรการด้านสุขอนามัยอื่นมาดำเนินการ วิธีการสุ่มตรวจสินค้าที่จุดนำเข้ามีความเพียงพอและแน่ใจว่าสินค้าปลอดจากศัตรูพืช

ความเสี่ยงปานกลาง: มีความจำเป็นต้องมีมาตรการด้านสุขอนามัยอื่นมาดำเนินการ

ความเสี่ยงสูง: มีความจำเป็นต้องมีมาตรการด้านสุขอนามัยอื่นมาดำเนินการ การสุ่มตรวจสินค้าที่จุดนำเข้าไม่มีความเพียงพอ

4.3 **การจัดการความเสี่ยง** (Stage: Pest Risk management)

การจัดการความเสี่ยง โดยมีการประเมินประสิทธิภาพของวิธีการจัดการ และระบุวิธีที่เหมาะสมที่สุดที่ใช้ตัดสินใจ ซึ่งต้องคำนึงถึงปัจจัยความไม่แน่นอนด้วยการกำหนดมาตราการจัดการความเสี่ยงสามารถทำได้โดยทางกกหมายและทางวิชาการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่

5. **สรุปผล**การศึกษาการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้าจากต่างประเทศ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2551-กันยายน 2552

สถานที่ทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ด่านตรวจพืชลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ผลการศึกษา วิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

1. การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืช

(1) การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืช (Information on crops). จากเอกสารทางวิชาการ วารสาร การประชุมสัมมนา ในและนอกประเทศรวมทั้ง ข้อมูลอิเลคโทนิค เวบไซต์ต่างๆ ได้ผลข้อมูลดังต่อไปนี้

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลิลลี่เป็นไม้ดอกประเภทหัวอยู่ในวงศ์ Liliaceae มีชื่อสามัญว่า Lily พืชในจีนัสนี้มีประมาณ 110 สปีชีส์ มีหัวสะสมอาหารอยู่ใต้ดิน หัวของลิลลี่คือส่วนของลำต้นที่อัดตัวกันแน่น ประกอบด้วยฐานของหัวลักษณะเป็นแผ่นแบนๆ ด้านบนเป็นกลีบเรียงซ้อนกันเป็นชั้นทำหน้าที่สะสมอาหาร ด้านล่างของฐานมีรากงอกออกมา หัวของลิลลี่จะเจริญและเพิ่มขนาดขึ้นเรื่อยๆ ในแต่ละปีจะสร้างจุดเจริญใหม่ขึ้นในหัว เมื่อหัวพัฒนาเต็มที่ และได้ผ่านช่วงฤดุหนาวเกิดการทำลายการพักตัวของหัว ยอดใหญ่จะเจริญเติบโตเป็นลำต้นเหนือดินและส่วนยอดจะสร้างช่อดอก ช่อดอกจะมีกลีบ 6 กลีบแยกจากกัน มีเกสรตัวผู้ชูขึ้นที่ใจกลางดอก ปัจจุบันแบ่งพันธุ์ลิลลี่ออกตามลักษณะดอก ใบ จุดประและลักษณะการมีกลิ่นหอม มีอนุธานวิทยาดังนี้

Phylum:Spermatophyta ;
Subphylum: Angiospermae;
Class: Monocotyledonae ;
Order: Liliales ;
Family: Liliaceae

1.2 การผลิตลิลลี่

แหล่งกำเนิด: ลิลลี่เป็นดอกไม้เมืองหนาวมีถิ่นกำเนิดในจีนและตอนเหนือของญี่ปุ่น

ประเทศที่นิยมปลูกเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางกันอย่างกว้างขวางทั่วโลก ได้แก่ประเทศเนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่นฯ

การขยายพันธุ์และการปลูกลิลลี่ : การขยายพันธุ์ทำโดยการชำกลีบ (scailing) การชำหัวย่อย (หัวย่อยใต้ดินและหัวย่อยเหนือดิน) การชำใบ หรือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สภาพที่เหมาะสมในการผลิต : ปลูกในดินที่มีการระบายน้ำและอากาศดี มีอินทรีย์วัตถุสูง อุณหภูมิตอนกลางคืนประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส และกลางวันไม่เกิน 20 องศาเซลเซียส ความชื้น ควรมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-85

การเก็บเกี่ยวและการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว

นิยมตัดเมื่อดอกยังตูม นำมาคัดเกรดโดยนับจำนวนดอกต่อช่อ ความยาวก้าน และเส้นผ่าศูนย์กลางของก้าน แล้วเก็บไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียสเพื่อชะลอการบาน บรรจุในกล่องที่มีรูสามารถระบายอากาศได้

1.3 การค้าระหว่างประเทศ

ความสำคัญทางเศรษฐกิจ

ลิลลี่(Lily) เป็นไม้ตัดดอกที่มีการซื้อขายกันมากเป็นอันดับห้า รองจาก กุหลาบ เบญจมาศ ทิวลิปและคาร์เนชั่น

สถิติการนำเข้า

ในปี พ.ศ. 2550 มีข้อมูลการนำเข้าพันธุ์ไม้และไม้ดอกคิดเป็นมูลค่า10.7 ล้านบาท แต่ไม่ระบุปริมาณการนำเข้า

การปลูกและการค้าลิลลี่ของประเทศไทย

ส่วนในประเทศไทยก็มีการปลูกลิลลี่กันบ้างโดยเฉพาะในเขตภาคเหนือตอนบนที่มีอากาศหนาวเย็นรวมทั้งที่เพชนบูรณ์ กาญจนบุรี ส่วนแถวปทุมธานีและนนทบุรีนั้นมีปลูกประปรายแต่เป็นพันธุ์ที่ให้ดอกเล็ก (จุฑามาศ)

(2) ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช

. จากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชทั้งในและนอกประเทศ จาก เอกสารวิชาการ หนังสือวิชาการ Crop protection compendium (CPC, 2007) Journal ต่างๆ ข้อมูลการสำรวจวัชพืชในประเทศไทย ข้อมูลการสำรวจโรคศัตรูพืชและการรวบรวมศัตรูพืชจากเว็บไซท์ต่างๆ พบศัตรูของลิลลี่ มีศัตรูของลิลลี่รวมทั้งหมด 121 ชนิด เป็นไร 4 ชนิด แมลง 31 ชนิด ไวรัส 12 ชนิด แบคทีเรียและไฟโตพลาสมา 7 ชนิด เชื้อรา 27 ชนิด ไส้เดือนฝอย 13 ชนิด วัชพืช 27 ชนิด (เอกสารแนบที่1)

(3) การตรวจสอบศัตรูพืชลิลลี่นำเข้า

ผลการตรวจสอบหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้าระหว่างเดือนกันยายน 2550 - ธันวาคม 2551 จำนวน 3 ครั้งรวม 190 ตัวอย่างนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ไม่พบอาการโรค แต่ตรวจพบไส้เดือนฝอย 3 ชนิดได้แก่ *Helicotylenchus pseudorobustus Tylenchorhynchus merrtinis Caerorohabditis elegans* ซึ่งประเทศไทยมีรายงานการพบแล้ว

ตารางที่ 7 ข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชจากหัวพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศ

แหล่งกำเนิด	ศัตรูที่ตรวจพบ	สาเหตุโรค	ส่วนที่พบ
ประเทศเนเธอร์แลนด์	1.*Helicotylenchus pseudorobustus*	spiral nematode	ราก
	2. *Tylenchorhynchus merrtinis*		ราก
	3. *Caerorohabditis elegans*		ราก

4. **การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช** (Risk Assessment)

ขั้นตอนที่1 การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

4.1 การเริ่มต้นการการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage: Initiation)

เกี่ยวข้องกับ

4.1.1 ตามนโยบายที่เปลี่ยนสถานะภาพของลิลลี่ที่เป็นผลมาจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นของดอกลิลลี่ในปี 2549 ที่พบว่ามีศัตรูพืชหลายชนิดที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันสามารถติดเข้ามากับลิลลี่ได้ ดังนั้นจึงมีการประกาศกระทรวงเกษตรฯ กำหนดให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ลิเลียซีอี้Liliaceae ได้แก่ “พืชสกุลลิเลียม Lilium spp” เป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัดข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยกำกับมาด้วย อย่างไรก็ตามใบรับรองสุขอนามัยที่ใช้ไม่มีการระบุศัตรูพืชหรือมาตราการทางสุขอนามัยพืชกำกับ จึงจำเป็นต้องมีการศึกษา โดยเส้นทางศัตรูพืชได้แก่หัวพันธุ์ลิลลี่และพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงคือประเทศไทย

พื้นที่ที่อยู่ในอันตรายได้แก่พื้นที่หนึ่งพื้นที่ใดของประเทศไทย ซึ่งมีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืชและมีปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่กระจายได้

4.1.2 ศักยภาพหัวพันธุ์ลิลลี่ที่จะกลายเป็นวัชพืช พบว่าลิลลี่เป็นพืชที่สามารถปลูกและเจริญเติบโตในประเทศไทยอยู่แล้ว จึงไม่จัดเป็นวัชพืช

4.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage: Pest Risk Assessment)

ขั้นที่1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) พบว่ามีสิ่งมีชีวิตที่จะพบกับลิลลี่ได้ 121 ชนิด โดยจัดกลุ่มออกเป็น ไร 4 ชนิด แมลง 31 ชนิด ไวรัส 12 ชนิด แบคทีเรียและไฟโตพลาสมา 7 ชนิด รา 27 ชนิด ไส้เดือนฝอย 13 ชนิด วัชพืช 27 ชนิด เป็นศัตรูพืชที่มีรายงานพบในประเทศไทย 47 ชนิดไม่มีข้อมูล 2 ชนิด (เอกสารแนบที่1)

นำศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยมาพิจารณาเฉพาะที่สามารถติดมากับเส้นทางศัตรูพืชคือหัวพันธุ์ลิลลี่(หัวและราก) ได้ รวม 54 ชนิด คือ ไร 2 ชนิด แมลง 19 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด แบคทีเรียและไฟโตพลาสมา 2 ชนิด รา 14 ชนิด ไส้เดือนฝอย.12 ชนิด (เอกสารแนบที่2)

นำศัตรูพืช 54ชนิดมาพิจารณาโอกาสติดมา กับพืชนำเข้าสามารถเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร สามารถแพร่กระจาย และทำความเสียหายได้ เป็นศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน

ขั้นที่2 นำศัตรูพืชแต่ละชนิดมาประเมินโอกาสติดมา(Introduction) กับพืชนำเข้าสามารถเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Establishment) และสามารถแพร่กระจาย(Spread) ได้หรือไม่ตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของประเทศสหรัฐอเมริกา

สรุปผลการทดลอง

ลิลลี่ (Lily) เป็นไม้ดอกที่การนำเข้ามาจากประเทศเพื่อปลูกจำหน่าย หรือปรับปรุงพันธุ์ในแต่ละปีเป็นประจำ ประกอบกับประเทศไทยได้มีการประกาศให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์ลิเลียซีอี้Liliaceae ได้แก่ “พืชสกุลลิเลียม Lilium spp” เป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย จึงจำเป็นต้องศึกษาเพื่อประเมินความเสี่ยงศัตรูของหัวพันธุ์ลิลลี่ให้ทราบชนิดของศัตรูหัวพันธุ์ลิลลี่ว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างที่เป็นศัตรูพืชกักกันและจำเป็นต้องมีการจัดการความเสี่ยงก่อนการนำเข้ามาในราชอาณาจักร ในระหว่างปีพ.ศ. 2550-2551ประเทศไทย มีการนำเข้า 3 ครั้ง จำนวน 190 ตัวอย่าง จากประเทศ เนเธอร์แลนด์, และจีน จากการตรวจสอบศัตรูพืชไม่พบเชื้อสาเหตุโรคพืชแต่ตรวจพบไส้เดือนฝอย 3 ชนิด ได้แก่ *Helicotylenchus pseudorobustus Tylenchorhynchus merrtinis Caerorohabditis elegans* ซึ่งมีรายงานพบในประเทศไทยแล้ว เมื่อนำข้อมูลที่สืบค้นข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืช ข้อมูลการวิจัยเดิมมารวบรวมเป็นข้อมูลศัตรูพืชเพื่อศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของหัวพันธุ์ลิลลี่พบว่ามีศัตรูของลิลลี่รวมทั้งหมด 121 ชนิด เป็นไร 4 ชนิด แมลง 31 ชนิด ไวรัส 12 ชนิด แบคทีเรียและไฟโตพลาสมา 7 ชนิด เชื้อรา 27 ชนิด ไส้เดือนฝอย 13 ชนิด วัชพืช 27 ชนิด โดย 47 ชนิดมีรายงานในประเทศไทยและ 2 ชนิดไม่มีข้อมูล และพบว่ามี 54 เป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานในประเทศไทยและสามารถติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ โดยเป็นเป็นไร 2 ชนิด แมลง 19 ชนิด ไวรัส 5 ชนิด แบคทีเรียและไฟโตพลาสมา 2 ชนิด เชื้อรา 14 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด ที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันกับหัวพันธ์ลิลลี่ที่จะนำไปประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จุฑามาศ อ่อนวิมล ,2547. ไม้ตัดดอก โครงการหนังสือเกษตรชุมชน สำนักพิมพ์เกษตรสาส์น . 131-141. ISBN 974-92117-7-4

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. สถิติการนำเข้าพืชจากด่านตรวจพืช ระหว่างปี 2547-2549.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสินค้าเกษตร 2550

ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร .http : // production. doae.go.th

APHIS , 2000. Guidelines for Pathway initiated Pest Risk Assessment ver 5.02;

Biosecurity Australia, 2000 . Non-Routine Import Risk Analysis (IRA) on Ornamental Bulbs from the Netherland, the Unied Kingdom, Israel and New Zealand , November .2000

Crop protection compendium, 2003.CAB International 2003 Edition.

Crop protection compendium, 2007.CAB International 2007 Edition.

Derks, A.F.L.M , 1995 . Lily , in Bulb and Corm Crops p. 313-321 In Virus and Virus-like Diseases of Bulb and Flower Cropes Edited by G. Loebenstein, R.H. Lawson and A.A.Brunt John Wiley & Sons, Baffins Lane, Chichester West Sussex PO 19 1 UD, United Kingdom.

FAO, 2006. Pest Risk Analysis for Quarantine Pest including Analysis of Environmental Risk and Living Modified organism ; ISPM No. 11

FAO, 2006. Guidelines for Pest Risk Analysis; ISPM No.2

FAO, 2006 . Phytosanitary Principles Protection of Plants and application of Phytosanitary measures in international Trade; ISPM No.1

GBIF. 2004. Prototype data portal Global Biodiversity Information Facility. http://www.gbif.net/portal/ecat_browser.jsp?taxonkey

Waterhouse, D.F.1993 .The Major Arthropod Pest and Weeds of Agriculture in Southeast Asia , ACIAR , Canberra ,Australia 141p.

Sontirat P., Pitakpaivan P., Khamhangridthirong. T., Choobamroong. W . and Kueprakone U., 1994. HOST INDEX OF PLANT DISEASES IN THAILAND , Mycology Section, Plant Pathology & Microbiology Division Department of Agriculture, Bangkok, THAILAND Third Edition

ตารางที่1. รายชื่อศัตรูพืชของลิลลี่

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
แมลง					
Agrotis segetum	cutworm	Lepidoptera	Noctuidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Agriotes spp.	wireworm	Coleoptera	Elateridae	No	Biosecurity Australia, 2000
Aphis fabae	black bean aphid	Hemiptera	Aphididae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2003
Aphis gossypii	cotton aphid	Hemiptera	Aphididae	Yes	CPC, 2007
Chrysodeixis eriosoma	green looper caterpill	Lepidoptera	Noctuidae	Yes	CPC, 2007
Coccus hesperidum	brown soft scale	Hemiptera	Coccidae	Yes	CPC, 2007
Diaspidiotus perniciosus	San José scale	Hemiptera	Diaspididae	Yes	CPC, 2007
Dysaphis tulipae	tulip aphid	Hemiptera	Aphididae	No	Alford, 1995; CPC, 2007
Eumerus strigatus	onion bulb fly	Diptera	Syrphidae	No	Alford, 1995; Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2003
Eumerus tuberculatus	lesser bulb fly	Diptera	Syrphidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Eumerus spp.	lesser bulb fly	Diptera	Syrphidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Frankliniella fusca	tobacco thrips	Thysanoptera	Thripidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2003

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
Frankliniella occidentalis	western flower thrips	Thysanoptera	Thripidae	Yes	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2003; Survey by Entomology & Zoology Research Group, 2004
Hepialus humuli	ghost swifts	Lepidoptera	Hepialidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Hepialus lupulinus	common swift (moth)	Lepidoptera	Hepialidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Lilioceris lilii	lily leaf beetle	Coleoptera	Chrysomelidae	No	CPC, 2007
Lilioceris spp.	lily beetle	Coleoptera	Chrysomelidae	ไม่มีข้อมูล	Biosecurity Australia, 2000
Liothrips vaneeckei	lily thrips	Thysanoptera	Phlaeothripidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Liriomyza trifolii	American serpentine leafminer	Diptera	Agromyzidae	Yes	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Merodon eques	large narcissus bulb fly	Diptera	Syrphidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Merodon equestris	large narcissus bulb fly	Diptera	Syrphidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Merodon spp.	large narcissus	Diptera	Syrphidae	No	Biosecurity Australia, 2000

866

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
	bulbfly				
Myzus ascalonicus	shallot aphid	Hemiptera	Aphididae	No	Alford, 1995; CPC, 2007
Myzus persicae	green peach aphid	Hemiptera	Aphididae	Yes	CPC, 2007; Waterhouse,1993
Pantomorus cervinus	Fuller's rose beetle	Coleoptera	Curculionidae	No	CPC, 2003; Pirone, 1978
Papaipema nebris	stalk borer	Lepidoptera	Noctuidae	No	CPC, 2003; Pirone, 1978
Phenacoccus avenae	iris mealybug	Hemiptera	Pseudococcidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Phenacoccus emansor	mealybug	Hemiptera	Pseudococcidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Rhopalosiphoninus staphyleae syn. *tulipaella*	mangold aphid	Hemiptera	Aphididae	No	Alford, 1995; CPC, 2003
Spodoptera litura	taro caterpillar	Lepidoptera	Noctuidae	Yes	CPC, 2007
Spodoptera littoralis	cotton leafworm	Lepidoptera	Noctuidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
ไรและแมงมุม					
Rhizoglyphus echinopus	bulb mite	Astigmata	Acaridae	No	CPC, 2007; Pirone, 1978
Rhizoglyphus setosus		Astigmata	Acaridae	No	CPC, 2007

867

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
Rhizoglyphus spp.	bulb mite	Astigmata	Acaridae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Tetranychus kanzawai	kanzawa spider mite		Tetranychidae	Yes	CPC, 2007; Survery by Entomology & Zoology Research Group, 2004
ไส้เดือนฝอย					
Arthurdendyus triangulatus	New Zealand flatworm	Tricladida	Terricola	No	Biosecurity Australia, 2000
Aphelenchoides fragariae	strawberry crimp	Aphelenchida	Aphelenchoididae	No	CPC, 2007; Pirone, 1978
Ditylenchus destructor	potato tuber	Tylenchida	Anguinidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Ditylenchus dipsaci	stem and bulb	Tylenchida	Anguinidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Globodera pallida	white potato cyst	Tylenchida	Heteroderidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Globodera rostochiensis	yellow potato cyst	Tylenchida	Heteroderidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Longidorus attenuatus	needle	Dorylamida	Longidoridae	No	Biosecurity Australia, 2000
Longidorus macrosoma	needle	Dorylamida	Longidoridae	No	Biosecurity Australia, 2000
Meloidogyne chitwoodi	Columbia root-knot	Tylenchida	Meloidogynidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Pratylenchus penetrans	root lesion		Pratylenchidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007; Pirone, 1978

868

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีใน ประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
Pratylenchus vulnus	walnut root lesion nematode		Pratylenchidae	No	CPC, 2007
Trichodorus	stubby root nematode		Trichodoridae	No	CPC, 2007
Xiphinema spp.	dagger nematode	Dorylaimida	Xiphinematidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
รา					
Botryotinia fuckeliana	grey mould-rot	Helotiales	Sclerotiniaceae	No	CPC, 2007
Botrytis elliptica	grey mould	Leotiales	Sclerotinaceae	Yes	CPC, 2007
Botrytis hyacinthi	hyacinth fire	Leotiales	Sclerotinaceae	No	Biosecurity Australia, 2000
Botrytis tulipae	tulip fire	Leotiales	Sclerotinaceae	No	CPC, 2007
Colletotrichum lilii	anthracnose		Glomerellaceae	No	Pirone, 1978
Corticium roffsii	sclerotium rot	Polyporales	Corticiaceae	Yes	CPC, 2003; Pirone, 1978
Fusarium oxysporum	basal rot	Hypocreales		Yes	รัศมี, 2536; CPC, 2007
Fusarium oxysporum f.sp. *lilii*	basal rot of lily	Hypocreales		No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007; Pirone, 1978
Mycosphaerella cinxia	leaf spot of liliums	Pleosporales	Mycosphaerella	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2003;

869

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
			ceae		Pirone, 1978
Mycosphaerella martagonas	leaf spot of liliums	Pleosporales	Mycosphaerellaceae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2003; Pirone, 1978
Nectria haematococca	dry rot	Hypocreales	Nectriaceae	No	CPC, 2007
Penicillium sp.	penicillium ear rot	Eurotiales		Yes	รัศมี 2536; CPC, 2007
Pellicularia filamentosa	leaf blight	Ceratobasidiales	Ceratobasidiaceae	Yes	CPC, 2003; Pirone, 1978
Phyllosticta lillicola		Sphaeropsidales	Sphaerioidaceae	No	Biosecurity Australia, 2000
Phytophthora cactorum	apple collar rot	Pythiales	Pythiaceae	No	CPC, 2007; Pirone,1978
Phytophthora capsici	stem and fruit rot	Pythiales	Pythiaceae	No	CPC, 2007
Phytophthora nicotianae	black shank	Pythiales	Pythiaceae	Yes	CPC, 2007
Pythuim sp.	damping-off	Saprolegniales	Pythiaceae	No	รัศมี 2536
Pythium ultimum	black-leg of seedlings	Saprolegniales	Pythiaceae	Yes	CPC, 2007; Sontirat *et al*., 1994
Rhizoctonia sp.			Anamorphic fungi	No	รัศมี, 2536

870

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
Rhizopus stolonifer	bulb rot	Mucorales	Mucoraceae	Yes	CPC, 2003, Pirone, 1978; Sontirat *et al*., 1994
Rhodococcus fascians	leafy gall	Actinomycetales	Nocardiaceae	No	CPC, 2007
Sclerotinia sclerotiorum	cottony soft rot	Helotiales	Sclerotiniaceae	Yes	CPC, 2007
Sclerotium wakkeri	smoulder	Stereales	Corticiaceae	No	Biosecurity Australia, 2000
Septocylindrium spp.				ไม่มีข้อมูล	Biosecurity Australia, 2000
Uromyces aecidiiformis	lily rust	Uredinales	Pucciniaceae	No	Biosecurity Australia, 2000
Uromyces holwayi	lily rust	Uredinales	Pucciniaceae	No	Biosecurity Australia, 2000
แบคทีเรียและไฟโตพลาสมา					
Agrobacterium sp.	crown gall	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Yes	รัศมี, 2536
Clover phyllody phytoplasma	phyllody of clover	Acholeplasmatales	Acholeplasmataceae	No	CPC, 2007
Corynebacterium fascians	fasciation: leafy gall	Actinomycetales	Nocardiaceae	No	Biosecurity Australia, 2000
Corynebacterium sp.				Yes	รัศมี, 2536
Erwinia carotovora	soft rot	Enterobacteriales	Enterobacteria	Yes	รัศมี, 2536; CPC, 2007; Pirone, 1976

871

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีใน ประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
			ceae		
Erwinia chrysanthemi	bacterial wilt of dahlia	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Yes	รัศมี, 2536; CPC, 2007
Rhodococcus fascians	fasciation: leafy gall	Actinomycetales	Nocardiaceae	No	CPC, 2007
ไวรัส					
Apple stem grooving			Flexiviridae	No	CPC, 2007
Cucumber mosaic	cucumber mosaic		Bromoviridae	Yes	รัศมี 2536; Derks, 1995
Iris yellow spot				No	Biosecurity Australia, 2000
Lily mottle			Potyviridae	No	รัศมี, 2536; Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007; Derks, 1995
Lily symptomless			Flexiviridae	No	CPC, 2007; Derks, 1995
Lily virus X			Flexiviridae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007; Derks, 1995;
Narcissus mosaic			Flexiviridae	No	CPC, 2007
Rembrandt tulip-breaking				No	Biosecurity Australia, 2000
Strawberry latent ringspot	latent ring spot of		Comoviridae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007

872

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
	strawberry				
Tobacco rattle	spraing of potato		Unassigned virus family	No	CPC, 2007
Tomato ringspot	ringspot of tomato		Comoviridae	No	CPC, 2007
Tulip breaking			Potyviridae	No	CPC, 2007
วัชพืช					
Aeschynomene americana	American jointvetch	Fabales	Fabaceae	Yes	GBIF, 2004
Ageratum conyzoides	billy goat weed	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2003; GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Alternanthera sessilis	sessile joyweed	Caryophyllales	Amaranthaceae	Yes	GBIF, 2004
Amaranthus spinosus	spiny amaranth	Caryophyllales	Amaranthaceae	Yes	GBIF, 2004
Axonopus compressus	carpet grass	Cyperales	Poaceae	Yes	GBIF, 2004
Bidens pilosa	blackjack	Asterales	Asteraceae	Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
Borreria latifolia	broadleaf buttonweed	Gentianales	Rubiaceae	Yes	GBIF, 2004; IPNI, 2004, Harada *et al*., 1987
Chromolaena odorata (L.)	Siam weed	Asterales	Asteraceae	Yes	GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994

873

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
Syn =*Eupatorium odoratum*					
Commelina benghalensis	wandering jew	Commelinales	Commelinaceae	Yes	GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Commelina diffusa	spreading dayflower	Commelinales	Commelinaceae	Yes	GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Conyza sumatrensis	tall fleabane	Asterales	Asteraceae	Yes	AICAF, 1996; GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
Crassocephalum crepidioides	thick head	Asterales	Asteraceae	Yes	AICAF, 1996; GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
Cyperus cyperoides	green kyllinga	Cyperales	Cyperaceae	Yes	GBIF, 2004; Simpson and Koyama, 1998
Cyperus rotundus	purple nutsedge	Cyperales	Cyperaceae	Yes	GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Dichrocephala integrifolia				Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
Drymaria cordata	tropical chickweed	Caryophyllales	Caryophyllaceae	Yes	GBIF, 2004
Eupatorium adenophorum Spreng.Syn.	Croftonweed	Asterales	Asteraceae	Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1988
Euphorbia hirta	garden spurge	Euphorbiales	Euphorbiaceae	Yes	GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Eleusine indica	goose grass	Cyperales	Poaceae	Yes	GBIF, 2004

874

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
Imperata cylindrica (L.)	satintail	Cyperales	Poaceae	Yes	GBIF, 2004
Mimosa invisa Mart.Syn=. *Mimosa diplotricha* Sauvalle	giant sensitive plant	Fabales	Fabaceae	Yes	GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Oxalis corniculata L.	creeping woodsorrel	Geraniales	Oxalidaceae	Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
Oxalis latifolia	sorrel	Geraniales	Oxalidaceae	Yes	AICAF, 1996; GBIF, 2004
Portulaca oleracea	purslane	Caryophyllales	Portulacaceae	Yes	GBIF, 2004
Senecio vulgaris	Grinning (or Grundie)-swallow	Asterales	Asteraceae	No	CPC, 2007
Sida acuta	sida	Malvales	Malvaceae	Yes	GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Spilanthes paniculata				Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987

875

ตารางแนบ 2

ตารางที่2 รายชื่อศัตรูพืชที่สามารถเข้าทำลายกับลิลลี่ (Pests Associated with Commodity in Country)

รายชื่อศัตรูพืช	ส่วนพืชที่ถูกทำลาย	เส้นทางศัตรูพืช	ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน	เอกสารอ้างอิง
แมลง				
Agrotis segetum	Bulbs , Leaves, Roots, Stems	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Agriotes spp.	Roots, Other subterranean parts of plants	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Aphis fabae	Growing points, Inflorescence, Leaves, Whole plant, Buds	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Dysaphis tulipae	Bulbs	Yes	Yes	http://www.websters-dictionary-online.com/translation/Latin/Dysaphis+tulipae
Eumerus strigatus	Bulbs, Tuber, Interior of roots	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Eumerus tuberculatus	Bulbs, Tubers, Interior of roots	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Eumerus spp.	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Frankliniella fusca	Bulbs , Fruits/Pods, Growing points, Inflorescence, Leaves, Stems, ,	Yes	Yes	CPC, 2007

876

รายชื่อศัตรูพืช	ส่วนพืชที่ถูกทำลาย	เส้นทางศัตรูพืช	ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน	เอกสารอ้างอิง
	Vegetative organs, Whole plant			
Hepialus humuli	Bulbs, Roots, Other subterranean parts	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Hepialus lupulinus	Bulbs , Roots,Other subterranean parts	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Lilioceris lilii	Inflorescence, Leaves	No	No	CPC, 2007
Lilioceris spp.	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Liothrips vaneeckei	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Merodon eques	Bulbs, Rhizomes	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Merodon equestris	Bulbs, Rhizomes	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Merodon spp.	Bulbs, Rhizomes	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Myzus ascalonicus	Bulbs	Yes	Yes	http://www.inra.fr/hyppz/RAVAGEUR/6myzasc.htm
Pantomorus cervinus	Leaves, Roots	No	No	CPC, 2007
Papaipema nebris	Branches, Bark, Leaves, Stems	No	No	http://www.forestpests.org/borers/stalkborer.html
Phenacoccus avenae	Stems, Corms, Bulbs, Rhizomes	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Phenacoccus emansor	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000

877

รายชื่อศัตรูพืช	ส่วนพืชที่ถูกทำลาย	เส้นทางศัตรูพืช	ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน	เอกสารอ้างอิง
Rhopalosiphoninus staphyleae syn. *tulipaella*	Bulbs, Corms	Yes	Yes	Alford, 1995; CPC, 2003
Spodoptera littoralis	Fruits/Pods, Leaves, Stems	No	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
ไรและแมงมุม				
Rhizoglyphus chinopus	Buds ,Stems, Shoots, Leaves, Flower	No	No	http://www.actahort.org/books/325/325_106.htm
Rhizoglyphus setosus	Bulbs, Corms, Tubers	Yes	Yes	http://www.nhm.ac.uk/hosted_sites/acarology/saas/saasp/2003/saasp16.pdf
Rhizoglyphus spp.	Bulbs, Roots, Other subterranean structures of plants, Leaves, Seeds	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
ไส้เดือนฝอย				
Aphelenchoides fragariae	Leaves, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Ditylenchus destructor	Bulbs , Leaves, Roots, Vegetative organs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Ditylenchus dipsaci	Bulbs ,Leaves, Seeds, Stems, Vegetative organs, Whole plant,	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007

878

รายชื่อศัตรูพืช	ส่วนพืชที่ถูกทำลาย	เส้นทางศัตรูพืช	ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน	เอกสารอ้างอิง
Globodera pallida	Leaves, Roots, Vegetative organs, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Globodera rostochiensis	Leaves, Roots, Vegetative organs, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Longidorus attenuatus	Root tips, Whole plant	Yes	Yes	http://nematode.unl.edu/pest16.htm
Longidorus macrosoma	Root tips, Whole plant	Yes	Yes	http://plpnemweb.ucdavis.edu/NEMAPLEX/Taxadata/G068s4.HTM
Meloidogyne chitwoodi	Leaves, Roots, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Pratylenchus penetrans	Growing points, Leaves, Roots, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Pratylenchus vulnus	Leaves, Roots, Vegetative organs, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Trichodorus	Leaves, Roots, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Xiphinema spp	Whole plant, Roots	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
รา				

879

รายชื่อศัตรูพืช	ส่วนพืชที่ถูกทำลาย	เส้นทางศัตรูพืช	ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน	เอกสารอ้างอิง
Botryotinia fuckeliana	Leaves, Stems	No	No	CPC, 2007
Botrytis hyacinthi	Flowers, Stems, Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Botrytis tulipae	Leaves, Flowers, Stems, Bulbs	Yes	Yes	http://plantclinic.cornell.edu/FactSheets/botrytis/botrytis_tulip.htm
Colletotrichum lilii	Bulbs, Corms, Tubers	Yes	Yes	http://www.springerlink.com/content/m7w
Fusarium oxysporum f.sp. lilii	Bulbs, Leaves	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Mycosphaerella cinxia	Bulbs , Leaves	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Mycosphaerell martagona	Bulbs , Leaves	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Nectria haematococca	Bulb	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000 , CPC, 2007
Phyllosticta lillicola	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Phytophthora cactorum	Fruits/Pods, Leaves, Roots, Stems	Yes	Yes	CPC, 2007
Phytophthora capsici	Stems	No	No	CPC, 2007
Rhodococcus fascians	Leaves, Stems, Bulbs	Yes	Yes	CPC, 2007
Sclerotium wakkeri	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Septocylindrium spp.	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000

880

รายชื่อศัตรูพืช	ส่วนพืชที่ถูกทำลาย	เส้นทางศัตรูพืช	ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน	เอกสารอ้างอิง
Uromyces aecidiiformis	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Uromyces holwayi	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
แบคทีเรียและไฟโตพลาสมา				
Clover phyllody phytoplasma	Fruits/Pods, Inflorescence, Leaves, Stems, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Corynebacterium fascians	Bulbs , Leaves, Stems	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Rhodococcus fascians	Leaves, Stems	No	No	CPC, 2007
VIRUSES				
Apple stem grooving	Fruits, Leaves, Stems, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Iris yellow spot	Whole plant	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Lily mottle	Bulbs ,Leaves, Flowers	Yes	Yes	CPC, 2007
Lily symptomless	Leaves	No		CPC, 2007

881

รายชื่อศัตรูพืช	ส่วนพืชที่ถูกทำลาย	เส้นทางศัตรูพืช	ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน	เอกสารอ้างอิง
Lily virus X	Whole plant	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000

882

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช สำหรับการนำเข้าหัวพันธุ์แกลดิโอลัสจากต่างประเทศ

Study on Pest Risk Analysis for the Importation of Gladiolus Bulbs

ณัฏฐพร อุทัยมงคล วาสนา ฤทธิ์ไธสง
ชลิดา อุณหวุฒิ[1/] สุรพล ยินอัศวพรรณ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

แกลดิโอลัส (Gladiolus) เป็นไม้ดอกที่ปลูกมากทั้งในเขตอากาศร้อนและเขตอากาศหนาว มีสถิตินำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์และจีน เป็นต้น จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นของดอกแกลดิโอลัสในปี 2549 พบว่ามีศัตรูพืชหลายชนิดไม่มีในประเทศไทยและมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน ซึ่งการนำเข้าในลักษณะหัวพันธุ์จะมีโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาทำลายพืชในประเทศได้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงมีการประกาศให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์อิริดาซีอี้ Iridaceae ได้แก่ “พืชสกุลแกลดิโอลัส *Gladiolus* spp” เป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัดข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย อย่างไรก็ตาม ใบรับรองสุขอนามัยพืช ไม่มีกำหนดมาตราการทางสุขอนามัยแต่อย่างใด จึงจำเป็นต้องศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูของแกลดิโอลัส เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูหัวพันธุ์แกลดิโอลัสว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างที่เป็นศัตรูพืชกักกันเพื่อจะต้องมีการจัดการความเสี่ยงก่อนการนำเข้ามาในราชอาณาจักร การตรวจสอบศัตรูพืชจำนวน 50 ตัวอย่างจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ไม่พบศัตรูพืชติดมากับหัวพันธุ์นำเข้าจากการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของหัวพันธุ์แกลดิโอลัส เริ่มจากการรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืชทั้งในและนอกประเทศ การตรวจศัตรูพืชจากพืชนำเข้าและข้อมูลวิเคราะห์ความเสี่ยงเดิมกับดอกแกลดิโอลัส พบว่า มีศัตรูของแกลดิโอลัสรวมทั้งหมด 155 ชนิด โดยจัดกลุ่มออกเป็น ไร 6 ชนิด แมลง 31 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 24 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด วัชพืช 56 ชนิดเป็นศัตรูพืชที่มีรายงานพบในประเทศไทย 85 ชนิด

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-02-01-51

[1/]กลุ่มงานกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นำศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยมาพิจารณาเฉพาะที่สามารถติดมากับเส้นทางศัตรูพืชคือ หัวพันธุ์แกลดิโอลัส (หัวและราก) รวม 55 ชนิด คือ ไร 3 ชนิด แมลง 19 ชนิด ไวรัส 11 ชนิด รา 12 ชนิด ไส้เดือนฝอย 10 ชนิด นำศัตรูพืชแต่ละชนิดมาวิเคราะห์ตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของประเทศสหรัฐอเมริกาต่อไป

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งปลูกไม้ดอกเมืองร้อนที่สำคัญหลายชนิด ในปี พ.ศ.2548/ 2549 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกไม้ดอกไม้ประดับทั้งหมด 123,057 ไร่ ให้ผลผลิต 44.092.70 ตัน โดยปลูกในลักษณะไม้ตัดดอก ไม้กระถางหรือไม้ชำถุง เช่น เบญจมาศ กุหลาบ กล้วยไม้ หน้าวัว ปทุมมา ดาหลา เป็นต้น และในพื้นที่บางแห่งบริเวณภาคเหนือของประเทศซึ่งมีสภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับต่างประเทศ ทำให้สามารถปลูกไม้ดอกเขตหนาวได้เช่นกัน เช่น ลิลลี่ แกลดิโอลัส คาร์เนชั่นเป็นต้น ในปี 2550 มีข้อมูลแจ้งว่ามีการนำเข้าพันธุ์ไม้และไม้ดอกเป็นเงิน 10.7 ล้านบาทโดบไม่ทราบปริมาณที่ชัดเจนและเป็นดอกไม้สด 8.8 ล้านบาทปริมาณ 4,266 เมตริกตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550)

ปัจจุบันประเทศไทยมีการนำเข้าหัวพันธุ์แกลดิโอลัสจากต่างประเทศเพื่อใช้ปรับปรุงพันธุ์และปลูกจำหน่าย แต่เนื่องจากเดิมเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม จึงมีการหลีกเลี่ยงในการแจ้งการนำเข้าข้อมูลในปี2551 ประเทศไทยมีการนำเข้าหัวพันธุ์ จากประเทศเนเธอร์แลนด์ 3.6 เมตริกตัน คิดเป็นเงิน ประมาณ 1 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร) แต่เป็นการนำเข้าจากแหล่งที่มีโรคที่สำคัญทางกักกันพืชระบาด จึงทำให้มีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดจากต่างประเทศเข้ามาได้

จากการศึกษาการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นของแกลดิโอลัสในปี 2549 พบว่ามีศัตรูพืชหลายชนิดไม่มีในประเทศไทยและมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันซึ่งการนำเข้าในลักษณะหัวพันธุ์จะมีโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาลำลายพืชในประเทศได้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงมีการประกาศให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์วงศ์อิริดาซีอี้ Iridaceae ได้แก่ “พืชสกุลแกลดิโอลัส *Gladiolus* spp” เป็นสิ่งกำกัดตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัด ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย จึงจำเป็นต้องศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูของแกลดิโอลัส เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูหัวพันธุ์แกลดิโอลัสว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างที่เป็นศัตรูพืชกักกันและจำเป็นต้องมีการจัดการความเสี่ยงก่อนนำเข้ามาในราชอาณาจักร

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าจากต่างประเทศ
2. เพื่อสืบค้น รวบรวม จัดทำรายชื่อ และข้อมูลศัตรูพืชของหัวพันธุ์แกลดิโอลัสจากฐานข้อมูลทั้งในและต่างประเทศ
3. เพื่อประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชและกำหนดมาตรการด้านสุขอนามัยพืชในการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน

วิธีการและขั้นตอนการศึกษา วิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

1. **การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืช**

รวบรวมข้อมูลทั่วไปของหัวพันธุ์แกลดิโอลัสเช่นลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ความสำคัญทางเศรษฐกิจ สถิติการนำเข้าส่งออก การตลาด การเก็บรักษา จากหนังสือ วารสารทางวิชาการเป็นต้น

รวบรวมข้อมูลศัตรูพืช โดยทำการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชจากเอกสารวิชาการต่างๆ ข้อมูลทางวิชาการ งานวิจัยทั้งในและต่างประเทศรายงานการประชุม และสัมมนาทางวิชาการ ทะเบียนวิจัยของกรมวิชาการเกษตร และหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง ข้อมูลจากการประชุมอภิปรายจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลกและ จากCrop protection compendium 2007 (CPC, 2007) และจากข้อมูลทางอิเลคโทรนิค เว็บไซท์ต่างๆเช่นhttp://www.fao.org, PlantVirusesOnline เป็นต้น.

2. **ข้อมูลที่ได้ทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงมาก่อนแล้วในประเทศและต่างประเทศ** โดยใช้ข้อมูลการศึกษาการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นของดอกแกลดิโอลัสในปี 2549 ที่ได้รับเงิน สนับสนุนจากสำนักมาตราฐานสินค้าเกษตรแห่งชาติมาศึกษา แต่ต้องมีการเปลี่ยนแปลงข้อมูลในเอกสารอ้างอิงจาก Crop protection compendium 2005 เป็น 2007 และ เปลี่ยนการศึกษาเส้นทางศัตรูพืชจากจากการศึกษาเฉพาะดอกเป็นส่วนหัวพันธุ์แทน ทั้งหมด.

3. **การตรวจสอบศัตรูจาก**หัวพันธุ์แกลดิโอลัสที่นำเข้ามา (Interception) โดย

ก. โดยการตรวจสอบด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำเพื่อตรวจหาตัวอ่อน หนอน แมลง เชื้อรา อาการฉ่ำน้ำของแบคทีเรีย ไวรัส วัชพืช และไส้เดือนฝอย

ข. การตรวจสอบในขั้นละเอียดหากพืชแสดงอาการถูกทำลายด้วยราหรือแบคทีเรีย ให้นำส่วนที่แสดงอาการมาตรวจสอบ โดยการตัดอาการของชิ้นส่วนพืชให้มีขนาดประมาณ 1x1 มิลลิเมตร นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 0.1% NaOCl ทิ้งไว้ นาน 1 นาที ล้างตามด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งภายใต้กระแสลมตู้ปลอดเชื้อแล้วนำไปวางบนอาหาร Nutrient (NA) บ่มเชื้อไว้ 3-7 วัน ที่

อุณหภูมิห้อง ตรวจว่ามีเส้นใยของเชื้อราหรือลักษณะของแบคทีเรียหรือไม่ ถ้ามีนำไปทำให้บริสุทธิ์แล้วเก็บเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

ค. หัวพันธุ์ส่วนหนึ่งจะนำไปปลูกเพื่อตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยเฉพาะอาการโรคที่เกิดจากไวรัส โดยนำไปทดสอบบนพืชทดสอบ หรือตรวจดูอนุภาคไวรัสภายใต้กล้องจุลทรรศ์อิเลคตรอนไมโครสโคป

ง. หากหัวพันธุ์มีส่วนของรากจะนำมาตรวจหาไส้เดือนฝอยด้วยวิธีการที่เหมาะสม

4. การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชดำเนินตามขั้นตอน คือ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชได้ดำเนินการตามมาตรฐานระหว่างประเทศตามมาตรการสุขอนามัยพืชซึ่งพัฒนาขึ้นภายใต้อนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ มีดังนี้

1. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Guidelines for Pest Risk Analysis, 1995; ISPM No.2) FAO. Rome. (FAO, 2006)
2. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อมและพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests including Analysis of Environmental Risk and Living Modified organism, 2004; ISPM No. 11) FAO. Rome. (FAO, 2006)

แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของประเทศสหรัฐอเมริกา (Guidelines for Pathway-initiated Pest Risk Assessments ver 5.02 (APHIS, 2000) มาปรับใช้ดังนี้

4.1 การเริ่มต้นการการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage: Initiation) เกี่ยวข้องกับ

4.1.1 เหตุผลที่ต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การจำแนกเส้นทางศัตรูพืชและพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงของการนำเข้าหัวพันธุ์แกลดิโอลัส

4.1.2 ศักยภาพหัวพันธุ์แกลดิโอลัสที่จะกลายเป็นวัชพืช

4.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage: Pest Risk Assessment)

กระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช จะประกอบด้วย 5 ขั้น ดังนี้

ขั้นที่ 1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) โดยจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชทั้งหมดของแกลดิโอลัส ส่วนของพืชที่ถูกทำลายโดยเฉพาะส่วนของพืชที่นำเข้า (ใช้พิจารณาจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่เคยทำมาแล้วปี 2549 และข้อมูลการตรวจพบศัตรูพืชที่จุดนำเข้า) แล้วจำแนกชนิดศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืช (pathway) คือส่วนของหัวพันธุ์ ว่ามีโอกาสศัตรูพืชติดมาหรือไม่ ซึ่งจะได้ศัตรูพืชที่มีโอกาสเป็นศัตรพืชกักกันตามคำนิยามศัตรูพืชกักกันของ FAO, 2005

คือรายชื่อศัตรูพืชที่ไม่ปรากฏพบในประเทศไทยหรือมีอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ และสามารถติดมากับส่วนของพืชนำเข้า

ขั้นที่ 2 พิจารณาศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันจะมีโอกาสติดมา (Introduction) กับพืชนำเข้าหรือไม่ สามารถเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Establishment) และสามารถแพร่กระจาย (Spread) ได้หรือไม่

ขั้นที่ 3 ประเมินผลกระทบที่ตามมาภายหลังจากศัตรูพืชกักกันเข้ามา(Consequences of introduction) จะพิจารณาจากองค์ประกอบ 5 ข้อ โดยกำหนดเกณฑ์ความเสี่ยงเชิงปริมาณดังนี้ ความเสี่ยงต่ำ = 1 จุด, ปานกลาง = 2 จุด, สูง = 3 จุด และรวมความเสี่ยงแต่ละองค์ประกอบเข้าด้วยกัน

3.1 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาพภูมิอากาศกับพืชอาศัย การที่ศัตรูพืชเข้ามาอยู่ในถิ่นฐานใหม่ที่มีพืชอาศัยและสภาพภูมิอากาศคล้ายคลึงกับถิ่นฐานเดิม สภาพแวดล้อมทั้งที่ไม่มีชีวิตและมีชีวิตเป็นปัจจัยที่ในการแพร่ขยายพันธุ์และนำมาพิจารณาเปรียบเทียบกับอุณหภูมิของกรมอุตุนิยมวิทยา (Thai Meteorological Department, 1998-2007) จัดทำเป็น “Thai plant hardiness Zone” คือแบ่งเป็น 3 โซน (ค่าสูงสุด-ต่ำสุด) ดังนี้

โซน 1. :ปริมาณน้ำฝน (1,525-1,225 มม/ปี),ความชื้นสัมพัทธ์ (83-60%), อุณหภูมิ (39- 15 $^{\circ}$ เซลเซียส)

โซน 2. :ปริมาณน้ำฝน (1,546 -921 มม./ปี),ความชื้นสัมพัทธ์ (79-61%), อุณหภูมิ (39-16 $^{\circ}$เซลเซียส)

โซน 3. :ปริมาณน้ำฝน (2,625-1,616มม./ปี),ความชื้นสัมพัทธ์ (83-61%), อุณหภูมิ (37-18 $^{\circ}$เซลเซียส)

ความเสี่ยงต่ำ (1): สภาพแวดล้อมในถิ่นฐานเดิมคล้ายคลึงกับ plant hardiness 1 โซน

ความเสี่ยงปานกลาง (2): สภาพแวดล้อมในถิ่นฐานเดิมคล้ายคลึงกับ plant hardiness 2 โซน

ความเสี่ยงสูง (3): สภาพแวดล้อมในถิ่นฐานเดิมคล้ายคลึงกับ plant hardiness 3 โซน

3.2 ชนิดพืชอาศัย (host range) ศัตรูพืชมีความสามารถในการดำรงชีพ การแพร่พันธุ์ และศักยภาพในการทำลายพืช โดยแมลงจะมีความสัมพันธ์กับพืชอาศัย และเชื้อราขึ้นอยู่กับความหลากหลายของพืชอาศัย ความรุนแรง และความสามารถในก่อให้เกิดโรค

ความเสี่ยงต่ำ (1): ศัตรูพืชเข้าทำลายพืชหนึ่งชนิดหรือหลายชนิด

ความเสี่ยงปานกลาง (2): ศัตรูพืชเข้าทำลายพืชหลายชนิดใน 1 วงศ์

ความเสี่ยงสูง (3) ศัตรูพืชเข้าทำลายพืชหลายชนิดและหลายวงศ์

3.3 ศักยภาพการแพร่กระจายพิจารณาจากรูปแบบการขยายพันธุ์ความสามารถในการเคลื่อนที่ ปัจจัยส่งเสริมการแพร่กระจาย (ลม น้ำ พาหะ มนุษย์ ฯลฯ)

ความเสี่ยงต่ำ (1): ศัตรูพืชมีการสืบพันธุ์ออกลูกหลานต่ำ การแพร่กระจายช้า

ความเสี่ยงปานกลาง(2): ศัตรูพืชมีการสืบพันธุ์ได้ดีมีการแพร่กระจายว่องไว

ความเสี่ยงสูง (3): ศัตรูพืชมีลูกหลานหลายรุ่นในหนึ่งปี มีลูกมากและมีการแพร่กระจายเร็วและไกล แพร่พันธุ์ด้วยตนเองหรือโดยอาศัยธรรมชาติ ลม น้ำ พาหะ หรือมนุษย์

3.4 ผลกระทบทางเศรษฐกิจ พิจารณาจากทำให้ผลผลิตตกต่ำ ทำให้พืชตายหรือเป็นพาหะนำโรค เพิ่มต้นทุนการผลิต ลดมูลค่าผลผลิต สูญเสียตลาดเนื่องจากการมีศัตรูพืชกักกัน

ความเสี่ยงต่ำ (1): ศัตรูพืชไม่อยู่ภายใต้หลักเกณฑ์ หรือใต้หลักเกณฑ์กรณีเดียว

ความเสี่ยงปานกลาง (2) ศัตรูพืชอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์มากกว่าหรือเท่ากับ 2 หลักเกณฑ์

ความเสี่ยงสูง (3) ศัตรูพืชอยู่ภายใต้ทุกหลักเกณฑ์

3.5 ผลกระทบด้านสิ่งแวดล้อม พิจารณาจากเกณฑ์ ดังนี้ มีผลกระทบอย่างยิ่ง เช่นทำลายสภาพนิเวศน์วิทยา สูญเสีย ความหลากหลายทางชีวภาพ ผลกระทบรุนแรงต่อสิ่งแวดล้อม คุกคามสิ่งมีชีวิตที่ใกล้สูญพันธุ์ เช่น รายชื่อพืชที่ใกล้สูญพันธุ์ (เอกสารแนบ) มีมาตรการกำจัดศัตรูพืชหลังจากศัตรูพืชกักกันเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศ

ความเสี่ยงต่ำ (1): ศัตรูพืชไม่อยู่ใต้หลักเกณฑ์

ความเสี่ยงปานกลาง (2) ศัตรูพืชอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์ 1 หลักเกณฑ์

ความเสี่ยงสูง (3) ศัตรูพืชอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์มากกว่าหรือเท่ากับ 2 หลักเกณฑ์

จากนั้นผลรวมของ 5 องค์ประกอบ นำมาพิจารณาว่าเป็นปัจจัยด้านชีววิทยาที่ทำให้ศัตรูพืชกักกันมีศักยภาพในการดำรงชีพถาวร แพร่กระจาย และมีผลต่อเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อม ดังนี้

ความเสี่ยงต่ำ: มีผลรวม 5-8 จุด

ความเสี่ยงปานกลาง: มีผลรวม 9-12 จุด

ความเสี่ยงสูง: มีผลรวม 13-15 จุด

ขั้นที่ 4 เป็นการประเมินศักยภาพในการเข้ามาเจริญแพร่พันธุ์และดำรงชีพอย่างถาวร พิจารณาความเสี่ยงจาก โอกาสที่ศัตรูพืชจะรอดชีวิต และเคลื่อนย้ายไปยังสภาพนิเวศน์ที่เหมาะสมและพบพืชอาศัย พิจารณาจาก ดังนี้

4.1 ปริมาณการนำเข้าในรอบหนึ่งปี โอกาสที่ศัตรูพืชจากต่างประเทศเข้ามาขึ้นอยู่กับศัตรูพืชที่ปะปนมากับสินค้าคาดจากปริมาณการนำเข้า

ความเสี่ยงต่ำ (1) < 10 กก.ต่อปี

ความเสี่ยงปานกลาง (2) 10-100 กก.ต่อปี

ความเสี่ยงสูง (3) > 100 กก.ต่อปี

4.2 การรอดชีวิตหลังผ่านการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ การบริหารจัดการ การกำจัดศัตรูพืชในสินค้าที่จะส่งออก เช่น การคัดแยก ล้าง การใช้สารเคมี การเก็บรักษาในห้องเย็น ฯลฯ ถ้าไม่มีวิธีกำจัดศัตรูพืชจะประเมินความเสี่ยงที่ระดับสูง

4.3 การรอดชีวิตระหว่างการขนส่ง พิจารณาที่การขนส่งที่ดำเนินการอยู่ในปัจจุบัน

4.4 การรอดจากการตรวจพบที่จุดนำเข้า หากมาตรการตรวจหาศัตรูพืชที่มีอยู่แล้วไม่มีประสิทธิภาพพอ จะกำหนดให้ศัตรูพืชชนิดนั้นความเสี่ยงสูง

4.5 การนำเข้าหรือเคลื่อนย้ายไปที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการดำรงชีวิต พิจารณาตำแหน่งและสภาพภูมิประเทศที่คาดว่าสินค้าจะนำมาวางจำหน่ายเพื่อประเมินว่าสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศของพื้นที่นั้นมีความเหมาะสมต่อการรอดชีวิตของที่มากับพืชนำเข้าได้หรือไม่

4.6 การพบกับพืชอาศัย แม้ศัตรูพืชจะเข้ามาถึงพื้นที่ที่มีสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการมีชีวิตรอด แต่พืชอาศัยเพื่อเป็นอาหารและแหล่งขยายพันธุ์เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้ศัตรูพืชรอดชีวิต ศัตรูพืชแต่ละชนิดต้องพิจารณาความหลากหลายของพืชอาศัย

ขั้นที่ 5 สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชโดยรวมการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชแต่ละชนิดระหว่าง **ผลรวมการประเมินผลที่ตามมาภายหลังจากศัตรูพืชกักกันเข้ามา** กับ **ผลรวมการประเมิน ศักยภาพในการเข้ามาเจริญแพร่พันธุ์และดำรงชีพอย่างถาวร** โดยกำหนดความเสี่ยงคือ ความเสี่ยงต่ำ 11-18 จุด, ความเสี่ยงปานกลาง 19-26 จุด, ความเสี่ยงสูง 27-33 จุด โดยมีหลักเกณฑ์ ดังนี้

ความเสี่ยงต่ำ: ไม่ต้องมีมาตรการด้านสุขอนามัยอื่นมาดำเนินการ วิธีการสุ่มตรวจสินค้าที่จุดนำเข้ามีความเพียงพอและแน่ใจว่าสินค้าปลอดจากศัตรูพืช

ความเสี่ยงปานกลาง: มีความจำเป็นต้องมีมาตรการด้านสุขอนามัยอื่นมาดำเนินการ

ความเสี่ยงสูง: มีความจำเป็นต้องมีมาตรการด้านสุขอนามัยอื่นมาดำเนินการ การสุ่มตรวจสินค้าที่จุดนำเข้าไม่มีความเพียงพอ

4.3 **การจัดการความเสี่ยง** (Stage: Pest Risk management)

การจัดการความเสี่ยง โดยมีการประเมินประสิทธิภาพของวิธีการจัดการ และระบุวิธีที่เหมาะสมที่สุดที่ใช้ตัดสินใจ ซึ่งต้องคำนึงถึงปัจจัยความไม่แน่นอนด้วยการกำหนดมาตราการจัดการความเสี่ยงสามารถทำได้โดยทางกกหมายและทางวิชาการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่อาจติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่

5. **สรุปผล**การศึกษาการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าจากต่างประเทศ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2550-กันยายน 2552

สถานที่ทดลอง กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ค่านตรวจพืชลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ผลการศึกษา วิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

1. การรวบรวมข้อมูลพืชและศัตรูพืช

(1) **การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืช (Information on crops)** จากเอกสารทางวิชาการ วารสาร การประชุมสัมมนา ในและนอกประเทศรวมทั้ง ข้อมูลอิเลคโทนิค เวบไซต์ต่างๆ ได้ผลข้อมูลดังต่อไปนี้

1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

แกลดิโอลัส เป็นพืชในวงศ์ Iridaceae มีชื่อวิทยาศาตร์ *Gladiolus* spp.ชื่อของ Gladiolus มาจากคำว่า Gladius ในภาษากรีกแปลว่า ดาบ แกลดิโอลัสมีมากกว่า 150 ชนิด มีทั้งกลิ่นหอมและไม่มีกลิ่น ปัจจุบันมีพันธุ์ที่ปลูกเป็นการค้า เกือบ 3,000 พันธุ์ แกลดิโอลัสเป็นพืชหัว (Corm) คือส่วนโคนของลำต้นที่พองออกใต้ดิน สำหรับสะสมอาหาร มีลักษณะกลม แบน หัวจะถูกห่อหุ้มด้วยโคนใบแห้ง 4-5 ใบ เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ เมื่อแกะใบออกจะเห็นตา 1 ตา อยู่โคนใบแต่ละใบ ตาบนจะใหญ่ที่สุดและเจริญก่อน ปัจจุบันแกลดิโอลัส มีอนุธานวิทยาดังนี้

Phylum: Spermatophyta
Subphylum: Angiospemae
Class: Monocotyledonae
Order: Liliales
Family: Iridaceae

1.2 การผลิตแกลดิโอลัส

แหล่งกำเนิด: มีถิ่นกำเนิดอยู่แถวแอฟริกาเขตร้อน เอเชียตะวันตก และประเทศแถบเมดิเตอร์เรเนียน นิยมปลูกเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางกันอย่างกว้างขวางทั่วโลก เจริญเติบโตได้ดีใน

เขตกึ่งร้อนและเขตร้อน ประเทศที่ปลูกมากได้แก่ประเทศเนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐประชาชนจีน ญี่ปุ่นฯ

การขยายพันธุ์ เช่น การเพาะเมล็ด การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หัวและหัวย่อย

ปัจจุบันมีการนำสารเคมีมาทำลายระยะพักตัวของหัวแกลดิโอลัส เพื่อปลูกในรุ่นต่อไปได้เร็วขึ้น เช่น การรมด้วยสารเอธิลีน คลอโรไฮดริน แช่แกลดิโอลัสในแอลกอฮอล์ การรมด้วยเอธิลีน อีเธอร์ ในต่างประเทศได้แบ่งเกรดตามขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของหัว

1.3 การค้าระหว่างประเทศ

ความสำคัญทางเศรษฐกิจ

แกลดิโอลัสเป็นไม้ตัดดอกที่มีการซื้อขายกันมาก รองจาก กุหลาบ เบญจมาศ ทิวลิป คาร์เนชั่น และลิลลี่ แต่ปัจจุบันการนำเข้าเริ่มลดลงเพราะหลายๆประเทศมีการปรับปรุงพันธุ์ที่เหมาะสมกับประเทศและตลาดของตนเองมากขึ้น

สถิติการนำเข้าแกลดิโอลัส

สถิติการนำเข้า

ในปี พ.ศ. 2551 มีข้อมูลการนำเข้าพันธุ์ไม้มูลค่า1 ล้านบาท 3.6 เมตริกตัน

สถิติการส่งออก

มีการส่งออกไปประเทศ ซาอุดิอาระเบีย แคนาดา

การปลูกและการค้าแกลดิโอลัสของประเทศไทย

ประเทศไทย สามารถปลูกได้เกือบทั่วประเทศโดยเฉพาะบนพื้นที่สูงภาคเหนือ ซึ่งมีสภาพอากาศที่เอื้ออำนวยและเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่น เชียงใหม่ เชียงราย และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น อ.ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา เลย และในพื้นที่ บริเวณเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ สุโขทัยด้วย ปัจจุบันนอกจากจะผลิตเพื่อตัดดอกแล้วยังผลิตเป็นไม้กระถางและผลิตหัวภัณฑ์จำหน่าย ส่วนใหญ่แกลดิโอลัสที่ปลูกจะส่งมาขายยังตลาดในกรุงเทพมหานคร

(2) ผลการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืช

1. จากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชทั้งในและนอกประเทศ จาก เอกสารวิชาการ หนังสือวิชาการ Crop protection compendium (CPC, 2007) Journal ต่างๆ ข้อมูลการสำรวจวัชพืชในประเทศไทย ข้อมูลการสำรวจโรคศัตรูพืชและการรวบรวมศัตรูพืชจากเว็บไซท์ต่างๆ

2.สำหรับประเทศไทยจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงเบื้องต้นปี2549พบว่ามีศัตรูพืชทั้งหมด 136 ชนิดดำเนินการโดยใช้ CPC 2003 เป็นแหล่งข้อมูล และเป็นการวิเคราะห์เบื้องต้นในการนำเข้าเฉพาะดอกแกลดิโอลัส จึงยังไม่เคยมีรายงานว่ามีการวิเคราะห์ความเสี่ยงหัวพันธุ์มาก่อน

(3) **การตรวจสอบศัตรูพืช**แกลดิโอลัสนำเข้า

ผลการตรวจสอบหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าระหว่างเดือนกันยายน 2550-ธันวาคม 2551 จำนวน 1 ครั้งรวม 40 ตัวอย่าง นำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ไม่พบศัตรูพืชติดมากับหัวพันธุ์นำเข้า

เมื่อนำรายชื่อศัตรูพืชจากการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชทั้งในและนอกประเทศ จากการวิเคราะห์ความเสี่ยงเบื้องต้นปี 2549 พบว่ามีศัตรูของแกลดิโอลัสรวมทั้งหมด 155 ชนิดเป็นไร 6 ชนิด แมลง 31 ชนิด ไวรัส 21ชนิด แบคทีเรีย 5ชนิด รา 24 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด วัชพืช 56 ชนิด (เอกสารแนบที่1)

2. **การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช** (Risk Assessment)

ขั้นตอนที่1 การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

4.1 **การเริ่มต้นการการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช** (Stage: Initiation) เกี่ยวข้องกับ

4.1.1 ตามนโยบายที่เปลี่ยนสถานะภาพของแกลดิโอลัสที่เป็นผลมาจากการศึกษาการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเบื้องต้นของดอกแกลดิโอลัสในปี 2549 พบว่ามีศัตรูพืชหลายชนิดไม่มีในประเทศไทยและมีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกันซึ่งการนำเข้าในลักษณะหัวพันธุ์จะมีโอกาสที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาลำลายพืชในประเทศได้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงมีการประกาศให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงวงศ์อิริดาซีอี้ Iridaceae ได้แก่ “พืชสกุลแกลดิโอลัส *Gladiolus* spp” เป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัดข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507แก้ไขปรับปรุง พ.ศ. 2542และแก้ไขปรับปรุง พ.ศ. 2550 การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยกำกับมาด้วย อย่างไรก็ตามใบรับรองสุขอนามัยที่ใช้ไม่มีการระบุศัตรูพืชหรือมาตราการทางสุขอนามัยพืชกำกับ จึงจำเป็นต้องดำเนินการศึกษาโดยเส้นทางศัตรูพืชได้แก่หัวพันธุ์แกลดิโอลัสโดยพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงคือประเทศไทย

พื้นที่ที่อยู่ในอันตรายได้แก่พื้นที่หนึ่งพื้นที่ใดของประเทศไทย ซึ่งมีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืชและมีปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวรและแพร่กระจายได้

4.1.2 ศักยภาพหัวพันธุ์แกลดิโอลัสที่จะกลายเป็นวัชพืช พบว่าแกลดิโอลัสเป็นพืชที่สามารถปลูกและเจริญเติบโตในประเทศไทยอยู่แล้ว จึงไม่จัดเป็นวัชพืช

4.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage: Pest Risk Assessment)

ขั้นที่1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) พบว่าที่มีสิ่งมีชีวิตที่จะพบกับแกลดิโอลัสได้ 155 ชนิด โดยจัดกลุ่มออกเป็น ไร 6 ชนิด แมลง 31 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 24 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด วัชพืช 56 ชนิด เป็นศัตรูพืชที่มีรายงานพบในประเทศไทย 85 ชนิด แบ่งออกเป็นไร 1 ชนิด แมลง 10 ชนิด ไวรัส 4 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 7 ชนิด ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด วัชพืช 56 ชนิด (ตารางที่..1...)

นำศัตรูพืชที่ไม่มีในประเทศไทยมาพิจารณาเฉพาะที่สามารถติดมากับเส้นทางศัตรูพืชคือหัวพันธุ์แกลดิโอลัส (หัวและราก) รวม 55 ชนิด คือ ไร 3 ชนิด แมลง 19 ชนิด ไวรัส 11 ชนิด รา 12 ชนิด ไส้เดือนฝอย 10 ชนิด (ตารางที่..2...)

ขั้นที่2 นำศัตรูพืชแต่ละชนิดมาประเมินโอกาสติดมา(Introduction) กับพืชนำเข้าสามารถเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Establishment) และสามารถแพร่กระจาย (Spread) ได้หรือไม่ตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของประเทศสหรัฐอเมริกาต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แกลดิโอลัส (Gladiolus) เป็นไม้ดอกที่ปลูกมากทั้งในเขตอากาศร้อนและเขตอากาศหนาว มีสถิตินำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์และจีน เป็นต้น ปัจจุบันได้มีการประกาศให้ส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชในวงศ์อิริดาซีอี้ Iridaceae ได้แก่ “พืชสกุลแกลดิโอลัส *Gladiolus* spp” เป็นสิ่งกำกัด ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์เรื่องกำหนดพืชจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งกำกัดข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 พ.ศ. 2550 การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย อย่างไรก็ตามใบรับรองสุขอนามัยพืช ไม่มีกำหนดมาตราการทางสุขอนามัยแต่อย่างใด จึงจำเป็นต้องศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูของแกลดิโอลัส เพื่อให้ทราบชนิดของศัตรูหัวพันธุ์แกลดิโอลัสว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างที่เป็นศัตรูพืชกักกันเพื่อจะต้องมีการจัดการความเสี่ยงก่อนการนำเข้ามาในราชอาณาจักร จากการเก็บตัวอย่างหัวพันธุ์แกลดิโอลัสนำเข้าระหว่างเดือนกันยายน 2550- ธันวาคม 2551 จำนวน 1 ครั้งรวม 40 ตัวอย่าง นำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ไม่พบศัตรูพืชติดมากับหัวพันธุ์นำเข้า ดังนั้นเมื่อดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช โดยการรวบรวม ข้อมูลพืชและศัตรูพืชทั้งในและนอกประเทศ และจากการตรวจศัตรูพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงกับดอกแกลดิโอลัส พบว่า มีศัตรูของแกลดิโอลัสรวมทั้งหมด155 ชนิด โดยจัดกลุ่มออกเป็น ไร 6 ชนิด แมลง 31 ชนิด ไวรัส 21 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด รา 24 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด วัชพืช 56 ชนิด เป็นศัตรูพืชที่มีรายงานพบในประเทศไทย 85 นำศัตรูพืชที่ไม่มีใน

ประเทศไทยมาพิจารณาเฉพาะที่สามารถติดมากับเส้นทางศัตรูพืชคือหัวพันธุ์แกลดิโอลัส (หัวและราก) รวม 55 ชนิด คือ ไร 3 ชนิด แมลง 19 ชนิด ไวรัส 11 ชนิด รา 12 ชนิด ไส้เดือนฝอย 10 ชนิด (ตารางที่2) นำศัตรูพืชแต่ละชนิดมาประเมินโอกาสติดมา(Introduction) กับพืชนำเข้าสามารถเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Establishment) และสามารถแพร่กระจาย(Spread) ได้หรือไม่ตามแนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงของประเทศสหรัฐอเมริกาต่อไป

ปัญหาของการดำเนินการ เนื่องจากเป็นพืชที่มีการศึกษาโรคศัตรูพืชไม่มากจึงมีข้อมูลที่ไม่ละเอียดและการตรวจสอบศัตรูพืชจากพืชที่นำเข้ามีตัวอย่างไม่มาก การปลูกเพื่อสังเกตอาการดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการกักกันพืชไม่ได้ผล อาจเนื่องมาจากอากาศร้อนเกินไป พืชเจริญได้ระยะหนึ่งแล้วหยุด แห้งตายไป ไม่สามารถตรวตสอบศัตรูพืชบางชนิดได้

เอกสารอ้างอิง

จุฑามาส อ่อนวิมล. คู่มือการปลูกไม้ตัดดอก. โครงการหนังสือเกษตรชุมชน 159 หน้า.

นิรนาม. 2516. ไม้ตัดดอก–กุหลาบ หน้าวัว แกลดิโอลัส เบญจมาศ บัว ฯลฯ รายงานการสัมมนาเรื่องไม้ตัดดอกของสมาคมวิทยาศาสตร์ การเกษตรแห่งประเทศไทย.

ศูนย์สารสนเทศ กรมส่งเสริมการเกษตร .http:// production. doae.go.th

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสินค้าเกษตร 2550.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. สถิติการนำเข้าพืชจากด่านตรวจพืชระหว่างปี 2550-2551.

AICAF. 1996. Weeds in he Tropics. Association for International Cooperation of Agriculture & Forestry, Japan. Sanbi Printing Co.Ltd. 304p.

Biosecurity Australia. 2000. Non-Routine Import Risk Analysis (IRA) on Ornamental Bulbs from The Netherlands, the United Kingdom, Israel and New Zealand. Draft IRA Report. Ariculture, Fisheries and Forestry-Australia. 84 p.

Bodman, K., C. Carson, L. Forsberg, N. Gough, I. Hughes, R. Parker, M. Ramsey and M. Whitehouse. 1996. Ornamental Plants: Pests, Diseases & Disorders. Department of Primary Industries, Queenland. 158 p.

Chuaskul Wongstit, Promjit Soralump, Wichit Poanil, and Rungravee Temsirireokgul. 1996. Lanna Medicinal Plants. Department of Botany, Factulty of Pharmacology, Mahidol University. Bangkok. Amarindhra Printing and Publishing Co.,Ltd. 264 p.

CPC. 2007. Crop Protection Compendium 2007 edition. Wallingford, UK: CAB International [CD-Rom].

FAO, 2006. Guidelines for Pest Risk Analysis; ISPM No.2

FAO, 2006 . Phytosanitary Principles Protection of Plants and application of Phytosanitary measures in international Trade; ISPM No.1

GBIF. 2004. Prototype data portal Global Biodiversity Information Facility. http://www.gbif.net/portal/ecat_browser.jsp?taxonkey=

Harada J., Y. Paisooksantivatana and S. Zungsontiporn. 1987. Weeds in the Highlands of Northern Thailand: color illustrated. National Weed Science Research Institute Project. Botany and Weed Science Division, Department of Agriculture. Mass & Medias Co.,Ltd. Bangkok. 126p.

Hedge, I. 1997. Cruciferae (Brassicaceae) In Flora of Thailand Vol.6 part 3. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok. pp. 179-185.

http://creatures.ifas.ufl.edu/orn/thrips/gladiolus_thrips.htm site in : 12/10/2008

Noda K., M. Teerawatsakul, C.Prakongvongs and L. Chaiwiratnukul. 1994. Major Weeds in Thailand: Illustrated by color – revised, enlarged 3rd Edi. National Weed Science Research Institute Project. Botany and Weed Science Division, Department of Agriculture. Mass & Medias Co.,Ltd. Bangkok. 164p.

Randall, R.P. 2002. A GLOBAL COMPENDIUM of WEEDS. Department of Agriculture, Western Australia. 905 p.

Sontirat P., P. Phitakpaivan, T. Kamhangridthirong, W. Choobamrong and U. Kueprakone. 1994. Plant Disease Index in Thailand. Microbiology Group. Plant Pathology and Microbiology Division, Department of Agriculture. Thailand. 285 p.

Wahab, Hassan Abdul. 1998. Pasture and Sheep Production under soursop (Annona muricata) Orchard. In Proceedings of 6th Meetig of the Regional Working Group on Grazing and Feed Resources for Southeast Asia “Integrated Crop-livestock Production Systems and Fodder Trees” Mayon International Hotel, Legaspi City, Philippines. Oct., 5-9, 1998.

Waterhouse, D.F. 1993. The Major Arthropod Pests and Weeds of Agriculture in Southeast Asia. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia. 141 p.

ตารางที่ 1 รายชื่อศัตรูพืชของแกลดิโอลัส

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
แมลง					
Agriotes spp.	wireworms	Coleoptera	Elateridae	No	Biosecurity Australia, 2000
Agrotis ipsilon	black cutworm	Lepidoptera	Noctuidae	Yes	CPC, 2007
Agrotis segetum	turnip moth	Lepidoptera	Noctuidae	No	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
Aphis fabae	black bean aphid	Hemiptera	Aphididae	No	Biosecurity Australia, 2000
Coccus hesperidum	brown soft scale	Hemiptera	Coccidae	Yes	CPC, 2007
Diaprepes abbreviatus	citrus weevil	Coleoptera	Curculionidae	No	CPC, 2007
Eumerus strigatus	onion bulb fly	Diptera	Syrphidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Eumerus tuberculatus	lesser bulb fly	Diptera	Syrphidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Eumerus spp.	lesser bulb fly	Diptera	Syrphidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Frankliniella fusca	tobacco thrips	Thysanoptera	Thripidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Frankliniella occidentalis	western flower thrips	Thysanoptera	Thripidae	Yes	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
Gryllotalpa gryllotalpa	European mole cricket	Orthoptera	Gryllotalpidae	No	CPC, 2007

Hepialus humuli	ghost swift	Lepidoptera	Hepialidae	No	Biosecurity Australia, 2000
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
Hepialus lupulinus	common swift	Lepidoptera	Hepialidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Liriomyza trifolii	American serpentine leafminer	Diptera	Agromyzidae	Yes	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
Lygus lineolaris	tarnished plant bug	Hemiptera	Miridae	No	CPC, 2007
Macrosiphum euphorbiae	potato aphid	Hemiptera	Aphididae	No	CPC, 2007
Macrosteles sexnotatus	aster leaf hopper	Hemiptera	Cicadellidae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Megalurothrips distalis		Thysanoptera	Thripidae	Yes	CPC, 2007
Myzus persicae	green peach aphid	Hemiptera	Aphididae	Yes	CPC, 2007
Opogona sacchari	banana moth	Lepidoptera	Tineidae	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Peridroma saucia	Pearly underwing moth	Lepidoptera	Noctuidae	No	CPC, 2007
Sesamia nonagrioides	Mediterranean corn stalk borer	Lepidoptera	Noctuidae	No	CPC, 2007
Sitobion fragariae	blackberry cereal aphid	Hemiptera	Aphididae	No	CPC, 2007
Spodoptera eridania	southern armyworm	Lepidoptera	Noctuidae	No	CPC, 2007

Spodoptera frugiperda	fall armyworm	Lepidoptera	Noctuidae	No	CPC, 2007
Spodoptera littoralis	cotton leafworm	Lepidoptera	Noctuidae	No	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
Spodoptera litura	taro caterpillar	Lepidoptera	Noctuidae	Yes	CPC, 2007
Thrips hawaiiensis	Hawaiian flower thrips	Thysanoptera	Thripidae	Yes	CPC, 2007
Thrips simplex	gladiolus thrips	Thysanoptera	Thripidae	No	CPC, 2007
Trichoplusia ni	cabbage looper	Lepidoptera	Noctuidae	Yes	CPC, 2007
ไร และแมงมุม					
Petrobia latens	brown wheat mite		Tetranychidae	No	CPC, 2007
Rhizoglyphus robini		Astigmata	Acaridae	No	CPC, 2007
Rhizoglyphus setosus		Astigmata	Acaridae	No	CPC, 2007
Rhizoglyphus spp.	bulb mite	Astigmata	Acaridae	No	Biosecurity Australia, 2000
Tetranychus kanzawai	kanzawa spider mite		Tetranychidae	Yes	CPC, 2007
Tetranychus turkestani	strawberry, spider mite		Tetranychidae	No	CPC, 2007

ไส้เดือนฝอย					
Arthurdendyus triangulatus	New Zealand flatworm	Tricladida	Terricola	No	Biosecurity Australia, 2000
Ditylenchus destructor	potato tuber nematode	Tylenchida	Anguinidae	No	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
Ditylenchus dipsaci	stem and bulb nematode	Tylenchida	Anguinidae	No	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
Globodera pallida	white potato cyst nematode	Tylenchida	Heteroderidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Globodera rostochiensis	yellow potato cyst nematode	Tylenchida	Tylenchoidinae	No	Biosecurity Australia, 2000
Helicotylenchus pseudorobustus	spiral nematode		Hoplolaimidae	Yes	CPC, 2007
Longidorus attenuatus	needle nematode	Dorylamida	Longidoridae	No	Biosecurity Australia, 2000
Longidorus macrosoma	needle nematode	Dorylamida	Longidoridae	No	Biosecurity Australia, 2000
Meloidogyne chitwoodi	Columbia root-knot nematode	Tylenchida	Meloidogynidae	No	Biosecurity Australia, 2000
Pratylenchus penetrans	root lesion nematode		Pratylenchidae	No	CPC, 2007

Rotylenchulus reniformis	reniform nematode		Hoplolaimidae	Yes	CPC, 2007
Xiphinema spp.	dagger nematode	Nematoda	Longidoridae	No	Biosecurity Australia, 2000
เชื้อรา					
Botrytis cinerea	grey mould-rot	Helotiales	Sclerotiniaceae	Yes	CPC, 2007; Sontirat *et al*., 1994
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
Botrytis gladiolorum	core rot of Gladiolus	Helotiales	Sclerotiniaceae	No	Bodman *et al*., 1996; CPC, 2007
Botryotinia draytonii	core rot of Gladiolus	Helotiales	Sclerotiniaceae	No	CPC, 2007
Cochliobolus lunatus	head mould of grasses	Pleosporales	Pleosporaceae	Yes	CPC, 2007
Curvularia gladioli	corm rot		Anamorphic fungi	No	Bodman *et al*., 1996; CPC, 2007
Curvularia lunata	head mould of grasses	Pleosporales	Pleosporaceae	Yes	CPC, 2007
Epicoccum nigrum	red blotch of grains		Anamorphic fungi	No	CPC, 2007
Fusarium oxysporum	basal rot	Hypocreales		Yes	CPC, 2007; Sontirat *et al*.,1994
Fusarium oxysporum f.sp. *gladioli*	fusarium yellows of Gladiolus	Hypocreales		Yes	Bodman *et al*., 1996; Biosecurity Australia, 2000;

					CPC, 2007; Sontirat *et al*., 1994
Myrothecium roridum	blight: eggplant		Anamorphic fungi	Yes	CPC, 2007
Nectria haematococca	dry rot: potato	Hypocreales	Nectriaceae	Yes	CPC, 2007
Penicillium gladioli	Penicillium rot of corms	Eurotiales		No	Bodman *et al*., 1996
Phytophthora cryptogea	tomato foot rot	Pythiales	Pythiaceae	No	CPC, 2007
Phytophthora porri	white tip of leek	Pythiales	Pythiaceae	No	CPC, 2007
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
Pseudocochliobolus eragrostidis	leaf spot: maize	Pleosporales	Pleosporaceae	No	CPC, 2007
Puccinia gladioli	gladioli rust	Uredinales	pucciniaceae	No	Biosecurity Australia, 2000
Rosellinia necatrix	dematophora root rot	Xylariales	Xylariaceae	No	CPC, 2007
Sclerotium rolfsii	Sclerotium rot	Polyporales	Corticiaceae	Yes	Bodman *et al*., 1996; CPC, 2007
Sclerotium wakkeri	smoulder	Stereales	Corticiaceae	No	Biosecurity Australia, 2000
Septoria gladioli	hard rot of Gladiolus		Anamorphic fungi	No	CPC, 2007
Stemphylium sp.	Stemphylium leaf spot		Anamorphic fungi	No	Bodman *et al*., 1996; CPC, 2007

Stromatinia gladioli	dry rot of Gladiolus	Helotiales	Sclerotiniaceae	No	Bodman *et al*., 1996; CPC, 2007
Urocystis gladiolicola	smut: *Gladiolus* spp.	Urocystales	Urocystaceae	No	CPC, 2007
Uromyces gladioli	gladiolus rust	Uredinales	Pucciniaceae	No	CPC, 2007
Uromyces transversalis	gladiolus rust	Uredinales	Pucciniaceae	No	CPC, 2007
แบคทีเรีย					
Aster yellows phytoplasma group	yellow disease phytoplasmas	Acholeplasmatales	Acholeplasmataceae	Yes	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
Burkholderia gladioli pv. *gladioli*	corm scab	Burkholderiales	Burkholderiaceae	Yes	CPC, 2007
Corynebacterium fascians	fasciation: leafy gall	Actinomycetales	Nocardiaceae	Yes	Biosecurity Australia, 2000; Sontirat *et al*., 1994
Pseudomonas marginalis	kansas lettuce disease	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Yes	CPC, 2007; Sontirat *et al*., 1994
Rhodococcus fascians	fasciation: leafy gall	Actinomycetales	Nocardiaceae	Yes	CPC, 2007; Sontirat *et al*.,1994
ไวรัส					

902

Arabis mosaic virus	hop bare-bine		Comoviridae	No	CPC, 2007
Artichoke Italian latent virus			Comoviridae	No	CPC, 2007
Bean yellow mosaic virus	bean yellow mosaic		Potyviridae	No	CPC, 2007
Clover yellow vein virus	CYVV		Potyviridae	No	CPC, 2007
Cucumber green mottle mosaic virus	white break mosaic		Unassigned virus family	No	CPC, 2007
Cucumber Mosaic Virus (CMV)	cucumber mosaic		Bromoviridae	Yes	CPC, 2007
Lily symptomless virus			Flexiviridae	No	CPC, 2007
Narcissus latent virus			Potyviridae	No	CPC, 2007
Soybean mosaic virus	soybean mosaic		Potyviridae	Yes	CPC, 2007
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
Strawberry latent ringspot virus	latent ring spot of strawberry		Comoviridae	No	Biosecurity Australia, 2000; CPC, 2007
Tobacco mosaic virus	tobacco mosaic		Unassigned virus family	Yes	CPC, 2007
Tobacco necrosis virus	augusta disease of tulip		Tombusviridae	No	CPC, 2007
Tobacco rattle virus	spraing of potato		Unassigned virus	No	CPC, 2007

Tobacco ringspot virus	annulus tabaci		Comoviridae	No	CPC, 2007
Tobacco streak virus	stunt of asparagus		Bromoviridae	No	CPC, 2007
Tomato black ring virus	ring spot of beet		Comoviridae	No	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
Tobacco ringspot virus	annulus tabaci		Comoviridae	No	CPC, 2007
Tobacco streak virus	stunt of asparagus		Bromoviridae	No	CPC, 2007
Tomato black ring virus	ring spot of beet		Comoviridae	No	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
Tomato ringspot virus	ringspot of tomato		Comoviridae	No	CPC, 2007
Tomato spotted wilt virus (TSWV)	tomato spotted wilt		Bunyaviridae	Yes	CPC, 2007
รายชื่ศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
วัชพืช					
Ageratum conyzoides	billy goat weed	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Alternanthera paronichyoides	smooth joyweed	Caryophyllales	Amaranthaceae	Yes	GBIF, 2004; Hedge, 1997;

					Randall, 2002
Alternanthera philoxeroides	alligator weed	Caryophyllales	Amaranthaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; The Forest Herbarium, 2001
Amaranthus hybridus	smooth pigweed	Caryophyllales	Amaranthaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; The Forest Herbarium, 2001
Amaranthus lividus	livid amaranth	Caryophyllales	Amaranthaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; The Forest Herbarium, 2001
Amaranthus spinosus	spiny amaranth	Caryophyllales	Amaranthaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Amaranthus viridis	slender amaranth	Caryophyllales	Amaranthaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Bidens pilosa	blackjack	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
Borreria laevicaulis	white broomweed	Gentianales	Rubiaceae	Yes	Chuaskul *et al*., 1996; CPC, 2007; Wahab, 1998
Borreria latifolia	broadleaf buttonweed	Gentianales	Rubiaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004;
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
					Harada *et al*., 1987; IPNI, 2004

Cardamine hirsuta	hairy bittercress	Capparales	Brassicaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Chloris pycnothrix	spiderweb chloris	Cyperales	Poaceae	Yes	GBIF, 2004; Randall, 2002
Chromolaena odorata	Siam weed	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Commelina benghalensis	wandering jew	Commelinales	Commelinaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Conyza sumatrensis	tall fleabane	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Crassocephalum crepidioides	jukut jamalok	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
Cynodon nlemfuensis	East African couch	Cyperales	Poaceae	Yes	AICAF, 1996; GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987; Randall, 2002
Cyperus iria	rice flatsedge	Cyperales	Cyperaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Cyperus rotundus	purple nutsedge	Cyperales	Cyperaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Digitaria ciliaris	southern crabgrass	Cyperales	Poaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**

Drymaria cordata	tropical chickweed	Caryophyllales	Caryophyllaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Eleusine indica	goose grass	Cyperales	Poaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Eupatorium adenophorum	Croftonweed	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
Euphorbia heterophylla	wild poinsettia	Euphorbiales	Euphorbiaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; USDA, 2004
Euphorbia hirta	garden spurge	Euphorbiales	Euphorbiaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Galinsoga parviflora	gallant soldier	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2007
Gnaphalium affine	jersey cudweed	Asterales	Asteraceae	Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987; Randall, 2002
Gnaphalium hypoleucum	cudweed	Asterales	Asteraceae	Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987; Randall, 2002
Gomphrena serrata	arrasa con todo	Caryophyllales	Amaranthaceae	Yes	GBIF, 2004; Randall, 2002
Hedyotis corymbosa	water snowflake	Rubiales	Rubiaceae	Yes	AICAF, 1996; GBIF, 2004; Waterhouse, 1993
Lindernia pusilla	false pimpernel	Scrophulariales	Scrophulariaceae	Yes	GBIF, 2004; The Forest Herbarium, 2001 ;Randall,

รายชื่อศัตรูพืช	ชื่อสามัญ	อันดับ	วงศ์	มีในประเทศไทย	เอกสารอ้างอิง
					2002
Mimosa pudica	sensitive plant	Fabales	Fabaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Noda *et al*., 1994
Nicandra physalodes	apple of Peru	Solanales	Solanaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; WS, 2004
Oxalis corniculata	creeping woodsorrel	Geraniales	Oxalidaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
Oxalis latifolia	sorrel	Geraniales	Oxalidaceae	Yes	AICAF, 1996; CPC, 2007; GBIF, 2004
Panicum maximum	Guinea grass	Cyperales	Poaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Paspalum longifolium	sour paspalum	Cyperales	Poaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Physalis minima	Chinese lanternplant	Solanales	Solanaceae	Yes	GBIF, 2004; Noda *et al*.,1994
Pilea microphylla	rock weed		Urticaceae	Yes	GBIF, 2004; Randall, 2002
Plantago major	broad-leaved plantain	Scrophulariales	Plantaginaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Poa annua	annual meadow grass	Cyperales	Poaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Polygonum chinense	Chinese knotweed	Polygonales	Polygonaceae	Yes	GBIF, 2004

Polygonum nepalense	Nepal persicaria	Polygonales	Polygonaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
Portulaca oleracea	purslane	Caryophyllales	Portulacaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Richardia brasiliensis	white-eye	Gentianales	Rubiaceae	Yes	AICAF, 1996; CPC, 2007; GBIF, 2004; The Forest Herbarium, 2001
Rorippa indica	Indian marshcress	Capparales	Brassicaceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004; Hedge, 1997
Sagina procumbens	bird's eye perlwort	Caryophyllales	Caryophyllaceae	Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987; Randall, 2002
Sigesbeckia orientalis	St. Paul wort	Asterales	Asteraceae	Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987; Randall, 2002
Solanum nigrum	black nightshade	Solanales	Solanaceae	Yes	CPC, 2007
Sonchus arvensis	perennial sowthistle	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Spilanthes paniculata	phak phet	Asterales	Asteraceae	Yes	Randall, 2002
Stellaria aquatica	water chickweed	Caryophyllales	Caryophyllaceae	Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*.,

					1987; Randall, 2002
Synedrella nodiflora	synedrella	Asterales	Asteraceae	Yes	CPC, 2007; GBIF, 2004
Tribulus terrestris	puncture vine	Geraniales	Zygophyllaceae	Yes	AICAF, 1996; CPC, 2007; GBIF, 2004; The Forest
รายชื่อศัตรูพืช	**ชื่อสามัญ**	**อันดับ**	**วงศ์**	**มีในประเทศไทย**	**เอกสารอ้างอิง**
					Herbarium, 2001
Verbena officinalis	European vervain	Lamiales	Verbenaceae	Yes	GBIF, 2004
Youngia japonica	Asiatic hawksbeard	Asterales	Asteraceae	Yes	GBIF, 2004; Harada *et al*., 1987;

ตารางที่ 2 รายชื่อศัตรูพืชที่สามารถเข้าทำลายแกลดิโอลัส (Pests Associated with Commodity in Country)

รายชื่อศัตรูพืช	**ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย**	**เส้นทางศัตรูพืช**	**ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน**	**เอกสารอ้างอิง**
แมลง				
Agriotes spp.	Bulbs, Roots, Other subterranean parts of plants	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000

Agrotis segetum	Leaves Roots Stems, Bulbs	Yes	Yes	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
Aphis fabae	Bulbs, Buds, Shoots, Other aerial parts of plants	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Diaprepes abbreviatus	Inflorescence, Leaves, Roots, whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Eumerus strigatus	Bulbs, Tubers, Interior of roots	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Eumerus tuberculatus	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Eumerus spp.	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Frankliniella fusca	Fruits/pods, Growing points, Inflorescence, Leaves, Stems, Vegetative organs, Bulbs, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Gryllotalpa gryllotalpa	Roots, Stems, Vegetative organs, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
รายชื่อศัตรูพืช	**ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย**	**เส้นทางศัตรูพืช**	**ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน**	**เอกสารอ้างอิง**
Hepialus humuli	Roots, Bulbs, Other subterranean parts	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Hepialus lupulinus	Roots, Bulbs, Other subterranean	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000

	parts			
Lygus lineolaris	Fruits/pods, Growing points, Inflorescence, Leaves, Seeds, Stems, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Macrosiphum euphorbiae	Leaves, Stems, Whole plant, fruit	Yes	Yes	CPC, 2007
Macrosteles quadrilineatus	Fruits/pods, Inflorescence, Leaves	No	No	CPC, 2007
Macrosteles sexnotatus	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Peridroma saucia	Fruits/pods, Growing points, Inflorescence, Leaves, Seeds, Stems, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Sesamia nonagrioides	Fruits/pods, Growing points, Inflorescence, Roots, Seeds, Stems, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Sitobion fragariae	Growing points, Leaves, stems	No	No	CPC, 2007
Spodoptera eridania	Growing points, Leaves, stems	No	No	CPC, 2007
รายชื่อศัตรูพืช	**ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย**	**เส้นทางศัตรูพืช**	**ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน**	**เอกสารอ้างอิง**
Spodoptera frugiperda	Fruits/pods, Growing points,	Yes	Yes	CPC, 2007

	Inflorescence, Leaves, Stems, Whole plant			
Spodoptera littoralis	Fruits/pods, Leaves, Bulbs	Yes	Yes	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
Thrips simplex	Flower, Blooms, Corms/Bulbs	Yes	Yes	http://creatures.ifas.ufl.edu/orn/thrips/gladiolus_thrips.htm site in : 12/10/2008
ไร และแมงมุม				
Petrobia latens	Inflorescence, Leaves, Seeds, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Rhizoglyphus robini	Inflorescence, Leaves, Stems, Vegetative organs	No	No	CPC, 2007
Rhizoglyphus setosus	Bulbs	Yes	Yes	CPC, 2007
Rhizoglyphus spp.	Bulbs, Roots, Other subterranean structures of plants, Some species can attack seeds	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Tetranychus turkestani	Leaves	No	No	CPC, 2007
รายชื่อศัตรูพืช	**ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย**	**เส้นทางศัตรูพืช**	**ศักยภาพเป็น**	**เอกสารอ้างอิง**

			ศัตรูพืชกักกัน	
ไส้เดือนฝอย				
Arthurdendyus triangulatus	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Ditylenchus destructor	Leaves, Roots, Vegetative organs, Bulbs	Yes	Yes	CPC, 2007; Biosecurity Australia, 2000
Ditylenchus dipsaci	Leaves, Seeds, Stems, Vegetative organs, Whole plant, Bulbs	Yes	Yes	CPC, 2007
Globodera pallida	Leaves, Roots, Vegetative organs, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Globodera rostochiensis	Leaves, Roots, Vegetative organs, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Longidorus attenuatus	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Longidorus macrosoma	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Meloidogyne chitwoodi	Leaves, Roots, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Pratylenchus penetrans	Growing points, Leaves, Roots, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Xiphinema spp.	Bulbs, Whole plant, Roots	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000

รายชื่อศัตรูพืช	**ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย**	**เส้นทางศัตรูพืช**	**ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน**	**เอกสารอ้างอิง**
เชื้อรา				
Botrytis gladiolorum	Corms/Bulbs	Yes	Yes	Bodman *et al*., 1996; CPC, 2007
Botryotinia draytonii	Corms/Bulbs	Yes	Yes	CPC, 2007
Curvularia gladioli	Corms/Bulbs	Yes	Yes	CPC, 2007
Epicoccum nigrum	Grains/Seeds	No	No	CPC, 2007
Penicillium gladioli	Corms/Bulbs	Yes	No	Bodman *et al*., 1996
Phytophthora cryptogea	Leaves, Roots, Stems, Vegetative organs, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Phytophthora porri	Leaves, Stems, Vegetative organs	No	No	CPC, 2007
Pseudocochliobolus eragrostidis	Leaves	No	No	CPC, 2007
Puccinia gladioli	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Rosellinia necatrix	Leaves, Roots, Stems, Vegetative organs, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Sclerotium wakkeri	Bulbs	Yes	Yes	Biosecurity Australia, 2000
Septoria gladioli	Corms/Bulbs, Leaves	Yes	Yes	CPC, 2007

Stemphylium sp.	Leaves	No	No	Bodman *et al*., 1996; CPC, 2007
Stromatinia gladioli	Corms/Bulbs, Leaves	Yes	Yes	CPC, 2007
รายชื่อศัตรูพืช	**ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย**	**เส้นทางศัตรูพืช**	**ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน**	**เอกสารอ้างอิง**
Urocystis gladiolicola	-	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล	CPC, 2007
Uromyces gladioli	Bulbs, Flowers, Leaves, Stems	Yes	Yes	CPC, 2007
Uromyces transversalis	Bulbs, Flowers, Leaves, Stems	Yes	Yes	CPC, 2007
ไวรัส				
Arabis mosaic virus	Fruits/Pods, Leaves, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Artichoke Italian latent virus	Leaves, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Bean yellow mosaic virus	Leaves	No	No	CPC, 2007
Clover yellow vein virus	Growing points, Leaves, Seeds, Stems, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Cucumber green mottle mosaic virus	Fruits/Pods, Leaves, Roots, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Lily symptomless virus	Leaves	No	No	CPC, 2007
Narcissus latent virus	Leaves	No	No	CPC, 2007

Strawberry latent ringspot virus	Leaves, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Tobacco necrosis virus	Leaves, Roots, Stems, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Tobacco rattle virus	Growing points, Leaves, Stems,	Yes	Yes	CPC, 2007
รายชื่อศัตรูพืช	**ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย**	**เส้นทางศัตรูพืช**	**ศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน**	**เอกสารอ้างอิง**
	Vegetative organs, Whole plant			
Tobacco ringspot virus	Fruits/Pods, Gowing points, Leaves, Roots, Stems, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Tobacco streak virus	Fruits/Pods, Growing points, Inflorescence, Leaves, Seeds, Stems Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Tomato black ring virus	Fruits/Pods, Leaves, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007
Tomato ringspot virus	Fruits/Pods, Leaves, Whole plant	Yes	Yes	CPC, 2007

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงเชื้อ *Spongospora subterranea* ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง

Pest Risk Analysis on *Spongospora subterranea* in Seed Potato

ปรียพรรณ พงศาพิชณ์[1] วิวัฒน์ ภาณุอำไพ[2]
ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์[1] วันเพ็ญ ศรีชาติ[1]
[1]กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2]ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต เชียงใหม่ (ฝาง)

บทคัดย่อ

จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าในปี 2548-2550 ตรวจพบเชื้อ *S. subterranea* ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสก็อตแลนด์ 37 รายการ และจากออสเตรเลีย 10 รายการ เมื่อทดสอบการเกิดโรคโดยนำหัวพันธุ์มันฝรั่งที่เป็นโรคไปปลูกทดสอบที่ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต เชียงใหม่ (ฝาง) และติดตามตรวจสอบการเกิดโรคในแปลงเกษตรกรที่ใช้หัวพันธุ์มันฝรั่งที่เป็นโรค ผลการตรวจไม่พบโรคทั้งในสถานที่ทำการทดลอง และในแปลงเกษตรกร ผลการประเมินความเสี่ยงของเชื้อ *S. subterranea* โดยประเมินโอกาสในการเข้ามา การตั้งรกรากอย่างถาวรและการแพร่ระบาด รวมทั้งผลกระทบทั้งทางเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อมพบว่า เชื้อ *S. subterranea* มีศักยภาพปานกลาง-สูงในการติดเข้ามากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง โดยพิจารณาจากพื้นที่การระบาดของโรคนี้ ในประเทศที่ส่งออกหัวพันธุ์มันฝรั่งมายังประเทศไทย และคุณลักษณะของเชื้อที่มีความคงทนตลอดระยะเวลาขนส่ง แต่จากสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ จึงสรุปผลการประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวรอยู่ในระดับต่ำ ส่วนการประเมินการแพร่ระบาดของเชื้อในประเทศไทยอยู่ในระดับปานกลาง เนื่องจากสปอร์ของเชื้อสามารถแพร่ในระยะไกลโดยติดไปกับหัวมันฝรั่งและดิน เมื่อพิจารณาถึงผลกระทบทางเศรษฐกิจ และสิ่งแวดล้อม ผลกระทบโดยตรงคือทำให้ผลผลิตมันฝรั่งลดลงและคุณภาพไม่เหมาะต่อการบริโภค ไม่เป็นที่ต้องการของโรงงานอุตสาหกรรม ส่วนผลกระทบทางอ้อมคือ สปอร์ของเชื้อสามารถคงทนอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน ทำให้พื้นที่ที่มีการระบาดไม่สามารถปลูกมันฝรั่งได้ และใช้สารเคมีกำจัดเชื้ออาจทำให้เกิดพิษตกค้างในดินหรือสิ่งแวดล้อม จากผลการประเมินความเสี่ยงของเชื้อ *S. subterranea* แสดงให้เห็นถึงความจำเป็นที่ต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ โดยกำหนดให้ประเทศที่ต้องการส่งหัวพันธุ์มันฝรั่งมายังประเทศไทยจะต้องมีการจัดการโรค

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-02-01-51

powdery scab ตั้งแต่ในแปลงปลูก และในขบวนการเก็บเกี่ยวต้องมีการคัดแยกหัวที่เป็นโรค และจะต้องมีการตรวจรับรองโดยหน่วยงานที่มีหน้าที่รับผิดชอบตามเงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศไทย

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการนำเข้ามันฝรั่งในปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากการขยายตัวอย่างรวดเร็วของอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่งทอดกรอบ (potato chips) ในปี พ.ศ. 2550 ประเทศไทยนำเข้ามันฝรั่งเพื่อใช้ทำพันธุ์เป็นปริมาณสูงถึง 3,600 ตัน (กรมศุลกากรม 2551)โดยนำเข้าจากสหราชอาณาจักรมากที่สุด รองลงมาคือออสเตรเลียและเนเธอร์แลนด์ การนำเข้าหัวพันธุ์ในปริมาณมากเช่นนี้เสี่ยงต่อการนำเชื้อโรคร้ายแรง จากต่างประเทศติดเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทย

Spongospora subterranea เป็นสาเหตุโรค powdery scab ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญของมันฝรั่งที่พบในแหล่งปลูกมันฝรั่งทั่วโลก ทั้งทวีปยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย แอฟริกา และเอเชีย แต่ยังไม่มีรายงานพบโรคนี้ในประเทศไทย (CPC,2007) เชื้อราสามารถแพร่กระจายโดยสปอร์ที่อยู่ในระยะพักตัว (resting spore) ติดมากับดินหรือหัวมันฝรั่ง สปอร์สามารถพักตัวอยู่ในดินได้เป็นเวลานานจนกว่าสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะมีการสร้าง zoospore จำนวนมากเข้าทำลายราก และหัวมันฝรั่ง ทำให้เกิดอาการปุ่มปมที่รากหรือแผลสะเก็ดบนหัวมันฝรั่ง สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรค คือ อุณหภูมิประมาณ 16°C – 17 องศาเซลเซียส ดินมีความชื้นสูงและระบายน้ำไม่ดี pH ในดินประมาณ 4.7-7.6 ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการกำจัดสปอร์ของเชื้อที่ติดมากับหัวมันฝรั่งหรือเชื้อที่อยู่ในดินที่ได้ผล (CPC,2007; Kole,1954; Stevenson *et al*., 2004)

ผลการตรวจศัตรูพืชในหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศพบว่ามีเชื้อ *S. subterranea* ติดมากับมันฝรั่งจากประเทศต่างๆ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงของเชื้อ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการกำหนดมาตรการควบคุมนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่ง โดยไม่ให้มีความเสี่ยงต่อการการที่โรคนี้จะเข้ามาระบาดในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

1. **ตรวจเชื้อ *S. subterranea* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ**

1.1 สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ รายการ ละ 600 หัว เพื่อตรวจหาเชื้อ *S. subterranea* ที่ติดมากับหัวมันฝรั่ง

1.2 เก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่งที่แสดงลักษณะผิดปกติมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง โดยเขี่ยผงสปอร์จากบริเวณแผลบนหัวมันฝรั่งลงบนสไลด์แก้วแล้วหยดน้ำกลั่นหรือ lactophenal แล้วปิดทับด้วย cover glass เพื่อตรวจดูสปอร์ของเชื้อ และเก็บตัวอย่างไว้ใช้ในการทดลองต่อไป

2. ศึกษาศักยภาพการเกิดโรค powdery scab ในสภาพแหล่งปลูกมันฝรั่งของประเทศไทย

2.1 นำหัวพันธุ์ที่ตรวจพบเชื้อ *S. subterranea* ไปปลูกทดสอบที่ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่(ฝาง) ในช่วงเดือนธันวาคมถึงมีนาคมโดยแบ่งเป็น 6 วิธีการๆละ 40 ต้นโดยปลูกในบ่อซีเมนต์บ่อละ 10 ต้นดังนี้

T1 หัวมันฝรั่งเป็นโรคจากออสเตรเลียคลุกแมนโคเซ็บ

T2 หัวมันฝรั่งเป็นโรคจากออสเตรเลียไม่คลุกแมนโคเซ็บ

T3 หัวมันฝรั่งเป็นโรคจากสก็อตแลนด์คลุกแมนโคเซ็บ

T4 หัวมันฝรั่งเป็นโรคจากสก็อตแลนด์ไม่คลุกแมนโคเซ็บ

T5 หัวมันฝรั่งปกติคลุกแมนโคเซ็บ

T6 หัวมันฝรั่งปกติไม่คลุกแมนโคเซ็บ

สารเคมีแมนโคเซ็บใช้อัตรา 0.4 กรัมต่อหัวมันฝรั่ง 1 กิโลกรัม

2.2 เก็บข้อมูลอุณหภูมิอากาศและอุณหภูมิดินตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

2.3 สังเกตการณ์เกิดโรค powdery scab กับหัวมันฝรั่งที่เก็บได้โดยเปรียบเทียบระหว่างมันฝรั่งที่ปลูกจากหัวเป็นโรคและมันฝรั่งที่ปลูกจากหัวปกติ

3. ติดตามตรวจสอบการเกิดโรค powdery scab ในแหล่งปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย

3.1 ติดตามตรวจสอบโรค powdery scab ในแปลงมันฝรั่งของเกษตรกรในระยะเก็บเกี่ยวผลผลิตและที่จุดรับซื้อของบริษัท โดยเน้นเฉพาะแปลงที่ปลูกจากหัวพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศที่ตรวจพบ powdery scab และปลูกในช่วงเดือนธันวาคมถึงมกราคมเพราะเป็นระยะเวลาที่มีอุณหภูมิต่ำเหมาะแก่การเกิดโรค

3.2 เก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่งที่มีอาการผิดปกติมาตรวจในห้องปฏิบัติการต่อไป

4. วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

4.1 การเริ่มขบวนการวิเคราะห์ (Initiation)

เป็นการอธิบายเหตุผลหรือเจตนารมณ์ของการวิเคราะห์ความเสี่ยงว่ามีที่มาอย่างไร

4.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Assessment)

วิเคราะห์ตามหลักการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุข อนามัยพืช ฉบับที่ 2 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่องคำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยง

ศัตรูพืช (FAO, 2005) และมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน (FAO, 2004)

4.2.1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช

รวบรวมข้อมูลของเชื้อ *S. subterranea* โดยเฉพาะที่เกี่ยวกับการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ ข้อมูลทางด้านชีววิทยาและความสำคัญทางเศรษฐกิจ เพื่อกำหนดสถานภาพของ *S. subterranea* ว่ามีคุณสมบัติเป็นศัตรูพืชกักกันตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืชฉบับที่ 5 (ฉบับแก้ไขปรับปรุง) เรื่อง รายการคำอธิบายศัพท์บัญญัติด้านสุขอนามัยพืช (FAO,2006) ระบุไว้ว่า ศัตรูพืชกักกัน หมายถึง **ศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสำคัญทางเศรษฐกิจต่อพื้นที่ซึ่งมีปัจจัยสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญแพร่ขยายพันธุ์ โดยศัตรูพืชชนิดนี้ไม่เคยปรากฏในพื้นที่นั้น หรือปรากฏแล้วแต่ยังไม่แพร่กระจายอย่างกว้างขวาง และอยู่ภายใต้การควบคุมอย่างเป็นทางการ**

4.2.2 ประเมินโอกาสการเข้ามาและแพร่ระบาด (Assessment of the probability of introduction and spread)

1) ประเมินโอกาสการเข้ามา (Probability of entry of a pest) ของ *S. subterranea* กับหัวมันฝรั่ง โดยพิจารณาจากปัจจัยดังนี้

- การระบาดของศัตรูพืชอย่างรุนแรงในแหล่งผลิต
- การจัดการศัตรูพืชในแหล่งผลิต
- ช่วงวงจรชีวิตของ *S. subterranea* ซึ่งมีโอกาสปะปนเข้ามากับหัวมันฝรั่ง ภาชนะบรรจุหรือพาหนะขนส่ง
- การรอดชีวิตของ *S. subterranea* ภายใต้สภาวะแวดล้อมขณะขนส่ง
- ความยากง่ายในการตรวจพบที่จุดนำเข้า
- ปริมาณและความถี่ที่นำเข้า

2) ประเมินโอกาสการตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of establishment) ของ *S. subterranea* ว่ามีสามารถที่จะเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ภายใต้สภาพแวดล้อมของประเทศไทย โดยอาศัยข้อมูลทางชีววิทยาของเชื้อในพื้นที่ที่เป็นแหล่งระบาดเปรียบเทียบกับสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ปัจจัยที่นำมาพิจารณาได้แก่

- การมีพืชอาศัย จำนวนและชนิดพืชอาศัย
- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อม
- ความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช
- วิธีการมีชีวิตอยู่รอดของศัตรูพืช

3) ประเมินโอกาสการแพร่ระบาดของ *S. subterranea* ในประเทศไทยหลังจากเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Probability of spread after establishment)

- การกระจายตัวของพืชอาศัย
- ความสามารถในการขยายพันธุ์
- วิธีการเคลื่อนย้าย วิธีการแพร่กระจาย
- ศัตรูธรรมชาติ
- สิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ

4.2.3 การประเมินผลกระทบของศัตรูพืชทางเศรษฐกิจที่อาจเกิดขึ้น

1) ผลที่เกิดจากศตรูพืชโดยตรง

- ความสูญเสียของผลผลิตในแง่ปริมาณและคุณภาพ
- รูปแบบ จำนวน และความถี่ของความเสียหาย
- ค่าใช้จ่ายในการควบคุม
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

2) ผลกระทบทางอ้อม

- ผลกระทบต่อการส่งออก รวมถึงการบังคับใช้กฎระเบียบด้านสุขอนามัยพืช
- ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นทำให้ราคาสินค้าสูงขึ้น
- ผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพอันเนื่องมาจากการป้องกันกำจัด
- ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

4.3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

ความเสี่ยงทั้งหมดจะถูกกำหนดโดยการตรวจสอบผลลัพธ์จากการประเมินโอกาสเข้ามาเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ของศัตรูพืชและผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจ กรณีที่พบความเสี่ยงอยู่ในระดับที่ไม่สามารถยอมรับได้ ต้องดำเนิน การจำแนกมาตรการสุขอนามัยพืชที่จะลดความเสี่ยงให้ถึงระดับที่ยอมรับได้ หรือต่ำกว่าระดับที่ยอมรับได้โดยพิจารณาจาก

- มาตรการสุขอนามัยพืชที่ใช้ต้องมีประสิทธิภาพและเป็นไปได้ในทางปฏิบัติ
- เป็นมาตรการที่เคยดำเนินการมาก่อนหรือกำลังดำเนินการอยู่และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล
- ก่อให้เกิดผลกระทบน้อยที่สุด

มาตรการสุขอนามัยพืชที่มีการนำมาใช้ในปัจจุบัน สามารถแบ่งได้ตามสถานภาพของศัตรูพืชในเส้นทางศัตรูพืช ประกอบด้วยมาตรการ ดังต่อไปนี้

- มาตรการที่ใช้กับสินค้าโดยตรง เช่นการกำจัดศัตรูพืชกับสินค้าด้วยสารเคมี คามเย็นหรือความร้อน

- มาตรการที่ใช้เพื่อป้องกันหรือลดปริมาณการเข้าทำลายของศัตรูพืชในแหล่งผลิต เช่นกำหนดให้ต้องมีการจัดการศัตรูพืชในแปลงผลิต

- มาตรการที่ใช้เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นว่าในพื้นที่ผลิตหรือแหล่งผลิตปราศจากศัตรูพืช เช่นการนำเข้าจากแหล่งผลิตที่ปราศจากศัตรูพืช (pest free area)

- มาตรการห้ามนำเข้าสินค้า เป็นมาตรการขั้นรุนแรงที่ใช้ในกรณีที่ไม่สามารถจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

เวลาและสถานที่ทดลอง

ระยะเวลา : ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2550

สถานที่ทดลอง : กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่(ฝาง)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาเชื้อ *S. subterranea* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

1.1 สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อตรวจโรค powdery scab (**ภาพที่ 1**) ที่ติดมากับหัวมันฝรั่ง พบหัวมันฝรั่งที่มีอาการตุ่มนูนสีน้ำตาลอมม่วงขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร ผิวหน้าปริแตก ภายในมีสปอร์ลักษณะผงละเอียดสีน้ำตาลเข้ม (**ภาพที่ 2**)

ปี 2548 สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก สก็อตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์และอิสราเอล จำนวน 48 รายการ น้ำหนัก 4,746 ตัน ตรวจพบโรค powdery scab กับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก สก็อตแลนด์ 12 รายการน้ำหนัก 1,550.5 ตัน ซึ่งมีหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีโรค powdery scab เกินจากเงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์ 1 รายการน้ำหนัก 7.5 ตัน และตรวจพบโรค powdery scab กับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก ออสเตรเลีย 4 รายการน้ำหนัก 164.5 ตันซึ่งมีหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีโรค powdery scab เกินจากเงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่ง 1 รายการน้ำหนัก 70.5 ตัน(ตารางที่ 1)

ปี 2549 สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก สก็อตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ นิวซีแลนด์ และแคนาดา จำนวน 50 รายการ น้ำหนัก 4,300 ตัน ตรวจพบโรค

powdery scab กับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก สก็อตแลนด์ 14 รายการน้ำหนัก 1,295.5 ตัน และจากหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก ออสเตรเลีย 3 รายการน้ำหนัก 141 ตัน (ตารางที่ 1)

ปี 2550 สุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก สก็อตแลนด์ ออสเตรเลีย เนเธอร์แลนด์ และนิวซีแลนด์ จำนวน 37 รายการ น้ำหนัก 3,255 ตัน ตรวจพบโรค powdery scab กับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก สก็อตแลนด์ 11 รายการน้ำหนัก 1,034 ตัน ซึ่งมีหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีโรค powdery scab เกินจากเงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์ 1 รายการน้ำหนัก 141 ตัน และตรวจพบโรค powdery scab กับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก ออสเตรเลียไม่เกินจากเงื่อนไขการนำเข้า 3 รายการน้ำหนัก 117.5 ตัน (ตารางที่ 1)

1.2 เก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่งที่แสดงลักษณะอาการโรคมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบ cystosori หรือ sporeball อยู่ภายใต้สะเก็ดแผลบนหัวมันฝรั่ง cystosori มีลักษณะเป็นผงละอียด สีน้ำตาลเข้ม รูปร่างไม่แน่นอน ส่วนใหญ่ค่อนข้างกลมหรือหลายเหลี่ยม ประกอบด้วย cyst จำนวนมาก **(ภาพที่** 3 **)**

จากผลการตรวจโรค powdery scab ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ พบว่า หัวพันธุ์มันฝรั่งจากแหล่งที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะต่อการระบาดของโรค เช่นสก็อตแลนด์ มีโอกาสที่โรคจะติดเข้ามาสูงกว่าประเทศที่มีสภาพภูมิอากาศแห้งแล้งและอุณหภูมิค่อนข้างสูง เช่น ออสเตรเลีย หรืออิสราเอล พบว่ามีโรคติดมากับมันฝรั่งน้อยหรือไม่พบเลย ดังนั้นการตรวจศัตรูพืช ณ จุดนำเข้า ควรพิจารณาถึงแหล่งที่นำเข้าที่มีความเสี่ยงต่างกัน โดยสุ่มตรวจอย่างเข้มงวดหากหัวพันธุ์มันฝรั่งมาจากแหล่งที่มีการระบาดของโรครุนแรง

2. ศึกษาศักยภาพการเกิดโรค powdery scab ในสภาพแหล่งปลูกมันฝรั่งของประเทศไทย

2.1 จากผลการทดสอบศักยภาพการเกิดโรค powdery scab โดยปลูกหัวมันฝรั่งที่เป็นโรคจากออสเตรเลีย สก็อตแลนด์ และหัวมันฝรั่งปกติ (ภาพที่ 4)โดยเปรียบเทียบระหว่างหัวมันฝรั่งที่คลุกสารเคมีแมนโคเซบและหัวมันฝรั่งที่ไม่คลุกสารเคมีพบว่า ทั้งรากและหัวมันฝรั่งที่เก็บจากทุกวิธีการไม่มีอาการโรค powdery scab หลังจากนั้นทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้งในปี 2549 และ2550 โดยใช้หัวมันฝรั่งที่เป็นโรคและหัวมันฝรั่งปกติ แต่ไม่มีการคลุกสารเคมีก่อนปลูก ผลปรากฏว่าไม่พบอาการโรค powdery scab เช่นกัน

2.2 จากการเก็บข้อมูลอุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิดินและความชื้นในอากาศในช่วงที่ทำการทดลองพบว่าช่วงเดือนธันวาคมถึงมีนาคมมีค่าอุณหภูมิเฉลี่ย 18-24 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 89-96% ส่วนอุณหภูมิเฉลี่ยของดินในบ่อซีเมนต์ที่ทำการทดลองเฉลี่ย 15-26 องศาเซลเซียส

Kole (1954) รายงานว่าอุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดที่เชื้อยังคงสามารถทำให้เกิดโรคคือ 11 องศาเซลเซียส และ 22-25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แม้ว่าอุณหภูมิเฉลี่ยขณะที่ทำการทดลองอยู่ในช่วงที่เชื้อสามารถเข้าทำลายพืชได้ แต่โดยทั่วไปอุณหภูมิในช่วงกลางวันเฉลี่ยสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิในดินก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งเสริมการเกิดโรค Hims (1976) รายงานว่าโรค powdery scab จะระบาดเมื่ออุณหภูมิในดินประมาณ 12-13 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิดินในบ่อที่ทดลองเฉลี่ย 15-26 องศาเซลเซียส จะเห็นได้ว่าสภาพแวดล้อมที่ทำการทดลองไม่เหมาะสมกับการเกิดโรค

3. ติดตามตรวจสอบการเกิดโรค powdery scab ในแหล่งปลูกมันฝรั่งประเทศไทย

ติดตามตรวจสอบการเกิดโรค powdery scab ในแปลงปลูกมันฝรั่งของเกษตกร และที่จุดรับซื้อหัวมันฝรั่งของบริษัทในจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูนและตาก (ภาพที่ 5) ระหว่างปี 2548-2550 พบหัวมันฝรั่งที่มีอาการคล้ายโรค powdery scab แต่หลังจากเก็บตัวอย่างมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการพบว่าเป็นโรค common scab ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Steptomyces* sp. (ภาพที่ 6-7) และไม่พบโรค powdery scab ในทุกพื้นที่ที่สำรวจ

เกษตรกรส่วนใหญ่ปลูกมันฝรั่งในช่วงเดือนธันวาคมถึงมกราคม ซึ่งมีอุณภูมิเฉลี่ยต่ำสุดและสูงสุด 19-28 องศาเซลซียส และปริมาณน้ำฝน 0.1-.09 มิลลิเมตร (จังหวัดเชียงใหม่) (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2551) โดยเฉพาะอย่างยิ่งหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสก็อตแลนด์ ซึ่งตรวจพบว่ามีโรค powdery scab ติดมา มักจะนำเข้าในช่วงเดือนธันวาคม และเริ่มปลูกปลาย เดือนธันวาคมถึงมกราคม ดังนั้นระยะที่เหมาะสมที่เชื้อจะเข้าทำลายพืชได้ดีคือระยะที่มันฝรั่งเริ่มสร้างหัวจะอยู่ในช่วงปลายเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ซึ่งอุณภูมิเริ่มสูงขึ้น ดังนั้นสภาพแวดล้อมทั้งอุณหภูมิและความชื้นในดินจึงไม่เหมาะสมต่อการเกิดโรค รวมทั้งการปฏิบัติของเกษตรกรซึ่งใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา เช่น แมนโคเซบ คลุกหัวพันธุ์ก่อนปลูก ซึ่งมีรายงานว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ (Braithwaite *et al*.,1994; Merz *et al*., 2000) และนอกจากนี้เกษตรกรมักจะปลูกมันฝรั่งสลับกับพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัยของเชื้อ จึงเป็นการตัดวงจรโรค

แต่อย่างไรก็ตาม แม้ว่าสภาพแวดล้อมในประเทศไทยจะไม่เหมาะสมต่อการเกิดโรค แต่ก็มีรายงานพบโรคในประเทศเขตร้อนเช่น อิสราเอล เซาท์แอฟริกาฟิลิปปินส์ และที่รัฐ North Dakota พบโรค powdery scab ไนพื้นที่ที่มีอุณหภูมิสูง ปริมาณน้ำฝนน้อย และ pH ในดินสูง (*Spongospora* PIN BOARD,2000) ชี้ให้เห็นว่าเชื้อสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่แตกต่างได้ ประกอบกับปัญหาสภาวะโลกร้อนในปัจจุบัน ทำให้สภาพอากาศเปลี่ยบแปลงตลอดเวลา จึงยังคงมีความเสี่ยงที่เชื้อ *S.subterranea* จะสามารถเจริญและแพร่ขยายพันธุ์ในประเทศไทยได้

4. วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

4.1 การเริ่มขบวนการวิเคราะห์ (Initiation)

Spongospora subterranea เป็นสาเหตุโรค powdery scab ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญของมันฝรั่งที่พบในแหล่งปลูกมันฝรั่งทั่วโลก ทั้งทวีปยุโรป อเมริกา ออสเตรเลีย แอฟริกา และเอเชีย เชื้อราสามารถแพร่กระจายโดยสปอร์ที่อยู่ในระยะพักตัว (resting spore) ติดมากับดินหรือหัวมันฝรั่ง (CPC, 2007 ; Stevenson *et al*., 2004) *S. subterranea* จัดเป็นศัตรูพืชกักกัน ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507เนื่องจากเป็นศัตรูพืชที่ยังไม่มีรายงานพบในประเทศไทย

ปัจจุบันประเทศไทยนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศที่เป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรค powdery scab จึงมีความเสี่ยงที่เชื้อ *S. subterranea* จะติดมากับหัวมันฝรั่ง และจากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าในตั้งแต่ปี 2548-2550 ตรวจพบเชื้อ *S. subterranea* ในหัวพันธุ์มันฝรั่งจาก

สก็อตแลนด์และออสเตรเลีย ดังนั้นจึงต้องดำเนินการประเมินความเสี่ยงที่เชื้อจะเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหาย เพื่อตัดสินใจเลือกใช้มาตรการสุขอนามัยพืชที่เหมาะสมมากำกับดูแลการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากต่างประเทศ

4.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Assessment)

4.2.1 การจำแนกประเภทศัตรูพืช

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Spongospora subterromea f.* sp. *Subterranean*

Kingdom: Protozoa

Phylum: Plasmodiophoromycota

Class: Plasmodiophoromycetes

Order: Plasmodiophorales

Family: *Plasmodiophoraceae*

ชื่อสามัญ: Powdery scab

พืชอาศัย: *Lycopersicon esculentum (tomato),Solanum tuberosum (potato)* (CPC,2007)

แหล่งแพร่ระบาด: Europe

Austria, Belgium, Bulgaria, Cyprus, Czechoslovakia, Denmark, Finland France, Germany, Greece, Ireland, Italy, Malta, Netherlands, Norway Poland, Portugal, Romania, Russian, Federation, Sweden, Switzerland United Kingdom, Yugoslavia

Asia

China, Taiwan, India, Israel, Japan, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Lebanon, Nepal, Pakistan, Philippines, Sri Lanka, Turkey

Africa

Algeria, Burundi, Egypt, Kenya, Madagascar, Mauritius, Morocco, Mozambique, Rwanda

South Africa

Tanzania, Tunisia, Zimbabwe

Central America & Caribbean

Costa Rica, Panama

North America

Canada, Mexico, USA

South America

Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador, Peru, Uruguay, Venezuela

Oceania

Australia, New Zealand (CPC,2007)

ชีววิทยา

S. subterranea เป็น obligate parasite เชื้อสามารถอยู่ข้ามฤดูในรูป cystosori หรือ sporeball ซึ่งประกอบด้วย cyst จำนวนมาก cyst เป็นสปอร์อยู่ในระยะพักตัวมีผนังหนา ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี อยู่ในดินได้นานกว่า 6 ปี สามารถมีชีวิตรอดผ่านท่อทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยง และจะงอกต่อเมื่อได้รับการกระตุ้นจากรากของพืชอาศัย โดยสร้างเป็น primary zoospore ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส primary zoospore สามารถเคลื่อนที่ในน้ำที่อยู่ในช่องว่างระหว่างเม็ดดินได้ในระยะ 2-3 เซนติเมตร และอาจเคลื่อนที่ไปได้มากกว่านี้ถ้าน้ำในดินไหล จากนั้นเข้า

ทำลายรากขนอ่อน หรือ stolon แล้วสร้าง sporangial plasmodia ซึ่งจะพัฒนาเป็น zoosporangia อยู่ภายในเซลของรากพืช ต่อมา zoosporangia จะสร้าง secondary zoospore ซึ่งสามารถเข้าทำลายรากและหัวมันฝรั่ง ทำให้เกิดอาการปุ่มปม (gall) ที่ราก หรือแผลสะเก็ด (scab) ที่หัวมันฝรั่ง แผล scab เมื่อแตกออกภายในจะเต็มไปด้วย cystosori ซึ่งสามารถหลุดออกขณะเก็บเกี่ยว และพักตัวอยู่ในดินเพื่อรอเข้าทำลายมันฝรั่งต่อไป หรือ cystosori อาจปนปี้อนไปกับหัวอื่นๆในขณะเก็บรักษา (CPC,2007; Stevenson *et al*., 2004)

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมที่สุดต่อการเกิดโรคคืออุณหภูมิประมาณ 16-17 องศาเซลเซียส ดินมีความชื้นสูงหรือระบายน้ำไม่ดี pH.ในดิน 4.7-7.6 และอุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดที่เชื้อยังคงสามารถทำให้เกิดโรคคือ 11 องศาเซลเซียส และ 22-25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ระยะที่มันฝรั่งอ่อนแอต่อโรคคือประมาณ 7 วันก่อนเริ่มสร้างหัว และ 21-28 วันหลังจากเริ่มสร้างหัว (de Bore, 2000; Kole,1954) นอกจากนี้ *S. subterranea* ยังเป็นพาหะนำเชื้อ *Potato mop top virus* โดยไวรัสจะติดมากับ cystosori และเข้าทำลายพืชผ่านทาง zoospore (CPC,2007; Stevenson *et al*., 2004)

4.2.2 การประเมินศักยภาพการเข้ามา ดำรงชีพอย่างถาวรและการแพร่ระบาด

1) ประเมินโอกาสการเข้ามาของ *S. subterranea* กับหัวมันฝรั่ง

โอกาสการเข้ามา ปานกลาง-สูง

การระบาดของศัตรูพืชอย่างรุนแรงในแหล่งผลิต เชื้อ *S. subterranea* พบระบาดทั่วไปในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งทั่วโลก และมีการระบาดอย่างรุนแรงในประเทศในแถบพื้นที่ทางตอนเหนือของยุโรป ซึ่งเป็นแหล่งผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งส่งออกมายังประเทศไทย เช่น สหราชอาณาจักร (สก็อตแลนด์) และเนเธอร์แลนด์ นอกจากนี้ประเทศอื่นๆที่ส่งหัวพันธุ์มันฝรั่งมายังประเทศไทยก็มีการรายงานพบโรคนี้ (CPC,2007) โอกาสการเข้ามาของ *S. subterranea* ขึ้นอยู่ระดับความรุนแรงของโรคในแหล่งผลิต แหล่งผลิตที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดโรค มีการระบาดอย่างรุนแรง เช่น สก็อตแลนด์ จึงมีโอกาสสูงที่จะมีโรคติดมากับหัวมันฝรั่ง ส่วนแหล่งผลิตที่มีสภาพภูมิอากาศแห้งแล้ง และอุณหภูมิค่อนข้างสูงไม่เหมาะต่อการเกิดโรค เช่น อิสราเอล โอกาสที่เชื้อจะติดมาจึงอยู่ในระดับต่ำ

- การจัดการศัตรูพืช ณ แหล่งผลิต

เชื้อ *S. subterranea* อาศัยและเข้าทำลายส่วนของพืชที่อยู่ใต้ดิน ดังนั้นการจัดการศัตรูพืชในแปลงผลิตจึงทำได้ยาก ในปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีหรือวิธีการอื่นใดที่ใช้กำจัดเชื้อที่ติดมากับหัวมันฝรั่งหรือในดินที่ได้ผลดี การระบาดของโรคจะเกิดขึ้นอย่างรุนแรงเมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมและพืชอ่อนแอต่อโรค(CPC,2007; Stevenson *et al*., 2004) ขบวนการคัดแยก

หลังการเก็บเกี่ยวสามารถลดจำนวนหัวมันฝรั่งที่ติดเชื้อได้แต่ก็ไม่สามารถคัดออกได้ทั้งหมด จะเห็นได้จากผลการตรวจพบที่จุดนำเข้ามีปริมาณหัวเป็นโรคติดมาจำนวนมาก

- ช่วงวงจรชีวิตของ *S. subterranea* ซึ่งมีโอกาสปะปนเข้ามากับหัวมันฝรั่ง ภาชนะบรรจุหรือพาหนะขนส่ง

หัวมันฝรั่งเป็นเส้นทางหลักในการแพร่กระจายโรคในระยะไกลโดยที่เชื้อสามารถติดมากับหัวมันฝรั่งและดินในรูปของ cystosori ซึ่งเป็นสปอร์ที่พักตัว และสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี (CPC,2007; Stevenson *et al*., 2004)

- การรอดชีวิตของ *S. subterranea* ภายใต้สภาวะแวดล้อมขณะขนส่ง

สภาพการขนส่งหัวพันธุ์มันฝรั่งส่วนใหญ่ขนส่งมาในตู้คอนเทนเนอร์ควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลซียส และมีความชื้นต่ำ ซึ่งในสภาพเช่นนี้สปอร์ของเชื้อสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ตลอดระยะเวลาขนส่ง

- ความยากง่ายในการตรวจพบที่จุดนำเข้า

หัวมันฝรั่งที่ติดเชื้ออย่างรุนแรงจะแสดงอาการเป็นตุ่มนูนสีน้ำตาลขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร (Stevenson *et al*., 2004) ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า ถึงแม้ว่าลักษณะอาการของโรคจะสามารถตรวจพบได้ง่าย แต่เนื่องจากลักษณะการบรรจุหัวพันธุ์มันฝรั่งเป็นกระสอบๆละ 25 กิโลกรัมในตู้คอนเทนเนอร์ขนาดความจุ 23.5 ตัน และปริมาณนำเข้าในแต่ละครั้ง ตั้งแต่ 1-10 ตู้ขึ้นไป ทำให้การตรวจที่จุดนำเข้าไม่สามารถสุ่มตรวจได้อย่างทั่วถึง นอกจากนี้สปอร์ของเชื้ออาจติดมากับดินหรือหัวมันฝรั่งที่ปกติได้ ดังนั้นจึงมีความเสี่ยงสูงที่เชื้ออาจเล็ดลอดจากการตรวจที่จุดนำเข้า

- ปริมาณและความถี่ที่นำเข้า

ประเทศไทยนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากหลายประเทศจำนวน 40-60 ครั้ง เป็นปริมาณสูงถึง 4,000-5,000 ตันต่อปี ดังนั้นจึงมีความเสี่ยงสูงที่เชื้อจะติดมากับหัวมันฝรั่งได้

2) ประเมินศักยภาพการดำรงชีพอย่างถาวร

โอกาสการดำรงชีพอย่างถาวร ต่ำ

- การมีพืชอาศัย จำนวนและชนิดของพืชอาศัย

S. subterranea มีพืชอาศัยแคบ คือ มันฝรั่ง มะเขือเทศ พริกและยาสูบ และพืชอาศัยที่เชื้อสามารถอยู่ครบวงวรชีวิตได้เพียงชนิดเดียวคือ มันฝรั่ง (CPC,2007; Stevenson *et al*., 2004)

- ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อม

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคคืออุณหภูมิต่ำและดินที่ระบายน้ำไม่ดี pHในดินประมาณ 4.7-7.6 (de Bore,2000) อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเข้าลายรากพืชคือ 16-17 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดที่เชื้อยังคงสามารถทำให้เกิดโรคคือ 11 องศาเซลเซียส และ 22-25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Kole;1954) Ledingham (1935) รายงานว่าเชื้อสามารถเข้าทำลายรากของมันฝรั่งได้ดีหลังจากปลูกในดินที่มี cystosori เป็นเวลา 2 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 18.3 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่มันฝรั่งอ่อนแอต่อโรคคือประมาณ 7 วันก่อนเริ่มสร้างหัว และ 21-28 วันหลังจากสร้างหัว (de Bore,2000) สภาพอากาศของประเทศไทยในช่วงระยะเวลาที่ปลูกมันฝรั่งในเดือนธันวาคมถึงมีนาคมมีอุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 19-28 องศาเซลเซียส แต่โดยทั่วไปจะมีอุณหภูมิในตอนกลางวันเฉลี่ยสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำฝนน้อย (0.1-0.9 มิลลิเมตร) (กรมอุตุนิยมวิทยาม2551) ประกอบกับพื้นที่ปลูกมันฝรั่งส่วนใหญ่จะเป็นดินร่วน น้ำไม่ขัง ดังนั้นสภาพแวดล้อมของประเทศไทยจึงไม่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

- ความสามารถในการปรับตัวของศัตรูพืช

จากการสืบค้นข้อมูลไม่มีรายงานเกี่ยวกับความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของ *S. subterranea* แต่จากการสังเกตว่าประเทศไทยนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีเชื้อ *S. subterranea* ติดเข้ามาเป็นเวลานาน แต่จาการสำรวจโรคของมันฝรั่งยังไม่มีรายงานพบโรคนี้ จึงสันนิษฐานได้ว่าเชื้อ *S. subterranea* ไม่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของ ประเทศไทยได้ หรือมีศักยภาพในการปรับตัวต่ำ

- วิธีการมีชีวิตอยู่รอดของศัตรูพืช

S. subterranea สามารถอยู่รอดในรูป cystosori ซึ่งเป็นสปอร์อยู่ในระยะพักสามารถอยู่ในดินได้นานกว่า 6 ปี และสามารถมีชีวิตรอดผ่านท่อทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยง สปอร์จะงอกต่อเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมและได้รับการกระตุ้นจากรากของพืชอาศัย (CPC,2007; Stevenson *et al*., 2004)

3) ประเมินโอกาสการแพร่ระบาดของ *S. subterranea* ในประเทศไทย

โอกาสแพร่ระบาด ปานกลาง

- การกระจายตัวของพืชอาศัย

S. subterranea มีพืชอาศัยที่สามารถอยู่ครบวงวรชีวิตได้เพียงชนิดเดียวคือ มันฝรั่ง และ มันฝรั่งที่ปลูกในประเทศไทยเป็นพันธุ์ Atlantic และ Spunta ซึ่งค่อนข้างอ่อนแอต่อโรค powdery scab (Falloon,1993) พื้นที่ปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย จำกัดอยู่เฉพาะภาคเหนือและภาคตะวันออก เฉียงเหนือ คือในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง ตาก สกลนครและหนองคาย

- ความสามารถในการขยายพันธุ์

ภายในแผลสะเก็ดบนหัวมันฝรั่งที่ติดเชื้อจะเต็มไปด้วย cystosori ซึ่งประกอบไปด้วย 500-1000 cyst เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมและมีพืชอาศัย cyst จะสร้าง primary zoospore ซึ่งจะเข้าทำลายรากพืชและสร้าง secondary zoospore ซึ่ง สามารถเข้าทำลายรากพืชและหัวมันฝรั่งและสร้าง secondary zoospore ต่อไป (Ledingham,1935 ; Kole,1954)

- วิธีการแพร่กระจาย

สปอร์ของเชื้อสามารถเคลื่อนย้ายในระยะไกลโดยติดไปกลับหัวมันฝรั่ง ดินหรือเครื่องมือทางการเกษตร การเคลื่อนย้ายดินหรือหัวมันฝรั่งจากแหล่งที่เป็นโรคสามารถแพร่กระจายเชื้อได้ดี หากเกษตรกรนำหัวพันธุ์จากแหล่งเป็นโรคไปใช้ทำพันธุ์ต่อในฤดูต่อไป นอกจากนี้เชื้ออาจแพร่กระจายไปกับน้ำฝนหรือน้ำชลประทานที่ใช้เพาะปลูกได้ (CPC,2007; Stevenson *et al*., 2004)

- ศัตรูธรรมชาติ

จากข้อมูลทางชีววิทยาไม่มีศัตรูธรรมชาติของเชื้อ *S. subterranea*

- สิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ

ลักษณะภูมิประเทศของประเทศไทยไม่มีสิ่งกีดขวางทางธรรมชาติเช่น ภูเขา ทะเล หรือทะเลทราย ที่สามารถสกัดกั้นการแพร่กระจายของเชื้อได้

4.2.3 การประเมินผลกระทบทางเศรษฐกิจ

ผลกระทบทางเศรษฐกิจปานกลาง

ความสูญเสียด้านเศรษฐกิจไม่มีความสำคัญในมันฝรั่งบริโภคสด เมื่อหัวมันฝรั่งที่จำหน่ายในตลาดไม่ได้มีการล้างหัว เนื่องจากโรคปรากฏอยู่เพียงบริเวณผิวของหัวมันฝรั่ง ซึ่งสามารถปอกเปลือกออกได้ แต่ในปัจจุบันมีความนิยมล้างหัวมันฝรั่งสำหรับจำหน่ายเพื่อบริโภคสด หัวมันฝรั่งที่มีอาการ scab ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคอย่างรุนแรง เช่น สก็อตแลนด์ มีรายงานความสูญเสียถึง 6-8 ล้านปอนด์ในปี 1998 นอกจากนี้ประเทศที่ผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งเพื่อการส่งออก ประสบปัญหาเนื่องจากประเทศผู้ซื้อไม่ต้องการหัวพันธุ์มันฝรั่งที่มีโรค powdery scab ในบางพื้นที่เกษตรกรจำเป็นต้องยกเลิกการผลิตมันฝรั่งเพื่อใช้ทำพันธุ์ เนื่องจากมีสปอร์ของเชื้อปนเปื้อนในดิน (Wale,2000)

สำหรับประเทศไทยหากเชื้อ *S. subterranea* เข้ามาระบาดทำความเสียหาย แม้ว่าผลกระทบจะเกิดขึ้นเฉพาะกับมันฝรั่ง แต่จากคุณสมบัติของสปอร์ของเชื้อที่สามารถคงทนอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน และยากต่อการกำจัดให้หมดไป อาจทำให้พื้นที่ที่มีเชื้ออยู่ในดินไม่สามารถปลูกมันฝรั่งได้ นอกจากนี้ *S. subterranea* ยังเป็นพาหะของ *Potato mop top virus* ซึ่งเป็นโรคที่

ทำให้ต้นมันฝรั่งแคระแกรน ชะงักการเจริญเติบโต และภายในหัวมันฝรั่งเกิดอาการแผลสีน้ำตาล (spraing) และยังเป็นเส้นทางให้เชื้อโรคชนิดอื่นๆ แอบแฝงติดไปกับหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วย เช่นเชื้อรา *Phytophthora infestans, P. erythroseptica, Fusarium* spp. และ *Colletotrichum coccodes* เป็นต้น (CPC,2007; Stevenson *et al*., 2004)

4. 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

มาตรการจัดการความเสี่ยง *S. subterranea* ที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

1. มาตรการทั่วไป

1.1 การประเมินวิธีการผลิตและตรวจรับรอง

กำหนดให้มีระบบการตรวจประเมินเพื่อการยอมรับ (accreditation system) เกี่ยวกับกระบวนการผลิตหัวพันธุ์และกระบวนการออกใบรับรองสุขอนามัยพืช

1.1.1 การตรวจประเมินกระบวนการผลิตหัวพันธุ์ (Seed Certification Scheme) ณ ประเทศต้นทาง เพื่อให้เชื่อมั่นว่ามีกระบวนการผลิตที่ได้มาตรฐาน มีการตรวจสอบและจัดการศัตรูพืชในแปลงผลิต ตรงตามเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพหัวพันธุ์ และปราศจากศัตรูพืชกักกัน

1.1.2 การตรวจประเมินกระบวนการออกใบรับรองสุขอนามัยพืชก่อนการส่งออก

1) ตรวจสอบความพร้อมห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยโรคพืช ทั้งด้านเครื่องมืออุปกรณ์และบุคลากร

2) ตรวจสอบมาตรฐานการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์ เพื่อการตรวจสอบศัตรูพืช

3) ตรวจสอบเกณฑ์การคัดหัวพันธุ์ให้มีเชื้อ *S. subterranea* และดินไม่เกินเงื่อนไขที่กำหนด

4) ตรวจสอบการจัดการศัตรูพืชกับหัวพันธุ์ก่อนการออกใบรับรองสุขอนามัยพืช

1.2 การผลิตและการรับรอง

1.2.1 หัวพันธุ์มันฝรั่งต้องผ่านการตรวจรับรองตามข้อกำหนดที่ระบุไว้ในมาตรฐานการผลิตและรับรองหัวพันธุ์มันฝรั่ง (Seed Potatoes Certification Standard)

1.2.2 หัวพันธุ์มันฝรั่งต้องผ่านการตรวจรับรองว่าปราศจากศัตรูพืชกักกัน

1.3 ข้อกำหนดสำหรับดิน

- ดินที่มีลักษณะเป็นผงติดมากับหัวมันฝรั่ง ต้องมีน้ำหนักไม่เกิน 100 กรัมต่อหัวมันฝรั่งน้ำหนัก 100 กรัม สำหรับดินที่มีลักษณะเป็นก้อนติดบนหัวมันฝรั่งครอบคลุมพื้นที่ผิวเกินกว่า 20% มีได้ไม่เกิน 5% จากหัวมันฝรั่งจำนวน 600 หัว

แม้ว่าดินเป็นสิ่งต้องห้ามตามเป็นสิ่งต้องห้าม ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะ เป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. ลงวันที่ 26 เมษายน 2550 แต่เนื่องจากหัวมันฝรั่งเป็นส่วนที่อยู่ใต้ดิน ในทางปฏิบัติจึงไม่สามารถกำหนดเงื่อนไขให้ปราศจากดินได้ ดังนั้นเพื่อความชัดเจนในการปฏิบัติจึงต้องกำหนดมารตรฐานสำหรับระดับที่ยอมรับได้ของดินที่ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง

ตามมาตรฐานแห่งชาติสำหรับการรับรองหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศออสเตรเลีย (National Standard for Certification of Seed Potatoes) กำหนดมาตรฐานสำหรับดินไว้ว่าหัวพันธุ์มันฝรั่งต้องปราศจากดินเท่าที่จะสามารถปฏิบัติได้ (practically free of soil) (APIC,2001) ส่วนมาตรฐานของกลุ่มประเทศยุโรป United Nations Economic Commission for Europe : UNECE กำหนดว่าดินและสิ่งเจือปนอื่น (earth and extraneous matter) ต้องมีไม่เกิน 2% โดยน้ำหนัก(UNECE,2005) มาตรฐานการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งของประเทศสหรัฐอเมริกา (U.S. Standards for Grades of Seed Potatoes) มีข้อกำหนดเกี่ยวกับดินโดยแยกเป็น ดินที่มีลักษณะเป็นผง (loose soil) มีได้ไม่เกิน 0.5 % โดยน้ำหนัก สำหรับดินที่มีลักษณะเป็นก้อนติดบนหัวมันฝรั่ง (caked soil) ครอบคลุมพื้นที่ผิวเกินกว่า 25% มีได้ไม่เกิน 10% จากจำนวนหัวมันฝรั่ง (USDA,1997)

1.4 ข้อกำหนดสำหรับเชื้อ *S. subteranea*

1.4.1 หัวพันธุ์มันฝรั่งจะต้องผ่านการตรวจลักษณะอาการที่เกิดจากเชื้อ *S. subteranea* โดยหน่วยงานที่รับผิดชอบ โดยกำหนดให้ระดับที่ยอมรับได้สำหรับอาการที่เกิดจากเชื้อ *S. subteranea* คือ

หัวพันธุ์มันฝรั่งจากสก็อตแลนด์ :

หัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวนไม่เกิน 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งแสดงอาการของโรคครอบคลุมพื้นที่ผิว 5 เปอร์เซ็นต์ของหัวมันฝรั่ง

หัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศอื่น ๆ :

หัวมันฝรั่งที่แสดงอาการของโรคที่สามารถตรวจพบได้ (5 แผลหรือมากกว่าต่อหัว) ต้องมีไม่เกิน 2%

1.4.2 เมื่อหัวพันธุ์มันฝรั่งมาถึงประเทศไทย เจ้าหน้าที่กักกันพืชจะต้องสุ่มตัวอย่างจำนวนอย่างน้อย 600 หัว เพื่อตรวจโรค powdery scab ว่าไม่เกินระดับที่กำหนด

1.4.3 หลังจากอนุญาติให้นำหัวพันธุ์มันฝรั่งไปปลูก เจ้าหน้าที่กักกันพืชจะต้องติดตามตรวจสอบ ในแปลง เพื่อเฝ้าระวัง การระบาดของโรค powdery scab

แม้ว่า เชื้อ *Spongospora subterranea* เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย แต่พบระบาดทั่วไปในแหล่งปลูกมันฝรั่งทั่วโลก ทำให้ไม่สามารถจะนำเข้าจากแหล่งที่ปราศจากเชื้อได้ ประกอบกับผลการวิเคราะห์ความเสี่ยง เชื้อ *Spongospora subterranea* พบว่ามีโอกาสการเจริญและตั้งรกรากในประเทศไทยต่ำ แต่ก็นับว่ายังมีความเสี่ยงอยู่ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องกำหนดมาตรการควบคุมโดยกำหนดระดับที่ยอมรับได้ของโรค powdery scab บนหัวพันธุ์มันฝรั่งให้อยู่ในระดับต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานของกลุ่มประเทศยุโรป United Nations Economic Commission for Europe: UNEC ซึ่งกำหนดเกี่ยวกับโรค powdery scabไว้คือต้องมีหัวพันธุ์มันฝรั่งไม่เกิน 3% โดยน้ำหนักของหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งแสดงอาการโรคครอบคลุมพื้นที่ผิวเกินกว่า 10% ของหัวมันฝรั่ง (UNECE,2005)

สรุปผลการทดลอง

จากการสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าในปี 2548-2550 ตรวจพบเชื้อ *S. subterranea* ติดมากับหัวพันธุ์มันฝรั่งจากสก็อตแลนด์ และออสเตรเลีย เมื่อทดสอบการเกิดโรคโดยนำหัวพันธุ์มันฝรั่งที่เป็นโรคไปปลูกทดสอบ และติดตามตรวจสอบการเกิดโรคในแปลงเกษตรกรที่ใช้หัวพันธุ์มันฝรั่งที่เป็นโรค ผลการตรวจไม่พบโรคทั้งในสถานที่ทำการทดลอง และในแปลงเกษตรกร

การประเมินศักยภาพในการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวรและการแพร่ระบาด รวมทั้งผลกระทบทั้งทางเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อมพบว่า เชื้อ *S. subterranea* มีศักยภาพปานกลางถึงสูงในการติดเข้ามากับหัวพันธุ์มันฝรั่ง ศักยภาพในการตั้งรกรากอย่างถาวรอยู่ในระดับต่ำและแพร่ระบาดของเชื้อในประเทศไทยอยู่ในระดับปานกลาง แต่อย่างไรก็ดี เมื่อพิจารณาถึงผลกระทบทางเศรษฐกิจ และสิ่งแวดล้อม หากเชื้อ *S. subterranea* เข้ามาระบาดทำความเสียหายในพื้นที่ผลิตมันฝรั่งของประเทศไทย ผลกระทบโดยตรง นอกจากจะทำให้ผลผลิตมันฝรั่งลดลง ยังทำให้คุณภาพไม่เหมาะสมต่อการบริโภค และไม่เป็นที่ต้องการของโรงงานอุตสาหกรรม ส่วนผลกระทบด้านสิ่งแวดล้อมคือ สปอร์ของเชื้อสามารถคงทนอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน ทำให้พื้นที่ที่มีการระบาดไม่สามารถปลูกมันฝรั่งได้ และการกำจัดเชื้อในดินต้องใช้สารเคมีที่มีความเข้มข้นสูงอาจทำให้เกิดพิษตกค้างในดินหรือสิ่งแวดล้อมได้

จากผลการประเมินความเสี่ยงของเชื้อ *S. subterranea* แสดงให้เห็นถึงความจำเป็นที่ต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยงให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ โดยกำหนดให้ประเทศที่ต้องการส่งหัวพันธุ์มันฝรั่งมายังประเทศไทยจะต้องมีการจัดการโรค powdery scab ตั้งแต่ในแปลงปลูก และในขบวนการเก็บเกี่ยวต้องมีการคัดแยกหัวที่เป็นโรค และ จะต้องมีการตรวจรับรองโรค powdery scab โดยหน่วยงานที่มีหน้าที่รับผิดชอบ ตามเงื่อนไขของประเทศไทยก่อนที่จะมีการส่งออก

เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร.2550. สถิติการนำเข้า-ส่งออก. http://www.customs.go.th/StatisticResult.jsp.

กรมอุตุนิยมวิทยา.2551.รายงานข้อมูลอุตุนิยมวิทยา. http://www.tmd.go.th/province.php?id=2

APIC. 2001. National Standard for Certification of Seed Potatoes. The Expert Foundation, Melbourne.

Braithwaite, M., Falloon, R.E., Genet, R.A., Wallace, A.R., Fletcher, J.D., Braam, W.F.1994. Control of powdery scab of potatoes with chemical seed tuber treatments. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 22:121-128.

Crop Protection Compendium 2007. Crop Protectection Compendium Global Module 2nd Edition. CAB Internation

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

Falloon R. 1993. Powdery scab of potatoes. Available source: http://www.crop.cri.nz/broadshe/powder.htm

FAO. 2004. International Standards for Phytosanitary Measures. ISPM No 11. Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risk and modified organisms. FAO, Rome.

FAO. 2005. International Standards for Phytosanitary Measures. ISPM No 2. Guidelines for pest risk analysis. FAO, Rome.

FAO. 2006. International Standards for Phytosanitary Measures. ISPM No 5. Glossary of Phytosanitary terms. FAO, Rome.

Hims M., 1976 .The biology of *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh. f.sp. *subterranea* Tomlinson, the cause of powdery scab disease of potato . Leeds, UK:University of Leeds, PhD thesis. PhD thesis.

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

Ledingham GA., 1935. Occurrence of zoosporangia in *Spongospora subterranean* (Wallroth) Lagerheim. Nature 135:394

Spongospora PIN BOARD.2000 . Available source: http://www.pa.ipw.agrl.ethz.ch/spongospora/pinboard.htm

Stevenson, W.R., Loria, R., Franc, G.D. and Weingartner, D.P. 2004. Compendium of Potato Diseases. The American Phytopathologal Society. Minnesota.106 p.

Merz, U. 2000. Experiments on direct control and yield loss made in New Zealand *In* U. Merz and A.K. Lee, eds. Proceedings of the First European Powdery scab Workshop. Scottish Agricultural College, Aberdeen.

UNECE. 2005. Standard for Seed Potatoes. United Nations, New york.

USDA. 1997. United States Standards for Grades of Seed Potatoes. Available source: http://www.ams.usda.gov/standards/potatoes.pdf

Wale, S. 2000. Summary of the session on national potato production and the powdery scab situation. pp 3-9. *In* U. Merz and A.K. Lee, eds. Proceedings of First European Powdery scab Workshop. Scottish Agricultural College, Aberdeen.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ผลการตรวจ powdery scab ในหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ประเทศ	ปี	ปริมาณนำเข้า รายการ/น้ำหนัก (ตัน)	ผลการตรวจพบ powdery scab	
			เกินเงื่อนไขที่กำหนด* รายการ/น้ำหนัก (ตัน)	ไม่เกินเงื่อนไขที่กำหนด รายการ/น้ำหนัก (ตัน)
สก๊อตแลนด์	48	30/3,372	1/7.5	11/1,543
	49	30/2,282	-	14/12,95
	50	18/1,974	1/141	10/893
ออสเตรเลีย	48	13/1,174	1/70.5	3/94
	49	14/1,574	-	3/141
	50	14/1,001	-	3/117.5
เนเธอร์แลนด์	48	3/150	ไม่พบ	ไม่พบ
	49	3/162		
	50	3/211		
อิสราเอล	48	1/50	ไม่พบ	ไม่พบ
	49	-		
	50	-		
นิวซีแลนด์	48	-	ไม่พบ	ไม่พบ
	49	1/24		
	50	2/69		
แคนาดา	48	-	ไม่พบ	ไม่พบ
	49	2/258		
	50	-		

*เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศออสเตรเลียกำหนดระดับที่ยอมรับได้สำหรับโรค powdery scab ว่าต้องมีหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวนไม่เกิน 2 เปอร์เซ็นต์ซึ่งแสดงอาการของโรคที่สามารถตรวจพบได้(ระดับของโรค powdery scab ซึ่งแสดงอาการที่สามารถตรวจพบได้คือจำนวน 5 รอยแผลหรือมากกว่าต่อหัว)

เงื่อนไขการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งสก็อตแลนด์กำหนดระดับที่ยอมรับได้สำหรับโรค powdery scab ว่าต้องมีหัวพันธุ์มันฝรั่งจำนวนไม่เกิน 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของหัวพันธุ์มันฝรั่งซึ่งแสดงอาการของโรคครอบคลุมพื้นที่ผิว 5 เปอร์เซ็นต์ของหัวมันฝรั่ง

ภาพที่ 1 การตรวจศัตรูพืชในหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศ

ก การสุ่มตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่ง ณ ด่านนำเข้า

ข การตรวจศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ

ภาพที่ 4 การทดสอบศักยภาพการเกิดโรค Powdery scab

ภาพที่ 5 การติดตามตรวจสอบโรคในแปลงผลิตมันฝรั่งของเกษตรกร

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชขององุ่นนำเข้าจากประเทศชิลี

Study on Pest Risk Analysis for the Importation of Grape from Chile

ชลธิชา รักใคร่ อุดร อุณหวุฒิ สุรพล ยินอัศวพรรณ นงพร มาอยู่ดี
ณัฏฐพร อุทัยมงคล อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด อลงกต โพธิ์ดี
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

องุ่น มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vitis vinifera* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Vitidaceae องุ่นที่มีการผลิตเพื่อการค้าพบว่าในปี 1998 ประเทศชิลีเป็นแหล่งผลิตองุ่นใหญ่เป็นอันดับ 2 ของโลกรองจากอิตาลีซึ่งมีผลผลิตในปีดังกล่าวปริมาณ 860,000 ตัน องุ่นที่ผลิตในชิลีมีทั้งหมด 35 สายพันธุ์ผลผลิต ทั้งหมดเป็นองุ่นไร้เมล็ดคิดเป็น 36.7% ขององุ่นไร้เมล็ดทั่วโลกผลการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชจากเอกสารวิชาการและจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของต่างประเทศได้ข้อมูลศัตรูพืชของ องุ่นจากการศึกษารวบรวมรายงานจากทั่วโลกมีศัตรูพืชขององุ่นรวมทั้งสิ้นจำนวน 373 ชนิด เป็นแมลง 166 ชนิด ไร 22 ชนิด ไวรัส 23 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด เชื้อรา 51 ชนิด ไส้เดือนฝอย 42 ชนิด ไฟโตพลาสมา 6 ชนิด และวัชพืช 49 ชนิดการสุ่มเก็บตัวอย่าง องุ่นจากด่านตรวจพืชที่นำเข้าจากชิลีได้ตัวอย่าง 12 ตัวอย่าง ผลการตรวจไม่พบศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืชในปีงบประมาณ 2552 ได้ทำการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดที่มีศักยภาพที่จะเป็นศัตรูพืชกักกันชนิดใดที่มีความเสี่ยงสูงจะได้กำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงและกำหนดเงื่อนไขเพื่อควบคุมการนำเข้าต่อไป

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-02-01-51

คำนำ

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 องุ่นผลสดที่นำเข้าจากต่างประเทศทุกประเทศจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials)เพียงแต่แจ้งการนำเข้าโดยไม่ต้องมีการขออนุญาตก่อนนำเข้า หรือมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับมา และไม่ต้องมีคำรับรองพิเศษเพิ่มเติมแต่อย่างใด จึงมีความเสี่ยงที่จะมีเชื้อโรค แมลงศัตรูพืชติดเข้ามาจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (pest risk analysis) ของพืชนำเข้า ตามความตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Agreement:SPS) “มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk) เพื่อให้ทราบว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกันและ นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้าต่อไป หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507

อุปกรณ์

1. องุ่นที่นำเข้าจากประเทศชิลีเมล็ดพันธ์ผักกาดกวางตุ้ง
2. กล้องจุลทรรศน์ (Stereo microscope)
3. แผ่นบันทึกข้อมูลศัตรูพืช
4. วัสดุและอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืช/ศัตรูพืช
5. หนังสือ และวรสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
6. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืช
2. รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศ เปรียบเทียบกับข้อมูลในประเทศ
3. เก็บตัวอย่างและตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า ณ จุดที่มีการนำเข้า

4. สำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูก
5. วิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน
6. กำหนดมาตรการทางวิชาการ/ กฎหมาย เพื่อควบคุมการนำเข้า
7. สรุปผลและเขียนรายงาน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2550 – กันยายน 2552 (2 ปี)

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช และ ด่านตรวจพืช

ผลและวิจารณ์การทดลอง

องุ่น มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Vitis vinifera* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Vitidaceae เป็นพืชล้มลุก มีลักษณะเป็นไม้เลื้อย เนื้อแข็ง มีกิ่งก้านเล็ก ต้องเลื้อยเกาะกิ่งไม้ ใบกลม ขอบหยักเว้าลึก 3 -7 พู โคนใบเว้าหัวใจ ดอกออกเป็นช่อแยกแขนง ดอกย่อยขนาดเล็กสีเขียว โคนเชื่อมติดกัน ปลายแยก 5 กลีบ ผลออกเป็นพวง ผลย่อยรูปกลมรี ฉ่ำน้ำ ผิวมีนวลเกาะ รสหวาน มีสีเขียว ม่วงแดง และม่วงดำ แล้วแต่พันธุ์ มี 1-4 เมล็ดสามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตหนาวเขตกึ่งร้อนกึ่งหนาว และเขตร้อน พันธุ์ที่นิยมปลูก พันธุ์ไวท์มะละกา มี 2 สายพันธุ์ คือ ชนิดผลกลมและผลยาว ลักษณะช่อใหญ่ยาว การติดผลดีผลมีสีเหลืองอมเขียว รสหวานแหลม เปลือกหนาและเหนียว ในผลหนึ่งๆ มี 1-2 เมล็ด ช่วงเวลาหลังจากตัดแต่งกิ่งจนเก็บผลได้ประมาณ 4 เดือนครึ่ง ปีหนึ่งให้ผลผลิต 2 ครั้ง ผลผลิตประมาณ 10-15 กิโลกรัม/ต้น/ครั้ง พันธุ์คาร์ดินัล มีลักษณะช่อใหญ่ ผลดก ผลกลมค่อนข้างใหญ่ มีสีแดงหรือม่วงดำ รสหวาน กรอบ เปลือกบาง จึงทำให้ผลแตกง่ายเมื่อผลแก่ในช่วงฝนตกชุก ในผลหนึ่งๆ มีเมล็ด 1-2เมล็ด ช่วงเวลาหลังจากตัดแต่งกิ่งจนเก็บผลได้ใช้เวลา 3-3 เดือนครึ่ง ในเวลา 2 ปี สามารถให้ผลผลิตได้ถึง 5 ครั้ง ผลผลิตประมาณ 10-15 กิโลกรัม/ต้น/ครั้ง เขตปลูกองุ่นของโลกนั้นกว้างมาก สามารถปลูกได้ในพื้นที่สูงตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงระดับความสูง 6,000 ฟุต แต่แหล่งปลูกองุ่นที่มีคุณภาพดี มักอยู่ในระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลประมาณ 1,000 - 4,000 ฟุต สำหรับประเทศไทยมีการปลูกองุ่นในแถบภาคตะวันตก เช่น อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี อำเภอสามพราน อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาครสืบค้นข้อมูลพืชจากเอกสารวิชาการ รายงานและหนังสือวิชาการในประเทศและต่างประเทศ ได้ข้อมูลพืชของ องุ่นที่มีการผลิตเพื่อการค้าพบว่าในปี 1998 ประเทศชิลีเป็นแหล่งผลิตองุ่นใหญ่เป็นอันดับ 2 ของโลกรองจากอิตาลีมีผลผลิตในปีดังกล่าว 860,000 ตันมีแหล่งผลิตใหญ่ๆ ในประเทศ 6 แหล่งด้วยกัน องุ่นที่ผลิตมีทั้งหมด 35 สายพันธุ์ ทั้งหมดเป็นองุ่นไร้เมล็ดคิดเป็น 36.7% ขององุ่นไร้เมล็ดทั่วโลกสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชจากเอกสารวิชาการ การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของต่างประเทศฯ

ได้ข้อมูลศัตรูพืชของ องุ่นจากการศึกษารวบรวมรายงานจากทั่วโลกมีสิ่งมีชีวิตทั้งที่เป็นศัตรู/ไม่เป็นศัตรูขององุ่นรวมทั้งสิ้นจำนวน 373 ชนิด เป็นแมลง 166 ชนิด ไร 22 ชนิด ไวรัส 23 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด เชื้อรา 51 ชนิด ไส้เดือนฝอย 42 ชนิด ไฟโตพลาสมา 6 ชนิด และวัชพืช 49 ชนิด การสุ่มเก็บตัวอย่าง องุ่นจากด่านตรวจพืชที่นำเข้าจากชิลีได้ตัวอย่าง 12 ตัวอย่าง ผลการตรวจไม่พบศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืชได้ทำการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดที่มีศักยภาพที่จะเป็นศัตรูพืชกักกันชนิดใดที่มีความเสี่ยงสูงจะได้กำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงและกำหนดเงื่อนไขเพื่อควบคุมการนำเข้าต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ประเทศชิลีเป็นแหล่งผลิตองุ่นใหญ่เป็นอันดับ 2 ของโลกรองจากอิตาลีซึ่งมีผลผลิตในปีดังกล่าวปริมาณ 860,000 ตัน องุ่นที่ผลิตในชิลีมีทั้งหมด 35 สายพันธุ์ผลผลิต ทั้งหมดเป็นองุ่นไร้เมล็ดคิดเป็น 36.7% ขององุ่นไร้เมล็ดทั่วโลกผลการสืบค้นข้อมูลศัตรูพืชจากเอกสารวิชาการและจากการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของต่างประเทศได้ข้อมูลศัตรูพืชของ องุ่นจากการศึกษารวบรวมรายงานจากทั่วโลกมีศัตรูพืชขององุ่นรวมทั้งสิ้นจำนวน 373 ชนิด เป็นแมลง 166 ชนิด ไร 22 ชนิด ไวรัส 23 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด เชื้อรา 51 ชนิด ไส้เดือนฝอย 42 ชนิด ไฟโตพลาสมา 6 ชนิด และวัชพืช 49 ชนิดการสุ่มเก็บตัวอย่าง องุ่นจากด่านตรวจพืชที่นำเข้าจากชิลีได้ตัวอย่าง 12 ตัวอย่าง ผลการตรวจไม่พบศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืชในปีงบประมาณ 2552 ได้ทำการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดที่มีศักยภาพที่จะเป็นศัตรูพืชกักกันชนิดใดที่มีความเสี่ยงสูงจะได้กำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงและกำหนดเงื่อนไขเพื่อควบคุมการนำเข้าต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. กรมศุลกากร.2549. สถิติการนำเข้า-ส่งออก. http://www.customs.go.th.

2. จุมพล สาระนาค อรพรรณ วิเศษสังข์ และจักรพงษ์ เจิมศิริ. 2540. โรคผัก. คู่มือนักวิชาการภาคสนาม ฝ่ายวิเคราะห์และบริการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 กรมวิชาการเกษตร.113 หน้า.

3. พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สหมิตรพริ้นติ้ง อ.บางใหญ่ จ.นนทบุรี. 285 หน้า.

4. สมบูรณ์ เจริญฤทธิ์. 2543. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การประชุมสัมมนาเรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยง (Pest risk analysis) เพื่อการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร 26 กันยายน 2546 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ. 5 หน้า

5. 8.ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 75 หน้า.

6 .ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 75 หน้า.

7. สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2541. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช : โรคและการจัดการ. วี.บี. บุ๊คเซ็นเตอร์, กรุงเทพฯ. 204 หน้า.

8. Allad-Iw, A.L. That culprit called GATT-WTO. Nordis weekly.April 24, 2005. www.nordis.net.

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

10 .Anonymous 2003. Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks. ISPM Pub. No. 11 Rev. 1, FAO, Rome.

11. .CABI. 2007. Crop Protection Compendium [CD-ROM]. CAB International. Wallingford, UK.

12. USDA, 2006. Treatment schedule 88 pp. *In* USDA Treatment manual. USDA-APHIS

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของกีวีนำเข้า

Pest Risk Analysis of Kiwifruit Imported into Thailand

วรัญญา มาลี อลงกต โพธิ์ดี อดุลรัตน์ แคล้วคลาด
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของกีวีนำเข้า ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2551 ณ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อทราบชนิดศัตรูพืชกักกันที่อาจติดมากับผลสดกีวีนำเข้าจากต่างประเทศ และกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสม ผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนเริ่มต้นและการจำแนกประเภทศัตรูพืช พบว่าศัตรูพืชของกีวีมีจำนวน 92 ชนิด ศัตรูพืชที่มีโอกาสติดเข้ามากับผลสดกีวีนำเข้าและไม่มีรายงานการปรากฏในประเทศไทยมีจำนวน 15 ชนิด ได้แก่ แมลง 7 ชนิด คือ *Anastrepha fraterculus, Aspidiotus nerii, Bactrocera tryoni, Cnephasia jactatana, Epiphyas postvittana, Naupactus xanthographus, Platynota stultana, Proeulia auraria* ไร 2 ชนิด คือ *Brevipalpus chilensis และ B. essigi* Bacteria 2 ชนิด คือ *Pseudomonas viridiflava* และ *P. marginalis* เชื้อรา 3 ชนิด คือ *Botryosphaeria parva, B. stevensii* และ *Phaeoacremonium aleophilum* ซึ่งจะนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

คำนำ

กีวีเป็นไม้ผลเมืองหนาวที่มีการปลูกในทวีปยุโรป เอเชีย อเมริกา หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก ชนิดที่ปลูกเป็นการค้าและประเทศไทยมีการนำเข้า ได้แก่ *Actinidia deliciosa* และ *A. chinensis* จากสถติพบว่าในปี 2547-2549 มีการนำเข้า 486,528 ถึง 983,682 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าประมาณ 17-37 ล้านบาท (กรมศุลกากร, 2550) โดยนำเข้าจากประเทศ จีน นิวซีแลนด์ อิตาลี ออสเตรเลีย และ แอฟริกาใต้ เป็นต้น ปัจจุบันผลสดกีวีจากทุกแหล่งทั่วโลกจัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550 การอนุญาตนำเข้าเพื่อการค้าจำเป็นต้อง

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-02-01-51

ผ่านกระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าเสียก่อน ดังนั้นจึงได้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของกีวีนำเข้า (เฉพาะผลสดเพื่อบริโภค) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้รายชื่อศัตรูพืชที่มีศักยภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกัน และกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสมสำหรับการนำเข้าผลสดกีวีจากต่างประเทศทั้งที่มีการนำเข้าในปัจจุบันและในอนาคตโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 2 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO, 2005) และมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (FAO, 2004) ข้อมูลที่ได้จะใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์ช่วยสนับสนุนการออกกฎระเบียบด้านกฎหมายและวิชาการสำหรับการนำเข้าผลสดกีวีจากต่างประเทศต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 2 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง คำแนะนำสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช
2. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม
3. คู่มือสำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ตามแนวทางของอนุสัญญาอารักขาพืชระหว่างประเทศ (IPPC: International Plant Protection Convention)
4. แนวทางการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของออสเตรเลีย

วิธีการ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชประกอบด้วย 3 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation of Pest Risk Analysis)

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 3: Pest risk management)

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.1 กำหนดจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช อาจเป็นศัตรูพืช เส้นทางที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา หรือการทบทวนโยบายของประเทศ ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกันพืช

1.2 กำหนดพื้นที่ที่จะทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.3 ตรวจสอบว่าเคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยศัตรูพืช เส้นทางศัตรูพืช หรือ นโยบายของรัฐมาก่อนหรือไม่ ทั้งภายในประเทศและในต่างประเทศ กรณีที่มีการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาแล้ว ตรวจสอบดูว่ายังมีความเหมาะสมสามารถนำมาใช้ได้หรือไม่ เนื่องจากสภาพอาจเปลี่ยนแปลงไป พิจารณาความเป็นไปได้ในการนำเอาการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากเส้นทางศัตรูพืชที่เหมือนกัน หรือศัตรูพืชที่เหมือนกัน มาใช้เพียงบางส่วนหรือทั้งหมด

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเชิงปริมาณ โดยใช้หลักเกณฑ์การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 (FAO, 2004) และคู่มือการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (FAO, 2007 และ BA, 2007) ขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

2.1 <u>การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest Categorization) ที่พบบนกีวี</u>

2.1.1 ค้นคว้ารวบรวมรายชื่อของสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานว่าเป็นศัตรูกีวี จากผลงานวิจัย ฐานข้อมูลศัตรูพืช ตำรา หรือเอกสารวิชาการต่าง ๆ ที่น่าเชื่อถือ

2.1.2 พิจารณาจัดกลุ่มศัตรูพืช เช่น แมลง ไร ไวรัส แบคทีเรีย และ รา เป็นต้น

2.1.3 บันทึกรายละเอียดของศัตรูกีวีแต่ละชนิด ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ชื่อสามัญ แหล่งแพร่กระจาย ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย และเป็นพาหะของศัตรูพืชชนิดอื่นหรือไม่

2.1.4 ตรวจสอบว่าเป็นศัตรูพืชที่พบในประเทศไทยหรือไม่ รวมถึงสถานภาพการควบคุมศัตรูพืชดังกล่าวในประเทศไทย

2.1.5 พิจารณาคัดเลือกเฉพาะศัตรูพืชที่ไม่พบในประเทศไทย หรือพบแต่มีการควบคุมอย่างเป็นทางการ และมีโอกาสติดมากับผลสดกีวีนำเข้า นำมาประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

2.2 <u>การประเมินศักยภาพการเข้ามา การตั้งรกราก การแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry, establishment and spread) ของศัตรูกีวีในประเทศไทย</u>

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากข้อ 2.1.5 มาประเมินโอกาสของศัตรูพืชในการเข้ามา ตั้งรกราก และแพร่ระบาดในประเทศไทย ตามมาตรฐานระหว่างประเทศสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM) ฉบับที่ 2 และ 11 โดยพิจารณาปัจจัยต่างๆ ที่มีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่เชื่อถือได้

2.2.1 การประเมินศักยภาพการเข้ามา เป็นการประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชจะปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืชเข้ามาในประเทศไทย ปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่ ระยะการเจริญเติบโตที่มีความเสี่ยงติดเข้ามากับผลสดกีวีนำเข้า ลักษณะการติดเข้ามากับผลกีวี ความยากง่ายในการ

สังเกตเห็นร่องรอยจากภายนอกผล การมีชีวิตรอดระหว่างขนส่ง การเล็ดรอดจากการตรวจที่จุดนำเข้า การเคลื่อนย้ายไปยังพืชอาศัย/พืชอาหารที่เหมาะสม และเจตนาการนำผลกีวีไปใช้ประโยชน์ในกรณีนี้เป็นการนำเข้าเพื่อการบริโภค

2.2.2 การประเมินศักยภาพการตั้งรกราก เป็นการประเมินโอกาสที่ศัตรูพืชสามารถมีชีวิตอยู่รอดในประเทศไทยได้ ปัจจัยที่นำมาพิจารณาคือ ข้อมูลชีววิทยาของศัตรูพืช เช่น วงจรชีวิต จำนวนรุ่นต่อปี พืชอาหาร/พืชอาศัย จำนวนและการกระจายตัวของพืชอาหาร/พืชอาศัย พาหะ การแพร่ขยายพันธุ์ ความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ เป็นต้น

2.2.3 การประเมินศักยภาพการแพร่ระบาด เป็นการประเมินโอกาสที่ศัตรูสามารถแพร่ระบาดในพื้นที่ของประเทศไทย ปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่ การเคลื่อนย้ายของศัตรูพืชไปกับผลิตผลเกษตร สินค้า หรือพาหนะขนส่ง ความสามารถในการเคลื่อนย้ายหาพืชอาหารโดยศัตรูพืชเอง หรือต้องอาศัยพาหะ ซึ่งต้องพิจารณาต่อว่าพาหะดังกล่าวมีปรากฏในประเทศไทยหรือไม่ ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมในสภาพธรรมชาติ สิ่งกีดขวางโดยธรรมชาติ และพืชอาหาร/พืชอาศัย (รวมทั้งพืชที่มีความใกล้เคียงกับพืชอาหาร/พืชอาศัย)

2.3 <u>การประเมินศักยภาพที่จะเกิดผลตามมาทางเศรษฐกิจในพื้นที่ที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Potential economic consequence) ของศัตรูกีวี</u>

นำรายชื่อศัตรูพืชที่ได้จากข้อ 2.1.5 มาพิจารณาความเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ ซึ่งอาจมีผลกระทบทางตรงต่อพืช สัตว์ มนุษย์ และสิ่งแวดล้อม เช่น ทำให้พืชสูญเสียผลผลิต หรือมีผลกระทบทางอ้อม เช่น ต้องเพิ่มต้นทุนในการป้องกันกำจัด กระทบต่อระบบการผลิตพืชภายในประเทศ กระทบต่อการค้าภายในประเทศและระหว่างประเทศ เป็นต้น โดยพิจารณาว่ามีผลกระทบจนถึงระดับที่ยอมรับไม่ได้ ในพื้นที่ประเทศไทย

ผลสรุปจากการพิจารณาว่าศัตรูพืชนั้นมีศักยภาพการเป็นศัตรูพืชกักกัน กระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะดำเนินการต่อไป กรณีที่ศัตรูพืชนั้นไม่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์การเป็นศัตรูพืชกักกัน กระบวนการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะยุติ ณ ขั้นตอนนี้ กรณีที่มีข้อมูลไม่เพียงพอ จะพิจารณาประเด็นที่ยังมีข้อสงสัยและดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชต่อไป

ขั้นตอนที่ 3 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช

กำหนดทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อลดความเสี่ยงที่ได้จากการประเมิน

ในขั้นตอนที่ 2 การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชเพื่อปกป้องพื้นที่เสี่ยงภัยควรอยู่บนพื้นฐานของข้อมูลที่รวบรวมได้ในการประเมินความเสี่ยง ซึ่งจะถูกนำมาใช้ประกอบการตัดสินใจว่ามีความจำเป็น

หรือไม่ที่ต้องจัดการความเสี่ยง และมาตรการที่ใช้จะต้องมีความเหมาะสมกับศัตรูพืช มีประสิทธิภาพ และใช้ตามความจำเป็น ให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2551

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปี 2551 ดำเนินการวิเคราะห์ในขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (การจำแนกประเภทศัตรูพืช) ผลการดำเนินงานดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1.1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเนื่องมาจากการปรับปรุงแก้ไขกฎหมายด้านกักกันพืช โดยกำหนดให้ผลสดกีวีมีสถานภาพเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 (ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืช และพาหะจากแหล่งที่กำหนดเป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้น และเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550) การนำเข้าเพื่อการค้าจำเป็นต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและกำหนดเงื่อนไขการนำเข้าเสียก่อน ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของกีวีนำเข้าเพื่อทราบชนิดศัตรูพืชกักกันและกำหนดแนวทางหรือมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสมเพื่อป้องกันศัตรูพืชร้ายแรงที่อาจติดมากับผลสดกีวีนำเข้า จึงถือว่าเป็นการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากการปรับปรุงนโยบายเพื่อสร้างประสิทธิภาพในงานกักกันพืช และเส้นทางที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาคือผลสดกีวีที่นำเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อการบริโภค

1.2 พื้นที่ที่จะทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชคือ “ประเทศไทย”

1.3 จากการตรวจสอบจากเอกสารและข้อมูลต่าง ๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ พบว่ามีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการพืชนำเข้าพืชชนิดอื่น แต่สำหรับผลสดกีวียังไม่เคยมีการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชมาก่อน

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

2.1 <u>การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest Categorization) ที่พบบนกีวี</u>

ผลการศึกษารวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของกีวี พบว่ามีจำนวนทั้งสิ้น 92 ชนิด ได้แก่ (1) แมลง 45 ชนิด อยู่ในอันดับ Coleoptera 5 ชนิด อันดับ Diptera ซึ่งเป็นแมลงวันผลไม้ 2 ชนิด อันดับ Hemiptera (แมลงหวี่ขาว เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย และเพลี้ยอ่อน) 17 ชนิด อันดับ

Lepidoptera 16 ชนิด และอันดับ Thysanoptera (เพลี้ยไฟ) 5 ชนิด (2) ไร 6 ชนิด (3) แบคทีเรีย 6 ชนิด (4) เชื้อรา 29 ชนิด (5) ไส้เดือนฝอย 6 ชนิด

ศัตรูพืชที่ไม่เคยมีรายงานว่าพบในประเทศไทยและทำลายผลกีวี มีจำนวน 15 ชนิด ได้แก่ แมลง 7 ชนิด คือ *Anastrepha fraterculus, Aspidiotus nerii Bouche, Bactrocera tryoni, Cnephasia jactatana, Epiphyas postvittana, Naupactus xanthographus, Platynota stultana, Proeulia auraria* ไร 2 ชนิด คือ *Brevipalpus chilensis* และ *B. essigi* Bacteria 2 ชนิด คือ *Pseudomonas viridiflava* และ *P. marginalis* เชื้อรา 3 ชนิด คือ *Botryosphaeria parva, B. stevensii* และ *Phaeoacremonium aleophilum*

สำหรับการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของกีวีในขั้นตอนต่อไป ได้แก่ การประเมินศักยภาพการเข้ามา การตั้งรกราก การแพร่ระบาด ผลตามมาทางเศรษฐกิจในประเทศไทย และการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช จะดำเนินการในปีต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ศัตรูพืชของกีวีมีจำนวน 92 ชนิด ศัตรูพืชที่มีโอกาสติดเข้ามากับผลสดกีวีนำเข้าและไม่มีรายงานการปรากฏในประเทศไทยมีจำนวน 15 ชนิด ได้แก่ แมลง 7 ชนิด คือ *Anastrepha fraterculus, Aspidiotus nerii Bouche, Bactrocera tryoni, Cnephasia jactatana, Epiphyas postvittana, Naupactus xanthographus, Platynota stultana, Proeulia auraria* ไร 2 ชนิด คือ *Brevipalpus chilensis และ B. essigi* Bacteria 2 ชนิด คือ *Pseudomonas viridiflava* และ *P. marginalis* เชื้อรา 3 ชนิด คือ *Botryosphaeria parva, B. stevensii* และ *Phaeoacremonium aleophilum* ซึ่งจะนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร. 2550. สถิติการนำเข้าผลกีวี ปี 2546-2549. http://www.customs.go.th/Statistic/StatisticIndex.jsp [วันที่ 12 ธันวาคม 2550]

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

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

Biosecurity Australia. 2008. Technical Market Access Submission for Fresh Kiwifruit from Australia to Thailand. Biosecuirty Australia, Canberra, Australia.

Chile Plant Protection Division. 2008. Phytosanitary situation of kiwifruit (Actinidia deliciosa) in Chile. Plant Protection Division, Chile.

Ministry of Agriculture and Forestry . 2008. Pest Risk Analysis information for Actinidia spp. (kiwifruit) from New Zealand. Biosecurity New Zealand, MAF, Wellington, New Zealand.

Morton, J.1987.Kiwifruit. p. 293–300. In: Fruits of warm climates.Julia F.Morton,Miami, FL.

การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าแครอท

Study on Pest Risk Analysis for Importation of Carrot

สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ อลงกต โพธิ์ดี อดุลย์รัตน์ แคล้วคลาด วาสนา ฤทธิ์ไธสง
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

แครอท (Carrot: *Daucus carota*) เป็นพืชที่เจริญได้ดีในอากาศหนาวจัดอยู่วงศ์เอเปียซีอี้ (Apiaceae) หรือ(Umbelliferae) มีแหล่งผลิตปริมาณมากที่สุดในโลก คือ สาธารณรัฐประชาชนจีน รองลงมาได้แก่ สหพันธรัฐรัสเซีย สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐโปแลนด์ และ สหราชอาณาจักร ตามลำดับ สำหรับประเทศไทยมีการนำเข้าแครอทในปี 2550 ปริมาณสูงสุดคือ สาธารณรัฐประชาชนจีน18,863,358.00 กิโลกรัม รองลงมาคือ ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ ปริมาณ 770,611.55 กิโลกรัม และ 181,380.00 กิโลกรัม ตามลำดับ จากผลการศึกษาการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแครอทนำเข้า ในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) โดยการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชจากรายงานและเอกสารวิชาการทั้งในประเทศ และต่างประเทศทั่วโลก พบศัตรูพืชของแครอท รวมทั้งสิ้น 296 ชนิด เป็นแมลง 72 ชนิด ไร 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 35 ขนิด หอยทาก 2 ชนิด เชื้อรา 112 ชนิด แบคทีเรีย 16 ชนิด ไวรัส 19 ไวรอยด์ 1 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด วัชพืช 36 ชนิด โดยเป็นศัตรูที่มีรายงานพบในประเทศไทย 77 ชนิด เป็น แมลง 12 ชนิด ไร 2 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 39 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด ไวรัส 2 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด ไฟโตรพลาสมา 1 ชนิด วัชพืช 4 ชนิด และศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย 221 ชนิด เป็นแมลง 60 ชนิด ไร 2 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด เชื้อรา 73 ชนิด ไส้เดือนฝอย 23 ชนิด ไวรัส 17 ชนิด วัชพืช 32 ชนิด

ผลการตรวจสอบศัตรูพืชบนแครอทนำเข้าจากต่างประเทศ ณ ด่านตรวจพืชลาดกระบัง และท่าเรือกรุงเทพฯ ระหว่างเดือนเมษายน 2551 - กุมภาพันธ์ 2552 จำนวน 3 ประเทศ 13 ตัวอย่าง ได้แก่ ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน พบเชื้อรา *Thielaviopsis thielavioides*, *Alternaria radicina., Rhizopus* sp.,*Geotichum* sp., *Ulocladium* sp. ออสเตรเลียพบเชื้อรา *Thielaviopsis thielavioides* และ *Fusarium solani* และนิวซีแลนด์ พบเชื้อรา *Phoma* sp.

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-02-01-51

คำนำ

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

สถานการณ์การผลิตแครอทในต่างประเทศทั่วโลก พบว่าประเทศที่มีปริมาณการผลิตมากที่สุด เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย คือ สาธารณรัฐประชาชนจีน สหพันธรัฐรัสเซีย สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐโปแลนด์ และ สหราชอาณาจักร ตามลำดับ(USDA, 2007) สำหรับประเทศไทยมีการนำเข้าแครอทจากหลายประเทศ โดยเฉพาะแครอทนำเข้าเพื่อบริโภค ได้แก่ ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ เป็นต้น (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2550) จากการศึกษารวบรวมข้อมูลศัตรูพืชในเบื้องต้นปรากฏว่า มีศัตรูพืชร้ายแรงหลายชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย ซึ่งศัตรูพืชเหล่านี้มีโอกาสที่จะติดเข้ามากับแครอทนำเข้าได้ มาตรการกักกันพืชที่ใช้ควบคุมการนำเข้าแครอทปัจจุบันได้อาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 แครอทจัดอยู่ในประเภทสิ่งกำกัด หากประเทศไทยไม่มีมาตรการสุขอนามัยพืชที่เข้มงวดแล้ว อาจก่อให้เกิดปัญหาของศัตรูพืชหลายชนิดที่ไม่เคยพบในประเทศติดมากับสินค้าที่นำเข้า เกิดการแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณจนเกิดเป็นการระบาดของศัตรูพืชชนิดใหม่ขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้เกิดผลเสียต่อเศรษฐกิจของประเทศอย่างใหญ่หลวง ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อศึกษาในเบื้องต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแครอทนำเข้า เพื่อใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนในการประกาศทบทวนมาตรการทางสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าแครอทจากต่างประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์สำนักงาน

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

อุปกรณ์ห้องปฏิบัติการ

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

วิธีการ

1. การรวบรวมข้อมูลพืช

การรวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืชแครอท ที่จะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยง โดยทำการศึกษา ค้นคว้า และรวบรวมข้อมูลของแครอทจากฐานข้อมูล เอกสาร และรายงานทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลทางอิเลคโทนิค หรือเว็บไซท์ ต่างๆ ทั่วโลก เพื่อศึกษาข้อมูลทางอนุกรมวิธาน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การจำแนกชีววิทยา การปลูก การเก็บเกี่ยว และสถิติการนำเข้าแครอทจากต่างประเทศ เป็นต้น

2. การตรวจสอบเชื้อโรคและศัตรูพืชของแครอทที่นำเข้ามาในราชอาณาจักร (Interception)

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างแครอทนำเข้าจากต่างประเทศ ณ ด่านตรวจพืชลาดกระบัง และท่าเรือกรุงเทพฯ ระหว่างเดือนเมษายน 2551 ถึง กุมภาพันธ์ 2552 ในอัตรา 2 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับมาตรฐานการสุ่มตัวอย่างของผักและผลไม้ของสหรัฐอเมริกา (USDA, 2004) แล้วนำมาตรวจสอบศัตรูพืชด้วยตาเปล่า และภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อตรวจหาศัตรูพืชที่อาจติดมากับแครอทนำเข้า เช่น ตัวอ่อน หนอน ไข่ ดักแด้ อาการจุด เน่า จากนั้นทำการจำแนกชนิดของศัตรูพืชในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของการนำเข้าแครอทจากต่างประเทศ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis, PRA) ได้ดำเนินการตามมาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช (International Standard for Phytosanitary Measures, ISPM) ฉบับที่ 11 แก้ไขครั้งที่ 1 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมถึงการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม (Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks) (FAO, 2004) โดยการดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักที่สำคัญ ดังนี้

3.1 การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

ขั้นตอนนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อกำหนดศัตรูพืช และเส้นทางศัตรูพืช ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกันพืช และทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับพื้นที่หนึ่งที่กำหนดซึ่งจะต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ดำเนินการโดยการรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชของแครอท ที่จะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงจากฐานข้อมูล เอกสาร และรายงานทั้งในและต่างประเทศ ตำราวิชาการ วารสารวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ ข้อมูลทางอิเลคโทนิค หรือเว็บไซท์ ต่างๆ ทั่วโลกซึ่งเป็นข้อมูลล่าสุดที่มีรายงานจนถึงปัจจุบันนี้และเชื่อถือได้ เพื่อศึกษาข้อมูลศัตรูพืชของแครอท ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ข้อมูลทางชีววิทยา แหล่งแพร่กระจาย ลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืช ความสำคัญของศัตรูพืชและความเสียหายทางเศรษฐกิจ วิธีควบคุมและการป้องกันกำจัด รวมทั้งข้อมูลการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของประเทศ ซึ่งได้ทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแครอทมาก่อนแล้ว ข้อมูลดังกล่าวจะนำมาจัดทำบัญชีรายชื่อและจำแนกชนิดของศัตรูแครอท (Pest list and Pest Identification) ที่มีรายงานพบในต่างประเทศ จากนั้นระบุเส้นทาง (Pathway) ซึ่งเกี่ยวข้องกับทางกักกัน โดยทำการพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงโดยใช้หลักความสัมพันธ์ของชนิดศัตรูแครอทกับเส้นทางศัตรูพืช ในกรณีนี้

คือ ศัตรูพืชที่สามารถติดมากับหัวหรือรากแครอท และพิจารณาการวิเคราะห์ความเสี่ยงที่สัมพันธ์กับพื้นที่ในประเทศไทย โดยพื้นที่บางแห่งมีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืชปรากฏอยู่ และมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามาพร้อมกับการนำเข้าแครอท เพื่อบริโภค

ผลการวิเคราะห์ในขั้นตอนนี้นำมาดำเนินการจำแนกศัตรูพืชและเส้นทางศัตรูพืชที่เกี่ยวข้องและศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย และเก็บรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องเพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ รวมทั้งจำแนกและคัดเลือกศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชที่จะต้องดำเนินมาตรการสุขอนามัยพืช หรือ ชนิดศัตรูพืชที่เป็นตัวแทนของศัตรูพืชที่จำเป็นต้องใช้มาตรการสุขอนามัยพืช โดยอาจเป็นศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งที่เฉพาะเจาะจง หรือศัตรูพืชที่มีโอกาสปะปนมากับเส้นทางศัตรูพืช

3.2 **การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช** (Pest risk assessment) ประกอบด้วยการจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest categorization) เพื่อตัดสินว่ามีศัตรูพืชชนิดใดอยู่ภายใต้หลักเกณฑ์ที่จะเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ การประเมินความเสี่ยงที่จะต้องดำเนินการต่อไปหลังจากนั้น คือ การประเมินโอกาสเป็นไปได้ที่ศัตรูพืชจะเข้ามา (Introduction) การเข้ามาตั้งรกรากอย่างถาวร (Establishment) การแพร่ระบาด (Spread) และศักยภาพที่จะก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจ (Economic Consequences)

3.3 **การจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช** (Pest risk management) เกี่ยวข้องกับการกำหนดทางเลือกสำหรับการจัดการความเสี่ยง ทั้งนี้เพื่อลดความเสี่ยงที่ระบุในขั้นตอนที่ 2 ทางเลือกเหล่านี้จะถูกประเมินถึงประสิทธิภาพ ความเป็นไปได้ และผลกระทบ เพื่อที่จะคัดเลือกหาทางเลือกที่เหมาะสมที่สุดและกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงทั้งทางกฎหมาย และทางวิชาการภายใต้บทบัญญัติของพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 สำหรับการนำเข้าแครอทจากต่างประเทศ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา: ตั้งแต่ ตุลาคม 2550 ถึงกันยายน 2552 รวม 2 ปี

สถานที่วิจัย : กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การรวบรวมข้อมูลพืช

แครอท (carrot) มีชื่อวิทยาศาตร์ว่า *Daucus carota* L. อยู่ในวงศ์เอเปียซีอี้ (Apiaceae) หรือ Umbelliferae มีถิ่นกำเนิดอยู่แถบเอเชียกลางจนถึงทางตะวันออก ต่อมาแพร่หลายเข้าไปในยุโรป และประเทศจีน แครอทเป็นพืชสองฤดู โดยฤดูแรกเจริญทางต้น ใบ และราก ฤดูที่สองจะเจริญทางดอก และเมล็ด ลักษณะลำต้นเป็นแผ่นใบ จะเจริญจากลำต้น เป็นกลุ่มมีก้านใบยาว ประกอบด้วยเปลือกบาง(Periderm) และส่วนของเนื้อ (Cortex) ซึ่งประกอบด้วยท่ออาหาร และเป็นแหล่งเก็บอาหารสำรอง ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ 45-65% ของหัว เนื้อสีขาว เหลือง ส้ม แดง ม่วงและดำ ส่วนของแกน (inner core) ประกอบด้วยท่อน้ำ(xylem) และแกน (pith) แครอทสายพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงจะมีแกนขนาดเล็ก และมีสีเดียวกับเนื้อหรือมีส่วนของเนื้อมากกว่าส่วนของแกน การปลูกฤดูที่สองเพื่อผลผลิตเมล็ดพันธุ์ ลำต้นจะยืดตัว สร้างก้านดอกยาว 2-4 ฟุต บนยอดมีช่อดอก ซึ่งช่อแรกจะเจริญจากส่วนกลางของลำต้น ต่อจากนั้นช่ออื่นๆ จะเจริญตาม การผสมเกสรจะเป็นแบบผสมข้าม ส่วนใหญ่แมลงเป็นตัวช่วยผสมเกสร โดยทั่วไปจะแบ่งกลุ่มสายพันธุ์ตามขนาด และรูปทรงของหัว หรือการตลาด หรือการแปรรูป เช่น Chantenay (อายุเก็บเกี่ยว 80-180 วัน) , Imperator (อายุเก็บเกี่ยว 100-120 วัน) , danvers (อายุเก็บเกี่ยว 80-120 วัน) หรือ Nantes types. (อายุเก็บเกี่ยว 70-120 วัน) สายพันธุ์เหล่านี้จะมีเนื้อสีส้ม สามารถใช้ประกอบอาหารและแปรรูป แครอทเป็นพืชที่เจริญได้ดีในเขตหนาว ชอบสภาพดินที่ร่วนซุย หน้าดินลึก มีอินทรีย์วัตถุสูง ระบายน้ำได้ดี และค่อนข้างเป็นกรด PH 6.5-7.0 ซึ่งสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม คือ เมล็ดจะงอกได้ดีในอุณหภูมิ 15-25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตจะอยู่ระหว่าง 25-28 องศาเซลเซียส ในกรณีที่อุณหภูมิสูงกว่า 28 องศาเซลเซียสการเจริญของใบจะลดลง และอุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการเจริญของหัวอยู่ระหว่าง 18-21 องศาเซลเซียส (นิพนธ์, 2545)

สถานการณ์การผลิตแครอทในต่างประเทศทั่วโลก ปี 2003-2005 มีปริมาณการผลิตมากที่สุด เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย คือ สาธารณรัฐประชาชนจีน (34%) สหพันธรัฐรัสเซีย (7%) สหรัฐอเมริกา (7%) สาธารณรัฐโปแลนด์ (4%) และสหราชอาณาจักร(3%) ตามลำดับ ส่วนประเทศที่มีการส่งออกปริมาณแครอทสูงสุด เรียงลำดับจากมากไปหาน้อยคือ สาธารณรัฐประชาชนจีน เนเธอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา เบลเยียม และฝรั่งเศส ตามลำดับ และมูลค่าการส่งออกแครอทคือ สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ อิตาลี และสเปน ตามลำดับ (USDA, 2007; USDA, 2005) สำหรับประเทศไทยมีการการนำเข้าแครอทจากหลายประเทศ ได้แก่ สาธารณรัฐประชาชนจีน ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ โดยการนำเข้าแครอทปริมาณสูงสุด ในปี 2550 คือ ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนปริมาณ 18,863,358.00 กิโลกรัม เป็นมูลค่า 272,472,445.70 บาท

รองลงมาได้แก่ประเทศออสเตรเลีย ปริมาณ 770,611.55 กิโลกรัม เป็นมูลค่า 11,574,860.00 และนิวซีแลนด์ ปริมาณ 181,380.00 กิโลกรัม เป็นมูลค่า 2,524,314.00 บาท ตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2550)

2. การตรวจสอบเชื้อโรคและศัตรูพืชของแครอทที่นำเข้ามาในราชอาณาจักร (Interception)

ผลจากตรวจสอบศัตรูพืชบนแครอทนำเข้าจากต่างประเทศ ณ ด่านตรวจพืชลาดกระบังและท่าเรือกรุงเทพฯ ระหว่างเดือน เมษายน 2551 ถึง กุมภาพันธ์ 2552 รวมทั้งสิ้น 13 ตัวอย่าง ได้แก่ แครอทนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน 8 ตัวอย่าง ปริมาณ 240,000 กิโลกรัมพบเชื้อรา *Thielaviopsis thielavioides*, *Alternaria radicina., Rhizopus* sp.,*Geotichum* sp., *Ulocladium* sp. ออสเตรเลีย 2 ตัวอย่าง ปริมาณ 26,700 กิโลกรัมพบเชื้อรา *Thielaviopsis thielavioides* และ *Fusarium solani* และนิวซีแลนด์ 3 ตัวอย่าง ปริมาณ 78,000 กิโลกรัม พบเชื้อรา *Phoma* sp.

3. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของการนำเข้าแครอทจากต่างประเทศ

3. 1 การเริ่มต้นการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Initiation of pest risk analysis)

จุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำแครอทจากต่างประเทศเข้ามาในประเทศไทย เกิดขึ้นจากการทบทวนด้านนโยบายเพื่อปรับปรุงมาตรการสุขอนามัยพืชสำหรับการนำเข้าแครอทจากต่างประเทศให้รัดกุมยิ่งขึ้น (PRA initiated by the review or revision of a policy) เนื่องจากมาตรการควบคุมการนำเข้าแครอท ปัจจุบันอาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติม พระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 แครอทจัดเป็นพืชสิ่งกำกัด การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย อย่างไรก็ตาม การนำเข้าที่มีใบรับรองสุขอนามัยพืช แต่ที่มิได้มีการระบุว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกันตลอดจนมาตรการทางกักกันพืชกำกับมาด้วยจึงทำให้แครอทนำเข้ายังมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เพื่อทราบว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกัน โดยพื้นที่วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Identification of PRA area) ที่กำหนดในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับการนำเข้าแครอท คือ “ประเทศไทย”

พื้นที่ที่อยู่ในอันตราย (Endangered area) ได้แก่ พื้นที่หนึ่งพื้นที่ใดในประเทศไทย ซึ่งมีปรากฏอยู่ของพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของศัตรูพืช และมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญแพร่พันธุ์อย่างถาวรของศัตรูพืชซึ่งอาจจะติดเข้ามากับการนำเข้า โดยเส้นทาง(Pathway) ที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามา คือ ส่วนหัวหรือรากของแครอท ที่ปลูกเป็นการค้านำเข้ามาจากต่างประเทศ เพื่อการบริโภค

จากการสืบค้นข้อมูลของประเทศที่เคยดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแครอทมาก่อนแล้ว พบว่า ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้รายงานว่า ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกัน คือ *Meloidogyne ethiopica* ซึ่งมีความเสี่ยงปานกลางสามารถติดมากับเบบี้แครอทปลอกเปลือกจากเคนยา และเบบี้แครอทจากแซมเบีย (USDA, 2007; Porsche, 2006; Lakin, 2005) และ Davi *et.al* (2004) ได้รายงานว่าไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne fallax*) ซึ่งมีลักษณะสัญฐานวิทยาใกล้เคียงกับ *M. chitwoodi* นั้นยังไม่ปรากฏพบในสหรัฐอเมริกามีความเสี่ยงที่ติดมากับแครอทได้ อีกทั้งการนำเข้าแครอทจากนิวซีแลนด์ไปยังสหรัฐอเมริกา ต้องมีการตรวจสอบและรับรองว่าปลอดจากไรศัตรูพืช *Halotydeus destructor* เป็นต้น ส่วนประเทศจาไมกา มีรายงานพบว่าแบคทีเรีย *Xanthomonas camprestris* pv. *carotae* และเชื้อรา *Leveillula taurica* ซึ่งมีความเสี่ยงปานกลางสามารถติดมากับแครอทนำเข้าจากคอสตาริกา (MOA, 2005)

3.2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk assessment)

กระบวนการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช สามารถแบ่งออกได้อย่างกว้างเป็น 3 ขั้นตอน ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องสัมพันธ์กัน ได้แก่ การจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) การประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry, establishment and spread) และการประเมินศักยภาพของผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช (Assessment of potential consequences)

การจัดกลุ่มศัตรูพืช

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

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

จากผลการศึกษาโดยการสำรวจในประเทศไทยและการรวบรวมเอกสารพบว่า มีสิ่งมีชีวิตทั้งที่รายงานเป็นศัตรู และไม่เป็นศัตรูของแครอท รวมทั้งสิ้นจำนวน 296 ชนิด เป็นแมลง 72 ชนิด ไร 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 35 ชนิด หอยทาก 2 ชนิด เชื้อรา 112 ชนิด แบคทีเรีย 16 ชนิด ไวรัส 19 ไวรอยด์ 1 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด วัชพืช 36 ชนิด โดยเป็นศัตรูที่มีรายงานพบในประเทศไทย 77 ชนิด เป็น แมลง 12 ชนิด ไร 2 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 39 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12 ชนิด ไวรัส 2 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด ไฟโตรพลาสมา 1 ชนิด วัชพืช 4 ชนิด และศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย 221 ชนิด เป็น แมลง 60 ชนิด ไร 2 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด เชื้อรา 73 ชนิด ไส้เดือนฝอย 23 ชนิด ไวรัส 17 ชนิด วัชพืช 32 ชนิด

สำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกัน ในขั้นตอนการประเมินศักยภาพการเข้ามา การดำรงชีพอย่างถาวร และการแพร่ระบาด (Assessment for probability of entry, establishment and spread) และการประเมินศักยภาพของผลกระทบทางเศรษฐกิจที่เกิดจากศัตรูพืช (Assessment of potential consequences) และการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest risk management) อยู่ในระหว่างการดำเนินการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

แครอท (carrot) เป็นพืชที่เจริญได้ดีในอากาศหนาว มีแหล่งผลิตปริมาณมากที่สุดในโลก คือ สาธารณรัฐประชาชนจีน รองลงมาได้แก่ สหพันธรัฐรัสเซีย สหรัฐอเมริกา สาธารณรัฐโปแลนด์ และ สหราชอาณาจักร ตามลำดับ สำหรับประเทศไทยมีการนำเข้าแครอทในปี 2550 ปริมาณมากที่สุดคือสาธารณรัฐประชาชนจีน รองลงมาได้แก่ ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ มาตรการควบคุมการนำเข้าแครอทปัจจุบันอาศัยอำนาจตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 และพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2551 แครอทจัดเป็นพืชสิ่งกำกัด การนำเข้าต้องมีใบรับรองสุขอนามัยพืชกำกับมาด้วย อย่างไรก็ตามการนำเข้าที่มีใบรับรองสุขอนามัยพืช แต่ที่มิได้มีการระบุว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกันตลอดจนมาตรการทางกักกันพืชกำกับมาด้วยจึงทำให้แครอทนำเข้ายังมีความเสี่ยงที่ศัตรูพืชจะติดเข้ามาเมื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของแครอท ในขั้นตอนการจัดกลุ่มศัตรูพืช (Pest categorization) โดยรวบรวมข้อมูลศัตรูพืชทั้งในประเทศและต่างประเทศทั่วโลก พบว่า มีสิ่งมีชีวิตทั้งที่เป็นศัตรู/ไม่เป็นศัตรูของแครอทรวมทั้งสิ้นจำนวน 296 ชนิด เป็นแมลง 72 ชนิด ไร 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 35 ชนิด หอยทาก 2 ชนิด เชื้อรา 112 ชนิด แบคทีเรีย 16 ชนิด ไวรัส 19 ไวรอยด์ 1 ชนิด ไฟโตพลาสมา 1 ชนิด วัชพืช 36 ชนิด โดยเป็นศัตรูที่มีรายงานพบในประเทศไทย 77 ชนิด เป็นแมลง 12 ชนิด ไร 2 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด เชื้อรา 39 ชนิด ไส้เดือนฝอย 12

ชนิด ไวรัส 2 ชนิด ไวรอยด์ 1 ชนิด ไฟโตรพลาสมา 1 ชนิด วัชพืช 4 ชนิด และเป็นศัตรูพืชที่ไม่มีรายงานพบในประเทศไทย 221 ชนิด เป็น แมลง 60 ชนิด ไร 2 ชนิด หอยทาก 1 ชนิด แบคทีเรีย 13 ชนิด เชื้อรา 73 ชนิด ไส้เดือนฝอย 23 ชนิด ไวรัส 17 ชนิด วัชพืช 32 ชนิด

ผลจากตรวจสอบศัตรูพืชบนแครอทนำเข้าจากต่างประเทศ ณ ด่านตรวจพืชลาดกระบัง และท่าเรือกรุงเทพฯ ระหว่างเดือน เมษายน 2551- กุมภาพันธ์ 2552 รวม 3 ประเทศ 13 ตัวอย่าง ได้แก่ แครอทนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน พบเชื้อรา *Thielaviopsis thielavioides*, *Alternaria radicina., Rhizopus* sp.,*Geotichum* sp., *Ulocladium* sp. ออสเตรเลีย พบเชื้อรา *Thielaviopsis thielavioides* และ *Fusarium solani* และนิวซีแลนด์ 3 ตัวอย่าง พบเชื้อรา *Phoma* sp.

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ ไชยมงคล. 2545. แครอท. (http://www.agric-prod.mju.ac.th/vegetable/File_link/carrot.pdf)

สำนักควบคุมพืช และวัสดุการเกษตร. 2550. สถิติการนำเข้าแครอทจากต่างประเทศ. สำนักควบคุมพืช และวัสดุการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

Anonymous. 2004. Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks Pest risk Analysis for Quarantine Pests. ISPM No. 11, FAO, Rome.

CAB International. 2007. Crop Protection Compendium. 2007 Edition.(Computer Program). CAB International. Wallingford, UK.

Davis, E.E and R. C. Venette. 2004. Mini Risk Assessment : False Columbia Root –knot Nematode, *Meloidogyne fallax* Karssen (Nematoda: Heteroderidae). Department of Entomology, University of Minnesota. 30 pp.

Lakin, K. 2005. A Qualitative, Pathway-Initiated Risk Assessemnt: Importation of Baby Carrot, *Daucus carota* L. ssp. *sativus*, from Zambia into the Continental United States. United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, Plant Protection and Quarantine. Raleigh, NC. 20 pp.

Ministry of Agriculture (MOA). 2005. A Qualitative, Pathway-Initiated Risk Assessemnt: Importation of Carrots (*Daucus carota*) from Costa Rica into Jamaica. Plant Quarantine,

Produce Inspection Unit, JamaiKa. 7 pp.

Porsche, S. 2006. Final Rule for Baby Corn and Baby Carrot from Zambia. United States Department of Agriculture Animal and Plant Health Inspection Service, Plant Protection and Quarantine. Riverdale, MD. 13 pp.

United States Department of Agriculture (USDA). 2004. Fresh fruits and vegetables manual.http://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/manuals/ports/downloads/fv.pdf)

United States Department of Agriculture (USDA). 2005. Carrots: U.S. import-eligible countries; world production and exports. http://www.ers.usda.gov/Data/fruitvegphyto/Data/veg-carrot.xls

United States Department of Agriculture (USDA). 2007. A Qualitative, Pathway-Initiated Risk Assessemnt: Importation of Peeled Baby Carrot, *Daucus carota* L. ssp. *sativus*, from Kenya into the Continental United States. Animal and Plant Health Inspection Service, Plant Protection and Quarantine. Raleigh, NC. 28 pp.

United States Department of Agriculture (USDA). 2007. Determination by the Administrator: Condition for Importation into the Continental United States of Peeled Baby Carrot, *Daucus carota* L. ssp. *sativus*, from the Republic of Kenya. Animal and Plant Health Inspection Service, Plant Protection and Quarantine. Riverdale, MD. 1 p.

United States Department of Agriculture (USDA). 2007. Factors Affecting Carrot Consumption in the United States. Outlook Report No. (VGS-31901) 21 pp. http://www.ers.usda.gov/publications/vgs/2007/03Mar/VGS31901/VGS31901.pdf

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Pest Risk Analysis for the Importation of Edible Rape Seeds

นงพร มาอยู่ดี[1/] **เพ็ญศรี นันทสมสราญ**[2/]
ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[3/] **ชลธิชา รักใคร่**[1/]
[1/] **กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
[2/] **กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
[3/] **กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผักกาดกวางตุ้ง นำเข้าจากต่างประเทศ ได้ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชและสืบค้นข้อมูลพืชของผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* L.) เป็นพืชวงศ์ Brassicaceae สถิติการนำเข้าจากต่างประเทศ ปี 2549 ประมาณ 273.64 ตัน มูลค่า 17,894,802.33 ล้านบาท และได้สืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของผักกาดหัวจากต่างประเทศ พบแมลง 17 ชนิด ไวรัส 2 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด รา 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และวัชพืช 3 ชนิด สุ่มตรวจเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งที่นำเข้าจากต่างประเทศพบเมล็ดวัชพืชจำนวน 5 วงศ์ ได้แก่ Chenopodiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Gramineae และ Polygonaceae

---

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-02-01-51

คำนำ

ปัจจุบันทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ให้การยอมรับในความตกลงการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) ซึ่งอยู่บนพื้นฐานและสามารถพิสูจน์ได้โดยทางวิทยาศาสตร์สำหรับการค้าระหว่างประเทศ เช่น กรณีการส่งออกสินค้าเกษตร ประเทศผู้ส่งออกจะต้องส่งรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชของพืชส่งออกตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆเข้าประเทศ หรือกรณีการนำเข้าสินค้าเกษตร ประเทศผู้นำเข้าจะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชโดยใช้ข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศประกอบการพิจารณา โดยเปรียบเทียบกับข้อมูลศัตรูพืชของพืชนำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อกำหนดมาตรการควบคุมการนำเข้า ซึ่งประเทศไทยถือเป็นหลักปฏิบัติเช่นกัน ดังนั้นในการนำเข้าสินค้าเกษตรจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาศัตรูพืชเพื่อทราบชนิดและรายละเอียดของศัตรูพืช พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช(ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 กำหนดให้ผลไม้ส่วนใหญ่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ดอกไม้หรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม เพียงแต่แจ้งการนำเข้าโดยไม่ต้องมีการขออนุญาตก่อนนำเข้า หรือมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับมา เมล็ดพันธุ์พืชผักและผลไม้ส่วนมากจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials) และบางชนิดที่จัดอยู่ในประเภทสิ่งกำกัด (Restricted materials) ซึ่งมีเพียงแค่ใบรับรองปลอดศัตรูพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาโดยไม่มีคำรับรองพิเศษเพิ่มเติมแต่อย่างใด จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (pest risk analysis) ของพืชนำเข้า ตามความตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช(Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Agreement:SPS) “ มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk) เพื่อให้ทราบว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกัน นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้าต่อไป หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507 ต่อไป การศึกษาและวิเคราะห์ความเสี่ยงวัชพืชได้มีการศึกษาเมล็ดวัชพืชของ Popay *et al*. (2003) ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงบนสับปะรดที่นำเข้าประเทศนิวซีแลนด์ พบเมล็ดวัชพืชติดปะปนไปกับหัวสับปะรด จำนวน 12 ชนิด ซึ่งจัดเป็นวัชพืชร้ายแรงในเขตร้อนและอบอุ่น บางชนิดเป็นวัชพืชร้ายแรงสามารถงอกและเจริญเติบโตในเขตภาคเหนือของนิวซีแลนด์ ได้แก่ *Chromolaena odorata, Brachiaria mutica, Paspalum conjugatum, Rhynehelytrum roseum and Ageratam*

conyzoides รายงานการตรวจเมล็ดพันธุ์พืชคลุมดิน 4 ชนิด ของประเทศมาเลเซียซึ่งนำเข้าจากประเทศไทย ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย พบเมล็ดวัชพืชติดปะปนกับเมล็ดพันธุ์พืชคลุมดินดังกล่าว จำนวน 33 ชนิด เมล็ดวัชพืชซึ่งพบมากที่สุดได้แก่ *Eleusine indica* และ *Cynodon dactylon* (Sastroutomo and Sigh, 1988) นอกจากนี้ Zakaria and Nair (1985) ได้รายงานการตรวจสอบเมล็ดพืชคลุมดิน ซึ่งนำเข้าประเทศมาเลเซียจากประเทศไทย ศรีลังกา อินเดีย และฟิลิปปินส์ พบเมล็ดวัชพืชติดปะปนไปกับเมล็ดพืชคลุมดิน จำนวน 36 ชนิด เมล็ดวัชพืชที่พบมากได้แก่ *Mimosa pudica, Crotalaria* sp. และ *Axonopus* spp. รายงานการแพร่ระบาดของวัชพืชร้ายแรงในต่างประเทศพบว่า *Polygonum convolvulus* เป็นวัชพืชร้ายแรงในไร่ข้าวสาลี ข้าวบาเลย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวฟ่าง และธัญพืชของประเทศ บัลแกเรีย อังกฤษ ฟินแลนด์ เยอรมัน อินเดีย อิหร่าน นิวซีแลนด์ ฯลฯ (Holm et al., 1977)รายงานการงอกของ Thlaspi arvense เป็นวัชพืชใบเลี้ยงคู่ฤดูเดียว สกุลกะหล่ำงอกได้ดีที่ระดับอุณหภูมิ 10-23°C ในที่มีแสงขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดหนึ่งต้นผลิตเมล็ดได้ 10,000 – 15,000 เมล็ด เมล็ดมีชีวิตอยู่ในดินได้นาน 6 ปี (Hafiger et al., 1988) Rumex crispus เป็นวัชพืชใบกว้างอายุหลายปี งอกได้ดีเมื่อได้รับแสงมากและอุณหภูมิที่รับ (20-30°C) ขยายพันธุ์โดยเมล็ด และการแตกรากหนึ่งต้นผลิตเมล็ดได้ปริมาณ 29,000-60,000 เมล็ด เมล็ดที่เก็บไว้นาน 50 ปี สามารถงอกได้ถึง 52% บางเมล็ดมีชีวิตอยู่ได้ถึง 80 ปี (Holm et al., 1977)

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ ผักกาดกวางตุ้ง
2. ถาดนับเมล็ดพันธุ์
3. ตาชั่ง
4. ปากคีบ
5. จานแก้ว
6. กล้องจุลทรรศน์ (Stereo microscope)
7. ซีดีรอม (CPC 2007)
8. ภาชนะเก็บตัวอย่างศัตรูพืช
9. หนังสือ และวรสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
10. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม" (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืช
2. รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศ เปรียบเทียบกับข้อมูลในประเทศ
3. เก็บตัวอย่างและตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า ณ จุดที่มีการนำเข้า
4. สำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูก
5. วิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีศักยภาพเป็นศัตรูพืชกักกัน
6. กำหนดมาตรการทางวิชาการ/ กฎหมาย เพื่อควบคุมการนำเข้า
7. สรุปผลและเขียนรายงาน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2550 – กันยายน 2552 (2 ปี)
สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช และ ด่านตรวจพืช

ผลและวิจารณ์การทดลอง

เมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้ง ผักกาดกวางตุ้ง (Edible rape : *Brassica* chinensis L.) เป็นพืชวงศ์ Brassicaceae สถิติการนำเข้าจากต่างประเทศ ปี 2549 ประมาณ 273.64 ตัน มูลค่า 17,894,802.33 ล้านบาท ลักษณะเป็นพืชอายุสั้นฤดูเดียว มีอายุการเก็บเกี่ยว 35-45 วัน ลำต้นตั้งตรงมีสีเขียว ใบเดี่ยว เรียบ ไม่ห่อหัว ขอบใบเป็นรอยฟันเลื่อยเล็ก ๆ โคนใบหยัก เป็นคลื่นเล็กน้อย ปลายใบมน ก้านใบที่ติดกับลำต้นมีสีเขียวอ่อนเป็นร่อง เรียวกลมขึ้นไปหาแผ่นใบ ก้านใบหนา สีขาวอมเขียว มีแหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ขอนแก่น อุดรธานี กาญจนบุรี เพชรบูรณ์ สมุทรสาคร และ เชียงใหม่ ได้สืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของผักกาดหัวจากต่างประเทศ พบแมลง 17 ชนิด ไวรัส 2 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด รา 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และวัชพืช 2 ชนิด สุ่มตรวจเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งที่นำเข้าจากต่างประเทศพบเมล็ดวัชพืชจำนวน 5 วงศ์ ได้แก่ Chenopodiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Gramineae และ Polygonaceae

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้ง ผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* L.) เป็นพืชวงศ์ Brassicaceae สถิติการนำเข้าจากต่างประเทศ ปี 2549 ประมาณ 273.64 ตัน มูลค่า 17,894,802.33 ล้านบาท ลักษณะเป็นพืชอายุสั้นฤดูเดียว มีอายุการเก็บเกี่ยว 35-45 วัน ลำต้นตั้ง

ตรงมีสีเขียว ใบเดี่ยว เรียบ ไม่ห่อหัว ขอบใบเป็นรอยฟันเลื่อยเล็ก ๆ โคนใบหยัก เป็นคลื่นเล็กน้อย ปลายใบมน ก้านใบที่ติดกับลำต้นมีสีเขียวอ่อนเป็นร่อง เรียวกลมขึ้นไปหาแผ่นใบ ก้านใบหนา สีขาวอมเขียว ได้สืบค้นข้อมูลศัตรูพืชของผักกาดหัวจากต่างประเทศ พบแมลง 17 ชนิด ไวรัส 2 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด รา 5 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และวัชพืช 2 ชนิด สุ่มตรวจเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งที่นำเข้าจากต่างประเทศพบเมล็ดวัชพืชจำนวน 5 วงศ์ ได้แก่ Chenopodiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Gramineae และ Polygonaceae

เอกสารอ้างอิง

จุมพล สาระนาค อรพรรณ วิเศษสังข์ และจักรพงษ์ เจิมศิริ. 2540. โรคผัก. คู่มือนักวิชาการภาคสนาม ฝ่ายวิเคราะห์และบริการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 กรมวิชาการเกษตร.113 หน้า.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สหมิตรพริ้นติ้ง อ.บางใหญ่ จ.นนทบุรี. 285 หน้า.

สมบูรณ์ เจริญฤทธิ์. 2543. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การประชุมสัมมนาเรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยง (Pest risk analysis) เพื่อการส่งออกและนำเข้าสินค้าเกษตร 26 กันยายน 2546 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ. 5 หน้า.

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

Anonymous 2003. Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks. ISPM Pub. No. 11 Rev. 1, FAO, Rome.

CABI. 2007. Crop Protection Compendium [CD-ROM]. CAB International. Wallingford, UK.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของฝรั่งส่งออกสหรัฐอเมริกา

Pest Risk Analysis of Guava Exported into the United State

วรัญญา มาลี วลัยกร รัตนเดชากุล สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ
พรพิมล อธิปัญญาคม[1/] ชลิดา อุณหวุฒิ[2/]

กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของฝรั่งส่งออกสหรัฐอเมริกา ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2551 ณ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อทราบชนิดศัตรูพืชกักกันที่อาจติดไปกับผลสดฝรั่งส่งออก และกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสม โดยดำเนินการตามขั้นตอนในคู่มือ “Guidelines for Pathway - Initiated Pest Risk Assessments Version 5.0” ของกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกา ผลการศึกษาในขั้นตอนการจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest Categorization) พบว่าศัตรูพืชที่มีโอกาสติดไปกับผลสดฝรั่งส่งออกและไม่มีรายงานพบในสหรัฐอเมริกาหรือพบแต่มีการควบคุมอย่างเป็นทางการมีจำนวน 22 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ 10 ชนิด คือ *Bactrocera albistrigata*, *B. carambolae*, *B. correcta*, *B. cucurbitae*, *B. dorsalis*, *B. latifrons*, *B. papayae*, *B. pyrifoliae*, *B. tau* และ *B. zonata* เพลี้ยหอย 3 ชนิด คือ *Aonidiella orientalis*, *Ceroplastes rubens*, *Coccus viridis* เพลี้ยแป้ง 6 ชนิด คือ *Dysmicoccus neobrevipes*, *Maconellicoccus hirsutus*, *Nipaecoccus viridis*, *Planococcus lilacinus*, *Planococcus minor*, *Rastrococcus invadens* หนอนเจาะผล 1 ชนิด คือ *Conogethes punctiferalis* และเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Pestalotia psidii*, *Sphaceloma psidii* ซึ่งจะนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-02-02-51

[1/] สังกัด กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/] สังกัดกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

คำนำ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นกระบวนการพิจารณาศัตรูพืชชนิดใดชนิดหนึ่งว่ามีศักยภาพในการเป็นศัตรูพืชกักกันหรือไม่ และกำหนดมาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชดังกล่าว โดยพิจารณาข้อมูลในทุกด้านของศัตรูพืชชนิดนั้นๆ เช่น ข้อมูลเกี่ยวกับการแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์ ชีววิทยา และความสำคัญทางเศรษฐกิจ ทั้งนี้ต้องมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์รวมถึงข้อมูลทางด้านเศรษฐกิจสนับสนุน โดยทั่วไปการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชจะดำเนินการโดยประเทศผู้นำเข้า แต่สำหรับบางประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา มีนโยบายให้ประเทศผู้ส่งออกสามารถดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชที่จะส่งออกเองได้โดยปฏิบัติตามขั้นตอนในคู่มือ “Guidelines for Pathway - Initiated Pest Risk Assessments Version 5.0” ซึ่งเป็นแนวทางการวิเคราะห์ของกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกา และยื่นต่อกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกาประกอบคำขอเปิดตลาด เป็นการเร่งรัดขั้นตอนการพิจารณาอนุญาตนำเข้าให้รวดเร็วขึ้น สำหรับประเทศไทยเคยประสบความสำเร็จในการเปิดตลาดผลไม้ไทย 6 ชนิด ในสหรัฐอเมริกา ได้แก่ มังคุด มะม่วง ลำไย ลิ้นจี่ เงาะ และสับปะรด โดยกระบวนการดังกล่าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงมีนโยบายที่จะส่งออกผลไม้ไปยังสหรัฐอเมริกาเพิ่มเติม และฝรั่งเป็นพืชหนึ่งที่ประสงค์จะส่งออกในลำดับต่อไป ด้วยเหตุผลข้างต้นจึงได้ดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชฝรั่งส่งออกสหรัฐอเมริกา ผลการศึกษาที่ได้จะนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบคำขอเปิดตลาดเสนอต่อกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกาเพื่อการพิจารณาอนุญาตนำเข้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. คู่มือสำหรับการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ตามแนวทางของกระทรวงเกษตรสหรัฐอเมริกา “Guidelines for Pathway - Initiated Pest Risk Assessments Version 5.0”

วิธีการ

การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชประกอบด้วย 2 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 1: Initiation of Pest Risk Analysis)

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช (Stage 2: Pest Risk Assessment)

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1. กำหนดจุดเริ่มต้นของการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช เช่น มีการนำเข้าพืชชนิดใหม่จากพื้นที่ใหม่

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

2. ประเมินศักยภาพของฝรั่งในการเป็นวัชพืช (Assess Weediness Potential) พิจารณาว่าฝรั่งจะมีศักยภาพในการเป็นวัชพืชหรือไม่ หากไม่มีศักยภาพในการเป็นวัชพืชจะดำเนินการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนต่อไป

3. พิสูจน์และอ้างอิงการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชที่เคยดำเนินการแล้วกับประเทศ/ภูมิภาคเดียวกัน หรือ สินค้าชนิดเดียวกัน

4. การจำแนกประเภทศัตรูพืช (Pest Categorization) โดยค้นคว้ารวบรวมรายชื่อของสิ่งมีชีวิตที่มีรายงานว่าเป็นศัตรูฝรั่งทั่วโลกจากผลงานวิจัย ฐานข้อมูลศัตรูพืช ตำรา หรือเอกสารวิชาการต่าง ๆ ที่น่าเชื่อถือ และคัดเลือกเฉพาะศัตรูพืชที่พบในประเทศไทย จากนั้นพิจารณาจัดกลุ่มศัตรูพืช เช่น แมลง ไร ไวรัส แบคทีเรีย และ รา และบันทึกรายละเอียดของศัตรูฝรั่งแต่ละชนิด ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย/อาศัย เป็นศัตรูพืชที่พบในสหรัฐอเมริกาหรือไม่ รวมถึงสถานภาพการควบคุมศัตรูพืชดังกล่าวในสหรัฐอเมริกา

5. พิสูจน์ว่าศัตรูพืชในข้อ 4 เป็นศัตรูพืชกักกันที่มีโอกาสติดมากับเส้นทางศัตรูพืช โดยพิจารณาจากข้อมูลชีววิทยาของศัตรูพืช

6. ประเมินผลที่จะเกิดขึ้นภายหลังจากการเข้ามาของศัตรูพืชในพื้นที่ที่วิเคราะห์

7. ประเมินศักยภาพในการเข้ามาตั้งรกรากของศัตรูพืช

8. สรุปผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช ได้ชนิดศัตรูพืชที่ต้องมีมาตรการจัดการความเสี่ยง

สำหรับการดำเนินการในปี 2551 ดำเนินการในขั้นตอนที่ 1 และ 2 (2-4)

เวลาและสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2551

สถานที่ กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มต้นวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

1. การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเนื่องมาจากมีการนำเข้าพืชใหม่จากแหล่งใหม่ พื้นที่ที่จะทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชคือ “สหรัฐอเมริกา” โดยวิเคราะห์เส้นทางศัตรูพืช

ขั้นตอนที่ 2 การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช

2. ฝรั่งถูกบันทึกโดย Holm *et al.* (1979) ว่าเป็นวัชพืชที่ไม่มีรายงานถึงความสำคัญในสหรัฐอเมริกา และ Randall (2002) กล่าวว่าฝรั่งเป็นวัชพืช อย่างไรก็ตามมีการเพาะปลูกในมลรัฐ

ฮาวายและฟลอริดา และมีการตั้งถิ่นฐานในสหรัฐอเมริกาแล้ว ดังนั้นการนำเข้าผลสดฝรั่งจากประเทศไทยจะไม่เป็นการเพิ่มศักยภาพในการเป็นวัชพืช

3. จากการตรวจสอบจากเอกสารและข้อมูลต่าง ๆ พบว่า สหรัฐอเมริกาเคยประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของผลไม้นำเข้าจากประเทศไทย 6 ชนิด ได้แก่ มังคุด มะม่วง ลำไย ลิ้นจี่ เงาะ และสับปะรด ซึ่งอนุญาตให้นำเข้าแล้ว และกำลังดำเนินการประเมินความเสี่ยงผลสดฝรั่งนำเข้าจากประเทศเม็กซิโกแต่ยังไม่มีการเผยแพร่ผลการประเมิน

4. ในขั้นตอนการจำแนกประเภทศัตรูพืช พบว่าศัตรูฝรั่งที่มีรายงานพบในประเทศไทย มีโอกาสติดไปกับผลฝรั่ง และไม่มีรายงานพบในสหรัฐอเมริกาหรือพบแต่มีการควบคุมอย่างเป็นทางการ มีจำนวน 22 ชนิด ดังนี้

แมลงอันดับ Diptera ได้แก่ แมลงวันผลไม้ 10 ชนิด คือ *Bactrocera albistrigata, B. carambolae, B. correcta, B. cucurbitae, B. dorsalis, B. latifrons, B. papayae, B. pyrifoliae, B. tau* และ *B. zonata*

แมลงอันดับ Hemiptera ได้แก่ เพลี้ยหอย 3 ชนิด คือ *Aonidiella orientalis, Ceroplastes rubens, Coccus viridis* เพลี้ยแป้ง 6 ชนิด คือ *Dysmicoccus neobrevipes, Maconellicoccus hirsutus, Nipaecoccus viridis, Planococcus lilacinus, Planococcus minor, Rastrococcus invadens*

แมลงอันดับ Lepidoptera 1 ชนิด ได้แก่ *Conogethes punctiferalis*

เชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *Pestalotia psidii* และ *Sphaceloma psidii*

ทั้งนี้จะดำเนินการสืบค้นข้อมูลเพิ่มเติมและประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชดังกล่าวในขั้นตอนต่อไป

สรุปผลการทดลอง

1. ฝรั่งมีศักยภาพในการเป็นวัชพืช อย่างไรก็ตามมีการเพาะปลูกในมลรัฐฮาวายและฟลอริดา และมีการตั้งถิ่นฐานในสหรัฐอเมริกาแล้ว ดังนั้นการนำเข้าผลสดฝรั่งจากประเทศไทยจะไม่เป็นการเพิ่มศักยภาพในการเป็นวัชพืช

2. ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชในขั้นตอนการจำแนกประเภทศัตรูพืชพบว่า ศัตรูพืชที่มีโอกาสติดไปกับผลสดฝรั่งส่งออกและไม่มีรายงานพบในสหรัฐอเมริกาหรือพบแต่มีการควบคุมอย่างเป็นทางการมีจำนวน 22 ชนิด ได้แก่ แมลงวันผลไม้ 10 ชนิด คือ *Bactrocera albistrigata, B. carambolae, B. correcta, B. cucurbitae, B. dorsalis, B. latifrons, B. papayae, B. pyrifoliae, B. tau* และ *B. zonata* เพลี้ยหอย 3 ชนิด คือ *Aonidiella orientalis, Ceroplastes rubens, Coccus viridis* เพลี้ยแป้ง 6 ชนิด คือ *Dysmicoccus neobrevipes, Maconellicoccus*

hirsutus, Nipaecoccus viridis, Planococcus lilacinus, Planococcus minor, Rastrococcus invadens หนอนเจาะผล 1 ชนิด คือ *Conogethes punctiferalis* และเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Pestalotia psidii, Sphaceloma psidii*

เอกสารอ้างอิง

USDA. 2000. Guidelines for Pathway-Initiated Pest Risk Assessments, Version 5.02. USDA-APHIS, PPQ

Holm, L., J.V. Pancho, J.P. Herberger, and D.L. Plucknett. 1979. A Geographical Atlas of World Weeds. New York: John Wiley & Sons.

Randall, R.P. 2002. A Global Compendium of Weeds. Western Australia Dept. of Agric./Hawaii Ecosystems at Risk; http://www.hear.org/gcw/pdfs/gcw_intro.pdf [access : 20 September 2008]

ศึกษาชนิดของไรศัตรูพืชในหัวหอม และกระเทียมที่นำเข้าจากประเทศจีน

Study on mites pest on imported onion and garlic from China

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน
นายพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการเก็บตัวอย่างไรศัตรูพืชบนหัวหอมและกระเทียมที่นำเข้าจากประเทศจีนผ่านทางด่านตรวจพืชเชียงแสน จ. เชียงรายตั้งแต่ปี ต.ค. 2550-ก.ย. 2552 รวมกับตัวอย่างไรศัตรูพืชที่มีการส่งมาจำแนกจากที่เดียวกันตั้งแต่ปี 2548 และจากการเก็บตัวอย่างกระเทียมหัวใหญ่และกระเทียมโทนที่นำเข้าจากประเทศจีนผ่านทางด่านตรวจพืชมุกดาหาร จ. มุกดาหารพบไรรวมทั้งสิ้น 10 ชนิด 4 วงศ์ เป็นไรศัตรูพืช 8 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ *Aceria tulipae* (Keifer) *Sancassania* sp. *Sancassania oudemansi* (Zachvatkin), *S. berlesei* (Michael) *Rhizoglyphus* sp. *Rhizoglyphus robini* Claparede. *Tyrophagus* sp. และ *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) ส่วนไรศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ *Cheyletus fortis* Oudemans วงศ์ Chelytidae และอีก 1 ชนิดอยู่ในวงศ์ Ameroseiidae

---

รหัสโครงการ 07-01-49-07

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยเปิดการค้าเสรีกับต่างประเทศในหลาย ๆ ประเทศด้วยกันเช่น ประเทศจีน ประเทศออสเตรเลีย อินเดีย เปรู และมีแนวโน้มที่จะเปิดการค้าเสรีกับต่างประเทศเพิ่มขึ้นอีกหลายประเทศ เช่น ญี่ปุ่น นิวซีแลนด์ กลุ่มประเทศ EFTA เกาหลี (กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ , 2549) มูลค่าการนำเข้าสินค้าเกษตร โดยส่วนใหญ่จะเป็นพืชผักผลไม้เมืองหนาวที่นำเข้ามาจากประเทศจีนผ่านเข้ามาทางด่านตรวจศัตรูพืชในประเทศไทยเช่นด่านตรวจพืชเชียง ด่านตรวจพืชสะเดา ด่านตรวจพืชท่าเรือ คลองเตย โดยเฉพาะด่านตรวจพืชเชียงแสน จ. เชียงราย นับเป็นด่านหลักที่มีการนำเข้าสินค้าเกษตรจากประเทศจีน ปริมาณการนำเข้าตั้งแต่ เดือนมกราคม-ตุลาคม 2548 มีมูลค่าการนำเข้ารวมทั้งสิ้น 567,241,902.2 บาท โดยส่วนใหญ่เป็นพืชผักเมืองหนาวเช่น บร๊อกโคลี่ ถั่วลันเตา กะหล่ำดอก สลัดแก้ว ผักกาดขาว หอม กระเทียมฯลฯ (ด่านตรวจพืชเชียงแสน ,2548) แต่ถึงจะมีการนำเข้าสินค้าเกษตรมากขึ้นก็ตาม ประเทศไทยก็ยังเป็นประเทศเกษตรกรรมมีการปลูกพืชหลากหลายชนิดทั่วทุกภาคของประเทศ ดังนั้นหากสินค้าเกษตรที่นำเข้ามาในประเทศมีศัตรูพืชที่สำคัญติดเข้ามาภายในประเทศ จะสร้างความเสียหายอย่างร้ายแรงให้กับการเกษตรของไทย โดยเฉพาะไรนับเป็นศัตรูที่มีความสำคัญ มีขนาดเล็กทำให้ยากแก่การสังเกตเห็น ซึ่งได้มีรายงานการพบไรศัตรูพืชจากกระเทียมที่นำเข้าจากประเทศจีนเข้าในประเทศนิวซีแลนด์ ไว้หลายชนิดด้วยกันได้แก่ *Rhizoglyphus setosus* Manson, *Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze and Robin), *Rhizoglyphus robini* Claparède, *Tyrophagus longior* (Gervais), *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) และ *Tetranychus urticae* Koch (Pearson , 2006A) และในพืช ya pear (*Pyrus bretshneidori*) ที่นำเข้าจากประเทศจีน มีรายงานพบไรศัตรูพืชด้วยกัน 3 ชนิด ได้แก่ Byobia mite (*Bryobia rubrioculus*), European red mite (*Panonychus ulmi*) และ ไรสองจุด (*T. urticae*) (Pearson, 2006B) สำหรับการศึกษาอนุกรมวิธานไรศัตรู กระเทียม ในประเทศไทยทั้งในสภาพไร่และสภาพการเก็บรักษาไว้หลังการเก็บเกี่ยว Suthosanee *et al* (1980) ได้จำแนกไรศัตรูกระเทียมที่พบในประเทศไทยไว้ 5 ชนิด คือ *Aceria tulipae* (Keifer), *Rhizoglyphu* sp., *Suidasia* sp., *Tyrophagus* sp. และ *Caloglyphus* sp. วัฒนา (2546) รายงานพบไรหลายชนิดด้วยกันในหอมและกระเทียมที่ประเทศไทยได้แก่ *T. putrescentiae, Sancassania berlesei* (Micheal), *R. echinopus* และ *Histiostoma* sp. มานิตา และคณะ (2548) ได้รายงานว่า พบไรศัตรูพืชในกระเทียมและหอมหลายชนิดด้วยกันได้แก่ *Calophyphus berlesei* (Micheal), *Calophyphus oudemansi* (Zachavatkin), *R. echinopus* , *Suidasia medanensis* Oudemans, *T. putrescentiae*, *R. echinopus* และ *A. tulipae*

ดังนั้นการจำแนกชนิดไรศัตรูพืชที่ตรวจพบบนสินค้านำเข้าจากด่านตรวจพืชนี้นับว่าจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง เพื่อใช้ข้อมูลทางในการอ้างอิงถึงศัตรูพืชที่ติดเข้ามาภายในประเทศ อีกทั้งยัง

เป็นการป้องกันไม่ให้มีศัตรูพืชร้ายแรงติดเข้ามาทำความเสียหายให้กับพืชปลูกของประเทศไทย และเป็นจุดเริ่มต้นในการจัดทำรายชื่อชนิดของไรศัตรูพืชนำเข้าเพื่อนำไปใช้อ้างอิงในด่านตรวจพืชอื่น ๆ ที่มีการนำเข้าผลิตผลทางการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

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

3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร : ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope และ key สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรศัตรูในโรงเก็บ และไรตัวห้ำในวงศ์ต่าง ๆ

4. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไร ได้แก่ ถุงกระดาษ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ แอลกอฮอล์ 95% และสารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง

5. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน ได้แก่ แผ่นสไลด์ แผ่นปิดสไลด์ ปากกาเขียนกระจก กระดาษบันทึก กล่องใส่สไลด์ สารเคมี สำหรับใช้เตรียมน้ำยาเมาท์สไลด์ สำลี น้ำยาสำหรับผนึกขอบสไลด์

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างไรศัตรูพืชจากด่านตรวจศัตรูพืช นำตัวอย่างใบพืชที่ได้ใส่ถุงกระดาษและห่อด้วยถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่งแล้วรัดปากถุงด้วยยางบันทึกข้อมูลจากตัวอย่างไรที่เก็บได้ เช่นชื่อพืช ชื่อผู้เก็บ สถานที่ วันที่เก็บ จากนั้นนำตัวอย่างไปแช่ในน้ำกล่องน้ำแข็งเพื่อรักษาไม่ให้ตัวอย่างเสื่อมสภาพเร็ว หากตัวอย่างพืชที่ได้สามารถเก็บรักษานาน เช่น หอมและกระเทียม ไม่ต้องแช่ในกล่องน้ำแข็งให้นำตัวอย่างใส่ถุงกระดาษพับปากถุง แล้วนำตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดกลับมาทำสไลด์ต่อที่ห้องปฏิบัติการ

2. นำตัวอย่างมาทำสไลด์ถาวร ด้วยน้ำยา Hoyer's solution ด้วยการหยดน้ำยา Hoyer's solution ลงบนสไลด์ ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงวางลงบนน้ำยา จากนั้นกดตัวไรให้จมลงในน้ำยา จัดตัวไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจน ด้วยเข็มเขี่ยขนาดเล็ก ปิดตัวอย่างด้วย แผ่นแก้วปิดสไลด์ (coverglass) นำสไลด์ไปอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อน เพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ของไรยืดออกเต็มที่ และเพื่อไล่ฟองอากาศ เขียนหมายเลขรหัสของตัวอย่างที่ทำเสร็จเรียบร้อยลงบนสไลด์ บันทึกรายละเอียดที่สำคัญของตัวไรลงบนสมุดบันทึก จากนั้น นำตัวอย่างที่ทำเสร็จแล้วเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน จากนั้นนำสไลด์ที่ได้มาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ จึงผนึกขอบสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ

3.นำสไลด์ถาวรที่เสร็จเรียบร้อยแล้วมาจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ปิดป้ายบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับสถานที่ วันที่ที่เก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บ และชื่อพืชไว้ด้านซ้ายของแผ่นสไลด์ ส่วน ชื่อวิทยาศาสตร์ไรที่จำแนกได้ไว้ด้านขวาของสไลด์

4. นำสไลด์เก็บในกล่องเก็บสไลด์และเรียงในพิพิธภัณฑ์ตามระบบสากลต่อไป

เวลาและสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน ต.ค. 2550-มี.ค. 2551 โดยการเก็บตัวอย่างจากด่านตรวจศัตรูพืชเชียงแสน จ. เชียงรายและด่านตรวจศัตรูพืชมุกดาหาร จ. มุกดาหาร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บตัวอย่างไรศัตรูพืชบนหัวหอมและกระเทียมที่นำเข้าจากประเทศจีนผ่านทางด่านตรวจพืชเชียงแสน จ. เชียงรายตั้งแต่ปี ต.ค. 2550-มี.ค. 2552 รวมกับตัวอย่างไรศัตรูพืชที่มีการส่งมาจำแนกจากที่เดียวกันตั้งแต่ปี 2548 โดยบริษัทต่าง ๆ เป็นผู้นำเข้า รวมทั้งสิ้น 4 บริษัท ได้แก่บริษัทดาวจรัสพาณิชย์ บริษัทเกษตรรุ่งเรือง บริษัทวรรณาการเกษตร และบริษัทนพธนาสิน พบไรรวมทั้งสิ้น 8 ชนิด 4 วงศ์ เป็นไรศัตรูพืช 6 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ *Aceria tulipae* (Keifer) *Sancassania oudemansi* (Zachvatkin), *S. berlesei* (Michael) *Rhizoglyphus robini* Claparede. *Rhizoglyphus* sp. และ *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) ส่วนไรศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด 2 วงศ์ ได้แก่ *Cheyletus fortis* Oudemans วงศ์ Chelytidae และอีก 1 ชนิดอยู่ในวงศ์ Ameroseiidae

จากการเก็บตัวอย่างกระเทียมหัวใหญ่และกระเทียมโทนที่นำเข้าจากประเทศจีนผ่านทางด่านตรวจพืชมุกดาหาร จ. มุกดาหาร พบไรรวมทั้งสิ้น 6 ชนิด 3 วงศ์ เป็นไรศัตรูพืช 4 ชนิด 1 วงศ์ ได้แก่ *Sancassania* sp. *Sancassania berlesei Tyrophagus* sp. และ*T. putrescentiae* ส่วนไร

ศัตรูธรรมชาติ 2 ชนิด 2 วงศ์ คือ *Cheletus* sp. อยู่ในวงศ์ Cheyletidae และไรในวงศ์ Ameroseiidae

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

เอกสารอ้างอิง

กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ. 2549. ความคืบหน้า/สถานะการเจรจา. [Online].Available:http://www.thaifta.com/ThaiFTA/HOME/NegoLastestStatus/tabid/117/Default. aspx [2006, May 17]

ด่านตรวจพืชเชียงแสน . 2548. เอกสารสรุปการดำเนินงาน ปี2548 (มกราคม-ตุลาคม). ส่วนควบคุมพืชภาคเหนือ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วัฒนา จารณศรี. 2546. การศึกษาอนุกรมวิธานของไรบนพืชสมุนไพร. น. 802-810 *ใน* รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2546 ครั้งที่ 2. สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตร และสหกรณ์

มานิตา คงชื่นสิน, พลอยชมพู กรวิภาสเรือง เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2548. การศึกษาไรศัตรูพืชเพื่อการนำเข้า. น. 440-464. ใน รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2548 เล่ม 1. กลุ่มกีฏและสัตวิทยา สำนักวิจัยอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

Suthasanee, B, C. Lekprayoon and W. Meckvichai. 1980. Insects and Mite found on Stored garlic in Thailand Natural History Bulletin of the Siam society. Vol 34(2): 105-113.

Pearson, D. (A). Import Health Standard Commodity Sub-class: Fresh fruit/vegetables Garlic Allium sativum from the people's Republic of China [Online]. Available: http://www.Biosecurity.govt.nz/imports/plants/standards/garlicpro.pdf.[2006,February 20]

Pearson, D. (B). Import Health Standard Commodity Sub-class: Fresh fruit/vegetables Ya pear, *Pyrus brestshneideri* from the people's Republic of China [Online]. Available: http://www.biosecurity.govt.nz/files/sps/transparency/notifications/nz 1340-ft.pdf. [2006,February 10]

การศึกษาชนิดของศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศนำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Quarantine pest of Imported Tomato Seeds

ชลธิชา รักใคร่ ศรีวิเศษ เกษสังข์ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์
วันเพ็ญ ศรีชาติ ปริเชษฐ์ ตั้งกาจนภาสน์ วานิช คำพานิช
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) มะเขือเทศจากทุกแหล่งทั่วโลกจัดเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 ผลการสืบค้นข้อมูลจากทั่วโลกพบว่า มะเขือเทศมีสิ่งมีชีวิตทั้งที่เป็นศัตรู/ไม่เป็นศัตรูของมะเขือเทศรวมทั้งสิ้นจำนวน 428 ชนิด เป็นแมลง 192 ชนิด ไร 4 ชนิด ไวรัส 49 ชนิด ไวรอยด์ 2 ชนิด แบคทีเรีย 26 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด รา 97 ชนิด ไส้เดือนฝอย 49 ชนิด และวัชพืช 52 ชนิด ในจำนวนนี้มีศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกักพืชหลายชนิดที่เป็นศัตรูพืชร้ายแรงซึ่งมีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทยได้ สิ่งมีชีวิตดังกล่าวข้างต้นจัดเป็นศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) ที่มีรายงานพบทำลายบนส่วนเมล็ดพันธ์ ของมะเขือเทศ จำนวน 60 ชนิด เป็นแมลง 13 ชนิด ไร 4 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด ไวรอยด์ 2 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด และรา 6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และวัชพืช 19 ชนิด

ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ขั้นละเอียดจำนวน 6 ตัวอย่างที่นำเข้าจาก จีน อิตาลี เนเธอร์แลนด์ อินเดีย สหรัฐอเมริกา และฝรั่งเศส ผลการตรวจ พบเชื้อ สาเหตุโรคพืช 8 ชนิด

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-03-04-51

คำนำ

ปัจจุบันทุกประเทศที่เป็นสมาชิกขององค์การการค้าโลก (WTO) ให้การยอมรับในความตกลงการบังคับใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) ซึ่งอยู่บนพื้นฐานและสามารถพิสูจน์ได้โดยทางวิทยาศาสตร์สำหรับการค้าระหว่างประเทศ เช่น กรณีการส่งออกสินค้าเกษตร ประเทศผู้ส่งออกจะต้องส่งรายชื่อและข้อมูลศัตรูพืชของพืชส่งออกตามความต้องการของประเทศผู้นำเข้า เพื่อทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชก่อนที่จะอนุญาตให้สินค้าเกษตรนั้นๆเข้าประเทศ หรือกรณีการนำเข้าสินค้าเกษตร ประเทศผู้นำเข้าจะดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชโดยใช้ข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในประเทศประกอบการพิจารณา โดยเปรียบเทียบกับข้อมูลศัตรูพืชของพืชนำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อกำหนดมาตรการควบคุมการนำเข้า ซึ่งประเทศไทยถือเป็นหลักปฏิบัติเช่นกัน ดังนั้นในการนำเข้าสินค้าเกษตรจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาศัตรูพืชเพื่อทราบชนิดและรายละเอียดของศัตรูพืช

พระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 กำหนดให้ผลไม้ส่วนใหญ่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ เมล็ดพันธุ์พืชผักต่าง ๆ ดอกไม้หรือไม้ประดับหลายชนิดจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม เพียงแต่แจ้งการนำเข้าโดยไม่ต้องมีการขออนุญาตก่อนนำเข้า หรือมีใบรับรองปลอดศัตรูพืชกำกับมา เมล็ดพันธุ์พืชผักและผลไม้ส่วนมากจัดเป็นสิ่งไม่ต้องห้าม (unprohibited materials) และบางชนิดที่จัดอยู่ในประเภทสิ่งกำกัด (Restricted materials) ซึ่งมีเพียงแค่ใบรับรองปลอดศัตรูพืชจากประเทศต้นทางกำกับมาโดยไม่มีคำรับรองพิเศษเพิ่มเติมแต่อย่างใด จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่**จะต้องดำเนินการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (pest risk analysis)** ของพืชนำเข้า ตามความตกลงว่าด้วยการใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช(Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Agreement:SPS) “ มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม” (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk) เพื่อให้ทราบว่ามีศัตรูพืชชนิดใดบ้างเป็นศัตรูพืชกักกัน นำมาพิจารณาหามาตรการเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ และกำหนดเป็นมาตรการทางด้านกฎหมายและทางวิชาการในการควบคุมการนำเข้าต่อไป หรือเปลี่ยนแปลงสถานภาพของพืชนำเข้าให้เป็นสิ่งต้องห้ามหรือสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืชพ.ศ. 2507

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ

2. กล้องจุลทรรศน์ (Stereo microscope)
3. วัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
4. สารเคมีตรวจสอบเชื้อโรคพืช
5. ภาชนะเก็บตัวอย่างพืช
6. ชุดตรวจสอบศัตรูพืช (ELISA Kit)
7. หนังสือ และวรสารทั้งในประเทศและต่างประเทศ
8. มาตรฐานนานาชาติสำหรับมาตรการสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 11 เรื่อง การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชสำหรับศัตรูพืชกักกันรวมทั้งการวิเคราะห์ความเสี่ยงทางสภาพแวดล้อม" (ISPM No. 11 : Pest risk analysis for quarantine pest including analysis of environmental risk)

วิธีการ

1. รวบรวมข้อมูลทั่วไปของพืช
2. รวบรวมข้อมูลศัตรูพืชที่มีรายงานในต่างประเทศ เปรียบเทียบกับข้อมูลในประเทศ
3. เก็บตัวอย่างและตรวจสอบศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้า ณ จุดที่มีการนำเข้า
4. สำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชภายหลังการนำเข้าในแหล่งปลูก
5. รวบรวมชนิดของศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกันที่ตรวจสอบได้
6. กำหนดมาตรการทางวิชาการ/ กฎหมาย เพื่อควบคุมการนำเข้า
7. สรุปผลและเขียนรายงาน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2550 – กันยายน 2552 (2 ปี)
ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช และ ด่านตรวจพืช

ผลและวิจารณ์การทดลอง

มะเขือเทศมีสิ่งมีชีวิตทั้งที่เป็นศัตรู/ไม่เป็นศัตรูของมะเขือเทศรวมทั้งสิ้นจำนวน 428 ชนิด เป็นแมลง 192 ชนิด ไร 4 ชนิด ไวรัส 49 ชนิด ไวรอยด์ 2 ชนิด แบคทีเรีย 26 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด รา 97 ชนิด ไส้เดือนฝอย 49 ชนิด และวัชพืช 52 ชนิด ในจำนวนนี้มีศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกักพืช ที่มีรายงานพบทำลายบนส่วนเมล็ดพันธ์ ของมะเขือเทศ จำนวน 60 ชนิด เป็นแมลง 13 ชนิด ไร 4 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด ไวรอยด์ 2 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด และรา 6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และวัชพืช 19 ชนิด ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน (Risk assessment) แต่ละชนิดในเบื้องต้น

พบว่า มีศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง (High risk) 30 ชนิด และได้สุ่มเก็บตัวอย่าง ณ จุดนำเข้า และตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ขั้นละเอียดจำนวน 6 ตัวอย่างที่นำเข้าจาก จีน อิตาลี เนเธอร์แลนด์ อินเดีย สหรัฐอเมริกา และฝรั่งเศส ผลการตรวจ พบเชื้อ สาเหตุโรคพืช 8 ชนิด ไม่พบแมลงและวัชพืชในปีงบประมาณ 2552 ได้สุ่มตัวอย่างเพิ่มเติมจากประเทศต่างๆที่มีการนำเข้าและจำแนกชนิดของศัตรูพืชเพิ่มเติม

สรุปผลการทดลอง

มะเขือเทศมีศัตรูพืชรวมทั้งสิ้นจำนวน 428 ชนิด เป็นแมลง 192 ชนิด ไร 4 ชนิด ไวรัส 49 ชนิด ไวรอยด์ 2 ชนิด แบคทีเรีย 26 ชนิด ไฟโตพลาสมา 2 ชนิด รา 97 ชนิด ไส้เดือนฝอย 49 ชนิด และวัชพืช 52 ชนิด ในจำนวนนี้มีศัตรูพืชที่สำคัญด้านกักกักพืชหลายชนิดที่เป็นศัตรูพืชร้ายแรงซึ่งมีโอกาสติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ ที่มีรายงานพบทำลายบนส่วนเมล็ดพันธ์ ของมะเขือเทศจำนวน 60 ชนิด เป็นแมลง 13 ชนิด ไร 4 ชนิด ไวรัส 10 ชนิด ไวรอยด์ 2 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด และรา 6 ชนิด ไส้เดือนฝอย 1 ชนิด และวัชพืช 19 ชนิด ผลการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชกักกัน (Risk assessment) แต่ละชนิดในเบื้องต้นพบว่า มีศัตรูพืชกักกันที่มีความเสี่ยงสูง (High risk) 30 ชนิด และได้สุ่มเก็บตัวอย่าง ณ จุดนำเข้า และตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ขั้นละเอียดจำนวน 6 ตัวอย่างที่นำเข้าจาก จีน อิตาลี เนเธอร์แลนด์ อินเดีย สหรัฐอเมริกา และฝรั่งเศส ผลการตรวจ พบเชื้อสาเหตุโรคพืช 8 ชนิด ไม่พบแมลงและวัชพืช

เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร.2549. สถิติการนำเข้า-ส่งออก. http://www.customs.go.th.

จุมพล สาระนาค อรพรรณ วิเศษสังข์ และจักรพงษ์ เจิมศิริ. 2540. โรคผัก. คู่มือนักวิชาการภาคสนาม ฝ่ายวิเคราะห์และบริการ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 กรมวิชาการเกษตร.113 หน้า.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร สหมิตรพริ้นติ้ง อ.บางใหญ่ จ.นนทบุรี. 285 หน้า.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2541. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช : โรคและการจัดการ. วี.บี. บุ๊คเซ็นเตอร์, กรุงเทพฯ. 204 หน้า.

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

Anonymous 2003. Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks. ISPM Pub. No. 11 Rev. 1, FAO, Rome.

CABI. 2007. Crop Protection Compendium [CD-ROM]. CAB International. Wallingford, UK.

USDA, 2006. Treatment schedule 88 pp. *In* USDA Treatment manual. USDA-APHIS

การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

Study on Plant Parasitic Nematodes Associated with Imported Lily Bulb

วานิช คำพานิช [1/] **นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด** [2/]
วันเพ็ญ ศรีชาติ [1/] **ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์** [1/]
[1/] **กลุ่มวิจัยการกักกันพืช** [2/] **กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของหัวพันธุ์ลิลลี่จากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ พบว่ามีไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของหัวพันธุ์ลิลลี่ทั้งหมดจำนวน 27 ชนิด และจากการศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับและหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากเนเธอร์แลนด์ ทางด่านตรวจพืชลาดกระบังและด่านตรวจพืชท่าเรือกรุงเทพฯ จำนวนทั้งสิ้น 8 ตัวอย่าง ตรวจพบไส้เดือนฝอยที่ติดมากับ และหัวพันธุ์ลิลลี่ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Helicotylenchus pseudorobustus*, *Tylenchoryhnchus martini* และ *Rhabditis* spp. และจากการเก็บตัวอย่างดินปลูกหัวพันธุ์ลิลลี่จากสถานกักพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืชจำนวน 2 ตัวอย่าง มาตรวจสอบพบไส้เดือนฝอย 2 ชนิดคือ *H. pseudorobustus* และ *Rhabditis* spp. ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนี้จะนำไปใช้ในการประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของการนำเข้าหัวพันธุ์ลิลลี่จากต่างประเทศเพื่อกำหนดมาตรการในการควบคุมกำกับดูแลเพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชอันเนื่องมาจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดที่ร้ายแรงอาจติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้ามาในราชอาณาจักรและอาจจะมาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการปลูกลิลลี่ในประเทศไทยได้

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-03-01-51

คำนำ

ลิลลี่ (Lily, *Lilium* spp.) จัดเป็นสิ่งกำกัดตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2550 ประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์ลิลลี่เป็นปริมาณมาก ในปี 2547-2548 มีปริมาณและมูลค่าการนำเข้าหัวพันธุ์ลิลลี่ รวมทั้งสิ้น 684.60 ตัน เป็นเงิน 34.85 ล้านบาท และภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on Application of Sanitary and Phytosanitary Measures หรือ SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้ศัตรูพืชติดมากับพืชและผลิตผลพืชเข้ามาเป็นอันตรายหรือก่อให้เกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม ประเทศไทยจะต้องเปิดเสรีในฐานะที่เป็นประเทศสมาชิกองค์การการค้าโลก และจะต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์เกี่ยวกับการค้าสินค้าเกษตรภายใต้ข้อตกลงที่ว่าด้วยการบังคับใช้มาตรการด้านสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช (Agreement on Application of Sanitary and Phytosanitary Measures หรือ SPS Agreement) ซึ่งเป็นมาตรการในการป้องกันมิให้เข้าไปเป็นอันตรายหรือเกิดความเสียหายต่อสุขภาพมนุษย์ สัตว์ พืช และสิ่งแวดล้อม วิธีการปฏิบัติคือประเทศผู้นำเข้าสินค้าเกษตรต้องมีการตรวจสอบศัตรูพืช โดยทำการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis : PRA) ซึ่งอาจจะเป็นโรคพืช แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และวัชพืช ชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจจะติดมากับสินค้าเกษตรหรือแม้แต่หัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

ปัญหาการนำเข้านอกจากจะมีดิน และวัสดุปลูกติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่แล้วยังมีเชื้อโรคพืชได้แก่เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และแมลง รวมทั้งอาจจะมีศัตรูพืชชนิดอื่นติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไส้เดือนฝอยศัตรูพืชบางชนิดที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และเป็นศัตรูพืชกักกันเช่น *Aphelenchoides fragariae*, *Ditylenchus destructor*, *D. dipsaci*, *Globodera pallida* และอาจจะมีไส้เดือนฝอยชนิดอื่นอีก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องศึกษาชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชใน การนำเข้าลิลลี่จากต่างประเทศ และใช้กำหนดมาตรการในการควบคุมกำกับดูแลในการนำเข้าหัวพันธุ์ ลิลลี่เพื่อลดความเสี่ยงศัตรูพืชอันเนื่องมาจากไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ร้ายแรงซึ่งอาจติดมากับหัวพันธุ์ ลิลลี่และเข้ามาระบาดทำความเสียหายต่อการเพาะปลูกลิลลี่ในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างดิน วัสดุปลูกและหัวพันธุ์ลิลลี่
2. อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอยจาก ได้แก่ เครื่องชั่ง ตะแกรง (sieve) ขนาด 60, 200 และ 325 mesh กรวยแก้ว (funnel) พร้อมสายยาง คลิ๊ปหนีบสายยาง ถังกะละมัง และเครื่องพ่นหมอก (mist Chamber)
3. เครื่องมือตัดเนื้อเยื่อ แท่งพาราฟิน พร้อมสีย้อมต่างๆ
4. อุปกรณ์การเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์ลิลลี่ ได้แก่ มีด กรรไกร เครื่องปั่น (blender)
5. อุปกรณ์ในการทำสไลด์ กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound
6. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น พลั่ว เสียม ถุงพลาสติก ยางรัด ปากกา
7. วัสดุวิทยาศาสตร์ต่าง ๆ
8. วัสดุเกษตรต่าง ๆ
9. สารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้ในการย้อมสี เช่น acid fuchsine, cotton blue, lactophenol และ glycerine

วิธีการ

1. **สืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของลิลลี่จากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ**

ทำการสืบค้นข้อมูลจากฐานข้อมูล ตำราวิชาการ วารสารทางวิชาการ รายงานการประชุมและสัมมนาทางวิชาการ และเอกสารวิชาการที่สามารถสืบค้นข้อมูลจากแหล่งต่างๆ ทั่วโลก

2. **การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ**

2.1 ทำการตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างวัสดุปลูกที่ล่วงหล่นอยู่ในตู้บรรจุสินค้าและตัวอย่างหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้าที่มีติดมาด้วย ณ ด่านตรวจพืชจำนวน 50 หัว ต่อ 1 ตัวอย่าง

2.2 ทำการแยกไส้เดือนฝอย และตรวจสอบด้วยวิธีดังต่อไปนี้ ทำการล้างตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้จากในตู้บรรจุสินค้า และที่ติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ และนำตัวอย่างหัวพันธุ์ที่ล้างออกส่วนหนึ่งไปปลอกเปลือกออกนำไปหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ด้วยมีด แล้วนำตัวอย่างทั้งหมดไปแยกไส้เดือนฝอยตามวิธีการของ Cobb's sieving & Baermann funnel (**นุชนารถ**, 2546;

Zuckerman *et al.*, 1990) และแยกโดยใช้เครื่องพ่นหมอก (mist chamber) เพื่อตรวจสอบหาไส้เดือนฝอยในหัวพันธุ์ของลิลลี่

การตรวจสอบด้วยวิธีการของ Cobb's sieving & Baermann funnel **มีขั้นตอนดังต่อไปนี้**

1. นำตัวอย่างวัสดุปลูกหรือพืชประมาณ 500 กรัม นำไปหั่นเป็นชิ้นๆ หรือปั่น และนำมาใส่ในภาชนะพลาสติกเทน้ำลงไปปริมาณที่เท่ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที เพื่อให้นอนก้น แล้วเทน้ำลงในตะแกรงขนาด 60 mesh (ความยาว 1 นิ้วมี 60 ช่อง) โดยมีภาชนะรองรับ เศษพืช เศษไม้ จะติดอยู่บนตะแกรง

2. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงแรกแล้วมาเทลงในตะแกรงขนาด 200 mesh โดยมีภาชนะรองรับ ไส้เดือนฝอยที่มีขนาดเล็กจะผ่านตะแกรงลงสู่ภาชนะที่รองรับอยู่ด้านล่าง จะมีไส้เดือนฝอยบางชนิดที่มีขนาดใหญ่ค้างอยู่บนตะแกรง เอาน้ำฉีดบนตะแกรงจนน้ำใส แล้วใช้น้ำฉีดด้านหลังตะแกรง โดยมีภาชนะรองรับไส้เดือนฝอย

3. นำน้ำที่ผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh เทลงในตะแกรงขนาด 325 mesh โดยไม่ต้องมีภาชนะรองรับ เนื่องจากไส้เดือนฝอยเกือบทุกชนิดจะติดอยู่บนตะแกรงนี้ ใช้ฝอยน้ำฉีดเบาๆให้ทั่วตะแกรงเพื่อให้ตะกอนหลุดลงมา ได้ขนาดแล้วใช้น้ำฉีดข้างหลัง แล้วเก็บน้ำจากตะแกรงนี้เพื่อกรองต่อไป

4. นำน้ำที่กรองจากตะแกรงขนาด 200 และ 325 mesh เทลงบนตะแกรงที่มีกระดาษกรองวางอยู่ด้านบน (ใช้กระดาษกรองไส้เดือนฝอย หรือกระดาษเช็ดหน้า 2 ชั้น) แล้วนำตะแกรงวางบนกรวยที่มีท่อยางสวมไว้ ในกรวยบรรจุน้ำปลายท่อยางมีคลิ๊ปหนีบสายยาง กันน้ำรั่ว ทิ้งไว้ประมาณ 1 วัน ไส้เดือนฝอยจะว่ายน้ำไชผ่านกระดาษกรองมาอยู่ที่ปลายก้านกรวย

5. เมื่อครบ 24 ชม. ไขน้ำจากกรวยตัวอย่างทั้งหมดไปตรวจสอบ และจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ

การตรวจสอบด้วยวิธีการใช้เครื่องพ่นหมอก (mist chamber) **มีขั้นตอนดังต่อไปนี้**

1. การเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์ลิลลี่ หั่นรากและกลีบให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำไปใส่ในถุงผ้ากรองชนิดเนื้อผ้าละเอียด น้ำหนักหัวพันธุ์ประมาณ 20 กรัม/1 ตัวอย่าง/1 ถุง

2. การเตรียมกรวยแยก นำกรวยแก้วต่อสายยางที่ก้านกรวยและใช้คลิ๊ปหนีบสายยาง เทน้ำสะอาดใส่ลงไปในกรวย นำไปตั้งวางในเครื่องพ่นหมอก หลังจากนั้นนำตัวอย่างรากและกลีบของหัวพันธุ์ที่อยู่ในถุงผ้าวางบนตะแกรงลวดที่อยู่บนกรวยพลาสติก นำไปซ้อนบนกรวยแก้ว

3. เปิดเครื่องพ่นหมอก ปล่อยน้ำตามท่อสายยางผ่านหัวพ่นฝอย ที่ติดตั้งไว้ด้านบนของกรวย เปิดเครื่องพ่นฝอยตลอด 24-48 ชม. หลังจากนั้นไขน้ำจากปลายสายยางกรวยแก้วใส่ภาชนะแก้วใสหรือบีกเกอร์ ในปริมาตรน้ำ 50 มล.

4. นำไปตรวจหาไส้เดือนฝอย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแบบ compound ในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2552

สถานที่ทดลอง - กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- ด่านตรวจพืชฯ สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของลิลลี่จากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ

จากการสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของลิลลี่จากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศ ได้มีรายงานไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของลิลลี่ทั้งหมด 27 ชนิดได้แก่ *Aphelenchoides avenae*, *A. fragariea*, *Criconemoides sphaerocephalum, Ditylenchus destructor, D. dipsaci*, *D. intermedius*, *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, *Helicotylenchus multicinctus*, *H. pseudorobustus*, *Hemicycliophora* spp., *Hoplolaimus indicus* (*Basirolaimus indicus*), *Longidorus elongatus*, *Meloidogyne arenaria*, *Pratylenchus coffeae*, *P. penetrans*, *P. praetensis*, *Rhabditis* spp., *Radopholus similis*, *Rotylenchulus reniformis*, *Scutellonema clathricaudatum, Tylenchoryhnchus martini, Tylenchorhynchus nanus*, *Trichodorus* spp., *Tylenchulus* spp., *Xiphinema basiri* และ *Xiphinema diversicaudatum*

2. การตรวจสอบและจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

สุ่มเก็บตัวอย่างหัวพันธุ์ลิลลี่นำเข้า ณ ด่านตรวจพืชเพื่อตรวจสอบ และจำแนกชนิดหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ จำนวน 8 ตัวอย่าง ผลการตรวจ พบไส้เดือนฝอยติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ 3 ชนิด ได้แก่ *Helicotylenchus pseudorobustus*, *Tylenchoryhnchus martini* และ ไส้เดือนฝอยหากินอิสระอีก 1 ชนิดคือ *Rhabditis* spp. และจากการเก็บตัวอย่างดินปลูกหัว

พันธุ์ลิลลี่จากสถานกักพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืชจำนวน 2 ตัวอย่างมาตรวจสอบพบไส้เดือนฝอย 2 ชนิดคือ *H. pseudorobustus* และ *Rhabditis* spp. ซึ่งไส้เดือนฝอยแต่ละชนิดมีลักษณะแตกต่างกันดังนี้

1. **ไส้เดือนฝอย** *Helicotylenchus pseudorobustus*

ลักษณะทั่วไป ไส้เดือนฝอยชนิดนี้มีขนาด ความยาว 0.4 -1.2 มิลลิเมตร เมื่อตายลำตัวจะโค้งเป็นรูปตัวซี ส่วนหัวค่อนข้างกลม หลอดดูดอาหาร (stylet) แข็งแรงยาว 26-28 ไมโครเมตร ต่อมสร้างน้ำย่อย (esophageal gland) เป็นกระเปาะย้อยทับลำไส้ใหญ่ทางด้านท้องยาว 9-12 ไมโครเมตร **ตัวเมีย** มีช่องคลอด (vulva) อยู่ที่ 64 เปอร์เซ็นต์ ของความยาวลำตัว มีรอยย่นตลอดลำตัว หางสั้น และโค้งงอแบบครึ่งวงกลม

ลักษณะทางชีววิทยา ไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็นไส้เดือนฝอยประเภทฝังส่วนหัวบางส่วนไว้ในเนื้อเยื่อพืช พบในเนื้อเยื่อของรากพืชได้ทุกระยะการเติบโต ทำให้พืชเกิดอาการผิดปกติ เช่น รากเป็นแผล (CPC, 2007)

2. **ไส้เดือนฝอย** *Tylenchorhynchus martini*

ลักษณะทั่วไป ตัวเมีย มีความยาว 0.7 มิลลิเมตร หัวกลม หลอดดูดอาหารยาว 18.6 ไมครอน ไส้เดือนฝอยชนิดนี้เมื่อตายลำตัวโค้งเล็กทางด้านท้อง **ตัวผู้** หางยาว ปลายเป็นรูปกรวย ส่วนของแพนหางคลุมถึงปลายหาง มีเดือยแหลมที่ใช้ปล่อยน้ำเชื้อโค้งเล็กน้อย

ลักษณะทางชีววิทยา ไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็นไส้เดือนฝอยที่เมื่อเข้าทำลายพืช จะฝังส่วนหัวเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชประมาณ 1/3 ของความยาวลำตัว เมื่อดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืชแล้วจะเคลื่อนที่ต่อไปยังส่วนอื่น ๆ พบในเนื้อเยื่อของรากพืชได้ทุกระยะการเติบโต ทำให้พืชเกิดอาการผิดปกติ เช่น รากเป็นแผล

3. **ไส้เดือนฝอย** *Rhabditis* spp.

ลักษณะทั่วไป ไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็นไส้เดือนฝอยหากินอิสระ ไม่สร้างหลอดดูดอาหารและไม่สร้างความเสียหายให้กับหัวพันธุ์ลิลลี่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ในการสืบค้นข้อมูลไส้เดือนฝอยศัตรูพืชของลิลลี่จากรายงานที่มีในประเทศไทยและต่างประเทศทั้งหมด 25 ชนิด

2. ส่วนการตรวจสอบและจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับและหัวพันธุ์ลิลลี่ที่นำเข้าทางด่านตรวจพืชลาดกระบัง และท่าเรือกรุงเทพฯ จำนวน 8 ตัวอย่าง พบไส้เดือนฝอย 3 ชนิด ได้แก่ *Helicotylenchus pseudorobustus*, *Tylenchoryhnchus martini* และ ไส้เดือนฝอยหากินอิสระ *Rhabditis* spp.และจากการเก็บตัวอย่างดินปลูกหัวพันธุ์ลิลลี่จากสถานกักพืช

กลุ่มวิจัยการกักกันพืชจำนวน 2 ตัวอย่างมาตรวจสอบพบไส้เดือนฝอย 2 ชนิดคือ *H. pseudorobustus* และ *Rhabditis* spp.

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2546. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช. กลุ่มงานไส้เดือนฝอย. กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 39 น.

CPC. 2007. Crop Protection Compendium, 2007 ed. Wallingford, UK: CAB International [CD-ROM].

Zuckerman, B. M., W. F. Mai and L R. Krusberg. 1990. Plant Nematode Laboratory Manual.The University of Massachusetts Agricultural Experiment Station Amherts. Massachusetts, U.S.A.. 252 pp.

พัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์กับส่วนขยายพันธุ์ของส้ม

Development of Viroid Detection on Citrus propagation

ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ วันเพ็ญ ศรีชาติ
วานิช คำพานิช
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ไวรอยด์ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคของมะเขือเทศมีอยู่ด้วยกันหลายชนิดเช่น *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd) *Citrus exocortis viroid* (CEVd) *Columnea latent viroid* (CLVd) *Cucumber pale fruit viroid* (CPFVd) *Hop stunt viroid* (HSVd) *Indian bunchy top viroid* (IBTVd) *Mexican papita viroid* (MPVd) *Potato spindle tuber viroid* (PSTVd) *Tomato apical stunt viroid* (TASVd) *Tomato chlorotic dwarf viroid* (TCDVd) และ *Tomato planta macho viroid* (TPMVd) และตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. ๒๕๐๗ (ฉบับที่ ๖) พ.ศ. ๒๕๕๐ กำหนดให้เชื้อไวรอยด์เหล่านี้เป็นศัตรูพืชกักกัน (Quarantine pest) จึงต้องมีการตรวจวินิจฉัยกับส่วนขยายพันธุ์พืชที่นำเข้า แต่เนื่องจากไวรอยด์เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่มีขนาดเล็กที่สุดประกอบด้วยอาร์เอ็นเอสายเดี่ยวที่เป็นวงปิด และไม่มีโปรตีนห่อหุ้มเหมือนไวรัส จึงไม่สามารถใช้วิธีการตรวจสอบที่เป็นที่นิยม เช่น ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ได้ การนำเอาเทคนิค RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) และ Nucleic Hybridization มาช่วยในการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์ ซึ่งเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ มีความแม่นยำและจำเพาะสูง และสามารถนำมาประยุกต์ให้เหมาะสมกับงานกักกันพืชได้ จากการศึกษาพบว่าเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 12 ตัวอย่าง สามารถตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ได้เป็น *Columnea latent viroid* ซึ่งจะได้นำวิธีการดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธ์มะเขือเทศที่นำเข้าจากต่างประเทศเพื่อป้องกันมิให้เชื้อดังกล่าวเข้ามาแพร่ระบาดทำความเสียหายต่อการเกษตรกรรมของประเทศไทย

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-04-01-01-51

คำนำ

ส้ม (Orange, *Citrus sinesis*) เป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสูง มีการปลูกกันแพร่หลายทั่วโลกรวมถึงประเทศไทยด้วย โดยจังหวัดที่มีการปลูกมากได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย แพร่ น่าน สุโขทัย กำแพงเพชร สระบุรี ปทุมธานี พิจิตร ลพบุรี สมุทรสงคราม ชุมพร และนครศรีธรรมราช เป็นต้น พืชสกุลส้มมีอยู่ 130 สกุล ประมาณ 1,500 ชนิด สามารถปลูกได้ในสภาพภูมิอากาศเขตกึ่งร้อน ตั้งแต่ซีกโลกเหนือ เขตเมดิเตอร์เรเนียน จนถึงซีกโลกใต้ แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มใหญ่ คือ ส้ม ส้มเขียวหวาน เลมอนและมะนาว เกรปฟรุตและส้มโอ และส้มอื่น ๆ

ส้มเป็นผลไม้ที่มีรสชาติดีและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงเป็นที่นิยมบริโภคแพร่หลายทั่วโลกทั้งการบริโภคผลสด หรือนำมาผ่านกระบวนการแปรรูป เช่น น้ำผลไม้ แยม ผลไม้เชื่อม สกัดน้ำมันเป็นน้ำมันหอมระเหย ใช้ในอุตสาหกรรมยา และเครื่องสำอาง ในปี พ.ศ. 2548 มีการนำเข้าผลส้มเข้ามาในปริมาณถึง 4,072 ตัน คิดเป็นมูลค่า 103.6 ล้านบาท และมีการส่งออกผลส้มในปริมาณ 12,939 ตัน คิดเป็นมูลค่า 248.8 ล้านบาท เนื่องจากส้มเป็นพืชที่มีโรคและแมลงศัตรูมากมายหลายชนิดด้วยกัน ประกอบกับประเทศไทยมีภูมิอากาศที่ร้อนชื้น ส่งเสริมให้โรคและแมลงศัตรูพืชสามารถเกิดและเข้าทำลายส้มได้ดี เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไวรอยด์ จากรายงานมีเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคในพืชสกุลส้มมีประมาณ 9 ชนิด ได้แก่ *Citrus exocortis viroid* (CEVd) *Citrus bent leaf viroid* (CBLVd) *Citrus viroid* II (CVd-II) *Citrus viroid*-I-LSS (CVd-I-LSS) *Citrus viroid* III (CVd-III) *Citrus viroid* OS (CVd-OS) *Japanease citrus viroid* (JCVd) *Citrus viroid*-IV (CVd-IV) และ *Hop stunt viroid* (HSVd) โดยลักษณะอาการของโรคที่สำคัญในพืชสกุลส้ม เช่น เชื้อ CEVd จะก่อให้เกิดอาการเปลือกแตกที่ต้นตอ ต้นพืชมีอาการแคระแกน และทำให้ผลผลิตที่ได้ลดลง ในมะนาวจะมีอาการแผลเป็นจุดที่ใบ และใน citron จะมีอาการใบย่นและม้วนลงอย่างรุนแรง ใบแตกและเซลล์ตายเป็นแผลสีน้ำตาลที่ใต้เส้นใบและใบยอด โดยมีอาการแคระแกรนร่วม เชื้อชนิดนี้สามารถถ่ายทอดโรคจากการใช้กิ่งพันธุ์ที่เป็นโรค การปนเปื้อนเชื้อจากอุปกรณ์ทางเกษตรต่าง ๆ เข้าสู่บาดแผลของพืช dodder โดยสามารถทำความเสียหายให้กับการผลิตส้มได้สูงถึง 5,147 ดอนล่า ต่อ เฮคแตร์ ซึ่งหากเชื้อไวรอยด์เหล่านี้ติดเข้ามากับส่วนขยายพันธุ์ของพืชสกุลส้มอาจก่อให้เกิดความเสียหายกับการผลิตส้มและพืชชนิดอื่นในประเทศไทยได้ ดังนั้นการป้องกันและควบคุมไม่ให้โรคศัตรูพืชติดเข้ามากับส่วนขยายพันธุ์ส้มที่นำเข้าจากต่างประเทศจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการปกป้องภาคการเกษตรของประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตู้แช่ 4 องศาเซลเซียส
2. ตู้แช่แข็ง -30 องศาเซลเซียส
3. เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 3 ตำแหน่ง
4. อ่างควบคุมอุณหภูมิ
5. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge)
6. เครื่อง Thermal cycler (PCR)
7. Gel electrophoresis
8. Gel Documentation UV-transilluminator
9. พืชทดสอบชนิดต่าง ๆ ได้แก่ Citron มะเขือเทศพันธุ์ Rutgers และ Gynura
10. เอ็นไซม์ reverse transcriptase
11. เอ็นไซม์ Taq DNA polymerase
12. 100 bp DNA Ladder
13. ชุดสกัดอาร์เอ็นเอ Rneasy Plant Mini Kit (Qiagen)
14. ชุด kit สกัด agarose gel: QIAquick Gel Extraction Kit c
15. pGEM-T easy vector (Promega)

วิธีการ

1. **สำรวจโรคในสวนส้มและเก็บตัวอย่างที่แสดงอาการโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อไวรอยด์**

สำรวจโรคในส้มในพื้นที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี และชัยนาท เก็บตัวอย่างส้มที่แสดงอาการโรคที่คาดว่าเกิดจากเชื้อไวรอยด์ คือมีลักษณะอาการต้นเตี้ยแคระแกร็น ใบเหลืองซีด โค้งลง และมีอาการเซลล์ตายที่บริเวณเส้นใบ จากนั้นนำตัวอย่างดังกล่าวปลูกถ่ายเชื้อบนพืชทดสอบ Citron และ Gynura ด้วยวิธีกล โดยการใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 9.0 บดตัวอย่างพืช จากนั้นโรยผง carborundum ลงบนใบพืชทดสอบ และทาใบพืชทดสอบด้วยน้ำคั้นจากพืชตัวอย่าง เพื่อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค สังเกตลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืชทดสอบ คือ จะเกิดอาการต้นเตี้ยแคระแกร็น ใบเหลืองซีด ยอดโค้งงอลง และมีอาการเซลล์ตายที่บริเวณเส้นใบใน Citron

ส่วนใน Gynura จะมีอาการใบย่น โดยอาการของโรคจะแสดงในระยะเวลาตั้งแต่ 1 - 2 เดือน หลังจากปลูกถ่ายเชื้อ

2. สืบค้นข้อมูลเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคในส้มเพื่อออกแบบไพรเมอร์

สืบค้นข้อมูลเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคในส้มจากฐานข้อมูล NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) และนำข้อมูลลำดับพันธุกรรมของเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคในส้ม ทุก ๆ สายพันธุ์ที่มีรายงานมาใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ ซึ่งได้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อกลุ่มเชื้อไวรอยด์ดังกล่าว

3. ทดสอบหาวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอที่เหมาะสมกับเนื้อเยื่อใบส้ม

เปรียบเทียบหาวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอที่เหมาะสมกับเนื้อเยื่อใบส้ม โดยเปรียบเทียบจากคุณภาพของอาร์เอ็นเอของ Citron ที่สกัดได้ด้วยวิธีการ 4 วิธี ได้แก่ วิธี MacKenzie buffer (MacKenzie, D.J. *et. al*., 1997), วิธี RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN), วิธี CTAB buffer (Jeffries and Tina, n.d.) และ วิธี MacKenzie buffer ที่นำมาประยุกต์ จากนั้นนำอาร์เอ็นเอมาตรวจสอบคุณภาพด้วยการตรวจสอบ *ndhB gene* (NADH dehydrogenase ND2 subunit) ซึ่งเป็น housekeeping gene ในคลอโรพลาสต์ โดยเทคนิค RT-PCR ซึ่งวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอทั้ง 4 วิธี มีขั้นตอนดังนี้

3.1 วิธี MacKenzie buffer: บดใบ Citron 200 มิลลิกรัม ด้วย MacKenzie buffer (4M Guanindine thiocyanate, 0.2 M Sodium acetate, 25 mM EDTA pH 8.0 และ 2.5% PVP-40) ปริมาตร 2,000 ไมโครลิตร จนละเอียด เติม □-mercaptoethanol ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ดูดสารละลายใส่หลอด micro centrifuge ใหม่ เติมสารละลาย Sarkosyl ความเข้มข้น 20% ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นดูดของเหลวปริมาตร 750 ไมโครลิตร ลงบน QIAshredder™ column (QIAGEN) ปิดฝาและนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ดูดสารละลายที่ผ่าน QIAshredder™ column ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่หลอด micro centrifuge ใหม่ เติม ethanol (96-100%) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและดูดสารละลายผสมดังกล่าวลงบน RNeasy® mini spin column (QIAGEN) ปิดฝาและนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งสารละลายที่ผ่าน RNeasy® mini spin column และประกอบ collection tube เดิมเข้ากับ column เติม QIAGEN buffer RW1 ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ลงใน column ปิดฝาและนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งสารละลายที่ผ่าน RNeasy® mini spin column และประกอบ collection tube ใหม่เข้ากับ column จากนั้นเติม QIAGEN buffer RPE ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงใน column ปิดฝาและนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อ

นาที เป็นเวลา 15 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งสารละลายที่ผ่าน RNeasy® mini spin column และประกอบ collection tube เดิมเข้ากับ column เติม QIAGEN buffer RPE ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงใน column ปิดฝาและนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งสารละลายที่ผ่าน RNeasy® mini spin column และประกอบ collection tube เดิมเข้ากับ column และปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ประกอบ RNeasy® mini spin column เข้ากับหลอด micro centrifuge ใหม่ เติม RNase-free sterile water ปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยหยดลงบน filter โดยตรง บ่มนาน 2 นาที จากนั้นปิดฝาและนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเก็บสารละลายอาร์เอ็นเอ

3.2 วิธี RNeasy Plant Mini Kit: บดใบ Citron 100 มิลลิกรัม ด้วย RLT buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ที่มี mercaptoethanol ปริมาตร 5 ไมโครลิตร จนกระทั่งตัวอย่างละเอียด นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ดูดของเหลวใสส่วนบน 400 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่ เติม phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1) ผสมเบา ๆ ให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ดูดของเหลวใสส่วนบน 300 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่ เติม sodium acetate pH 5.2 ปริมาตร 1 เท่าของปริมาตรสารละลาย และ absolute alcohol ปริมาตร 2.5 เท่าของปริมาตรสารละลาย ผสมให้เข้ากัน บ่มที่ -20 องศาเซลเซียส 15 นาที นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บตะกอนกรดนิวคลีอิกและล้างด้วย 70% ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บตะกอนกรดนิวคลีอิกและล้างด้วย 70% ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ตากตะกอนกรดนิวคลีอิกให้แห้ง ละลายตะกอนด้วยน้ำบริสุทธิ์ที่ไม่มี nuclease ปริมาตร 30 ไมโครลิตร

3.3 วิธี CTAB (Scottish Agricultural Science Agency): บดใบ Citron 100 มิลลิกรัม ด้วยสารละลาย CTAB extraction buffer (2% CTAB, 100 mM Tris-HCl, pH 8.0, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl, 1.0% Na_2SO_3 และ 2.0% PVP-40; Na_2SO_3 และ PVP-40 เติมก่อนใช้งาน) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นดูดของเหลวใสส่วนบนใส่หลอด micro centrifuge ใหม่ เติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดของเหลวใสส่วนบนปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่ เติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดของเหลวใสส่วนบน เติม

สารละลาย 5 M NaCl ปริมาตร 0.5 เท่าของปริมาตรสารละลาย และ isopropanol แช่เย็น ปริมาตรเท่ากับของปริมาตรสารละลาย ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ข้ามคืน จากนั้นปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เก็บตะกอนกรดนิวคลีอิก ละลายตะกอนด้วย TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย 5 M NaCl ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ isopropanol แช่เย็น ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที จากนั้นล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 4 นาที และตากตะกอนกรดนิวคลีอิกให้แห้ง ละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร

3.4 วิธี MacKenzie buffer ที่นำมาประยุกต์ร่วมกับการใช้ chloroform: isoamyl alcohol: บดใบ Citron 200 มิลลิกรัม ด้วย MacKenzie buffer (4M Guanindine thiocyanate, 0.2 M Sodium acetate, 25 mM EDTA pH 8.0 และ2.5% PVP-40) ปริมาตร 2,000 ไมโครลิตร จนละเอียด เติม □-mercaptoethanol ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ดูดสารละลายใส่หลอด micro centrifuge ใหม่ เติมสารละลาย Sarkosyl ความเข้มข้น 20% ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นดูดของเหลวใสส่วนบนใส่หลอด micro centrifuge ใหม่ เติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดของเหลวใสส่วนบนปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่ เติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดของเหลวใสส่วนบน เติมสารละลาย 5 M NaCl ปริมาตร 0.5 เท่าของปริมาตรสารละลาย และ isopropanol แช่เย็น ปริมาตรเท่ากับของปริมาตรสารละลาย ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ข้ามคืน จากนั้นปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เก็บตะกอนกรดนิวคลีอิก ละลายตะกอนด้วย TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย 5 M NaCl ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ isopropanol แช่เย็น ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที จากนั้นล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 4 นาที และตากตะกอนกรดนิวคลีอิกให้แห้ง ละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร

4. ตรวจวินิจฉัยจำแนกชนิดด้วยเทคนิค RT-PCR

4.1 นำพืชทดสอบ Citron และ Gynura ที่แสดงอาการหลังปลูกถ่ายมาสกัดอาร์เอ็นเอด้วยวิธี CTAB ตามวิธีการของ Scottish Agricultural Science Agency โดยบดตัวอย่างพืช 100 มิลลิกรัม เติมสารละลาย CTAB extraction buffer (2% CTAB, 100 mM Tris-HCl, pH 8.0, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl, 1.0% Na_2SO_3 และ 2.0% PVP-40; Na_2SO_3 และ PVP-40 เติมก่อนใช้งาน) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นดูดของเหลวใสส่วนบนใส่หลอด micro centrifuge ใหม่ เติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดของเหลวใสส่วนบนปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่ เติม chloroform: isoamyl alcohol (24:1) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดของเหลวใสส่วนบน เติมสารละลาย 5 M NaCl ปริมาตร 0.5 เท่าของปริมาตรสารละลาย และ isopropanol แช่เย็นปริมาตรเท่ากับของปริมาตรสารละลาย ผสมให้เข้ากันและบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสข้ามคืน จากนั้นปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เก็บตะกอนกรดนิวคลีอิก ละลายตะกอนด้วย TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย 5 M NaCl ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ isopropanol แช่เย็นปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที จากนั้นล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 4 นาที และตากตะกอนกรดนิวคลีอิกให้แห้ง ละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

4.2 ตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) และหาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยา โดยใช้ไพรเมอร์ทั้ง 16 เส้น ผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ที่ได้จะมีขนาดอยู่ในช่วงตั้งแต่ 300 ถึง 400 base pair โดยไพรเมอร์มีลำดับเบสดังต่อไปนี้

CEVd

c- CCG-GGG-ATC-CCT-GAA-GGA-CTT	(21 bps)	Tm = 61.4
h- GGA-AAC-CTG-GAG-GAA-GTC-GAG	(21 bps)	Tm = 57.9

CBLVd

c- GTC-GAC-GAC-GAC-CAG-TCA-GCT-CC	(23 bps)	Tm = 67.1
h- GAA-GGC-TCG-TCA-GCT-GCG-GAG-G	(22 bps)	Tm = 69.6

CVdI

c- CCG-AGG-AGC-CCT-CAG-GGG-TTC (21 bps) Tm = 65.8

h- AGA-CTT-CTT-GTG-GTT-CCT-GTG-GTG (24 bps) Tm = 62.7

CVdII

c- GGC-TCA-AGA-GAG-GAT-CCG-CGG (21 bps) Tm = 67.0

h- CCT-GGG-GAA-TTC-TCG-AGT-TGC-CG (23 bps) Tm = 66.4

CVdIII

c- GTC-GAC-GAC-GAC-AGG-TAA-GTT-CCC (24 bps) Tm = 64.4

h- GAA-GGC-AGC-TAA-GTT-GGT-GAC-GCC (24 bps) Tm = 66.7

CVdIV

c- TTC-CCC-GGG-GAT-CCC-TCT-TCA-GG (23 bps) Tm = 65.8

h- ATC-TCT-TCA-GAC-TCG-TCG-AGG-GG (23 bps) Tm = 65.3

CVdOS

c- TTA-CCC-TGG-GGA-CTC-CAC-CGC-CG (23 bps) Tm = 67.5

h- AAC-ACG-ATT-GGT-GTT-TCC-CCG-GAG-G (25 bps) Tm = 65.2

HSVd

c- TCG-GAA-GAG-CCA-GAA-GG (17 bps) Tm = 54.7

h- TGA-GAC-GCG-ACC-GGT-GGC-ATC-ACC-T (25 bps) Tm = 67.5

4.3 ขั้นตอนการทำ RT-PCR

4.3.1 ขั้นตอน Reverse Transcription (RT) เพื่อสร้างสาย cDNA จากเชื้อไวรอยด์ ปฏิกิริยาประกอบไปด้วย

2 พิโคกรัม ไพรเมอร์ สาย c	10.0	ไมโครลิตร
ตัวอย่างอาร์เอ็นเอ	3.5	ไมโครลิตร
รวม	13.5	ไมโครลิตร

นำเข้าเครื่อง Thermal cycler โดยตั้งโปรแกรมการทำงานดังนี้ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที 1 รอบ จากนั้นนำมาแช่น้ำแข็งทันทีตั้งทิ้งไว้ 2 นาที และนำเข้าเครื่อง Thermal cycler โดยตั้งโปรแกรมการทำงานที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที 1 รอบ จากนั้นนำมาเติมสารดังนี้

5X reverse transcriptase buffer	4.0	ไมโครลิตร
10 mM dNTPs	2.0	ไมโครลิตร
200 U/μl reverse transcriptase	0.5	ไมโครลิตร
รวม	6.5	ไมโครลิตร

นำเข้าเครื่อง Thermal cycler โดยตั้งโปรแกรมการทำงานที่ 42 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง 1 รอบ ซึ่งในขั้นนี้จะได้ cDNA (Complement DNA) ที่สามารถนำมาเพิ่มปริมาณต่อได้โดยเทคนิค PCR ในขั้นตอนต่อไป

4.3.2 ขั้นตอน Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA ให้มากพอที่จะตรวจสอบได้ ปฏิกิริยาประกอบไปด้วย

50 mM $MgCl_2$	0.8	ไมโครลิตร
10X PCR buffer	2.0	ไมโครลิตร
10 mM dNTPs	0.5	ไมโครลิตร
2 พิโคกรัม ไพรเมอร์ สาย c	2.0	ไมโครลิตร
2 พิโคกรัม ไพรเมอร์ สาย h	2.0	ไมโครลิตร
2 U/μl Taq DNA Polymerase	0.5	ไมโครลิตร
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	10.2	ไมโครลิตร
cDNA	2.0	ไมโครลิตร
รวม	20.0	ไมโครลิตร

นำเข้าเครื่อง Thermal cycler โดยตั้งโปรแกรมการทำงานดังนี้

สำหรับเชื้อ CEVd

ขั้นที่ 1:	94°C	นาน 3 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 2:	94°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 3:	56°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 4:	72°C	นาน 45 วินาที	(ขั้นที่ 2 - 4) 34 รอบ
ขั้นที่ 5:	72°C	นาน 10 นาที	1 รอบ

สำหรับเชื้อ CBLVd, CVdII, CVdIV และ CVdOS

ขั้นที่ 1:	94°C	นาน 3 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 2:	94°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 3:	64°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 4:	72°C	นาน 45 วินาที	(ขั้นที่ 2 - 4) 34 รอบ
ขั้นที่ 5:	72°C	นาน 10 นาที	1 รอบ

สำหรับเชื้อ CVdI

ขั้นที่ 1:	94°C	นาน 3 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 2:	94°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 3:	60°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 4:	72°C	นาน 45 วินาที	(ขั้นที่ 2 - 4) 34 รอบ
ขั้นที่ 5:	72°C	นาน 10 นาที	1 รอบ

สำหรับเชื้อ CVdIII

ขั้นที่ 1:	94°C	นาน 3 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 2:	94°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 3:	62°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 4:	72°C	นาน 45 วินาที	(ขั้นที่ 2 - 4) 34 รอบ
ขั้นที่ 5:	72°C	นาน 7 นาที	1 รอบ

สำหรับเชื้อ HSVd

ขั้นที่ 1:	94°C	นาน 3 นาที	1 รอบ
ขั้นที่ 2:	94°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 3:	52°C	นาน 45 วินาที	
ขั้นที่ 4:	72°C	นาน 45 วินาที	(ขั้นที่ 2 - 4) 34 รอบ
ขั้นที่ 5:	72°C	นาน 7 นาที	1 รอบ

4.4 ตรวจสอบขนาดของผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ที่ได้ ด้วยวิธีการอีเล็คโตรโฟริซิสโดยการใช้ 2% agarose gel ละลายในสารละลาย 0.5X TBE buffer แล้วนำมาผ่านสนามไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำ agarose gel ย้อมด้วยสารละลาย ethidium bromide และนำไปดูแถบของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator

4.5 ทำการโคลนผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ที่ได้ เพื่อเพิ่มปริมาณ cDNA ของไวรอยด์ด้วย pGEM-T easy vector (Promega) และนำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อจำแนกชนิดของเชื้อไวรอยด์ โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้

4.5.1 เตรียม cDNA ให้บริสุทธิ์ โดยการนำไปเชื่อมต่อกับพลาสมิดพาหะ โดยนำผลผลิตของปฏิกิริยา RT-PCR มาแยกดีเอ็นเอตามขนาดโดยใช้วิธีการอีเล็คโตรโฟริซิส ด้วย 2% agarose gel ในสารละลาย 0.5X TBE buffer และตัดเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดใกล้เคียงกับเชื้อไวรอยด์ คือมีขนาดประมาณ 370 คู่เบส ใส่หลอด centrifuge tube ชั่งน้ำหนักของเจล โดยจะต้องไม่เกิน 400 มิลลิกรัม

4.5.2 สกัดดีเอ็นเอออกจากเจลด้วย QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN) โดยเติมสารละลาย QG buffer ปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักเจล นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หรือจนกระทั่งเจลละลายอย่างสมบูรณ์ เติม isopropanol ปริมาตร 1 เท่าของน้ำหนักเจล ผสมให้เข้ากัน จากนั้นจัดชุด column โดยนำ QIAquick spin column วางบน collection tube ดูดสารละลายผสมใส่ใน ชุด column โดยดูดสารละลายไม่เกิน 800 ไมโครลิตร นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที ทิ้งน้ำใสในหลอด collection tube ล้าง QIAquick spin column ด้วยสารละลาย PE buffer ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ล้าง QIAquick spin column อีกครั้งด้วยสารละลาย PE buffer ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วยสารละลาย EB buffer ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที และปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ตรวจสอบขนาดและปริมาณ cDNA ที่ได้ด้วย 2% agarose gel electrophoresis หากได้แถบดีเอ็นเอมากกว่า 1 แถบ จะต้องทำการตัดแถบดีเอ็นเอที่ต้องการและทำการสกัดดีเอ็นเอออกจากเจลด้วย QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN) ซ้ำอีกครั้งจนได้แถบดีเอ็นเอแถบเดียว

4.5.3 เชื่อมต่อ cDNA ของเชื้อไวรอยด์เข้ากับพลาสมิดพาหะ โดยเชื่อมต่อ cDNA ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วกับพลาสมิด pGEM-T Easy (Promega) ด้วยเอนไซม์ T4 DNA Ligase ซึ่งมีส่วนประกอบของปฏิกิริยาดังนี้

T4 DNA Ligase 2X buffer	10.0 ไมโครลิตร
PGEM-T easy vector	1.0 ไมโครลิตร
PCR product	8.0 ไมโครลิตร
T4 DNA Ligase (3 unit/μl)	1.0 ไมโครลิตร
รวม	20.0 ไมโครลิตร

บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

4.5.4 นำพลาสมิดลูกผสมเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย โดยถ่ายพลาสมิดลูกผสมเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย Escherichia coli สายพันธุ์ DH 5α ใช้วิธีการ heat shock transformation (Fristch et al., 2001) โดยเติมสารละลายพลาสมิดลูกผสมจากปฏิกิริยา ligation ปริมาตร 20 ไมโครลิตรใส่ในหลอดที่มีเซลล์แบคทีเรียเจ้าบ้านที่ทำให้พร้อมรับพลาสมิดลูกผสมเข้าสู่เซลล์ E. coli ปริมาตร 100 ไมโครลิตร พลิกหลอดไปมาเบา ๆ แช่หลอดทดลองในน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำหลอดมาแช่ในน้ำอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที และรีบนำไปแช่ในน้ำแข็งทันทีเป็นเวลา 5 นาที เติมอาหารเหลว LB ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร นำไปแช่ในน้ำแข็งเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 - 3 ชั่วโมง นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที เทอาหาร LB เดิมทิ้งและเติมอาหารเหลว LB ใหม่ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ลงไปแทน เพื่อละลายตะกอนของเชื้อแบคทีเรีย ทำการ spread ผิวหน้าอาหารแข็ง LB agar ที่มีแอมพิซิลินความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลาย 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-6-D-galactoside (X-gal) ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร กับสารละลาย isopropyl-6-D thiogalactopyranoside (IPTG) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ทิ้งให้ผิวหน้าของอาหารแห้ง จากนั้นนำสารละลายของเชื้อแบคทีเรีย spread บนอาหารแข็ง LB agar ดังกล่าว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ข้ามคืน เพื่อคัดเลือก colony ของเชื้อแบคทีเรียที่มีชิ้นส่วน cDNA ของเชื้อไวรอยด์

4.5.5 สกัดพลาสมิดลูกผสม ใช้วิธีการ Alkaline lysis (Fristchet al., 2001) โดยเลือกโคโลนีของเชื้อ E. coli ที่มีสีขาวมาเลี้ยงในอาหารเหลว LB ที่มีการเติมแอมพิซิลิน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส ข้ามคืน จากนั้นปั่นตกตะกอนเซลล์ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เทอาหารเหลวออก เติมสารละลาย Solution I (50 mM glucose, 25 mM Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM EDTA, pH 8.0) ปริมาตร 100ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixture จากนั้นเติมสารละลาย Solution II (0.2 N NaOH, 1% SDS) ปริมาตร 200ไมโครลิตร ที่เตรียมใหม่ก่อนการใช้งาน ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และเติมสารละลาย Solution III (3 M

potassium acetate, 0.2 M glacial acetic acid) ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแช่บนน้ำแข็งนาน 5 นาที นำไปปั่นตกตะกอนเซลล์ที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ดูดสารละลายใส่หลอดใหม่ และเติม absolute ethanol ปริมาตร 2 เท่าของปริมาตร สารละลาย ผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ทิ้งสารละลายและตากตะกอนพลาสมิดให้แห้ง ละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 ไมโครลิตร

4.5.6 ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่เชื่อมต่อในพลาสมิดพาหะ โดยการใช้เอ็นไซม์ตัดจำเพาะ EcoRI ไปตัดโคลนของพลาสมิดลูกผสม เพื่อแยก cDNA ของไวรอยด์ออกจากพลาสมิดลูกผสม มีส่วนประกอบของปฏิกิริยาดังนี้

ดีเอ็นเอ	5.0 ไมโครลิตร
10X EcoRI buffer	1.0 ไมโครลิตร
เอ็นไซม์ EcoRI	0.3 ไมโครลิตร
เอ็นไซม์ RNase A	0.5 ไมโครลิตร
น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	3.2 ไมโครลิตร
รวม	10.0 ไมโครลิตร

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 6 - 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอ ด้วย 2% agarose gel electrophoresis นำโคลนของพลาสมิดลูกผสมที่ตรวจพบแถบดีเอ็นเอขนาด 300 - 400 คู่เบสไปวิเคราะห์หาและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

4.5.7 วิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไวรอยด์ หลังจากการตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่เชื่อมต่อในพลาสมิดพาหะและได้โคลนที่มีแถบดีเอ็นเอขนาดตามที่ต้องการแล้ว นำโคลนดังกล่าวส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอโดยเครื่อง Automated DNA sequencer แล้ว นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรอยด์ที่มีการรายงานอยู่แล้วในฐานข้อมูลของ GenBank โดยอาศัยโปรแกรม Blastn (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) วิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีความใกล้เคียงมากที่สุด ในการจำแนกชนิดของไวรอยด์

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา: ตั้งแต่ ตุลาคม 2550 ถึงกันยายน 2552 รวม 2 ปี

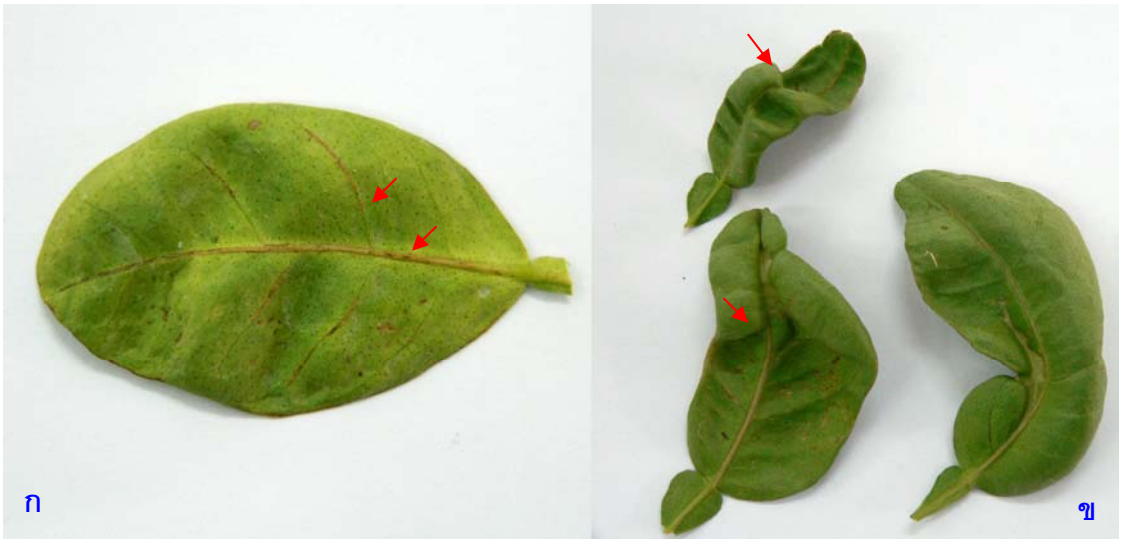
สถานที่วิจัย : 1. กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. สวนส้มของเกษตรกรในพื้นที่จังหวัดราชบุรี นครปฐม ชัยนาท

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. **สำรวจโรคในสวนส้มและปลูกถ่ายเชื้อบนพืชทดสอบ** Citron **และ** Gynura

จากการสำรวจโรคและเก็บตัวอย่างอาการในสวนส้มและมะนาวในพื้นที่จังหวัด ราชบุรี นครปฐม ชัยนาท ได้ตัวอย่างใบมะนาวที่แสดงอาการโรคที่เกิดจากเชื้อไวรอยด์รวม 2 ตัวอย่าง โดยมีลักษณะอาการใบเหลืองซีด หดลดรูป มีอาการเซลล์ตายที่บริเวณเส้นใบและก้านใบ และอาการใบบิดม้วน (**ภาพที่** 1)



ภาพที่ 1 ลักษณะอาการบนตัวอย่างมะนาวที่เป็นโรค
ก: อาการใบเหลืองซีด มีอาการเซลล์ตายที่บริเวณเส้นใบและก้านใบ
ข: อาการใบหดลดรูป และใบบิดม้วนก้านใบ

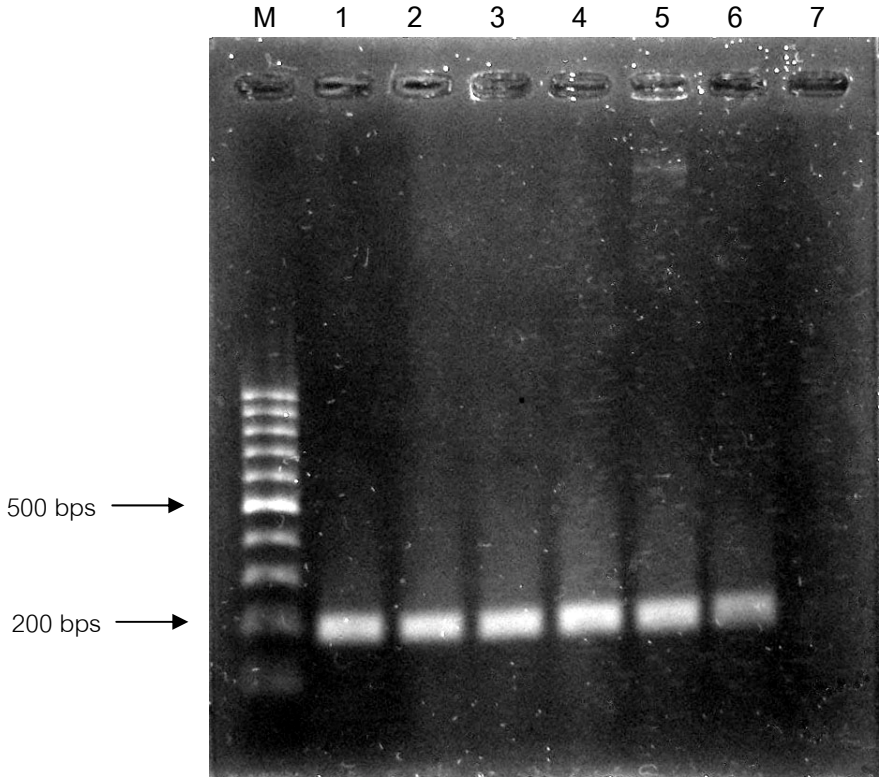
2. **สืบค้นข้อมูลเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศและออกแบบไพรเมอร์**

จากการสืบค้นข้อมูลเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคในพืชกลุ่มจากฐานข้อมูล NCBI (http://www. ncbi.nlm.nih.gov/) พบว่ามีเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศ 8 ชนิด ได้แก่ *Citrus exocortis viroid* (CEVd), *Citrus bent leaf viroid* (CBLVd), *Citrus viroid* II (CVd-II) *Citrus viroid*-I-LSS (CVd-I-LSS), *Citrus viroid* III (CVd-III), *Citrus viroid* OS (CVd-OS) *Citrus viroid*-IV (CVd-IV) และ *Hop stunt viroid* (HSVd) (Hadidi *et al*., 2003)

นำข้อมูลลำดับพันธุกรรมของเชื้อไวรอยด์ที่ก่อให้เกิดโรคในมะเขือเทศทุก ๆ สายพันธุ์ที่มีรายงานจากฐานข้อมูลดังกล่าวมาใช้ในการออกแบบไพรเมอร์ ซึ่งได้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อกลุ่มเชื้อไวรอยด์ดังกล่าวจำนวนทั้งสิ้น 16 เส้น

3. ทดสอบหาวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอที่เหมาะสมกับเนื้อเยื่อใบส้ม

ผลการตรวจเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอทั้ง 4 วิธีการ ได้แก่ MacKenzie buffer, RNeasy Plant Mini Kit, CTAB buffer และ MacKenzie buffer ที่นำมาประยุกต์ พบว่าทั้ง 4 วิธีการสามารถสกัดอาร์เอ็นเอจากใบ Citron ได้ทั้งหมด เมื่อนำมาตรวจสอบหา *ndhB gene* (NADH dehydrogenase ND2 subunit) ด้วยเทคนิค RT-PCR ได้แถบดีเอ็นเอขนาด 188 bp (**ภาพที่** 2) แสดงให้เห็นว่าอาร์เอ็นเอที่สกัดได้มีคุณภาพที่ดีทั้ง 4 วิธีการ ยกเว้นวิธีการ MacKenzie buffer ที่นำมาประยุกต์ พบว่าตะกอนอาร์เอ็นเอที่ได้จะปริมาณแป้งค่อนข้างมากซึ่งอาจส่งผลรบกวนต่อปฏิกิริยา RT-PCR ได้ และเมื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอที่เหลืออีก 3 วิธี พบว่า วิธีการ MacKenzie buffer และ RNeasy Plant Mini Kit มีความสะดวกรวดเร็วในการปฏิบัติงานสูงสุด โดยใช้เวลาในการสกัดอาร์เอ็นเอเพียงครึ่งวันเท่านั้น แต่จำเป็นต้องใช้สารเคมีและชุดสกัดอาร์เอ็นเอที่มีราคาสูงมาก ส่วนวิธี CTAB buffer จะใช้เวลาในการสกัดอาร์เอ็นเอถึงหนึ่งวันครึ่ง แต่สารเคมีที่ใช้จะมีราคาที่ถูกกว่ามาก ซึ่งวิธี CTAB buffer น่าจะมีความเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์ในส้มได้ เนื่องจากได้อาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพที่ดี และมี unit cost ต่อหน่วยต่ำที่สุด



ภาพที่ 2 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอทั้ง 4 วิธี โดยการตรวจสอบ *ndhB gene*

M = 100 bps DNA Ladder
1 = MacKenzie buffer
2 และ 3 = CTAB buffer
4 = RNeasy Plant Mini Kit
5 และ 6 = MacKenzie buffer ที่นำมาประยุกต์
7 = buffer

4. **ตรวจวินิจฉัยจำแนกชนิดด้วยเทคนิค** RT-PCR

ยังไม่ได้ดำเนินการ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองในขั้นแรกพบว่าวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอที่เหมาะสมกับเนื้อเยื่อส้มมี 3 วิธี ได้แก่ MacKenzie buffer, RNeasy Plant Mini Kit และ CTAB buffer โดยทั้ง 3 วิธีให้อาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพสูง แต่วิธี MacKenzie buffer และ RNeasy Plant Mini Kit มี unit cost ที่สูงกว่าวิธี CTAB buffer มาก

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. คนึงนิตย์ เหรียญวรากร ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน ขอขอบคุณ คุณวิภา เกิดพิพัฒน์ ที่ช่วยปลูกและดูแลพืชทดสอบให้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

สมบูรณ์ พรหมมา. 2545. การตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ในมะนาว. **วิทยานิพนธ์ปริญญาโท**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Asai M., T. Ohara, T. Takahashi, S. Saito and K. Tanaka. 1998. Detection of viroids in fruit trees by return gel electrophoresis. **Research Bulletin of the Plant Protection Service**. Japan. 34: 99-102.

Fagoaga, C. and N. Duran-Vila. 1996. Naturally occurring variants of *Citrus exocortis viroid* in vegetable crops. **Plant Pathology**. 45(1): 45-53.

Hataya, T. 1997. Characteristics and detection methods of viroids detected from citrus in Japan. **Shokubutsu Buick**. 51, 163-167.

Hataya, T., K. Nakahara, T. Ohara, H. Leki and T. Kano. 1998. Citrus viroid I is a derivative of *Citrus bent leaf viroid* (CVd-Ib) by partial sequence duplications in the right terminal region. **Arch. Virol**. 143, 971-80.

Hoshino, T., T. Hayata and T. Ohara. 2000. Cachexia pathogenicity of *Hop stunt viroid* isolates. Ann. Phytopathol. **Soc. Jpn**. 66, 143. (Abstract in Japanese)

Ito, T., and H. Ieki. 1996. Detection of Citrus exocortis viroid and Citrus viroid I, II, III, IV by reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR). Ann. Phytopathol. **Soc. Jpn**. 62, 614-615. (Abstract in Japanese)

Ito, T. 1999. Pathogenicity and diagnosis of citrus viroid, and their distribution in Japan. **Shokubutsu Buick**. 53, 347-350.

Ito, T. 2000. Viroid disease of fruit trees in Japan. **PSJ Plant Virus Dis**. Rept. 5, 28-39.

Ito, T., H. Ieki and K. Ozaki. 2000 a. A population of variants of a viroid closely related to Citrus viroid-I in citrus plants. **Arch. Virol**. 145, 2105-2114.

Ito, T., T. Ito and M. Isaka. 2000 b. Viroid with reported nucleotide sequence of *Citrus cachexia viroid* or its characteristic nucleotide changes, detected from introduced citrus trees in Japan. Ann. Phytopathol. **Soc. Jpn**. 66, 143. (Abstract in Japanese)

Levy L., A. Hadidi and S.M. Garnsey. 1992. Reverse transcription-polymerase chain reaction assays for the rapid detection of citrus viroids using multiple primer sets. **Proceedings International Society Citriculture**. Vol. 2, 800-803.

Nakahara, K., T. Hataya, I. Uyeda and H. Ieki. 1998. An improved procedure for extracting nucleic acids from citrus tissues for diagnosis of citrus viroids. Ann. Phytopathol. **Soc. Jpn**. 64, 532-538.

Sano, T., T. Hayata, A. Sasaki and E. Shikata. 1986. Etrog citron is latently infected with Hop stunt viroid-like RNA. **Proc. Japan Acad**. 62, 325-328.

Semancik J.S., L.K. Grill and E.L. Civerolo. 1978. Accumulation of viroid RNA in tumor cells after double infection by *Agrobacterium tumefaciens* and *Citrus exocortis viroid*. **Phytopathology**. 68(12): 1728-1732.

Tanaka, H. and S. Yamada. 1971. Occurrence of citrus exocortis in Japan – Survey from 1963 to 1971. **Bull. Hortic. Res. Sta**. 11, 149-154.

Weathers L.G. 1965. Transmission of exocortis virus of citrus by *Cuscuta sublinclusa*. **Plant Disease Reporter**. 49: 189-190.

การพัฒนาการตรวจสอบเชื้อ Cucumber Green Mottle Mosaic Virus กับพืชสกุลแตงบางชนิด

Development of Detection Technique for Cucumber Green Mottle Mosaic Virus in Some Cucurbits

ศรีวิเศษ เกษสังข์ ปรียพรรณ พงศาพิชณ์
ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ วันเพ็ญ ศรีชาติ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคใบด่างเขียวของพืชสกุลแตงเกิดจากเชื้อไวรัส Cucumber Green Mottle Mosaic Virus (CGMMV) เชื้อไวรัสชนิดที่อยู่ในกลุ่ม Tobamovirus มีรูปร่างเป็นท่อนตรง ประกอบด้วยอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (single-strand RNA) พบรายงานครั้งแรกในประเทศอังกฤษปี พ.ศ. 2478 เชื้อ CGMMV มีหลายสายพันธุ์ เช่น CV3, CV4, CGMMV-W, CGMMV-C, yodo, Indian, Muskmelon เป็นต้น โดยเชื้อนี้สามารถเข้าทำลายทุกระยะของการเจริญเติบโตของพืชทำให้ผลผลิตลดลง 5-16% โดยลักษณะอาการของโรคจะแตกต่างกันทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดพืชและสายพันธุ์ของเชื้อ พืชอาศัยของเชื้อ ได้แก่ แตงกวา แตงโม เมลอน บวบ และมะระ โดยเหตุนี้โรคนี้สามารถถ่ายทอดโดยการสัมผัส โดยผ่านทางน้ำคั้นของพืช เมล็ดพันธุ์ และเศษซากพืช จากการศึกษาพบว่าโรคนี้สามารถถ่ายทอดโดยผ่านทางเมล็ดพันธุ์แตงกวาสูงถึง 3-17% และจากการสำรวจโรคในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงบางชนิด ได้แก่ แตงกวา แตงโม และเมลอน ในท้องที่จังหวัดขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ อุบลราชธานี ลำปาง และน่าน จำนวน 111 แปลงเกษตรกร เก็บตัวอย่างที่แสดงอาการใบด่างจำนวน 63 ตัวอย่างมาทำการตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี ELISA และปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบเพื่อสังเกตลักษณะอาการโรคและเก็บตัวอย่างเพื่อดำเนินการศึกษาต่อไป

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-04-01-02-51

คำนำ

การที่ประเทศไทยยังคงปลอดจากการแพร่ระบาดของโรคและศัตรูพืชสำคัญด้านกักกันพืชหลายชนิด จึงจำเป็นที่จะต้องป้องกันโรคและศัตรูพืชเหล่านั้นไม่ให้เข้ามาในประเทศไทย โดยกำหนดมาตรการห้ามนำเข้าสินค้าเกษตรจากแหล่งแพร่ระบาดและจำเป็นต้องพัฒนาหาวิธีการที่มีประสิทธิภาพสำหรับใช้ ในการตรวจสอบโดย ต้องทำการตรวจสอบอย่างละเอียด ในส่วนของพืชที่นำเข้าการตรวจสอบจะมุ่งเน้นถึงเชื้อโรคศัตรูพืชที่ร้ายแรงทางกักกันพืชและไม่มีรายงานในประเทศไทย เชื้อโรคศัตรูพืชมีอยู่ด้วยกันหลายชนิดและสามารถจำแนกออกเป็นกลุ่มๆ ได้ดังนี้คือ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไวรอยด์ และมายโคพลาสมา แต่ละกลุ่มของเชื้อก็ยังจำแนกออกเป็นสายพันธุ์ของเชื้อ (races หรือ strains) แต่ละชนิดของเชื้อโรคนั้นต้องใช้เทคนิคในการตรวจสอบที่มีความเฉพาะเจาะจงแตกต่างกันไป การที่จะเลือกวิธีการตรวจสอบให้เหมาะสมกับชนิดของเชื้อโรคศัตรูพืชและชนิดของพืชและผลิตผลพืชนั้นๆ จึงนับเป็นปัญหาหลักในการตรวจสอบเชื้อโรคศัตรูพืช เพราะถ้าหากเลือกใช้วิธีการตรวจสอบที่ไม่เหมาะสมหรือไม่มี ประสิทธิภาพแล้ว จะก่อให้เกิดความเสียหายต่องานกักกันพืชโดยตรงในแง่ของการนำเข้าคือจะทำให้ศัตรูพืชร้ายแรงจากต่างประเทศเข้ามาระบาดทำความเสียหายต่อการเพาะปลูกพืชของไทย

เนื่องจากประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลกมีการส่งออกเมล็ดพันธุ์ไปจำหน่ายยังต่างประเทศมูลค่าหลายร้อยล้านบาทในแต่ละปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงโม ได้แก่ แตงกวา แตงโม เมลอนและน้ำเต้า โดยเหตุที่ประเทศผู้ซื้อหลายประเทศต้องการให้หน่วยงานของไทยรับรองการปลอดเชื้อ Cucumber Green Mottle Mosaic Virus กับเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงดังกล่าว เมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตง ได้แก่ แตงกวาจากประเทศไทยตรวจพบเชื้อ CGMMV ณ. ประเทศปลายทาง จึงทำให้เมล็ดพันธุ์ดังกล่าวถูกปฏิเสธการนำเข้า ดังนั้น จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาพัฒนา หาวิธีการตรวจสอบเชื้อ CGMMV ที่เหมาะสมในการตรวจสอบพืชสกุลแตงบางชนิด ได้แก่ แตงกวา แตงโม เมลอนและน้ำเต้า ทั้งในสภาพที่เป็นต้นพืชและสภาพของเมล็ดพันธุ์ เพื่อนำผลวิจัยที่ได้มาใช้ในงานกักกันพืชในการป้องกันมิให้เชื้อ CGMMV ติดมากับเมล็ดพันธุ์ที่นำเข้า และการตรวจเพื่อรับรองการปลอดเชื้อ CGMMV กับเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงที่ส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืช เพื่อหาวิธีการตรวจที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ เพื่อเป็นการพัฒนาการกักกันพืชของประเทศไทยให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง
2. วัสดุอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
3. วัสดุวิทยาศาสตร์ต่างๆ
4. ชุดตรวจสอบ ELISA kit ของเชื้อ CGMMV
5. การสารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการสกัดอาร์เอ็นเอ
6. เอ็นไซม์ Reverse Transcriptase
7. เอ็นไซม์ Tag DNA polynerase
8. เครื่องอ่านผล ELISA
9. เครื่อง Thermal cycler (PCR)
10. Spectophotometer
11. Gel electrophoresis
12. วัสดุสำนักงาน

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลของเชื้อ Cucumber Green Mottle Mosaic Virus (CGMMV) กับพืชสกุลแตงบางชนิด ได้แก่ แตงกวา แตงโม เมลอนและน้ำเต้า

2. สำรวจโรคที่เกิดจากเชื้อ CGMMV ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงบางชนิดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือทำการเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรคมาดำเนินการทดสอบในห้องปฏิบัติการ

3. ปลูกเชื้อลงบนพืชทดสอบเพื่อสังเกตลักษณะอาการและเก็บเชื้อ

4. ทดสอบทำวิธีการสกัดอาร์เอ็นเอที่เหมาะสมกับพืชสกุลแตงบางชนิด

5. ทดสอบหาวิธีการตรวจ ด้วยเทคนิค RT -PCR เปรียบเทียบกับการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA

6. รวบรวมและวิเคราะห์ผลการทดลอง

7. สรุปผลการทดลองและเขียนรายงาน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2550 – กันยายน 2552 (2 ปี)

สถานที่ - ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรมวิชาการเกษตร
- แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงในท้องที่ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลข้อมูลลักษณะอาการของเชื้อ Cucumber green mottle mosaic virus กับพืชสกุลแตงบางชนิดได้แก่ แตงกวา แตงโม และเมลอน พบว่าเชื้อไวรัส CGMMV สาเหตุโรคใบด่างเขียวของพืชสกุลแตงมีอยู่ด้วยกันหลาย Strain เช่น CV3, CV4, CGMMV-W, CGMMV-C, Yodo strain, Indian strain, Muskmelon strain เป็นต้น โดยมีลักษณะอาการของโรคที่ใบอ่อนจะหงิกม้วนเป็นคลื่นเมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีซีดจางลง โดยอาการโรคจะแตกต่างกัน ขึ้นกับพันธุ์พืชกับสายพันธุ์ของเชื้อโดยจะมีอาการตั้งแต่ใบบิดเบี้ยวเล็กน้อยจนถึงใบบิดเบี้ยวมาก ใบด่างเป็นคลื่นต้นแคระแกรนในสายพันธุ์ที่รุนแรงจะทำให้เกิดอาการบนผล ผลจะเป็นจุดสีซีดหรือเป็นจ้ำๆ หรือเป็นทางสีซีด

2. สำรวจโรค Cucumber Green Mottle Mosaic Virus ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงได้แก่ แตงกวา แตงโม และเมลอน ในท้องที่จังหวัดขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ อุบลราชธานี ลำปาง และน่าน จำนวน 111 แปลงเกษตรกร เก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการใบด่าง จำนวน 63 ตัวอย่าง มาทำการตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี ELISA ผลปรากฏว่ายังไม่พบเชื้อ CGMMV กับตัวอย่างพืชดังกล่าว

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. สืบค้นข้อมูลข้อมูลลักษณะอาการของเชื้อ Cucumber Green Mottle Mosaic Virus กับพืชสกุลแตงบางชนิดได้แก่ แตงกวา แตงโม และเมลอน

2. สำรวจโรค Cucumber Green Mottle Mosaic Virus ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงได้แก่ แตงกวา แตงโม และเมลอน ในท้องที่จังหวัดขอนแก่น มหาสารคาม กาฬสินธุ์ อุบลราชธานี ลำปางและน่าน จำนวน 111 แปลงเกษตรกร เก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการใบด่าง จำนวน 63 ตัวอย่าง มาทำการตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี ELISA ผลปรากฏว่ายังไม่พบเชื้อ CGMMV กับตัวอย่างพืชดังกล่าว ซึ่งควรจะได้ดำเนินการสำรวจโรคดังกล่าวในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงในท้องที่ต่างๆ เพิ่มเติมในปีงบประมาณ 2552 ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมศุลกากร.2549. สถิติการนำเข้า-ส่งออก. http://www.customs.go.th.

Albechtsen, S.E. 1992. Testing of seeds for virus. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries, Denmark, 269 pp.

Clark, M.F. and Adam, A.N. 1997. Characteristics of the microplante method for Enzyme-linked immonosorbent assay for the detection of plant viruses. J.Gen.Virol. 34:475-483.

Kawai, A., Kimura, S., Nishio, T. and Nagoa, N. 1985. Detection for Cucumber Green Mottle Mosaic Virus in cucumber seeds using enzyme-linked immunosorbent assay. Research Bulletin of the Plant Plant Protection Service, Japan, No.21:47-53. View Abstract.

Lee, K.W., Lee, B.C., Park, H.C. and Lee, Y.S. 1990. Occurence of Cucumber Green Mottle Mosaic Virus disease of watermelon in Korea. Korean Journal of plant Pathology, 6 (2) : 250-255. View Abstract.

Macias, W. 2000. Methods of disinfecting cucumber seeds that originate from plants infected by Cucumber Green Mottle Mosaic Virus tobamovirus (CGMMV). Vegetable Crops Research Bullatin, 53:75-82. View Abstract.

วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยเพื่อการส่งออก

สลักจิต พานคำ อุดร อุณหวุฒิ รัชฎา อินทรกำแหง ชัยณรัตน์ สนศิริ
มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ จารุวรรณ จันทรา
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) จำนวนมากด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง พบว่าสามารถเพิ่ม ปริมาณไข่ และหนอนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้ในจำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว ในห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาเบื้องต้นวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยด้วยวิธีการอบไอน้ำ 2 วิธีการ คือ 1.วิธีการอบไอน้ำแบบ (Vapor Heat Treatment, VHT) และ 2.วิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์(Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ผลการทดลองทำให้ทราบรูปแบบของการตั้งค่าตู้อบไอน้ำทั้ง 2 วิธีการเพื่อนำไปใช้ขยายผลต่อไปในการอบไอน้ำผลลำไย จากการศึกษาด้านความเสียหายของผลลำไยจากวิธีการอบไอน้ำ 2 วิธีการ คือ 1.วิธีการอบไอน้ำแบบ (Vapor Heat Treatment, VHT) และ 2.วิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) โดยใช้อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในการอบผลลำไยพันธุ์อีดอ นาน 0:00, 0:30, 1:00, 1:30, 2:00 และ 2:30 ชั่วโมง พบว่าผลลำไยหลังผ่านการอบไอน้ำที่รมด้วยกำมะถันมีความเสียหายน้อยกว่าลำไยที่ไม่ผ่านการรมด้วยกำมะถัน และทำให้ได้ทราบถึงวิธีการลดความร้อนหลังผ่านการอบไอน้ำผลลำไยโดยวิธีการใช้น้ำ (shower cooling) เพื่อนำไปใช้เป็นข้อกำหนดเพื่อพิจารณาหาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนที่เหมาะสมกับลำไย ในการศึกษาที่จะต้องดำเนินการต่อไป

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-04

คำนำ

ลำไยเป็นหนึ่งในผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ ได้แก่ แมลงวันทอง, Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), (Diptera : Tephritidae) (White and Elson-Harris, 1992) ด้วยเหตุนี้ผลลำไยจากประเทศไทยจึงถูกห้ามนำเข้าประเทศญี่ปุ่น ซึ่งไม่มีแมลงชนิดดังกล่าวนี้แพร่ระบาด ภายใต้ข้อกำหนดของกฎหมายกักกันพืช ข้อกำหนดนี้จะถูกยกเลิกไปหากประเทศไทยสามารถพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ได้มาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลลำไยก่อนการส่งออก

ในปี พ.ศ. 2529 กรมวิชาการเกษตรโดยความช่วยเหลือด้านวิชาการจากรัฐบาลญี่ปุ่น ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ความร้อนกำจัดแมลงวันทอง และแมลงวันแตง, Melon fly, *Bactrocera cucurbitae* Coquillett, ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน ผลการศึกษาพบว่า วิธีการอบไอน้ำ (Vapor heat treatment, VHT) มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน และได้ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Unhawutti et al., 1986) และต่อมาในปี พ.ศ. 2534 ได้มีการวิจัย และพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยกรรมวิธีใหม่ คือ วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) ที่มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงครอบคลุมถึง 4 พันธุ์ คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลมะม่วง (Unhawutti et al., 1991) หน่วยงานกักกันพืชของประเทศญี่ปุ่นยอมรับให้ใช้เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงก่อนการส่งออก ต่อมาจึงมีการสร้างโรงงานกำจัดแมลงด้วยความร้อนขนาดใหญ่ระดับการค้า วิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรรมวิธีซึ่งอาศัยอากาศเป็นสื่อนำความร้อน ได้มีการศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวางในหลายประเทศสามารถกำจัดแมลงวันทองในผลไม้ได้หลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้วิธีการดังกล่าวยังมีข้อดีในแง่ของความปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลไม้ จึงผ่านการยอมรับได้โดยง่ายจากประเทศผู้นำเข้าหากมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง ซึ่งลำไยเป็นผลไม้ที่มีปัญหาการส่งออกเกี่ยวข้องกับแมลงวันผลไม้

ปัจจุบันยังไม่มีวิธีการใดที่มีประสิทธิภาพ และเป็นที่ยอมรับสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยด้วยเหตุนี้ความพยายามที่จะขยายตลาดการส่งออกไปยังประเทศที่ห้ามนำเข้าผลลำไยสดจากประเทศไทย จึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาเบื้องต้นวิธีกำจัดแมลงวันทองในระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลลำไยด้วยวิธีการอบไอน้ำซึ่งใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพกับผลลำไย นอกจากนี้ยังจำเป็นที่จะต้องศึกษาถึงความเสียหายและคุณภาพของผลลำไยจากวิธีการอบไอน้ำ

ด้วยเพื่อวิจัย และพัฒนาให้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยก่อนการส่งออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
2. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
3. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
4. เครื่องอ่างน้ำร้อน
5. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดของผลไม้
6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก โดยใช้อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และความชื้น 75 เปอร์เซ็นต์
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 3 ตู้
9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
13. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ๆ ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก(plate) ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่น ๆ

ขั้นตอนการดำเนินงานมีดังนี้

1. เลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง
2. ศึกษาเบื้องต้นการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยด้วยวิธีการอบไอน้ำ
3. ศึกษาด้านความเสียหายและคุณภาพของผลลำไยจากวิธีการอบไอน้ำ
4. รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ และสรุปผลการทดลอง

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณเพื่อใช้ในการทดลอง

<u>1.1 แมลงที่ใช้ในการทดลอง</u> : ทำการเลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เป็นจำนวนมากไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง โดยเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงแมลงของกลุ่มกำจัดศัตรูพืช

กักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ โดยสภาพของห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้เป็นห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง ห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5 x 4.6 x 2.3 ม. อุณหภูมิ 25-27 $^{\circ}$ ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 65 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดชีวภาพ (bioluck) จำนวน 20 หลอด ซึ่งได้ติดตั้งไว้บนเพดานห้อง และอีกจำนวน 40 หลอดติดตั้งไว้บนผนังรอบห้อง โดยไฟจะสว่างในระหว่างช่วงเวลา 6.00 น – 18.00 น. และติดตั้งหลอดฟลูโอเรทเซ็นขนาด 40 วัตต์ อีก 1 หลอด เพื่อให้แสงสลัวเลียนแบบสภาพของแสงแดดในช่วงรุ่งเช้า และพลบค่ำซึ่งจะช่วยกระตุ้นการผสมพันธุ์ของแมลง โดยไฟจะเปิดและปิดในช่วงเวลา 5.30-6.00 น. และ 18.00-18.30 น. สำหรับต้นกำเนิดสายพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ได้มาจากผลน้อยหน่าเก็บรวบรวมในท้องที่อำเภอปากช่องจังหวัดนครราชสีมา แมลงตัวเต็มวัยจะถูกจำแนกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งคัดแยกเอาเฉพาะแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เพียงชนิดเดียว จากนั้นจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้นโดยอาศัยวิธีการเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม (artificial diet)

1.2 หลักปฏิบัติในการเลี้ยงแมลงวันผลไม้ : เลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยจำนวนมากประมาณ 20,000 ตัว ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 65.5 x 69 x 77 ซม. กรงแมลงทำด้วยมุ้งลวดตาข่ายอลูมิเนียมขนาด 16 เมซ ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนักดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน enzymatic protein hydrolysate (Amber series 100) 1 ส่วน และ yeast extract 1 ส่วน การให้น้ำจะใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาด 6 x 7.5 ซม. ฝาขวดเจาะรูขนาด 1 มม. จำนวน 3 รู วิธีให้น้ำจะคว่ำขวดน้ำลงบนกระดาษกรองซึ่งวางอยู่บนหลังกรงเลี้ยงแมลง หลังจากเลี้ยงแมลงตัวเต็มวัยครบ 7 สัปดาห์ ทำลายแมลงที่ยังหลงเหลืออยู่ในกรงทั้งหมด ทำความสะอาดกรงเลี้ยงแมลงเพื่อเตรียมไว้สำหรับใส่แมลงในรุ่นใหม่ต่อไป ระหว่างการทดลองเตรียมแมลงตัวเต็มวัยอายุต่างๆ กันไว้ไม่น้อยกว่า 5 กรง มีแมลงมากกว่า 100,000 ตัว

1.3 การควบคุมคุณภาพของแมลงวันผลไม้ : แมลงวันผลไม้ซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะต้องมีความแข็งแรงเพื่อที่ข้อมูลจากผลการศึกษาวิจัยจะได้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของแมลงเป็นประจำ เพื่อที่จะสามารถพบสิ่งผิดปกติและแก้ไขได้ทันที โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักของไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

2. ศึกษาเบื้องต้นการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยด้วยวิธีการอบไอน้ำ

การศึกษา เบื้องต้นการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยด้วยวิธีการอบไอน้ำ 2 วิธีการ คือ 1.วิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT) และ 2.วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ดำเนินการทดลองโดยใช้เครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) (model : EHK-10000, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จำนวน 2 เครื่อง ซึ่งได้ผ่านการปรับปรุงเครื่องเมื่อ เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2549 สำหรับลำไยที่ใช้ในการทดลอง คือ พันธุ์อีดอ ทำการอบลำไยด้วยวิธีการอบไอน้ำ 2 วิธีการ โดยขั้นตอนของการตั้งรูปแบบ (pattern) ของวิธีการอบไอน้ำ 2 วิธีการ ทำได้โดยการใส่ค่าของอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ให้สัมพันธ์กับช่วงเวลาที่เหมาะสมกับลำไยเข้าไปที่เครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นซึ่งติดตั้งไว้เพื่อควบคุมระบบการเดินเครื่องของตู้อบไอน้ำ สำหรับวิธีการอบไอน้ำ VHT การผ่านความร้อนของลำไยจะอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ตลอดเวลา ในขณะที่วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์นั้น ในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยถึง 43 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเป็น 50, 65 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นความชื้นสัมพัทธ์จะถูกปรับเปลี่ยนให้เพิ่มสูงขึ้นอยู่ที่ระดับ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ การวัดอุณหภูมิผลลำไยที่ทดลองอาศัยการวัดจากตัวแทนลำไยทั้งตู้กำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) มีน้ำหนัก 12.00 -13.00 กรัม/ผล เมื่ออบลำไย ครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำลำไยที่ผ่านความร้อนออกจากตู้อบไอน้ำ และทำการลดอุณหภูมิผลลำไยทันที ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model : SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) หลังจากนั้นตรวจผลจากเครื่องบันทึกข้อมูล

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น กันยายน 2549 **สิ้นสุด** ตุลาคม 2555 **รวม** 5 **ปี**
โครงการวิจัยต่อเนื่องระยะเวลา 5 ปี ปีที่เสนอขอเป็นปีที่ 2

สถานที่

จังหวัดระยอง จันทบุรี ตราด ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช เชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย ขอนแก่น สกลนคร กาฬสินธุ์ มหาสารคาม นครราชสีมา สุพรรณบุรี และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนของการตั้งรูปแบบ (pattern) ของวิธีการอบไอน้ำ 2 วิธีการ ทำได้โดยการใส่ค่าของอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ให้สัมพันธ์กับช่วงเวลาที่เหมาะสมกับลำไยเข้าไปที่เครื่องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นซึ่งติดตั้งไว้เพื่อควบคุมระบบการเดินเครื่องของตู้อบไอน้ำ สำหรับวิธีการอบไอน้ำ VHT การผ่านความร้อนของลำไยจะอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ตลอดเวลา ในขณะที่วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์นั้น ในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลลำไยถึง 43 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเป็น 50, 65 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นความชื้นสัมพัทธ์จะถูกปรับเปลี่ยนให้เพิ่มสูงขึ้นอยู่ที่ระดับมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ การวัดอุณหภูมิผลลำไยที่ทดลองอาศัยการวัดจากตัวแทนลำไยทั้งตู้กำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) มีน้ำหนัก 12.00 -13.00 กรัม/ผล เมื่ออบลำไย ครบตามอุณหภูมิและระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำลำไยที่ผ่านความร้อนออกจากตู้อบไอน้ำ และทำการลดอุณหภูมิผลลำไยทันที ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model : SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) หลังจากนั้นตรวจผลจากกราฟเครื่องบันทึกข้อมูล พบว่าการตั้งค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จะมีค่าไม่คงที่ จึงจำเป็นต้องปรับเปลี่ยนแปลงค่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ไปเรื่อยๆ จนกว่าจะได้ข้อมูลที่คงที่ จึงจะยอมรับรูปแบบ (pattern)นั้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ได้ไข่และหนอนของแมลงวันผลไม้จำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้สำหรับงานทดลอง
2. การศึกษาเบื้องต้นวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลำไยด้วยวิธีการอบไอน้ำ 2 วิธีการ คือ 1.วิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT) และ 2.วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์(Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ผลการทดลองทำให้ทราบ รูปแบบของการตั้งค่าตู้อบไอน้ำทั้ง 2 วิธีการเพื่อนำไปใช้ขยายผลต่อไปในการอบไอน้ำผลลำไย
3. การศึกษาด้านความเสียหายของผลลำไยจากวิธีการอบไอน้ำ 2 วิธีการ คือ 1.วิธีการอบไอน้ำ (VHT) และ 2.วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) โดยใช้อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในการอบผลลำไยพันธุ์อีดอ นาน 0:00, 0:30, 1:00, 1:30, 2:00 และ 2:30 ชั่วโมง พบว่าผลลำไยหลังผ่านการอบไอน้ำที่รมด้วยกำมะถันมีความเสียหายน้อยกว่าลำไยที่ไม่ผ่านการรมด้วยกำมะถัน และทำให้ได้ทราบถึงวิธีการลดความร้อนหลังผ่านการอบไอน้ำด้วยวิธีการวิธีการใช้น้ำ (shower cooling) เพื่อนำไปใช้เป็นข้อกำหนดเพื่อ

พิจารณาหาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนที่เหมาะสมกับลำไย ในการศึกษาที่จะต้องดำเนินการต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคุณอนุกูล อ้วนเส้ง คุณสมิทธิ์ อยู่เอี่ยม คุณมีนา จริงจิตร คุณกัลยา วงศ์สุวรรณ คุณประชุม นุ้ยจำนัล และคุณพิสมัย งามผิวเหลืองที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลอง รวมถึงการเช็คผลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwun' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, D. *cucurbitae* Coquillett (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 108 p.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisoon and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 342 p.

White, I.M. and M.M. Elson-Harris. 1992. Fruit flies of economic significance : Their identification and bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่เพื่อการส่งออก

รัชฎา อินทรกำแหง อุดร อุณหวุฒิ สลักจิต พานคำ วลัยกร รัตนเดชากุล
วรัญญา มาลี ชัยณรัตน์ สนศิริ มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์
ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) จำนวนมากด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณไข่ และหนอนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้ในจำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว ในห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ พบว่าได้ทราบว่าแมลงวันผลไม้สามารถเข้าทำลายผลลิ้นจี่ได้ในสภาพห้องปฏิบัติการได้ การศึกษาการรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้ของลิ้นจี่ในระยะไข่ และ หนอนวัย 1 ซึ่งใส่เข้าไปในผลลิ้นจี่จำนวน 10 ฟอง หรือตัวต่อผล และหนอนวัย 2 และ 3 ใส่เข้าไปในผลลิ้นจี่จำนวน 5 ตัว สามารถเจริญเติบโตและมีการรอดชีวิตได้ดีที่สุด การศึกษาเบื้องต้นวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ โดยให้อุณหภูมิภายในสุดผลลิ้นจี่คงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส ผลการทดลองขณะนี้อยู่ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ข้อมูล ผลการศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) และวิธีการอบไอน้ำแบบ (Vapor Heat Treatment, VHT) พบว่าวิธีการอบไอน้ำแบบ VHT เกิดความเสียหายน้อยว่าแบบ MVHT

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-05

คำนำ

ลิ้นจี่เป็นหนึ่งในผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ ได้แก่ แมลงวันทอง, Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), (Diptera : Tephritidae) (White and Elson-Harris, 1992) ด้วยเหตุนี้ ลิ้นจี่จากประเทศไทยจึงถูกห้ามนำเข้าประเทศญี่ปุ่น ซึ่งไม่มีแมลงชนิดดังกล่าวนี้แพร่ระบาดภายใต้ข้อกำหนดของกฎหมายกักกันพืช ข้อกำหนดนี้จะถูกยกเลิกไปหากประเทศไทยสามารถพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ได้ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลลิ้นจี่ก่อนการส่งออก

ในปี พ.ศ. 2529 กรมวิชาการเกษตรโดยความช่วยเหลือทางด้านวิชาการจากรัฐบาลญี่ปุ่นได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ความร้อนกำจัดแมลงวันทอง และแมลงวันแตง, Melon fly, *Bactrocera cucurbitae* Coquillett ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน ผลการศึกษาพบว่า วิธีการอบไอน้ำ (Vapor heat treatment, VHT) มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน และได้ตามมาตรฐานของวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Unhawutti et al., 1986) และต่อมา ในปี พ.ศ. 2534 ได้มีการวิจัย และพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยกรรมวิธีใหม่ คือ วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heattreatment, MVHT) ที่มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงครอบคลุมถึง 4 พันธุ์ คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลมะม่วง (Unhawutti et al., 1991) หน่วยงานกักกันพืชของประเทศญี่ปุ่นยอมรับให้ใช้เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชเพื่อกำจัดแมลงวันทองในผลลิ้นจี่ก่อนการส่งออก ต่อมาจึงมีการสร้างโรงงานกำจัดแมลงด้วยความร้อนขนาดใหญ่ระดับการค้า วิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรรมวิธีซึ่งอาศัยอากาศเป็นสื่อนำความร้อน ได้มีการศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวางในหลายประเทศว่าสามารถกำจัดแมลงวันทองในผลไม้ได้หลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้วิธีการดังกล่าวยังมีข้อดีในแง่ของความปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลไม้ จึงผ่านการยอมรับได้โดยง่ายจากประเทศผู้นำเข้าหากมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง ซึ่งลิ้นจี่เป็นผลไม้ที่มีปัญหาการส่งออกเกี่ยวข้องกับแมลงวันทอง

ปัจจุบันยังไม่มีวิธีการใดที่มีประสิทธิภาพ และเป็นที่ยอมรับสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ ด้วยเหตุนี้ความพยายามที่จะขยายตลาดการส่งออกไปยังประเทศที่ห้ามนำเข้าผลลิ้นจี่สดจากประเทศไทย จึงจำเป็นที่จะต้องมีการพิสูจน์สถานภาพการเป็นพืชอาศัย และการรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ และศึกษาเบื้องต้นวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลลิ้นจี่ด้วยวิธีการอบไอน้ำซึ่งใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพกับผลลิ้นจี่ นอกจากนี้ยัง

จำเป็นที่จะต้องศึกษาถึงความเสียหาย และคุณภาพของผลลิ้นจี่จากวิธีการอบไอน้ำด้วย เพื่อวิจัยและพัฒนาให้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลลิ้นจี่ก่อนการส่งออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
2. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
3. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
4. เครื่องอ่างน้ำร้อน
5. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดของผลไม้
6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก โดยใช้อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และความชื้น 75 เปอร์เซ็นต์
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 3 ตู้
9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
13. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ๆ ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก(plate) ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่น ๆ

ขั้นตอนการดำเนินงานมีดังนี้

1. เลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง
2. ศึกษาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและการรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ด้วยวิธีการอบไอน้ำ
3. ศึกษาเบื้องต้นวิธีกำจัดแมลงวันทองในระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลลิ้นจี่ด้วยวิธีการอบไอน้ำ
4. ศึกษาความเสียหายและคุณภาพของผลลิ้นจี่จากวิธีการอบไอน้ำ
5. รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ และสรุปผลการทดลอง

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณเพื่อใช้ในการทดลอง

<u>1.1 แมลงที่ใช้ในการทดลอง</u> : ทำการเลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เป็นจำนวนมากไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง โดยเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงแมลงของกลุ่มกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ โดยสภาพของห้องเลี้ยงแมลงวันทองเป็นห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง ห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5 x 4.6 x 2.3 ม. อุณหภูมิ 25-27 $^{\circ}$ ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 65 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดชีวภาพ (bioluck) จำนวน 20 หลอด ซึ่งได้ติดตั้งไว้บนเพดานห้องและอีกจำนวน 40 หลอดติดตั้งไว้บนผนังรอบห้อง โดยไฟจะสว่างในระหว่างช่วงเวลา 6.00 น – 18.00 น. และติดตั้งหลอดฟลูโอเรทเซ็นขนาด 40 วัตต์ อีก 1 หลอด เพื่อให้แสงสลัวเลียนแบบสภาพของแสงแดดในช่วงรุ่งเช้า และพลบค่ำซึ่งจะช่วยกระตุ้นการผสมพันธุ์ของแมลง โดยไฟจะเปิดและปิดในช่วงเวลา 5.30 - 6.00 น. และ 18.00-18.30 น. สำหรับต้นกำเนิดสายพันธุ์ของแมลงวันทองได้มาจากผลน้อยหน่าเก็บรวบรวมในท้องที่อำเภอปากช่องจังหวัดนครราชสีมา แมลงตัวเต็มวัยจะถูกจำแนกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งคัดแยกเอาเฉพาะแมลงวันทอง *B. dorsalis* เพียงชนิดเดียว จากนั้นจึงนำแมลงวันทองตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้นโดยอาศัยวิธีการเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม (artificial diet)

<u>1.2 หลักปฏิบัติในการเลี้ยงแมลงวันทอง</u> : เลี้ยงแมลงทองตัวเต็มวัยจำนวนมากประมาณ 20,000 ตัว ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 65.5 x 69 x 77 ซม. กรงแมลงทำด้วยมุ้งลวดตาข่ายอลูมิเนียมขนาด 16 เมซ ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนักดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน enzymatic protein hydrolysate (Amber series 100) 1 ส่วน และ yeast extract 1 ส่วน การให้น้ำจะใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาด 6 x 7.5 ซม. ฝาขวดเจาะรูขนาด 1 มม. จำนวน 3 รู วิธีให้น้ำจะคว่ำขวดน้ำลงบนกระดาษกรองซึ่งวางอยู่บนหลังกรงเลี้ยงแมลง หลังจากเลี้ยงแมลงตัวเต็มวัยครบ 7 สัปดาห์ ทำลายแมลงที่ยังหลงเหลืออยู่ในกรงทั้งหมด ทำความสะอาดกรงเลี้ยงแมลงเพื่อเตรียมไว้สำหรับใส่แมลงในรุ่นใหม่ต่อไป ระหว่างการทดลองเตรียมแมลงตัวเต็มวัยอายุต่างๆ กันไว้ไม่น้อยกว่า 5 กรง มีแมลงมากกว่า 100,000 ตัว

<u>1.3 การควบคุมคุณภาพของแมลงวันทอง</u> : แมลงวันทองซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะต้องมีความแข็งแรงเพื่อที่ข้อมูลจากผลการศึกษาวิจัยจะได้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของแมลงเป็นประจำ เพื่อที่จะสามารถพบสิ่งผิดปกติและแก้ไขได้ทันที โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักของไข่ (hatching rate)

อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

2. ศึกษาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและการรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ด้วยวิธีการอบไอน้ำ

การศึกษาวิธีการเตรียมลิ้นจี่ให้มีไข่ หนอนวัย 1, 2 และ 3 ของแมลงวันทองภายในผล โดยใช้วิธีการใส่เข้าไปในผลลิ้นจี่โดยตรง (artificial inoculation) โดยรวบรวมไข่ของแมลงวันผลไม้จากกระบอกเก็บไข่ซึ่งได้จากการให้แมลงวันผลไม้วางไข่ได้ระยะไข่ หนอนวัย 1, 2 และ 3 โดยนำพู่กันย้ายไข่ หนอนวัย 1, 2 และ 3 ของแมลงวันทองใส่เข้าไปในเนื้อลิ้นจี่จำนวน 5, 10, 15 และ 20 ฟอง/ผล และนำลิ้นจี่ไปเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ เก็บไว้ 7 วัน เพื่อเช็คจำนวนการรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่

3. ศึกษาเบื้องต้นวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลลิ้นจี่ด้วยวิธีการอบไอน้ำ

ดำเนินการทดลองโดยใช้เครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) (model : EHK-1000B, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จำนวน 2 เครื่อง ลิ้นจี่ที่ใช้ในการทดลองมีน้ำหนัก 13.50-16.50 กรัม/ผล แมลงวันทองระยะไข่อายุ 24 ชั่วโมง และหนอนวัยที่ 1 ได้จากแมลงวันทองตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้เป็นจำนวนมากในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียม (artificial diet) สูตรข้าวโพดป่น (Watanabe et al., 1973) โดยใส่ไข่และหนอนวัยที่ 1 จำนวนอย่างละ 30 ฟอง/ผล ทำการอบลิ้นจี่ด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) โดยช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลลิ้นจี่ขึ้นถึง 43 $^{\circ}$ ซ. อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นจึงควรปรับเปลี่ยนเป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยอบลิ้นจี่ให้อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 0, 10, 20, 30, 40, 45, 50, 55 และ 60 นาที การวัดอุณหภูมิผลลิ้นจี่ที่ทดลองอาศัยการวัดจากลิ้นจี่กำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) มีน้ำหนัก 14.50-14.70 กรัม/ผล เมื่ออบลิ้นจี่ ครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำลิ้นจี่ที่ผ่านความร้อนออกจากเครื่องตู้อบความร้อน และทำการลดอุณหภูมิผลลิ้นจี่ทันทีโดยการเป่าด้วยพัดลมนาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model : SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จากนั้นบันทึกผลการทดลองหลังจาก

อบลิ้นจี่ 7 วัน ทำการบันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิต คำนวณอัตราการตายของแมลงด้วยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

4.ศึกษาด้านความเสียหายของผลลิ้นจี่จากวิธีการอบไอน้ำ

ทำการทดลองกับลิ้นจี่ ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) ซึ่งหลักการทำงานของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในช่วงแรกจะเป็นการอบมะม่วงโดยใช้อากาศร้อน (Hot air treatment, HAT) ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 65-80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากมะม่วงมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 43 ° ซ. จึงปรับเปลี่ยนไปเป็นวิธีการอบไอน้ำ (Vapor heat treatment, VHT) อากาศร้อนอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และวิธีการอบไอน้ำ (Vapor heat treatment, VHT) โดยอบลิ้นจี่ให้อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผล เป็นเวลานาน 0, 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง ซึ่งการวัดอุณหภูมิผลลิ้นจี่ที่ทดลองอาศัยการวัดจากแท่งวัดอุณหภูมิที่เสียบอยู่กลางผลของลิ้นจี่กำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) มีน้ำหนัก 14.50-14.70 กรัม/ผล เมื่ออบลิ้นจี่ครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำลิ้นจี่ที่ผ่านความร้อนออกจากเครื่องตู้อบความร้อนและทำการลดอุณหภูมิในผลลิ้นจี่ด้วยพัดลมเป่า (aircooling method) เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model : SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จากนั้นเก็บลิ้นจี่ที่ผ่านความร้อนภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นขนาดเล็ก และบันทึกผลการทดลองหลังจากอบลิ้นจี่ 7 วัน โดย บันทึกผลน้ำหนักของผลหลังการอบไอน้ำ ค่าความเป็นกรด (acidity) และค่าความหวาน (brix) ของลิ้นจี่

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2553 **รวม** 5 **ปี**
โครงการวิจัยต่อเนื่องระยะเวลา 5 ปี ปีที่เสนอขอเป็นปีที่ 2

สถานที่

จังหวัดสมุทรสาคร เชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน พะเยา และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้ทำการเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียม เพื่อใช้ในการทดลองทำให้ได้ไข่ และหนอนแมลงวันผลไม้จำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัวในห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาวิธีการเลี้ยงไข่ หนอนวัย 1, 2 และ 3 ของแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ พบว่า ในระยะไข่ และหนอนวัย 1 ต้องใส่เข้าไปในผลลิ้นจี่จำนวน 10 ฟองหรือตัวต่อผล และในหนอนวัย 2 และ 3 ต้องใส่เข้าไปในผลลิ้นจี่จำนวน 5 ตัวต่อผล จึงสามารถเจริญเติบโตและมีการรอดชีวิตได้ดีที่สุด และจากการศึกษาเบื้องต้นวิธีการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ด้วยวิธีการอบไอน้ำมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยให้อุณหภูมิภายในสุดผลลิ้นจี่คงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส ผลการทดลองขณะนี้อยู่ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ข้อมูล และจากศึกษาด้านความเสียหายของผลลิ้นจี่จากวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT)และวิธีการอบไอน้ำแบบ (Vapor Heat Treatment, VHT) พบว่า ผลลิ้นจี่ที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำแบบ VHT เกิดความเสียหายน้อยกว่าวิธีการอบไอน้ำแบบ MVHT

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ได้ไข่ และหนอนของแมลงวันผลไม้จำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้สำหรับงานทดลอง
2. การศึกษาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ทำให้ได้ทราบว่าแมลงวันผลไม้สามารถเข้าทำลายผลลิ้นจี่ได้ในสภาพห้องปฏิบัติการและการศึกษาการรอดชีวิตของแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี โดยการศึกษาวิธีการเลี้ยงไข่ หนอนวัย1, 2 และ 3 ของแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่ ในระยะไข่ และหนอนวัย 1 ต้องใส่เข้าไปจำนวน 10 ฟองหรือตัวต่อผล และในหนอนวัย 2 และ 3 ต้องใส่เข้าไปจำนวน 5 ตัวต่อผล จึงสามารถเจริญเติบโตและรอดชีวิตได้ดี
3. การศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการอบไอน้ำแบบ VHT ได้ความเสียหายน้อยกว่าแบบ MVHT ผลการทดลองขณะนี้อยู่ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ข้อมูล สำหรับปัญหา และอุปสรรคที่อาจจะทำให้การทดลองเสร็จล่าช้าไป คือ ผลลิ้นจี่สดที่ใช้ไม่เพียงพอต่อการทดลอง เนื่องจากยังไม่ถึงฤดูกาลของผลลิ้นจี่จึงทำให้มีผลต่อแผนและผลการทดลองแต่ละไตรมาสที่ได้ตั้งไว้เสร็จล่าช้าเกินกว่าที่กำหนดไว้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคุณนวลนิสา ตั้งสัจจะกุล คุณอนุกูล อ้วนเส้ง คุณสมิทธิ์ อยู่เอี่ยม คุณมีนา จริงจิตร คุณกัลยา วงศ์สุวรรณ คุณประชุม นุ้ยจำนัล และคุณพิสมัย งามผิวเหลืองที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลอง รวมถึงการเช็คผลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwun' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, D. *cucurbitae* Coquillett (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 108 p.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisoon and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 342 p.

White, I.M. and M.M. Elson-Harris. 1992. Fruit flies of economic significance : Their identification and bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อการส่งออก

รัชฎา อินทรกำแหง อุดร อุณหวุฒิ สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ
มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาระยะการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของแมลงวัน Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย พบว่ามีระยะไข่ฟัก 36-40 ชั่วโมง หนอนวัยที่ 1 มีอายุ 7 วัน หนอนวัยที่ 2 มีอายุ 2-3 วัน และหนอนวัยที่ 3 มีอายุ 3-5 วัน และจากการศึกษาความทนทานต่อความร้อนของหนอนแมลงวันทองวัยที่ 1 ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวย โดยใช้วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยอบมะม่วงทั้ง 3 พันธุ์ เพื่อกำจัดหนอนแมลงวันทองวัยที่ 1 ที่อุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่ระดับอุณหภูมิ 45, 46, 46.5, 47, 47 องศาเซลเซียส นาน 5 และ 10 นาที ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 47 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ไม่พบหนอนแมลงวันทองวัยที่ 1 รอดชีวิต ในมะม่วงทั้ง 3 พันธุ์ และจากการศึกษาด้านความเสียหายของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ และเขียวเสวย จากความร้อนโดยทำการอบมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ และเขียวเสวย ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ โดยให้อุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่ระดับอุณหภูมิ 47 และ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่า มะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ ที่ผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 47 และ 48.5 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง เมื่อวัดความเสียหายจากความร้อนที่มีผลต่อคุณภาพของมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ โดยวัดระดับค่าความหวาน (Brix) ค่าความเป็นกรด (Acidity) พบว่าที่อุณหภูมิดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-01-02-03-49

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตมะม่วงได้หลายพันธุ์ โดยแต่ละพันธุ์ก็มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปถึงแม้การส่งออกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปีแต่เป็นจำนวนไม่มากนัก ดังนั้นการส่งเสริมมะม่วงพันธุ์ใหม่ ๆ เพื่อการส่งออกจัดเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถเพิ่มปริมาณการส่งออกและเปิดตลาดให้ได้มากขึ้น มะม่วงพันธุ์มหาชนก เขียวเสวย และโชคอนันต์เป็นอีกพันธุ์หนึ่งที่กำลังได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในประเทศไทย สามารถรับประทานได้ทั้งมะม่วงดิบ และมะม่วงสุก อีกทั้งยังมีเปลือกที่ค่อนข้างหนา เนื้อแน่น และทนทานต่อโรค จึงเหมาะสมที่จะส่งเสริมให้มีการส่งออก โดยทั่วไปตลาดมะม่วงของประเทศไทยได้แก่ มาเลเซีย สิงค์โปร์ ฮ่องกง และสหภาพยุโรป เป็นตลาดที่ไม่มีปัญหาทางด้านกักกันพืชสามารถส่งออกมะม่วงพันธุ์ใหม่ ๆ ไปจำหน่ายได้ แต่ถ้าในอนาคตประเทศไทยต้องการที่จะเปิดตลาดไปยังบางประเทศที่มีศักยภาพในการซื้อสูงเช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอมเริกา และเกาหลี ซึ่งเป็นประเทศที่มีความเข้มงวดทางด้านกฎหมายกักกันพืชในเรื่องของแมลงวันทอง จำเป็นต้องทำการกำจัดให้ได้ก่อนการส่งออกจึงจะผ่านการยอมรับได้โดยง่ายจากประเทศผู้นำเข้า

ในปี พ.ศ. 2529 กรมวิชาการเกษตรโดยความช่วยเหลือด้านวิชาการจากรัฐบาลญี่ปุ่น ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ความร้อนกำจัดแมลงวันทอง และแมลงวันแตงในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน ผลการศึกษาพบว่า วิธีการอบไอน้ำ (Vapor heat treatment, VHT) มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน โดยที่ได้ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Unhawutti et al., 1986) ต่อมาในปี พ.ศ. 2534 ได้มีการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยกรรมวิธีใหม่ คือ วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) มีประสิทธิภาพสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วงครอบคลุมถึง 4 พันธุ์ คือ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด พิมเสนแดง (Unhawutti et al., 1991) และล่าสุดพันธุ์มหาชนก (รัชฎา และคณะ., 2549) โดยที่วิธีการดังกล่าวไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลมะม่วง

การใช้วิธีการอบไอน้ำเป็นวิธีการทางด้านกักกันพืช โดยในแต่ละประเทศจะใช้หลักการเดียวกัน คือการเพิ่มความร้อนให้กับพืชจนถึงระดับที่สามารถกำจัดแมลงได้เป็นที่ยอมรับทางกักกันพืช (probit 9) และต้องไม่ทำให้คุณภาพของผลไม้เสียหาย อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในเครื่องอบไอน้ำจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของผลไม้และแมลงที่ต้องการกำจัด นอกจากนี้วิธีการอบไอน้ำยังมีข้อดีในแง่ของความปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลไม้ ด้วยเหตุนี้ความพยายามที่จะขยายตลาดการส่งออกมะม่วงจากประเทศไทยพันธุ์อื่น ๆ ที่น่าสนใจไปยังประเทศที่เข้มงวดทางด้านกฎหมายกักกันพืช จึงจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาความเป็นไปได้ของวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนซึ่งใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพกับผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ และเขียวเสวยเพื่อ

วิจัยและพัฒนาให้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ และเขียวเสวยก่อนการส่งออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
2. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
3. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
4. เครื่องอ่างน้ำร้อน
5. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดของผลไม้
6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก โดยใช้อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และความชื้น 75 เปอร์เซ็นต์
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 3 ตู้
9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
13. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ๆ ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก(plate) ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่น ๆ

ขั้นตอนการดำเนินงานมีดังนี้

1. เลี้ยงแมลงวันทองจำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง
2. ศึกษาระยะการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของแมลงวันทองในมะม่วงเขียวเสวย
3. ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของหนอนแมลงวันทองวัย1 ในมะม่วงพันธุ์มหาชนกโชคอนันต์ และเขียวเสวย
4. ศึกษาด้านความเสียหายและคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ และเขียวเสวยจากวิธีการอบไอน้ำ
5. รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ และสรุปผลการทดลอง

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เลี้ยงแมลงวันทองจำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณเพื่อใช้ในการทดลอง

<u>1.1 แมลงที่ใช้ในการทดลอง</u> : ทำการเลี้ยงแมลงวันทอง *B. dorsalis* เป็นจำนวนมากไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง โดยเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงแมลงของกลุ่มกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ โดยสภาพของห้องเลี้ยงแมลงวันทองเป็นห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง ห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5 x 4.6 x 2.3 ม. อุณหภูมิ 25-27 $^{\circ}$ ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 65 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดชีวภาพ (bioluck) จำนวน 20 หลอด ซึ่งได้ติดตั้งไว้บนเพดานห้องและอีกจำนวน 40 หลอดติดตั้งไว้บนผนังรอบห้อง โดยไฟจะสว่างในระหว่างช่วงเวลา 6.00 น – 18.00 น. และติดตั้งหลอดฟลูโอเรทเซ็นขนาด 40 วัตต์ อีก 1 หลอด เพื่อให้แสงสลัวเลียนแบบสภาพของแสงแดดในช่วงรุ่งเช้า และพลบค่ำซึ่งจะช่วยกระตุ้นการผสมพันธุ์ของแมลง โดยไฟจะเปิดและปิดในช่วงเวลา 5.30-6.00 น. และ 18.00-18.30 น. สำหรับต้นกำเนิดสายพันธุ์ของแมลงวันทองได้มาจากผลน้อยหน่าเก็บรวบรวมในท้องที่อำเภอปากช่องจังหวัดนครราชสีมา แมลงตัวเต็มวัยจะถูกจำแนกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งคัดแยกเอาเฉพาะแมลงวันทอง *B. dorsalis* เพียงชนิดเดียว จากนั้นจึงนำแมลงวันทองตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้นโดยอาศัยวิธีการเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม (artificial diet)

<u>1.2 หลักปฏิบัติในการเลี้ยงแมลงวันทอง</u> : เลี้ยงแมลงทองตัวเต็มวัยจำนวนมากประมาณ 20,000 ตัว ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 65.5 x 69 x 77 ซม. กรงแมลงทำด้วยมุ้งลวดตาข่ายอลูมิเนียมขนาด 16 เมซ ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนักดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน enzymatic protein hydrolysate (Amber series 100) 1 ส่วน และ yeast extract 1 ส่วน การให้น้ำจะใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาด 6 x 7.5 ซม. ฝาขวดเจาะรูขนาด 1 มม. จำนวน 3 รู วิธีให้น้ำจะคว่ำขวดน้ำลงบนกระดาษกรองซึ่งวางอยู่บนหลังกรงเลี้ยงแมลง หลังจากเลี้ยงแมลงตัวเต็มวัยครบ 7 สัปดาห์ ทำลายแมลงที่ยังหลงเหลืออยู่ในกรงทั้งหมด ทำความสะอาดกรงเลี้ยงแมลงเพื่อเตรียมไว้สำหรับใส่แมลงในรุ่นใหม่ต่อไป ระหว่างการทดลองเตรียมแมลงตัวเต็มวัยอายุต่างๆ กันไว้ไม่น้อยกว่า 5 กรง มีแมลงมากกว่า 100,000 ตัว

<u>1.3 การควบคุมคุณภาพของแมลงวันทอง</u> : แมลงวันทองซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะต้องมีความแข็งแรงเพื่อที่ข้อมูลจากผลการศึกษาวิจัยจะได้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของแมลงเป็นประจำ เพื่อที่จะสามารถพบสิ่งผิดปกติและแก้ไขได้ทันที โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักของไข่ (hatching rate) อัตราการ

ออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

2. ศึกษาระยะการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของแมลงวันทองในมะม่วงเขียวเสวย

การศึกษาวิธีการเตรียมมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยให้มีไข่ภายในผล โดยใช้วิธีการใส่ไข่ของแมลงวันทองเข้าไปในผลมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยโดยตรง (artificial inoculation) โดยรวบรวมไข่ของแมลงวันทองจากกระบอกเก็บไข่ซึ่งได้จากการให้แมลงวันทองวางไข่ และนำพู่กันย้ายไข่ของแมลงวันทองใส่เข้าไปในเนื้อมะม่วง จำนวน 10 ฟอง/ผล และนำมะม่วงไปเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ และบันทึกผลการเจริญเติบโตทุกวันจนครบ 10 วัน เพื่อเช็คระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันทองในผลมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย

3. ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของหนอนแมลงวันทองวัย1 ในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวย

ดำเนินการทดลองโดยใช้เครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) (model : EHK-1000B, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จำนวน 2 เครื่อง มะม่วงทั้ง 3 พันธุ์ที่ใช้ในการทดลองมี ขนาดกลาง น้ำหนัก 300-360 กรัม/ผล และหนอนวัยที่ 1 ได้จากแมลงวันทองตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้เป็นจำนวนมากในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียม (artificial diet) สูตรข้าวโพดป่น (Watanabe et al., 1973) โดยการศึกษาความทนทานต่อความร้อนของหนอนแมลงวันทองวัยที่ 1 ในผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวย โดยการเตรียมมะม่วงให้มีหนอนวัยที่ 1 อยู่ภายในผล ดำเนินการตามขั้นตอนและวิธีการปฏิบัติของ อุดร และ คณะ (2544 ก) โดยใส่หนอนวัยที่ 1 จำนวน 100 ตัว/ผล ทำการอบมะม่วงทั้ง 3 พันธุ์ ด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) โดยให้อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 45, 46, 46.5, 47 และ 47 องศาเซลเซียส นาน 5 และ 10 นาที การวัดอุณหภูมิผลมะม่วงที่ทดลองอาศัยการวัดจากมะม่วงที่ใช้เสียบแท่งวัดอุณหภูมิในผล (sensor fruit) ซึ่งมีน้ำหนัก ...330...± 10 กรัม/ผล เมื่ออบมะม่วงครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำมะม่วงที่ผ่านความร้อนออกจากเครื่องตู้อบความร้อนและทำการลดอุณหภูมิในผลไม้ด้วยละอองน้ำ (hydrocooling method) (Figure 8) เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model : SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จากนั้นเก็บมะม่วงที่ทดลองตามรายละเอียดใน Unahawutti (2005) และบันทึกผลการทดลองหลังจากอบมะม่วง 5

วัน ทำการบันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิต คำนวณอัตราการตายของแมลง ด้วยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

4. **ศึกษาด้านความเสียหายและคุณภาพของผลมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยจากวิธีการอบไอน้ำ**

ทำการทดลองกับมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย โชคอนันต์ ใช้มะม่วงขนาดกลาง (M) น้ำหนัก 300-360 กรัม และขนาดเล็ก (S) น้ำหนัก 250-300 กรัม โดยการอบมะม่วงด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) ซึ่งหลักการทำงานของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในช่วงแรกจะเป็นการอบมะม่วงโดยใช้อากาศร้อน (Hot air treatment, HAT) ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ หลังจากมะม่วงมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 43 °ซ. จึงปรับเปลี่ยนไปเป็นวิธีการอบไอน้ำ (Vapor heat treatment, VHT) อากาศร้อนอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยอบมะม่วงให้อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 47 และ 48.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผล เป็นเวลานาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ซึ่งการวัดอุณหภูมิผลมะม่วงพันธุ์เขียวเสวยที่ทดลองอาศัยการวัดจากมะม่วงกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) มีน้ำหนัก …330 ± 10….กรัม/ผล เมื่ออบมะม่วงครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำมะม่วงที่ผ่านความร้อนออกจากเครื่องตู้อบความร้อน และทำการลดอุณหภูมิในผลมะม่วงด้วยอากาศ (Aircooling method) เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model : SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จากนั้นเก็บมะม่วงที่ผ่านความร้อนภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นขนาดเล็ก ตามรายละเอียดใน Unahawutti (2005) และบันทึกผลการทดลองหลังจากอบมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย 7 วัน โดย บันทึกการสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) ผลค่าความเป็นกรด (Acidity) และค่าความหวาน (Brix) ของมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2553 **รวม** 5 **ปี**
โครงการวิจัยต่อเนื่องระยะเวลา 5 ปี ปีที่เสนอขอเป็นปีที่ 2

สถานที่

จังหวัดระยอง จันทบุรี ชลบุรี อ่างทอง ราชบุรี ลำปาง เชียงใหม่ เชียงราย และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาความเสียหายของมะม่วงพันธุ์พันธุ์โชคอนันต์ และเขียวเสวย จากความร้อน (Fruit Injury Test) โดยทำการอบมะม่วงพันธุ์พันธุ์โชคอนันต์ และเขียวเสวย ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ โดยให้อุณหภูมิภายในสุดผลตรงบริเวณกึ่งกลางเพิ่มถึงระดับอุณหภูมิ 47 และ 48.5 องศาเซลเซียส คงที่นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่า มะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ เมื่อใช้อุณหภูมิ และระยะเวลาดังกล่าว เมื่อวัดความเสียหายจากความร้อนที่มีผลต่อคุณภาพของมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ โดยวัดระดับค่าความหวาน (Brix) ค่าความเป็นกรด (Acidity) พบว่าที่อุณหภูมิดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และจากการเลี้ยงเพิ่มปริมาณของแมลงวันทอง *Bactrocera dorsalis* จำนวนมากด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการการ เพื่อใช้ในการทดลอง พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณไข่ และหนอนของแมลงวันทอง *B. dorsalis* ได้ในจำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัวในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้สำหรับการศึกษาวิธีการกำจัดแมลงวันทองระยะที่ 1 ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลพันธุ์โชคอนันต์ และเขียวเสวย ด้วยวิธีการอบไอน้ำต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้ทราบลักษณะความเสียหายของผลมะม่วงพันธุ์พันธุ์โชคอนันต์ และเขียวเสวย จากความร้อนโดยวัดระดับค่าความหวาน (Brix) ค่าความเป็นกรด (Acidity) หลังการอบไอน้ำมะม่วงทั้ง 2 พันธุ์ โดยใช้อุณหภูมิ 47และ 48.5 องศาเซลเซียส คงที่นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แมลงวันทองในมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์มีแนวโน้มทนทานต่อความร้อนมากกว่าในมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย และมหาชนก

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคุณนวลนิสา ตั้งสัจจะกุล คุณอนุกูล อ้วนเส้ง คุณสมิทธิ์ อยู่เอี่ยม คุณมีนา จริงจิตร คุณกัลยา วงศ์สุวรรณ คุณประชุม นุ้ยจำนัล และคุณพิสมัย งามผิวเหลืองที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลอง รวมถึงการเช็คผลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwun' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, D.

cucurbitae Coquillett (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 108 p.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisoon and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 342 p.

White, I.M. and M.M. Elson-Harris. 1992. Fruit flies of economic significance : Their identification and bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

วิจัยและพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเพื่อการส่งออก

อุดร อุณหวุฒิ รัชฎา อินทรกำแหง สลักจิต พานคำ ชัยณรัตน์ สนศิริ
มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ ชุติมา อ้อมกิ่ง จารุวรรณ จันทรา
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ ชีววิทยา ของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของงานทดลองพบว่า พื้นที่ปลูกส้มโอกระจายอยู่ทั่วประเทศ ได้แก่ จังหวัดนครปฐม นครนายก ปราจีนบุรี เชียงราย เลย ชัยนาท ชุมพร และนครศรีธรรมราช นอกจากนี้ยังทราบว่าขนาดของผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ใช้ทดลองสามารถแบ่งได้ 3 ขนาด คือ 1.ขนาดเล็ก มีน้ำหนัก 700 - 900 กรัม 2.ขนาดกลาง มีน้ำหนัก 900 - 1,100 กรัม 3.ขนาดใหญ่ มีน้ำหนัก 1,100 - 1,300 กรัม จากการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) จำนวนมากด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณไข่ และหนอนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ได้ในจำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว ในห้องปฏิบัติการ การศึกษาประสิทธิภาพเบื้องต้นของวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT 50% RH) ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเปรียบเทียบกับทองดี พบว่าวิธีการอบไอน้ำแบบ (MVHT 50%RH) โดยให้อุณหภูมิภายในสุดของผลส้มโอคงอยู่ที่ระดับอุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะหนอนวัยที่ 1 ซึ่งเป็นระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดได้ สำหรับผลการทดลองอยู่ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ข้อมูล การศึกษาความเสียหายของส้มโอทั้ง 2 พันธุ์ โดยใช้วิธีการอบไอน้ำด้วยวิธีดังกล่าว โดยอบผลส้มโอที่อุณหภูมิภายในสุดของผลคงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ผลการทดลองอยู่ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ข้อมูล

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-01-02-04-49

คำนำ

ส้มโอเป็นหนึ่งในผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และเป็นพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางด้านกักกันพืชระหว่างประเทศ ได้แก่ แมลงวันทอง, Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), (Diptera : Tephritidae) (White and Elson-Harris, 1992) ด้วยเหตุนี้ ส้มโอจากประเทศไทยจึงถูกห้ามนำเข้าประเทศญี่ปุ่น ซึ่งไม่มีแมลงชนิดดังกล่าวนี้แพร่ระบาดภายใต้ข้อกำหนดของกฎหมายกักกันพืช ข้อกำหนดนี้จะถูกยกเลิกไปหากประเทศไทยสามารถพัฒนาวิธีการกำจัดศัตรูพืชที่ได้มาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) เพื่อใช้สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลส้มโอก่อนการส่งออก

ในปี พ.ศ. 2529 กลุ่มวิจัยการกักกันพืช กรมวิชาการเกษตรได้รับความช่วยเหลือทางด้านวิชาการจากรัฐบาลญี่ปุ่นให้ศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการใช้ความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ oriental fruit fly, *B. dorsalis* และแมลงวันแตง melon fly, *B. cucurbitae* ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวัน พบว่าวิธีการอบไอน้ำ (Vapor Heat Treatment, VHT) มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (Unhawutti *et al*., 1986) และต่อมาในปี พ.ศ. 2534 ได้มีการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนด้วยกรรมวิธีใหม่ คือ วิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT) ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ครอบคลุมมะม่วงถึง 4 พันธุ์ ได้แก่ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง (Unhawutti *et al*., 1991) โดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมะม่วง หลังจากนั้นกลุ่มวิจัยการกักกันพืชได้ประสบความสำเร็จจากการวิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนเพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมังคุด (ปี พ.ศ. 2546) มะม่วงพันธุ์มหาชนก (ปี พ.ศ. 2549) (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว, 2551) และส้มโอพันธุ์ทองดี (ปี พ.ศ. 2549, ขณะนี้อยู่ในขั้นตอนของการตรวจสอบผลการวิจัยก่อนที่ประเทศญี่ปุ่นจะอนุญาตนำเข้าผลส้มโอจากประเทศไทย) (Unhawutti, 2006) วิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) นอกจากมีประสิทธิภาพกำจัดแมลงวันผลไม้ได้แล้ววิธีการดังกล่าวยังมีข้อดีในแง่ของความปลอดภัยจากสารพิษตกค้างภายในผลไม้ จึงผ่านการยอมรับได้โดยง่ายจากประเทศผู้นำเข้าหากมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลง ในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการสร้างโรงงานกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อนขนาดใหญ่ระดับการค้ากันอย่างแพร่หลายโดยใช้กรรมวิธีอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (MVHT) ในการอบผลมะม่วง และมังคุดเพื่อการส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และนิวซีแลนด์ โดยยึดหลักการตามเงื่อนไขและข้อกำหนดของแต่ละประเทศ (มลนิภา, 2550)

ปัจจุบันยังไม่มีวิธีการใดที่มีประสิทธิภาพและเป็นที่ยอมรับสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งและขาวแตงกวา ดังนั้นจึงควรที่จะมีการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์กับแมลงเป็นจำนวนมาก โดยมีวัตถุประสงค์หลัก 2 ประการ ดังนี้คือ (1) เพื่อยืนยันผลการศึกษาว่าหนอนแมลงวันผลไม้ Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) วัยที่1ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งและขาวแตงกวาทนทานต่อความร้อนด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มากที่สุด (2) เพื่อกำหนดกระบวนการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่มีประสิทธิภาพกำจัดหนอนวัยที่ 1 จำนวนไม่น้อยกว่า 30,000 ตัว ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งและขาวแตงกวาให้ตายทั้งหมด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง 2 เครื่อง
2. ตู้ลดอุณหภูมิผลไม้
3. ห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้ 2 ห้อง
4. เครื่องอ่างน้ำร้อน
5. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดของผลไม้
6. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
7. ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก โดยใช้อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และความชื้น 75 เปอร์เซ็นต์
8. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับงานทดลองขนาดเล็ก 4 ตู้
9. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง
10. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
11. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
13. อุปกรณ์สำหรับเช็คผลการทดลอง ๆ ได้แก่ พู่กัน ปากคีบ เคาท์เตอร์ จานทดลองขนาดเล็ก(plate) ถาดใส่ผลไม้ ถุงผ้าตาข่าย ถุงมือ มีดปอกผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่น ๆ

ขั้นตอนการดำเนินงานมีดังนี้

1. รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์, ชีววิทยาของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในงานทดลอง
2. เลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณและเพื่อใช้ในการทดลอง

3. ศึกษาประสิทธิภาพเบื้องต้นของวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT 50% RH) ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเปรียบเทียบกับทองดี
4. ศึกษาความเสียหาย และคุณภาพของผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาด้วยวิธีการอบไอน้ำ
5. รวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ และสรุปผลการทดลอง

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์, ชีววิทยาของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในงานทดลอง

การรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ และชีววิทยา ของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งและขาวแตงกวาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของงานทดลอง โดยการค้นหาข้อมูลทางเว็บไซต์ของกรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร และจากแหล่งข้อมูลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องต่างๆ ทั้งในและต่างประเทศ

2. เลี้ยงแมลงวันผลไม้จำนวนมากด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณเพื่อใช้ในการทดลอง

<u>1.1 แมลงที่ใช้ในการทดลอง</u> : ทำการเลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เป็นจำนวนมากไว้ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลอง โดยเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงแมลงของกลุ่มกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ โดยสภาพของห้องเลี้ยงแมลงวันผลไม้เป็นห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง ห้องเลี้ยงแมลงมีขนาด 3.5 x 4.6 x 2.3 ม. อุณหภูมิ 25-27 $^{\circ}$ ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 65 $\pm$ 5 เปอร์เซ็นต์ แสงสว่างภายในห้องได้จากหลอดชีวภาพ (bioluck) จำนวน 20 หลอด ซึ่งได้ติดตั้งไว้บนเพดานห้อง และอีกจำนวน 40 หลอดติดตั้งไว้บนผนังรอบห้อง โดยไฟจะสว่างในระหว่างช่วงเวลา 6.00 น – 18.00 น. และติดตั้งหลอดฟลูโอเรทเซ็นขนาด 40 วัตต์ อีก 1 หลอด เพื่อให้แสงสลัวเลียนแบบสภาพของแสงแดดในช่วงรุ่งเช้า และพลบค่ำซึ่งจะช่วยกระตุ้นการผสมพันธุ์ของแมลง โดยไฟจะเปิดและปิดในช่วงเวลา 5.30-6.00 น. และ 18.00-18.30 น. สำหรับต้นกำเนิดสายพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ได้มาจากผลน้อยหน่าเก็บรวบรวมในท้องที่อำเภอปากช่องจังหวัดนครราชสีมา แมลงตัวเต็มวัยจะถูกจำแนกชนิดอย่างละเอียดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งคัดแยกเอาเฉพาะแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เพียงชนิดเดียว จากนั้นจึงนำแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยไปเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการและเพิ่มจำนวนให้มากขึ้นโดยอาศัยวิธีการเลี้ยงแมลงด้วยอาหารเทียม (artificial diet)

<u>1.2 หลักปฏิบัติในการเลี้ยงแมลงวันผลไม้</u> : เลี้ยงแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยจำนวนมากประมาณ 20,000 ตัว ไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 65.5 x 69 x 77 ซม. กรงแมลงทำด้วยมุ้งลวดตาข่าย

อลูมิเนียมขนาด 16 เมซ ภายในกรงมีจานพลาสติกบรรจุอาหารสำหรับตัวเต็มวัย ซึ่งประกอบด้วยส่วนผสมโดยน้ำหนักดังนี้ น้ำตาล 10 ส่วน enzymatic protein hydrolysate (Amber series 100) 1 ส่วน และ yeast extract 1 ส่วน การให้น้ำจะใช้ขวดพลาสติกทรงกระบอกขนาด 6 x 7.5 ซม. ฝาขวดเจาะรูขนาด 1 มม. จำนวน 3 รู วิธีให้น้ำจะคว่ำขวดน้ำลงบนกระดาษกรองซึ่งวางอยู่บนหลังกรงเลี้ยงแมลง หลังจากเลี้ยงแมลงตัวเต็มวัยครบ 7 สัปดาห์ ทำลายแมลงที่ยังหลงเหลืออยู่ในกรงทั้งหมด ทำความสะอาดกรงเลี้ยงแมลงเพื่อเตรียมไว้สำหรับใส่แมลงในรุ่นใหม่ต่อไป ระหว่างการทดลองเตรียมแมลงตัวเต็มวัยอายุต่างๆ กันไว้ไม่น้อยกว่า 5 กรง มีแมลงมากกว่า 100,000 ตัว

1.3 การควบคุมคุณภาพของแมลงวันผลไม้ : แมลงวันผลไม้ซึ่งเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการจะต้องมีความแข็งแรงเพื่อที่ข้อมูลจากผลการศึกษาวิจัยจะได้ถูกต้องและเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของแมลงเป็นประจำ เพื่อที่จะสามารถพบสิ่งผิดปกติและแก้ไขได้ทันที โดยในการเลี้ยงแมลงแต่ละรุ่นจะตรวจสอบอัตราการฟักของไข่ (hatching rate) อัตราการออกเป็นตัวเต็มวัย (emerging rate) น้ำหนักของดักแด้ และอัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมีย (sex ratio)

3.ศึกษาเบื้องต้นวิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาด้วยวิธีการอบไอน้ำ

ดำเนินการทดลองโดยใช้เครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ “Sanshu” Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) (model : EHK-1000B, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จำนวน 2 เครื่อง ส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาที่ใช้ในการทดลองมี ขนาดกลาง น้ำหนัก 1,100 -1,300 กรัม/ผล แมลงวันทองระยะไข่อายุ 24 ชั่วโมง และหนอนวัยที่ 1 ได้จากแมลงวันทองตัวเต็มวัยซึ่งเลี้ยงไว้เป็นจำนวนมากในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียม (artificial diet) สูตรข้าวโพดป่น (Watanabe et al., 1973) โดยการศึกษาเปรียบเทียบความทนทานต่อความร้อนระหว่างระยะไข่และหนอนวัยที่ 1 ของแมลงวันทองในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งและขาวแตงกวา พบว่า หนอนวัยที่ 1 มีความทนทานต่อความร้อนมากกว่าไข่อายุ 24 ชั่วโมง ในการทดลองนี้ได้ศึกษาเพื่อยืนยันว่าหนอนวัยที่ 1 เป็นระยะการเจริญเติบของแมลงวันทองที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุด โดยการเตรียมส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาให้มีไข่และหนอนวัยที่ 1 อยู่ภายในผล ดำเนินการตามขั้นตอนและวิธีการปฏิบัติของ อุดร และ คณะ (2544 ก) โดยใส่ไข่และหนอนวัยที่ 1 จำนวนอย่างละ 200 ฟอง/ผล ทำการอบส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาด้วยวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) โดยช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลส้มโอขึ้นถึง 43 $^{\circ}$ซ. อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์

หลังจากนั้นจึงควรปรับเปลี่ยนเป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ โดยอบส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาให้อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที การวัดอุณหภูมิผลส้มโอที่ทดลองอาศัยการวัดจากส้มโอกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) จำนวน 3 ผล น้ำหนัก 1,200 ± 25 กรัม/ผล (1,175–1,225) กรัม/ผล เมื่ออบส้มโอครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำส้มโอที่ผ่านความร้อนออกจากเครื่องตู้อบความร้อน และทำการลดอุณหภูมิผลส้มโอทันทีโดยการเป่าด้วยพัดลมนาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model : SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จากนั้นเก็บส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวา ที่ทดลองตามรายละเอียดใน Unahawutti (2005) และบันทึกผลการทดลองหลังจากอบส้มโอ 7 วัน โดยการผ่าส้มโอแต่ละผล บันทึกจำนวนแมลงรอดชีวิต คำนวณอัตราการตายของแมลง ด้วยสูตรของ Abbott (Abbott, 1925)

4.ศึกษาความเสียหาย และคุณภาพของผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาจากวิธีการอบไอน้ำ

ทำการทดลองกับส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวา โดยการอบส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวา ด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified vapor heat treatment, MVHT) ซึ่งหลักการทำงานของวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในช่วงแรกจะเป็นการอบส้มโอโดยใช้อากาศร้อน (Hot air treatment, HAT) ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากส้มโอมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 43 °ซ. จึงปรับเปลี่ยนไปเป็นวิธีการอบไอน้ำ (Vapor heat treatment, VHT) อากาศร้อนอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยอบส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาให้อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลไว้ที่ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ซึ่งการวัดอุณหภูมิผลส้มโอที่ทดลองอาศัยการวัดจากส้มโอกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) จำนวน 3 ผล น้ำหนัก 1,000 ± 25 กรัม/ผล (975–1,025) กรัม/ผล เมื่ออบส้มโอครบตามอุณหภูมิ และระยะเวลาที่กำหนดไว้ นำส้มโอที่ผ่านความร้อนออกจากเครื่องตู้อบความร้อน และทำการลดอุณหภูมิผลส้มโอทันทีโดยการเป่าด้วยพัดลมนาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model : SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) จากนั้นแยกเก็บส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวา ที่ผ่านความร้อนด้วยวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ในสภาพอุณหภูมิต่ำ 5 และ 10 องศา

เซลเซียส ภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นขนาดเล็ก ตามรายละเอียดใน Unahawutti (2005) และบันทึกผลการทดลองหลังจากอบส้มโอ 7 วัน โดยการผ่าผลส้มโอแต่ละผล บันทึกลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสีผิวเปลือกส้มโอ และบันทึกผลค่าความเป็นกรด (acidity) และค่าความหวาน (brix) ของผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวา

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น กันยายน 2549 **สิ้นสุด** ตุลาคม 2555 **รวม** 5 **ปี**
โครงการวิจัยต่อเนื่องระยะเวลา 5 ปี ปีที่เสนอขอเป็นปีที่ 3

สถานที่

นครปฐม นครนายก ปราจีนบุรี เชียงราย เชียงใหม่ เลย ชัยนาท ชุมพร นครศรีธรรมราช เชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย ขอนแก่น สกลนคร กาฬสินธุ์ มหาสารคาม นครราชสีมา สุพรรณบุรี และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานกำจัดศัตรูพืชกักกัน กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ ชีววิทยา ของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของงานทดลองพบว่า พื้นที่ปลูกส้มโอกระจายอยู่ทั่วประเทศ ได้แก่ จังหวัดนครปฐม นครนายก ปราจีนบุรี เชียงราย เลย ชัยนาท ชุมพร และนครศรีธรรมราช (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541) นอกจากนี้ทำให้ทราบว่าขนาดของผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ใช้ทดลองสามารถแบ่งได้ 3 ขนาด คือ1.ขนาดเล็ก (S) มีน้ำหนัก 700 – 900 กรัม 2.ขนาดกลาง (M) มีน้ำหนัก 900 – 1,100 กรัม 3.ขนาดใหญ่ (L) มีน้ำหนัก 1,100 – 1,300 กรัม การเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) จำนวนมากด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดลองทำให้ได้ไข่ และหนอนของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* ในจำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว ในห้องปฏิบัติการ และเพียงพอต่อการทดลอง การศึกษาประสิทธิภาพเบื้องต้นของวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT 50% RH) ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเปรียบเทียบกับทองดี พบว่าวิธีการอบไอน้ำแบบ (MVHT 50%RH) โดยให้อุณหภูมิภายในสุดของผลส้มโอคงอยู่ที่ระดับอุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะหนอนวัยที่ 1 ซึ่งเป็นระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดได้ สำหรับผลการทดลองอยู่ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ข้อมูล และจากการศึกษาความเสียหายของส้มโอทั้ง 2 พันธุ์

โดยใช้วิธีการอบไอน้ำด้วยวิธีดังกล่าว โดยอบผลส้มโอที่อุณหภูมิภายในสุดของผลคงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ผลการทดลองอยู่ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ข้อมูล

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะประจำพันธุ์ ชีววิทยา ของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของงานทดลอง ซึ่งพื้นที่ปลูกส้มโอกระจายอยู่ทั่วประเทศ ได้แก่ จังหวัดนครปฐม นครนายก ปราจีนบุรี เชียงราย เลย ชัยนาท ชุมพร และนครศรีธรรมราช นอกจากนี้ทำให้ทราบว่าขนาดของผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ใช้ทดลองสามารถแบ่งได้ 3 ขนาด คือ1.ขนาดเล็ก (S) มีน้ำหนัก 700 – 900 กรัม 2.ขนาดกลาง (M) มีน้ำหนัก 900 – 1,100 กรัม 3.ขนาดใหญ่ (L) มีน้ำหนัก 1,100 – 1,300 กรัม
2. ได้ไข่ และหนอนของแมลงวันผลไม้จำนวนไม่ต่ำกว่า 50,000 ตัว ในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้สำหรับงานทดลอง
3. การศึกษาประสิทธิภาพเบื้องต้นของวิธีการอบไอน้ำแบบปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (Modified Vapor Heat Treatment, MVHT 50% RH) ในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวาเปรียบเทียบกับทองดี พบว่าวิธีการอบไอน้ำแบบ (MVHT 50%RH) โดยให้อุณหภูมิภายในสุดของผลส้มโอคงอยู่ที่ระดับอุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ในระยะหนอนวัยที่ 1 ซึ่งเป็นระยะที่ทนทานต่อความร้อนมากที่สุดได้
4. การศึกษาความเสียหายของส้มโอทั้ง 2 พันธุ์ โดยใช้วิธีการอบไอน้ำด้วยวิธีดังกล่าว โดยอบผลส้มโอที่อุณหภูมิภายในสุดของผลคงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง ผลการทดลองอยู่ในขั้นตอนของการวิเคราะห์ข้อมูล

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคุณอนุกูล อ้วนเส้ง คุณสมิทธิ์ อยู่เอี่ยม คุณมีนา จริงจิตร คุณกัลยา วงศ์สุวรรณ คุณประชุม นุ้ยจำนัล และคุณพิสมัย งามผิวเหลือง ที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลอง รวมถึงการเช็คผลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2541. ส้มโอไม้ผลเศรษฐกิจ. [ออนไลน์] [อ้างถึง 30 มีนาคม 2552] เข้าถึงได้จากอินเตอร์เน็ต : http://web.ku.ac.th/agri/somo2/index.html.

มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์. 2550. โรงงานอบไอน้ำเพื่อการส่งออก. คู่มืออารักขาพืช 13(1) : 2 หน้า.

ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2551. กำจัดแมลงวันทองด้วยความร้อนดันผลไม้ไทยโกอินเตอร์ฯ[ออนไลน์] [อ้างถึง 30 มีนาคม 2552] เข้าถึงได้จากอินเตอร์เน็ต : http://www.phtnet.org/news51/view-news.asp?nID=86.

อุดร อุณหวุฒิ สลักจิต พานคำ และ พิทวัฒน์ อ่อนทองหลาง. 2544 ก. ความทนทานต่อความร้อนของแมลงวันทองระยะไข่และหนอนในผลมังคุดต่อวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์, น. A1-A25. ใน รายงานความก้าวหน้า โครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมังคุดเพื่อการส่งออก. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

Unahawutti, U., C. Chettanachitara, M. Poomthong, P. Konson, E. Smitasiri, C. Lapasathukool, W. Worawisitthumrong and R. Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwun' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, D. *cucurbitae* Coquillett (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 108 p.

Unahawutti, U., M. Poomthong, R. Intarakumheng, W. Worawisitthumrong, C. Lapasathukool, E. Smitasiri, P. Srisoon and C. Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera : Tephritidae). Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 342 p.

Unahawutti, U. 2006. Development of Heated-Air Quarantine Treatment for Pummelo Infested with Oriental fruit fly (Diptera : Tephritidae). Proposed Research Protocol Plant Quarantine Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Chattuchak, Bangkok. 98 p.

Watanabe, N., F. Ichinohe and M. Sonda. 1973. Improvement of corn flour medium for larval culture of oriental fruit fly. Res. Bull. Plant Prot. Japan. 11: 57-58.

White, I.M. and M.M. Elson-Harris. 1992. Fruit flies of economic significance : Their identification and bionomics. CAB International, Wallingford, UK. 601 p.

วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลเงาะเพื่อการส่งออก

สลักจิต พานคำ อุดร อุณหวุฒิ รัชฎา อินทรกำแหง ชัยณรัตน์ สนศิริ
มลนิภา ศรีมาตรภิรมย์ จารุวรรณ จันทรา
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

อบเงาะ (*Nepherium lappaceum*) พันธุ์โรงเรียน โดยวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อน 2 กรรมวิธี คือ วิธีอบไอน้ำ และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อศึกษาความเสียหายของเงาะจากความร้อน และหากรรมวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนที่เหมาะสมสำหรับเงาะ โดยอบเงาะเพิ่มอุณหภูมิภายในสุดผลให้คงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 1 และ 2 ชั่วโมง และลดอุณหภูมิผลเงาะทันทีหลังสิ้นสุดการให้ความร้อนโดยเป่าด้วยลมนาน 1 ชั่วโมง การอบเงาะด้วยวิธีอบไอน้ำ ผลเงาะจะอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ตลอดเวลา ขณะที่วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์นั้น ในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลเงาะถึง 43 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศเป็น 65 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นความชื้นสัมพัทธ์ถูกปรับให้เพิ่มสูงขึ้นอยู่ที่ระดับมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์

โดยทั่วไปเงาะผ่านความร้อนมีการสูญเสียน้ำหนักมากขึ้น เมื่ออบเงาะเป็นเวลานานทั้ง 2 กรรมวิธี แตกต่างกันทางสถิติจากเงาะที่ไม่ผ่านความร้อน ในส่วนปริมาณน้ำตาล และความเป็นกรด ไม่แตกต่างกันทางสถิติจากเงาะที่ไม่ผ่านความร้อน เงาะเสียหายจากความร้อนแสดงอาการให้เห็นอย่างเด่นชัดคือ การเปลี่ยนแปลงสีเปลือกและขนแห้งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มจนถึงสีดำอย่างรวดเร็ว เป็นลักษณะความเสียหายของเงาะจากความร้อนที่สังเกตเห็นได้จากภายนอก เงาะผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ มีจำนวนเงาะแสดงอาการเปลือกและขนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มมีแนวโน้มรุนแรงมากกว่าเงาะผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ เมื่อพิจารณาข้อมูลจากงานวิจัยนี้ วิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำมีศักยภาพและความเหมาะสมกับเงาะมากกว่าวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ดังนั้นจึงควรเลือกวิจัยพัฒนาวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำเพื่อการยอมรับเป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในเงาะก่อนส่งออกไปยังประเทศที่มีความเข้มงวดด้านกักกันพืช

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-01-02-05-49

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งปลูกเงาะ (*Nepherium lappaceum*) มากที่สุด รองลงมาได้แก่ อินโดนีเซีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ มีพื้นที่ปลูกทั่วประเทศประมาณ 535,522 ไร่ มีผลผลิตรวม 683,921 ตัน พื้นที่ปลูกมากที่จังหวัดจันทบุรี ตราด สุราษฎร์ธานี และนครศรีธรรมราช ในปี 2549 มีการส่งออกเงาะบรรจุภาชนะอัดลมในปริมาณ 5,310 ตัน เป็นมูลค่า 170 ล้านบาท สำหรับเงาะสดมีการส่งออกในปี 2550 (ก.ค.) ปริมาณ 1,893 ตัน เป็นมูลค่า 30 ล้านบาท ปริมาณการส่งออกในปี 2549 ประมาณ 640 ตัน เป็นมูลค่า 17 ล้านบาท (ระบบข้อมูลเกษตรเพื่อการบริหารและประชาสัมพันธ์ การผลิตทางการเกษตร สถานการณ์เงาะ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ www.moac.go.th) ในแต่ละปีปริมาณการส่งออกมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อย ๆ แต่ตลาดกลับจำกัดอยู่เฉพาะเพียงไม่กี่ประเทศ เช่น จีน ฮ่องกง มาเลเซีย สิงค์โปร์ เป็นต้น ปัญหากักกันพืชเป็นสาเหตุสำคัญต่อการขยายตลาดส่งออก ประเทศญี่ปุ่นห้ามนำเข้าเงาะจากประเทศไทยโดยระบุว่า เป็นพืชอาศัยของแมลงศัตรูพืชร้ายแรงด้านกักกันพืช ได้แก่ แมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *Bactrocera dorsalis* species complex ความเสี่ยงที่เงาะจะนำศัตรูพืชร้ายแรงเข้าไปแพร่ระบาดที่ประเทศซึ่งไม่มีแมลงดังกล่าวนี้ จึงไม่อนุญาตให้นำเข้าเงาะจากประเทศไทย เว้นแต่จะต้องกำจัดแมลงวันผลไม้ก่อนส่งออกด้วยวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช (plant quarantine treatment) ที่ได้ตามมาตรฐานกำหนด

หลังการยกเลิกวิธีรมผลไม้กำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยสารเคมีเอธีลีนไดโบรไมด์ (Ethylene dibromide) เมื่อปี พ.ศ. 2527 วิธีกำจัดแมลงวันผลไม้ด้วยความร้อน (heat treatment) มีการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวางในหลายประเทศ รูปแบบการใช้ที่ได้รับความสนใจกันมากคือ การใช้น้ำเป็นสื่อความร้อน ได้แก่ วิธีจุ่มผลไม้ในน้ำร้อน (hot water treatment, HWT) และการใช้อากาศเป็นสื่อนำความร้อน ได้แก่ วิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) วิธีอบอากาศร้อน (hot air treatment, HAT) และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) วิธีการดังกล่าวข้างต้นมีการวิจัยพัฒนาจนเป็นที่ยอมรับของหน่วยงานกักกันพืชในหลายประเทศ ให้เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้กับผลไม้หลายชนิด รวมทั้งไม้ผลในตระกูลส้ม (*Citrus* spp.) เช่น ส้มเกรฟฟรุท (*Citrus paradisi* Macf.) (Miller and McDonald, 1991; Miller *et al.,*1991; Mangan and Ingle, 1994; Mangan *et al*., 1998) ส้มนาเวล ส้มวาเลนเซีย และส้มเกลี้ยง [*Citrus sinensis* (Linn.)] (Sharp and McGuire, 1996; Mangan *et al*., 1998)

ประเทศไทยประสบความสำเร็จในการศึกษาวิจัย การใช้ความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะม่วง (*Mangifera indica* Linn.) เมื่อปี พ.ศ. 2529 โดยพัฒนาวิธีอบไอน้ำเป็นวิธีกำจัดศัตรูพืช ด้านกักกันพืช เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ 2 ชนิด คือ oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*

(Hencel) และ melon fly, *B. cucurbitae* (Coquillett) ในผลมะม่วงพันธุ์หนังกลางวันก่อนส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศญี่ปุ่น กระบวนการอบไอน้ำประกอบด้วยการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงถึง 46.5 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมิ46.5 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ตลอดระยะเวลาการให้ความร้อนมะม่วง อากาศร้อนอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำความชื้นสัมพัทธ์ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (Unahawutti *et al*., 1986) แต่อย่างไรก็ดีกรรมวิธีอบไอน้ำดังกล่าวนี้ไม่สามารถใช้กับมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง เนื่องจากมะม่วงเหล่านี้ค่อนข้างจะอ่อนแอต่อความร้อนจึงได้รับความเสียหายจากความร้อนค่อนข้างมาก ต่อมาได้ปรับเปลี่ยนกระบวนการให้ความร้อนใหม่เป็นกรรมวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งมีประสิทธิภาพสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ดังกล่าวข้างต้นในมะม่วงครอบคลุมถึง 4 พันธุ์ คือ พันธุ์ หนังกลางวัน น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง กระบวนการกำจัดแมลงกรรมวิธีใหม่ประกอบด้วยการเพิ่มอุณหภูมิผลให้คงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที โดยในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิผลมะม่วงจากอุณหภูมิห้อง (ambient temperature) ถึง 43 องศาเซลเซียส อากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ระหว่าง 50-80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากอุณหภูมิผล 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนเป็นอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (Unahawutti *et al.*1991) นอกจากนี้แล้ว Unahawutti และคณะ (1999) ยังประสบความสำเร็จในการวิจัยพัฒนาวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในมังคุด *(Garcinia mangostana* Linn.) โดยใช้กระบวนการเดียวกันกับมะม่วงแต่คงอุณหภูมิผลไว้ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 58 นาที สามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *Batrocera dorsalis* species complex 4 ชนิด คือ carambola fruit fly, *B. carambolae* Drew and Hancock; *B. dorsalis* (Hendel); papaya fruit fly, *B. papayae* Drew and Hancock และ guava fruit fly, *B. pyrifoliae* Drew and Hancock ได้ตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชโดยไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของมังคุด

การกำจัดแมลงด้วยความร้อนมีข้อดีในด้านการกำจัดแมลงด้วยความร้อนนั้น นอกจากใช้กำจัดแมลงแล้ว ยังมีประสิทธิภาพ ในการกำจัดเชื้อรา ใช้ง่าย และ ไม่มีพิษตกค้าง สำหรับข้อเสียประการสำคัญคือ มีแนวโน้มสูงที่ทำให้ผลไม้เสียหาย (phytotoxicity) (Armstrong and Couey, 1989; Paull, 1990) เนื่องจากกระบวนการกำจัดแมลงซึ่งสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามมาตรฐานของวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชนั้น มักจะต้องให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเกินกว่าผลไม้จะทนทานได้ อีกทั้งผลไม้แต่ละชนิดทนความร้อนได้แตกต่างกัน ด้วยเหตุนี้งานวิจัยเพื่อให้ได้วิธีกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพผลไม้ จึงต้องทดลองกับผลไม้แต่ละชนิดและพันธุ์ รายงานผลการวิจัยต่อไปนี้มีวัตถุประสงค์หลักคือ 1. เพื่อศึกษาหาลักษณะอาการความเสียหายของเงาะจากความร้อน และ 2. เพื่อศึกษาหากรรมวิธีกำจัดแมลงด้วย

ความร้อนที่เหมาะสมที่สุดสำหรับเงาระหว่าง 2 กรรมวิธี คือ วิธีอบไอน้ำ และ วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ ที่ใช้ในการทดลองได้แก่

1. ตู้อบไอน้ำกำจัดแมลงขนาดเล็กสำหรับงานทดลองจำนวน 2 เครื่อง
2. ตู้ลดอุณหภูมิของผลไม้
3. เครื่องอ่างน้ำร้อน
4. เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์แบบต่อเนื่อง
5. ห้องเย็นสำหรับเก็บผลไม้สำหรับเก็บผลไม้ทดลอง
6. แท่งวัดอุณหภูมิขนาดเล็กสำหรับงานทดลอง
7. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดผลไม้
8. เครื่องวัดค่าความหวานของผลไม้
9. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับเก็บผลไม้ทดลอง ขนาดเล็ก โดยใช้อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส
   และความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์
10. ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสำหรับเก็บผลไม้ทดลอง ขนาดเล็ก 3 ตู้
11. ผลเงาะทดลอง
12. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่งสำหรับงานทดลอง
13. อุปกรณ์สำหรับใช้ในงานทดลอง ได้แก่ เครื่องแก้วต่างๆ จานทดลองขนาดเล็ก (plate)
    มีดปอกเปลือกผลไม้ หลอดดูดสารละลาย ถุงมือยาง ผ้าปิดปาก ถาดใส่ผลไม้ ถุงขยะดำ และอื่นๆ
14. อุปกรณ์ทำความสะอาดอื่นๆ

ขั้นตอนการดำเนินงานมีดังนี้

1. การจัดหาและการเตรียมเงาะก่อนเข้าตู้อบไอน้ำ
2. การเตรียมตู้อบไอน้ำ
3. การชั่งน้ำหนักเงาะและการคัดเลือกเงาะ
4. ขั้นตอนการนำเงาะเข้า และออกจากตู้อบไอน้ำ
5. การลดอุณหภูมิผลเงาะหลังการอบไอน้ำ

6. การจัดเก็บเงาะหลังการอบไอน้ำ
7. ความเสียหายหลังอบไอน้ำ การสูญเสียน้ำหนัก ค่าความหวาน และค่าความเป็นกรด
8. รวบรวม วิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผลการทดลอง

วิธีการทดลอง

ทำการทดลองกับเงาะพันธุ์โรงเรียน ผลขนาดกลางน้ำหนัก 30-40 กรัม/ผล อบเงาะเปรียบเทียบกันระหว่าง 2 วิธี คือ วิธีอบไอน้ำ และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ วิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนแต่ละกรรมวิธีมีลักษณะของการให้ความร้อนกับผลไม้แตกต่างกันดังรายละเอียดต่อไปนี้ วิธีอบไอน้ำ เป็นการอบเงาะในสภาพที่เงาะอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1) สำหรับวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ในช่วงแรกจะเป็นการอบเงาะโดยวิธีอบอากาศร้อนมีความชื้นสัมพัทธ์ 65 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเงาะอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียส จึงปรับเปลี่ยนเป็นวิธีอบไอน้ำอากาศร้อนอยู่ในสภาพที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2)

ดำเนินการทดลองโดยใช้เครื่องตู้อบความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ Vapor Heat Treatment System (Differential Pressure Type) รุ่น EHK-1000B จำนวน 2 เครื่อง ผลิตโดยบริษัท Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) เครื่องมีลักษณะเป็นตู้สแตนเลสสี่เหลี่ยมขนาด 1.03 x 3.10 x 1.81 เมตร ประกอบด้วย 3 ส่วนสำคัญดังนี้ คือ (1) ห้องบรรจุผลไม้สำหรับกำจัดแมลง (treatment chamber) (2) ส่วนควบคุมการทำงาน (instrumental and control panel) และ (3) ส่วนผลิตไอน้ำร้อน (temperature and humidity unit and refrigerating unit for cooling) เก็บเงาะทั้งหมดในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ก่อนการทดลองนำเงาะใส่ในถาดบรรจุผลไม้จำนวน 4 ถาด และนำไปชั่งให้แต่ละถาดมีเงาะจำนวน 40 ผล นำถาดบรรจุผลไม้จำนวน 3 ถาด ใส่เข้าไปในห้องบรรจุผลไม้ของเครื่องตู้อบความร้อน อบเงาะด้วย 2 วิธีการดังกล่าวข้างต้น โดยเพิ่มอุณหภูมิผลให้คงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง โดยแต่ละระยะเวลามีเงาะผ่านความร้อน จำนวน 40 ผล สำหรับเงาะที่ใช้เปรียบเทียบ (control) ไม่ต้องผ่านความร้อน วิธีวัดอุณหภูมิ ผลเงาะทดลองจะวัดอุณหภูมิจากเงาะกำหนดอุณหภูมิ (sensor fruit) จำนวน 3 ผล ซึ่งใช้เป็นตัวแทน แสดงอุณหภูมิของเงาะทั้งหมดภายในเครื่องตู้อบความร้อน โดยเสียบแท่งวัดอุณหภูมิปลายสุดของแท่งวัดอุณหภูมิอยู่ตรงกึ่งกลางผล นำเงาะกำหนดอุณหภูมิจำนวน 3 ผล ใส่วางแยกกันในถาดผลไม้ชั้นล่างสุด จำนวน 3 ถาด เมื่อเงาะกำหนดอุณหภูมิ 2 ผล เพิ่มขึ้นถึงอุณหภูมิกำหนดแสดงว่าขณะนั้นเงาะทั้งหมดในเครื่องตู้อบความร้อนมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกันกับเงาะกำหนดอุณหภูมิ เมื่อเงาะทดลองมีอุณหภูมิคงที่อยู่ เป็น

ระยะเวลานานตามกำหนด นำเงาะที่ระยะเวลานั้นออกจากเครื่องตู้อบความร้อน ลดอุณหภูมิผลเงาะทันทีหลังจากสิ้นสุดการให้ความร้อนด้วยวิธีเป่าด้วยลม นาน 1 ชั่วโมง ในเครื่องลดอุณหภูมิผลไม้ “Sanshu” Shower Cooling System (Differential Pressure Type) (model: SHS-12, Sanshu Sangyo Co., Ltd., Kagoshima, Japan) (ภาพที่ 7) จากนั้นแยกเงาะแต่ละกรรมวิธีเก็บไว้ในกล่องกระดาษลูกฟูกขนาด 26.5 x 33.5 x 15.5 เซนติเมตร โดยด้านยาวทั้งสองข้างเจาะรูกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร พร้อมทั้งปิดด้วยผ้าตาข่ายจำนวน 3 รู เก็บเงาะทั้งหมดไว้ในห้องอุณหภูมิ 10 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-80 เปอร์เซ็นต์ ตรวจผลการทดลองหลังจากเก็บเงาะไว้นาน 7 วันโดยใช้หลักเกณฑ์พิจารณาดำเนินการในหัวข้อต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. การสูญเสียน้ำหนัก (weight loss) : ศึกษาการสูญเสียน้ำหนักของเงาะโดยคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักที่สูญเสียไปด้วยวิธีการบันทึกน้ำหนักเงาะก่อนการทดลอง และในวันที่ตรวจผลการทดลองชั่งน้ำหนักผลเงาะอีกครั้งหนึ่ง

2. ปริมาณน้ำตาล (brix value) : ในการทดลองแต่ละครั้ง คั้นน้ำจากเนื้อเงาะที่ผ่านความร้อนและไม่ผ่านความร้อนจำนวน 15 ผล เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรด ปริมาณน้ำตาลในรูปปริมาณของของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS) มีหน่วยเป็นค่า องศา บริกซ์ (°Brix) การวัดปริมาณน้ำตาลจากเนื้อเงาะใช้เครื่อง digital refractometer (model : DBX-30, Atago Co.,Ltd., itabashi-ku, Tokyo, Japan)

3. ความเป็นกรด (acidity) : นำน้ำคั้นจากเนื้อเงาะไปตรวจสอบความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริก (citric acid) โดยใช้เครื่อง acilyzer รุ่น 5 (ภาพที่ 16, 17)

4. ความผิดปกติของผลเงาะ : ตรวจหาความผิดปกติที่ปรากฏบนผลเงาะ พร้อมทั้งบันทึกรายละเอียดของลักษณะอาการและจำนวนเงาะที่ผิดปกติ

นำข้อมูล การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล และความเป็นกรด วิเคราะห์ผลทางสถิติการตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้วิธีการตรวจสอบแบบ t-test

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ระยะเวลา : เริ่มต้น ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2551 รวมระยะเวลา 2 ปี

สถานที่ทำการทดลอง : กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการทดลองอบเงาะ พบว่าระยะเวลาที่อุณหภูมิภายในสุดผลเพิ่มขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส กรรมวิธีอบไอน้ำเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ใช้ระยะเวลานานเฉลี่ย 4.06 และ 4.17 ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เมื่อทดลองอบเงาะ จากผลการอบเงาะ 2 กรรมวิธีนั้น ระยะเวลาที่ใช้ในการอบเงาะให้อุณหภูมิขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส พบว่าวิธีอบไอน้ำใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

เนื่องจากการอบเงาะ 2 กรรมวิธีดังกล่าวข้างต้นมีข้อแตกต่างกันด้านสภาพความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศในห้องบรรจุผลไม้ ในระหว่างการอบเงาะด้วยวิธีอบไอน้ำซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ให้ความชื้นสัมพัทธ์อยู่ที่ 65 เปอร์เซ็นต์ในช่วงแรก และมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงหลังจากที่อุณหภูมิผลเงาะเพิ่มขึ้นถึง 43 องศาเซลเซียส ดังนั้นความแตกต่างของระยะเวลาระหว่างการให้ความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธี จึงชี้ให้เห็นว่า สภาพความชื้นสัมพัทธ์ในระหว่างให้ความร้อนเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อระยะเวลาการอบเงาะให้อุณหภูมิเพิ่มถึงกำหนด โดยอัตราการนำความร้อนผ่านเข้าไปในผลเงาะมีแนวโน้มรวดเร็วขึ้นเมื่อระดับความชื้นสัมพัทธ์สูงขึ้น

การสูญเสียน้ำหนัก: เก็บเงาะผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธี ไว้ที่ตู้ควบคุมที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน พบว่าเงาะที่ผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธีมีการสูญเสียน้ำหนักมากกว่าเงาะไม่ผ่านความร้อน และการสูญเสียน้ำหนักมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อเงาะถูกความร้อนเป็นระยะเวลานานขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม เงาะมีการสูญเสียน้ำหนักไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างเงาะผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธี แต่การสูญเสียน้ำหนักของเงาะผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธีแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเงาะที่ไม่ผ่านความร้อน เริ่มตั้งแต่เงาะได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานถึง 0 ชั่วโมง จนกระทั่งถึง 2 ชั่วโมง (ตารางที่ 2)

ปริมาณน้ำตาล: เงาะผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธี มีค่าปริมาณน้ำตาลไม่แตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ค่าปริมาณน้ำตาลยังไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างเงาะไม่ผ่านความร้อนและเงาะผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธีถึงแม้ว่าเงาะได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานถึง2ชั่วโมง
(ตารางที่ 3)

ความเป็นกรด: ค่าความเป็นกรดไม่แตกต่างกันทางสถิติในระหว่างเงาะผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธี เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเงาะผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธีและเงาะไม่ผ่านความร้อน

ปรากฏว่าค่าความกรดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ถึงแม้ว่าเงาะได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานถึง2 ชั่วโมง (ตารางที่ 4)

ความเสียหายของเงาะจากความร้อน : ส่วนประกอบต่าง ๆ ของผลเงาะ โดยทั่วไปเงาะมีเปลือกสีเหลืองจนกระทั่งสีแดงปลายขนสีเขียวจนถึงสีแดง ในช่วงของการเก็บเกี่ยว หลังจากนั้นเปลือกเงาะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีแดงอย่างช้า ๆ เงาะใช้ในการทดลองมีเปลือกสีแดงและขนสีเขียวแดง เมื่อนำมาผ่านความร้อน พบว่ามีลักษณะผิดปกติเกิดขึ้นกับสีเปลือกและขนของเงาะ เงาะที่ผ่านความร้อน เปลือกมีลักษณะแห้งเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ส่วนขนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มจนถึงสีดำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเงาะผ่านความร้อนกรรมวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ เปลือกและขนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มสังเกตเห็นได้อย่างเด่นชัด เงาะผ่านความร้อนที่ระยะเวลานานกว่ามีแนวโน้มพบลักษณะความเสียหายจากเปลือกและขนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเป็นพื้นที่มากกว่าเงาะผ่านความร้อนที่ใช้ระยะเวลาสั้น

จากตารางที่ 5 เป็นตารางเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความเสียหายที่แสดงอาการผิดปกติของเปลือกเงาะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1 และ 2 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับเงาะไม่ผ่านความร้อนหลังจากเก็บเงาะไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 10 ±2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน พบว่าเงาะผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำมีอาการเปลือกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม คิดเป็นร้อยละ 12.5, 27.5 และ 47.5 เปอร์เซ็นต์ และจากวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ความเสียหายที่เกิดขึ้นคิดเป็นร้อยละ 20, 52.5 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เงาะไม่ผ่านความร้อนพบความเสียหายจากอาการดังกล่าว

จากตารางที่ 6 เป็นตารางเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความเสียหายที่แสดงอาการผิดปกติของขนเงาะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1 และ 2 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับเงาะไม่ผ่านความร้อน หลังจากเก็บเงาะไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 10 ±2 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน พบว่าเงาะผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำมีอาการขนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเมื่อคิดเป็นร้อยละ 50, 87.5 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และจากวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ความเสียหายที่เกิดขึ้นคิดเป็นร้อยละ 87.5 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เงาะไม่ผ่านความร้อนพบความเสียหายจากอาการดังกล่าว 25 เปอร์เซ็นต์

จากทั้งตารางที่ 5 และ 6 เงาะผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง เปลือกและขนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเกือบทั้งหมด

ขณะที่เงาะไม่ผ่านความร้อน (control) ยังคงมีลักษณะสีผิวเปลือกและขนเป็นสีแดงปกติ เงาะผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ มีจำนวนเงาะที่แสดงอาการเปลือกเป็นสีน้ำตาลเข้มมีมากกว่าในเงาะผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ เมื่อผ่าเงาะเพื่อดูเนื้อด้านในจากเงาะที่แสดงอาการเปลือกและขนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ปรากฏว่าไม่พบลักษณะอาการผิดปกติบนเนื้อเงาะ สำหรับคุณภาพของเนื้อเงาะจากการตรวจสอบโดยวิธีการตรวจดูจากลักษณะภายนอก ผิวเนื้อเงาะดมกลิ่น ชิมรส ยังคงความหอมหวานไม่เปลี่ยนแปลง และไม่พบรสชาติของเนื้อเงาะผิดไปจากปกติ ถึงแม้เงาะได้รับความร้อนที่อุณหภูมิผล 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานถึง 2 ชั่วโมง ผลจากการอบเงาะผ่านความร้อน ทั้ง 2 ครั้ง สอดคล้องไปในทางเดียวตามกรรมวิธีที่ทำการทดลอง

ความเสียหายของผลไม้จากความร้อนแสดงอาการให้เห็นหลายลักษณะ ส้ม (*Citrus* spp.) หลายพันธุ์เสียหายจากความร้อนแสดงอาการมีกลิ่นเหม็น รสชาติเปลี่ยนแปลงไป ต่อมน้ำมันตรงบริเวณเปลือกมีสีเข้มขึ้น (Sinclair and Lindrem, 1955) ผลส้มอ่อนแอมากขึ้นต่อการทำลายของโรคเน่าในระหว่างการเก็บรักษา (Hallman *et al.,* 1990) นอกจากนี้ ส้มบางพันธุ์แสดงอาการเป็นรอยแผลด่างเกิดขึ้นบนเปลือก สีเปลือกเปลี่ยนไป และอาการเนื้อเยื่อที่เปลือกยุบตัวลงเป็นหลุม (Miller *et al*., 1989; Miller *et al.,* 1991) มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง เกิดความเสียหายจากความร้อนแสดงอาการสองลักษณะ คือ (1) จุดสีขาว (white spot) เกิดจุดสีขาวบนบริเวณผิวนอกของเปลือกแข็งที่ห่อหุ้มเมล็ด (endocarp) และ (2) เนื้อแตกเป็นรูพรุนลักษณะคล้ายฟองน้ำ (spongy tissue) เนื้อมะม่วงเกิดการรวมตัวยึดติดกับบริเวณผิวนอกของเปลือกแข็งที่หุ้มเมล็ด ทำให้เนื้อมะม่วงด้านในที่ติดกับเมล็ดเกิดรูพรุนสีขาวลักษณะคล้ายกับฟองน้ำ ลักษณะเนื้อแตกเป็นรูพรุนไม่ปรากฏอาการให้เห็นจนกว่ามะม่วงสุก (อุดรและคณะ, 2536) อาการเนื้อแตกเป็นรูพรุนสีขาวลักษณะคล้ายฟองน้ำพบเกิดขึ้นเช่นเดียวกันเมื่อใช้วิธีอบไอน้ำกับมะม่วงพันธุ์ ‘Kensington’ (Jacobi and Wong, 1992) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่ามะม่วงผ่านวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นและเนื้อเยื่อที่บริเวณเปลือกยุบตัวลงเกิดเป็นหลุมเล็กๆ (Miller *et.,* 1991)

กรณีของมังคุดเสียหายจากความร้อนแสดงอาการดังนี้คือ (1) เปลือกแข็ง (pericarb hardening) เปลือกมังคุดแห้งและแข็งมาก ทำให้ผลแข็งลักษณะคล้ายกับก้อนหิน ใช้มีดผ่าด้วยความลำบาก อีกทั้งสีของเปลือกนอกควรมีสีม่วงเข้มหรือดำทั่วทั้งผล กลับปรากฏรอยด่างไหม้สีน้ำตาลอ่อนเป็นแถบ ๆ หรือเกือบทั้งผล ความร้อนสูงทำให้การพัฒนาสีเปลือกมังคุดและความสุกผิดปกติไม่สัมพันธ์กัน (2) เนื้อยุบ (flesh pitting) เนื้อมังคุดมีลักษณะยุบตัวลงกลายเป็นหลุมเล็ก ๆ กระจายทั่วไปบนเนื้อมังคุด บางครั้งเนื้อที่ยุบตัวลงเป็นหลุมจะเชื่อมต่อกันเป็นแนวยาวสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน โดยส่วนใหญ่ปรากฏอาการตรงบริเวณขอบรอยต่อระหว่างกลีบของเนื้อมังคุด อาการเนื้อยุบหากเป็นไม่รุนแรงสังเกตเห็นไม่เด่นชัดและเนื้อยังคงบริโภคได้

(3) เนื้อแตกเป็นรูพรุนลักษณะคล้ายฟองน้ำ (flesh spongy tissue) เนื้อมังคุดแตกแยกออกจากกัน ทำให้เนื้อเป็นรูพรุนลักษณะคล้ายกับฟองน้ำ ความเสียหายดังกล่าวนี้เหมือนกับที่พบในมะม่วง ซึ่งเป็นความเสียหายจากความร้อนที่รุนแรง และ (4) เนื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (flesh browning) มังคุดผ่านความร้อนบางส่วนมีเนื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล มังคุดเสียหายจากอาการผลแข็งเนื้อแตกเป็นรูพรุน และเนื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ไม่สามารถนำมาบริโภคได้ นอกจากนี้ความเสียหายจากอาการเนื้อยุบ เนื้อแตกเป็นรูพรุน และเนื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ไม่แสดงอาการให้สังเกตเห็นได้จากภายนอก (Unahawutti *et al*., 1999) จากการศึกษาวิจัยในรายละเอียดต่อมาถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความเสียหายของมังคุดจากความร้อนพบว่า มีปัจจัยบางอย่างที่มีอิทธิพลทำให้ระดับความเสียหายของมังคุดลดลงเมื่อผ่านวิธีอบไอน้ำร้อนปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ได้แก่ ระดับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศร้อน (อุดร และ พิทวัฒน์, 2542 ค) ระยะความสุก (อุดร และ พิทวัฒน์, 2542 ฉ) และอุณหภูมิในระหว่างการเก็บรักษา (อุดร และ พิทวัฒน์, 2542 ช) ในขณะที่อีกหลายปัจจัยไม่สามารถลดความเสียหายของมังคุดจากความร้อน ได้แก่ระยะเวลาให้ความร้อน (อุดร และ พิทวัฒน์, 2542 ง) การลดอุณหภูมิมังคุดโดยวิธีการฉีดพ่นน้ำและอากาศ (อุดร และ พิทวัฒน์, 2542 จ) และเมื่อสิ้นสุดช่วงอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ (อุดร และ พิทวัฒน์, 2542 ช)

ความเสียหายจากความร้อนในมะละกอ (*Carica papaya* L.) แสดงอาการเมื่อมะละกอสุกเนื้อจะนิ่มและใสในขณะที่บางส่วนจับตัวกันเป็นก้อนแข็ง (lumpiness) ทำให้การสุกของเนื้อมะละกอผิดปกติไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งผล (Jones, 1939; Jones *et al*., 1939) ความร้อนที่อุณหภูมิสูงทำให้มะเฟือง (*Averrhoa carambola* L.) เกิดรอยแผลด่างสีน้ำตาลบนเปลือก (scald) และเป็นจุดสีน้ำตาล (brown spot) อย่างรุนแรงมากจนถึงระดับไม่เป็นที่ยอมรับของตลาด (Hallman, 1990; 1991) ผลมะเฟืองจะคล้ำมีสีเข้มขึ้นและริมขอบของกลีบมะเฟืองเป็นสีน้ำตาลเข้มคุณภาพเสื่อมลงอย่างรวดเร็ว การสูญเสียน้ำหนักมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลที่ไม่ผ่านความร้อน (Hallman, 1990; Miller *et al.,* 1990) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าความเสียหายจากความร้อนเกิดอาการเนื้อยุบตัวลงเป็นหลุมกับมะระ (*Momordica charantia* Linn.) (Sunagawa *et al.,* 1988) พริกยักษ์ (*Capsicum annuum* Linn) (Sunagawa *et al.,* 1989) และแตง (*Cucumis melo* var. *reticulatus*) (Iwata *et al.,* 1990)

การใช้ความร้อนกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว มีผลกระทบทำให้ผลไม้เกิดความเสียหายได้หลายลักษณะ อุดร และคณะ (2536) รายงานว่า ในการศึกษาคุณภาพผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง หลังจากผ่านวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนทำให้มะม่วงทั้ง 3 พันธุ์ เกิดความเสียหาย ซึ่งแสดงอาการให้เห็นสองลักษณะคือ เป็นจุดสีขาว (white spot) บนบริเวณผิวนอกของเปลือกแข็งที่ห่อหุ้มเมล็ด (endocarp) และเนื้อมะม่วงเกิดการรวมตัว

ยึดติดกับบริเวณผิวนอกของเปลือกแข็งที่หุ้มเมล็ด ทำให้เนื้อมะม่วงด้านในที่ติดกับเมล็ดเกิดรูพรุนสีขาวลักษณะคล้ายกับฟองน้ำ (spongy tissue) ลักษณะผิดปกติดังกล่าวนี้ไม่มีอาการบ่งแสดงปรากฏให้เห็นได้จากภายนอกผลมะม่วง นอกจากนี้ยังสังเกตพบว่าลักษณะเนื้อเป็นรูพรุนไม่ปรากฏอาการให้เห็นจนกว่ามะม่วงสุก อาการเนื้อเป็นรูพรุนสีขาวลักษณะคล้ายฟองน้ำพบเกิดขึ้นเช่นเดียวกันเมื่อใช้วิธีอบไอน้ำกับมะม่วงพันธุ์ 'Carabao' (Esguerra and Lizada, 1990) และพันธุ์ 'Kensington' (Jacobi and Wong, 1992) นอกจากนี้ Miller และคณะ (1991) ยังรายงานว่ามะม่วงที่ผ่านความร้อน มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นและเนื้อเยื่อที่บริเวณเปลือกยุบตัวลงเกิดเป็นหลุมเล็ก ๆ Kuo *et al.* (1987) วิจัยและพัฒนากระบวนการอบไอน้ำสำหรับกำจัดแมลงวันทองและแมลงวันแตงในผลมะม่วงพันธุ์ "Harden" และ "lewin" ซึ่งประกอบด้วยการอบมะม่วงภายใต้สภาพอากาศร้อนอิ่มตัวด้วยไอน้ำ อุณหภูมิ 47.5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งเนื้อมะม่วงตรงบริเวณที่ติดกับเมล็ดอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 46.5 องศาเซลเซียส และคงความร้อนภายในผลที่อุณหภูมิ 46.5 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 30 นาที นอกจากนี้ ยังมีการพัฒนากระบวนการอบไอน้ำสำหรับมะเฟือง โดยอบมะเฟืองภายใต้สภาพอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ จนกระทั่งอุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่ 44.2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง 30 นาที (Kau *et al.,*1989) ประเทศไต้หวัน ยังประสบความสำเร็จ ในการวิจัยและพัฒนากระบวนการอบไอน้ำ 2 กระบวนการ สำหรับกำจัดแมลงวันทองและแมลงวันแตงในผลลิ้นจี่ก่อนส่งออกไปจำหน่ายยังประเทศญี่ปุ่น (Tseng *et al*., 1992) กระบวนการที่ 1 ประกอบด้วยการอบลิ้นจี่ ด้วยวิธีอบไอน้ำควบคู่กับการเก็บลิ้นจี่ที่อุณหภูมิต่ำ โดยอบลิ้นจี่เพิ่มอุณหภูมิภายในสุดผลขึ้นถึง 46.2 องศาเซลเซียส นาน 20นาที หลังจากนั้น นำลิ้นจี่ไปเก็บที่ห้องเย็นที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ต่อไปอีกเป็นเวลานาน 42 ชั่วโมง (Kuo, 1988) ส่วนกระบวนการที่ 2 จะอบลิ้นจี่ด้วยวิธีอบไอน้ำจนกระทั่งอุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่ 47 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (Kau *et al*.,1990) เมื่ออุณหภูมิภายในสุดผลของมะม่วงเพิ่มขึ้นถึง 46.5 องศาเซลเซียส และปล่อยให้คงที่ระดับอุณหภูมินี้ต่อไปอีก 10 นาที ขณะที่ภายในห้องอบไอน้ำบรรจุมะม่วง 150 กก/ลบ.ม. ระยะเวลาที่ใช้ในการอบไอน้ำสามารถกำจัดแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด อย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่ทำให้คุณภาพของมะม่วงพันธุ์หนังกลางวันเปลี่ยนแปลงไปจากปกติ (อุดรและคณะ 2529; Unahawutti *et al.,*1986)

Iwata et al. (1990) ได้วิจัยพัฒนากระบวนการอบไอน้ำเพื่อใช้เป็นวิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช สำหรับกำจัดแมลงวันแตงในผลแตง (Netted melon) ปลูกที่โอกินาวา โดยไข่ของแมลงวันทองจำนวนประมาณ 140,356 ฟอง ในผลแตงตายทั้งหมดเมื่อผ่านการอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส จนกระทั่งอุณหภูมิภายในสุดผลคงอยู่ที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที กระบวนการอบไอน้ำดังกล่าว น้ำไม่มีผลกระทบต่อการสูญเสียน้ำหนัก ความเป็นกรด

ปริมาณน้ำตาล และรสชาติของผลแตง ถ้าอุณหภูมิสูงขึ้นถึง 47 องศาเซลเซียส เปลือกของผลแตงจะปรากฏรอยแผลสีน้ำตาล หรือเกิดการยุบตัวของเนื้อ แต่อย่างไรก็ดี คุณภาพของเนื้อและน้ำของผลแตงไม่ได้รับผลกระทบ เช่นเดียวกันกับอาการผิดปกติของเงาะ ซึ่งมีอาการที่แสดงจากภายนอกให้เห็นอย่างชัดเจนว่าเงาะมีอาการผิดปกติสังเกตเห็นได้จากเปลือกและขนแห้งเปลี่ยนเป็น สีน้ำตาลเข้ม แต่ในส่วนเนื้อเงาะกระบวนการอบไอน้ำดังกล่าวนี้ไม่มีผลกระทบต่อ ความเป็นกรด ปริมาณน้ำตาล และรสชาติของผลเงาะไม่มีผลกระทบที่ก่อให้เกิดความเสียหายกลับเป็นผลดีกับเนื้อเงาะ โดยสังเกตได้จากเงาะที่ไม่ผ่านความร้อนลักษณะภายนอกทั้งผิวเปลือกและขนผิวเปลือกและขนจะดูสดสวยมากกว่าเปลี่ยนแปลงไม่มากนักพอยอมรับได้ แต่เมื่อแกะดูเนื้อเงาะภายในจะพบว่าเนื้อเงาะมีความฉ่ำน้ำ เนื้อไม่กรอบ ซึ่งตรงกันข้ามกับเงาะที่ผ่านความร้อน ลักษณะเนื้อเงาะจะแห้ง เนื้อกรอบอร่อย ถึงแม้ว่าจะใช้เวลาในการอบเงาะนานถึง 2 ชั่วโมง ดังนั้นควรจะส่งออกเงาะในรูปเงาะตัดแต่งหรือเงาะแกะเปลือกพร้อมรับประทานน่าจะมีความเป็นไปได้มากกว่า หรือจะต้องหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับเงาะก่อนการอบหรือหลังการอบไอน้ำเพื่อลดความเสียหายที่เกิดขึ้นกับเปลือกและขนเงาะต่อไป

การกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอ (*Carica papaya* Linn.) ด้วยความร้อนส่งผลให้คุณภาพผลมะละกอเปลี่ยนแปลงไป เมื่อมะละกอสุกเนื้อจะนิ่มและใสในขณะที่บางส่วนจับตัวกันเป็นก้อนแข็ง (lumpiness) ทำให้การสุกของเนื้อมะละกอผิดปกติไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งผล (Jones,1939; Jones *et al*., 1939) การใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงทำให้มะเฟือง (*Averrhoa carambola* Linn.) เกิดรอยแผลด่างสีน้ำตาลบนเปลือก (scald) และเป็นจุดสีน้ำตาล (brown spot) อย่างรุนแรงมากจนถึงระดับไม่เป็นที่ยอมรับของตลาด (Hallman, 1990; 1991) นอกจากนี้ยังพบว่าผลมะเฟืองจะคล้ำมีสีเข้มขึ้น และริมขอบของกลีบมะเฟืองเป็นสีน้ำตาลเข้มคุณภาพเสื่อมลงอย่างรวดเร็ว การสูญเสียน้ำหนักมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลที่ไม่ผ่านความร้อน (Hallman, 1990; Miller *et al*., 1990) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าวิธีอบไอน้ำทำให้เกิดอาการเนื้อยุบตัวลงเป็นหลุมกับมะระ (*Momordica charantia* Linn.) (Sunagawa *et al*., 1988) พริกยักษ์ (*Capsicum annuum* Linn) (Sugimoto *et al*., 1983) และ แตง (*Cucumis melo* var. *reticulatus*) (Iwata *et al*., 1990)

Sinclair and Lindgren (1955) รายงานว่าความร้อนทำให้ผลส้ม (*Citrus* spp.) หลายพันธุ์มีกลิ่นเหม็นและรสชาติเปลี่ยนไป ต่อมน้ำมันตรงบริเวณเปลือกมีสีเข้มขึ้นและยังทำให้ผลส้มอ่อนแอมากขึ้นต่อการเข้าทำลายของโรคเน่าในระหว่างการเก็บรักษา (Hallman *et al*., 1990) ในผลส้มบางพันธุ์พบอาการเป็นรอยแผลด่างเกิดขึ้นบนเปลือกผลส้ม สีเปลือกเปลี่ยนไปและอาการเนื้อเยื่อที่เปลือกยุบตัวลงเป็นหลุม (Miller *et al*., 1989; 1991)

Jones และคณะ (1939) รายงานว่า การใช้วิธีอบไอน้ำกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลมะละกอ ซึ่งต้องใช้เวลานานประมาณ 8 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มอุณหภูมิผลขึ้นถึง 43.3 องศาเซลเซียส และคงอุณหภูมิผลไว้ที่ 43.3 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง หากมะละกออยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำ ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ตลอด 16 ชั่วโมง มะละกอมักจะเสียหายอย่างรุนแรง แต่ถ้าปรับเปลี่ยนกรรมวิธีให้ความร้อนโดยปรับความชื้นสัมพัทธ์ให้ลดต่ำลงเหลือเพียง 80 หรือ 60 เปอร์เซ็นต์ ในช่วง 8 ชั่วโมงแรก และเพิ่มขึ้นเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ใน 8 ชั่วโมงหลัง จะไม่ปรากฏความเสียหายบนผลมะละกอ Jones และคณะ (1939) รายงานว่า สภาพอากาศอิ่มตัวด้วยไอน้ำระหว่างการอบมะละกอ ด้วยวิธีอบไอน้ำ เป็นสาเหตุสำคัญทำให้มะละกอเกิดความเสียหาย เนื่องจากไอน้ำในอากาศกลั่นตัวเป็นหยดน้ำเกาะอยู่โดยรอบผลมะละกอขัดขวางการดูดออกซิเจนจากอากาศและการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการหายใจออกจากผลไม้ ถึงแม้ว่าอัตราการแลกเปลี่ยนก๊าซเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิผลไม้สูงขึ้นก็ตาม แต่สภาพการขาดออกซิเจน (annaerobic condition) อย่างรุนแรงอาจจะเกิดขึ้นได้หากผิวนอกของผลไม้เปียก การหายใจของมะละกอจะไม่ถูกขัดขวางเมื่ออากาศรอบผลมะละกอมีปริมาณความชื้นน้อย แต่ในกรณีของเงาะซึ่งลักษณะภายนอกของผลเงาะแตกต่างไปจากผลมะละกอตรงที่มีขนขนาดเล็กบาง โดยทั่วไปเมื่อไหร่ที่ขนเงาะขาดความชื้นสัมพัทธ์ก็จะแสดงลักษณะอาการเหี่ยวแห้งได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นตลอดระยะเวลาการอบผลเงาะด้วยวิธีอบไอน้ำ ผลเงาะอยู่ภายใต้สภาพอากาศร้อนที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์และใช้ระยะเวลาในการผ่านความร้อนสั้นกว่าวิธีการอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ 65 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นวิธีอบไอน้ำทำให้เกิดความเสียหายน้อยกว่ากับผลเงาะ จึงน่าจะมีสาเหตุสำคัญจากปัจจัยสภาพอากาศร้อนที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำที่ไม่เหมือนกับที่เกิดขึ้นกับมะละกอ

ผลไม้เกิดความเสียหายได้ในทุกๆ ขั้นตอนของการจัดการทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กับผลไม้ที่ต้องผ่านวิธีการกำจัดศัตรูพืชก่อนส่งออกเพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขด้านกักกันพืช วิธีการกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืชนั้นต้องมีทั้งประสิทธิภาพในการกำจัดศัตรูพืชและ ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลไม้ ถ้าหากทำให้คุณภาพของผลไม้เสื่อมเสียไปแล้วถือว่าวิธีการนั้นไม่มีประสิทธิภาพอย่างแท้จริง ดังนั้นวิธีการใดก็ตามที่ใช้สำหรับกำจัดแมลงศัตรูพืชในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยวควรจะมีผลทำให้ผลไม้เกิดความเสียหายน้อยที่สุด ความเสียหายของผลไม้จากวิธีการกำจัดศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวนั้น แสดงออกโดยสูญเสียคุณสมบัติด้านการตลาดหลายรูปแบบ ได้แก่ สีผล อายุการเก็บรักษา รูปลักษณ์ภายนอก เนื้อ การสุก รสชาติ กลิ่น และความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุของโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว (Goodwin and Jamikorn, 1952; McDonald and William, 1994) การที่คุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นลดลงหรือผิดไปจากปกติจะมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งคงจะไม่ยินดีที่จะจ่ายเงินจำนวนมากเพื่อแลกกับผลไม้ที่มี

คุณภาพต่ำ แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาวิจัยพบว่า มีปัจจัยหลายอย่างทำให้ผลไม้ทนต่อความร้อนแตกต่างกัน เช่น พันธุ์ ขนาดผล อายุผลไม้ ระดับความสุกของผลไม้เมื่อนำผลไม้มาผ่านความร้อน แหล่งปลูก เป็นต้น นอกจากนี้ยังรวมถึงวิธีการลดอุณหภูมิผลไม้ และการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว (Jones, 1942; Sinclair and Lindgren, 1955; Claypool and Vines, 1956; Armstrong *et al*., 1989; Sharp *et al*., 1989; Paull, 1990; Esquerra and Lizada, 1990) จากการศึกษาความเสียหายของเงาะจากการอบความร้อน พบว่า ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัด คือ ลักษณะอาการเปลือกและขนแห้งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะอาการดังกล่าวนี้น่าจะเป็นอาการความเสียหายภายนอกที่เกิดจากความร้อน ความแตกต่างของความเสียหายที่เกิดขึ้นจากเงาะที่ผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธี พบว่าจำนวนผลเงาะที่แสดงอาการเปลือกและขนแห้งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจากกรรมวิธีอบไอน้ำมีน้อยกว่า ดังนั้นกรรมวิธีที่เหมาะสมคือวิธีอบไอน้ำ

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาความเสียหายในผลเงาะระหว่างวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อน 2 กรรมวิธี คือ วิธีอบไอน้ำและวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ โดยให้ความร้อนกับเงาะเพิ่มอุณหภูมิภายในสุดผลให้คงอยู่ที่ 46 องศาเซลเซียส นาน 0, 1 และ 2 ชั่วโมง สรุปผลได้ดังนี้

1. ผล เงาะที่ผ่านความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธี มีการสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณน้ำตาล และความเป็นกรด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับเงาะที่ไม่ผ่านความร้อน เงาะที่ผ่านความร้อนมีการสูญเสียน้ำหนักมากขึ้นเมื่ออบความร้อนเป็นระยะเวลานานขึ้น

2. วิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อนทั้ง 2 กรรมวิธี ทำให้สีเปลือกและขนของผลเงาะแห้งเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เงาะที่ผ่านวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์มีความเสียหายต่อสีเปลือกและขนค่อนข้างรุนแรงกว่า ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการอบเงาะด้วยวิธีอบไอน้ำให้คุณภาพผลดีกว่าวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

3. จากผลการทดลองนี้และข้อมูลงานวิจัยที่ผ่านมา กรรมวิธีอบไอน้ำมีความเหมาะสมสำหรับการวิจัยและพัฒนาให้เป็นวิธีกำจัดศัตรูพืชด้านกักกันพืช เพื่อกำจัดแมลงวันผลไม้ในเงาะก่อนการส่งออกมากกว่าวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณอนุกูล อ้วนเส้ง คุณประชุม นุ้ยจำนัล คุณกัลยา วงค์สุวรรณ คุณมีนา จริงจิตร คุณสมิทธิ์ อยู่เอี่ยม คุณพิศมัย งามผิวเหลือง คุณนวลนิสา ตั้งสัจจะกุล และคุณศรีไพร อินมาก ที่มีส่วนช่วยในการเตรียมการทดลอง รวมถึงตรวจผลการทดลอง สุดท้ายขอขอบคุณ คุณวรัญญา มาลี ที่มีส่วนช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

สถานการณ์เงาะ สหกรณ์ [ปริมาณการส่งออกในปี 2549, เงาะสดมีการส่งออกในปี 2550 (กค.)] [ออนไลน์] [อ้างถึง 30 พฤศจิกายน 2551] เข้าถึงได้จากอินเตอร์เนต: http://www.moac.go.th ระบบข้อมูลเกษตรเพื่อการบริหารและประชาสัมพันธ์ การผลิตทางการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์

อุดร อุณหวุฒิ, วลัยกร วรวิศิษฎ์ธำรง, รัชฎา อินทรกำแหง, มานะ พุ่มทอง และ ประเทือง ศรีสุข. 2536.คุณภาพมะม่วงน้ำดอกไม้ แรด และพิมเสนแดง หลังจากผ่านกระบวนการอบไอน้ำ. วารสาร วิชาการ กรมวิชาการเกษตร. 11: 31-44.

อุดร อุณหวุฒิ, พิทวัฒน์ อ่อนทองหลาง. 2542 ก.ความเสียหายของมังคุดจากวิธีการกำจัดแมลงด้วยความร้อน, น. C1-C44. ในรายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมังคุดเพื่อการส่งออก. สำนักงานกองทุนสนันสนุนงานวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ

_____. 2542 ข. คุณภาพมังคุดหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์และวิธีอบอากาศร้อน. น. D1-D37. ใน รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมังคุดเพื่อการส่งออก. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพ ฯ.

_____. 2542 ค. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความเสียหายจากความร้อนของมังคุดซึ่งผ่านการวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 1, ความชื้นสัมพัทธ์. น. E1-E36. ใน รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมังคุดเพื่อการส่งออก. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

_____. 2542 ง. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความเสียหายจากความร้อนของมังคุดซึ่งผ่านการวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 2, ระยะเวลาการให้ความร้อน. น. F1-F26. ใน รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมังคุดเพื่อการส่งออก. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

_____. 2542 จ. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความเสียหายจากความร้อนของมังคุดซึ่งผ่านการวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์, การลดอุณหภูมิผลมังคุด. น. G1-G16. ใน รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัด

แมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมังคุดเพื่อการส่งออก. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

_____. 2542 ฉ. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความเสียหายจากความร้อนของมังคุดซึ่งผ่านการวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 4, ระยะความสุก. น. H1-H17 ใน รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมังคุดเพื่อการส่งออก. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

_____. 2542 ช. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความเสียหายจากความร้อนของมังคุดซึ่งผ่านการวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 1, อุณหภูมิเมื่อสิ้นสุดอากาศร้อนความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ. น. I11-I13. ใน รายงานผลงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันทองในผลมังคุดเพื่อการส่งออก. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพ ฯ.

Armstrong, J.W., J.D. Hansen, B.K.S. Hu and S.A. Brown. 1989. Hight-temperature forced-air quarantine treatment for papayas infested with tephritid fruit flies (Diptera:Tephritidae). Journal of Economic Entomology. 82: 1667-1674.

Claypool, L.L. and H.M. Vines. 1956. Commodity tolerance studies of deciduous fruits to moist heat and fumigants. Hilgardia. 24: 297-355.

Goodwin, T.W. and M. Jamikorn. 1952. Biosynthesis of carotenes in ripening tomatoes. Nature. 170: 104-105.

Hallman, G.J. 1990. Vapor-heat treatment of carambolas infested with Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). Journal of Economic Entomology. 83: 2340-2342.

_____ . 1991. Quality of carambolas subjected to postharvest hot water immersion and vapor heat treatments. HortScience. 26: 286-287.

Hallman, G.J., J.J. Gaffney and J,L. Sharp. 1990. Vapor heat treatment for grapefruit infested with Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). Journal of Economic Entomology. 83: 1475-1478.

Iwata, Masaaki, Kunio Sugagawa, Kazunori Kume and Akihiko Ishikawa. 1990. Efficacy of vapor heat treatment on netted melon infested with melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae). Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan. 26: 45-49.

Jacobi, K.K. and Wong L.S. 1992. Quality of 'Kensington' mango (*Mangifera indica* Linn.) following hot water and vapour heat treatments. Postharvest Biology and Technology.
1: 349-359.

Jones, W.W. 1939. The influence of relative humidity on the respiration of papaya at high temperatures. American Society of Horticultural Science. 37: 119-124.

_____ . 1942. Respiration and chemical changes of the papaya fruit in relation to temperature. Plant Physiology. 17: 481-486.

Jones, W.W., J.J. Holzmann and A.G. Galloway. 1939. The effect of high temperature sterilization on Solo papaya. Hawaii Agricultural Experiment Station. Circular. 14. 8 p.

Kuo, L.S., C.Y. Hseu, H.Y. Chen, Y.F. Chao, and J.Z. Ho. 1990. Further study on vapour heat treatment for eradication of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* infested in litchi fruits (Diptera: Tephritidae). Taiwan Bureau of Commodity Inspection and Quarantine, Ministry of Economic Affairs. Taipei

Kuo, L.S., C.Y. Su, C.Y. Hseu. Y.F. Chao. H.Y. Chen, J.Y. Liao and C.F. Chu. 1989. Vapor heat treatment for elimination of *Dacus dorsalis* infesting carambola fruits. Taiwan Bureau of Commodity Inspection and Quarantine, Ministry of Economic Affairs. Taipei

Kuo, L.S., C.Y. Su, C.Y. Hseu. Y.F. Chao. H.Y. Chen, J.Y. Liao and W.C. Huang. 1987. Vapor heat treatment for elimination of *Dacus dorsalis* and *Dacus cucurbitae* infesting mango fruits. Taiwan Bureau of Commodity Inspection and Quarantine, Ministry of Economic Affairs. Taipei

Mangan, R.L. and S.J. Ingle. 1994. Forced hot-air quarantine treatment for grapefruit infested with Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae). Journal of Economic Entomology. 87: 1574-1579.

McDonald, R.E. and W.R. Miller. 1994. Quality and condition maintenance. *In*: J.L. Sharp and G.J. Hallman (eds.), Quarantine treatment for pests of food plants. Westview Press, Inc., Boulder, Colorado, USA. pp. 249-277.

Miller, W.R., R.E. McDonald, G.J. Hallman and M. Ismail. 1989. Phytotoxicity of hot water and vapor heat treatments to Florida grapefruit. Proceedings, International

Conference on Technical Innovation in Freezing and Refrigeration of Fruits and Vegetables. Commissions C2, D1, D2, and D3. University of California at Davis. pp. 207-212.

Miller, W.R. R.E. McDonald and J.L. Sharp. 1990. Condition of Florida carambolas after hot-air treatment and storage. Proceedings, Florida State Horticultural Society. 103: 238-241.

_____. 1991. Quality changes during storage and ripening of 'Tommy Atkins' mangoes treated with heated forced air. HortScience. 26: 395-397.

Miller, W.R., R.E. McDonald, G.J. Hallman and J.L. Sharp. 1991. Condition of Florida grapefruit after exposure to vapor heat quarantine treatment. HortScience. 26: 42-44.

Paull, R.E. 1990. Postharvest heat treatment and fruit ripening. Postharvest News and Information.
1: 355-363.

Sharp, J.L. 1994. Hot water immersion. *In*: J.L. Sharp and G.J. Hallman (eds.), Quarantine treatment for pests of food plants. Westview Press, Inc., Boulder, Colorado, U.S.A. pp. 133-147.

Sinclair, W.B. and D.L. Lindgren. 1955. Vapor heat sterilization of California citrus and avogado fruits against fruit-fly insects. Journal of Economic Entomology. 48: 133-138.

Sugimoto, Tamio, Kenji Furusawa and Mitsusada Mizobuchi. 1983. The effectiveness of vapor heat treatment against the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel in green pepper and fruit tolerance to the treatment. Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan. 19: 81-88.

Sunagawa, Kunio, Kazunori Kume and Akihiko Ishidawa. 1988. Efficacy of vapor heat treatment for bitter momordica fruit infested with melon fly, *Dacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae). Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan. 24: 1-5.

Sunagawa, Kunio, Kazunori Kume, Akihiko Ishikawa and Ren Iwaizumi. 1989. Efficacy of vapor heat treatment for papaya fruit with melon fly, *Dacus cucurbitae* (Coquillett)

(Diptera: Tephritidae). Research Bulletin of the Plant Protection Service Japan. 25: 23-30.

Tseng, Y.H., L.S. Kuo and J.Z. Ho. 1992. Development of quarantine sterilization techniques on fruits in Taiwan. Proceeding of ASIAN Productivity Organization Study Meeting on Plant Quarantine, March, Taipei, Taiwan, Republic of China. (In press)

Unahawutti, Udorn, Chamlong Chettanachitara, Mana Poomthong, Puangpaka Komson, Eueychai Smitasiri, Chamlong Lapasathukool, Walaikorn Worawisitthumrong and Rachada Intarakumheng. 1986. Vapor heat treatment for 'Nang Klarngwan' mango, *Mangifera indica* Linn., infested with eggs and larvae of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis* Hendel and the melon fly, *D. cucurbitae* Coquillett (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 108 p.

Unahawutti, Udorn, Mana Poomthong, Rachada Intarakumheng, Walaikorn Worawisitthumrong, Chamlong Lapasathukool, Eueychai Smitasiri, Pratuang Srisook and Chanuan Ratanawaraha. 1991. Vapor heat as plant quarantine treatment of 'Nang Klarngwan', 'Nam Dorkmai', 'Rad' and 'Pimsen Daeng' mangoes infested with fruit flies (Diptera: Tephritidae). A report submitted to the Japanese Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries for approval of quarantine treatment on Thai mangoes to be exported to Japan. Technical Plant Quarantine Sub-Division, Agricultural Regulatory Division, Department of Agriculture, Bangkok. 342 p.

ตารางที่ 1 ระยะเวลาที่อุณหภูมิภายในสุดผลเงาะเพิ่มขึ้นถึง 46 องศาเซลเซียส ในการทดลองอบเงาะเปรียบเทียบกันเป็นคู่ระหว่างวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT)

การทดลองครั้งที่	น้ำหนักเงาะกำหนดอุณหภูมิ(กรัม)		ปริมาณเงาะในตู้ (กก/ลบ.ม.)		ระยะเวลา[1/] (ชั่วโมง)	
	VHT	MVHT	VHT	MVHT	VHT	MVHT
1	35.17	35.11	4.08	4.00	3.58	4.19
	35.13	35.11				
	35.61	35.20				
2	35.99	36.39	4.02	4.20	4.13	4.15
	35.65	36.04				
	35.87	35.20				
ค่าเฉลี่ย			4.05	4.10	4.06	4.17

[1/] ระยะเวลาที่อุณหภูมิผลเพิ่มขึ้นถึงที่กำหนดจากเงาะกำหนดอุณหภูมิจำนวน 2 ผล

ตารางที่ 2 การสูญเสียน้ำหนัก (%) ของเงาะหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 10± 1 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

การทดลองครั้งที่	กรรมวิธี	การสูญเสียน้ำหนัก (%)[1/]		
		0 ชั่วโมง	1 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
1	VHT	8.58	10.80	10.94
	MVHT	9.31	11.62	11.70
	ไม่ผ่านความร้อน	7.90		
	t-test VHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	**	**
	t-test MVHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	**	**	**
	t-test VHT เทียบกับ MVHT	ns	ns	ns
2	VHT	9.29	10.58	11.03
	MVHT	8.8	11.28	11.97
	ไม่ผ่านความร้อน	7.11		
	t-test VHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	**	**	**
	t-test MVHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	**	**	**
	t-test VHT เทียบกับ MVHT	ns	ns	ns

[1/] ค่าเฉลี่ยจากเงาะ 40 ผล

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ ** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำตาล (°Brix) ของเงาะหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 10±1 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

การทดลอง		ปริมาณน้ำตาล (°Brix) [1/]		
ครั้งที่	กรรมวิธี	0 ชั่วโมง	1 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
1	VHT	19.60	19.13	19.56
	MVHT	19.46	19.44	19.51
	ไม่ผ่านความร้อน	19.70		
	t-test VHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test MVHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test VHT เทียบกับ MVHT	ns	ns	ns
2	VHT	19.53	19.32	19.60
	MVHT	19.15	19.59	19.51
	ไม่ผ่านความร้อน	19.59		
	t-test VHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test MVHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test VHT เทียบกับ MVHT	ns	ns	ns

[1/] ค่าเฉลี่ยจากเงาะ 40 ผล

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 4 ความเป็นกรด (%) ของเงาะหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment,VHT) และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่าง ๆ และเก็บไว้นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 10±1 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75 ± 5 เปอร์เซ็นต์

การทดลองครั้งที่	กรรมวิธี	ความเป็นกรด (%)[1/]		
		0 ชั่วโมง	1 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
1	VHT	0.53	0.53	0.55
	MVHT	0.53	0.52	0.56
	ไม่ผ่านความร้อน	0.52		
	t-test VHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test MVHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test VHT เทียบกับ MVHT	ns	ns	ns
2	VHT	0.53	0.52	0.57
	MVHT	0.51	0.52	0.54
	ไม่ผ่านความร้อน	0.54		
	t-test VHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test MVHT เทียบกับไม่ผ่านความร้อน	ns	ns	ns
	t-test VHT เทียบกับ MVHT	ns	ns	ns

[1/] ค่าเฉลี่ยจากเงาะ 40 ผล

ns= ไม่แตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของเปลือกเงาะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่าง ๆ เปรียบเทียบกับเงาะไม่ผ่านความร้อน

การทดลอง	กรรมวิธี	เปลือกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม(%)		
		0 ชั่วโมง	1 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
ครั้งที่ 1	VHT	12.5[1/] (40)[2/]	27.5[1/] (40)[2/]	47.5[1/] (40)[2/]
	MVHT	20 (40)	52.5 (40)	75 (40)
	Control	0 (40)		
ครั้งที่ 2	VHT	17.5 (40)	30 (40)	55 (40)
	MVHT	22.5 (40)	45 (40)	77.5 (40)
	Control	0 (40)		

[1/] เปอร์เซ็นต์ความเสียหายที่เกิดจากความร้อนที่ทำให้เปลือกเงาะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม

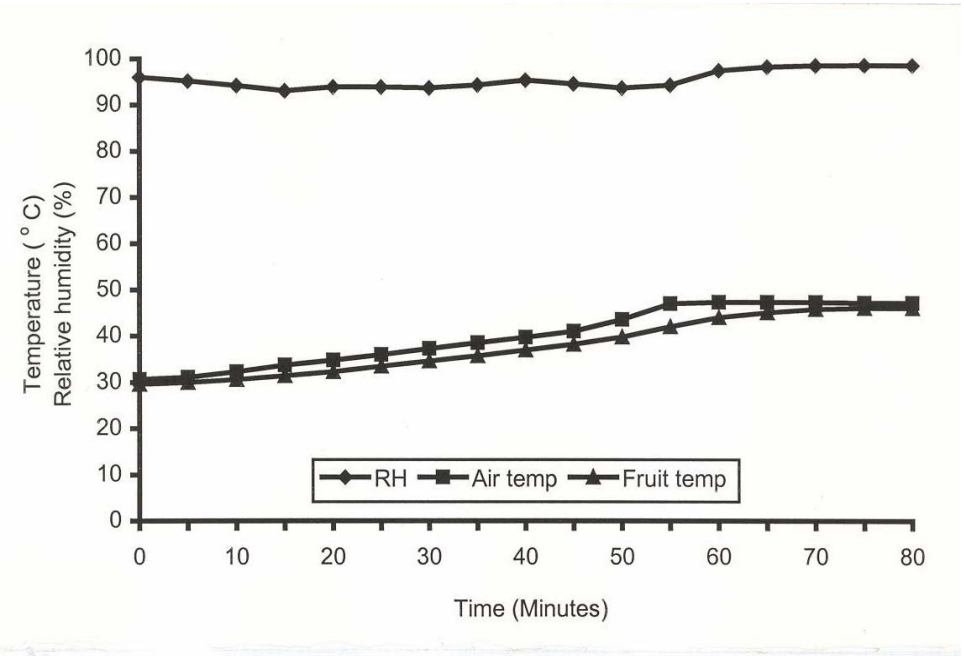
[2/] จำนวนเงาะทดลอง 40 ผล/ครั้ง

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของขนเงาะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหลังจากผ่านความร้อนวิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment, VHT) และวิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT) ที่อุณหภูมิภายในสุดผล 46 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่าง ๆ เปรียบเทียบกับเงาะไม่ผ่านความร้อน

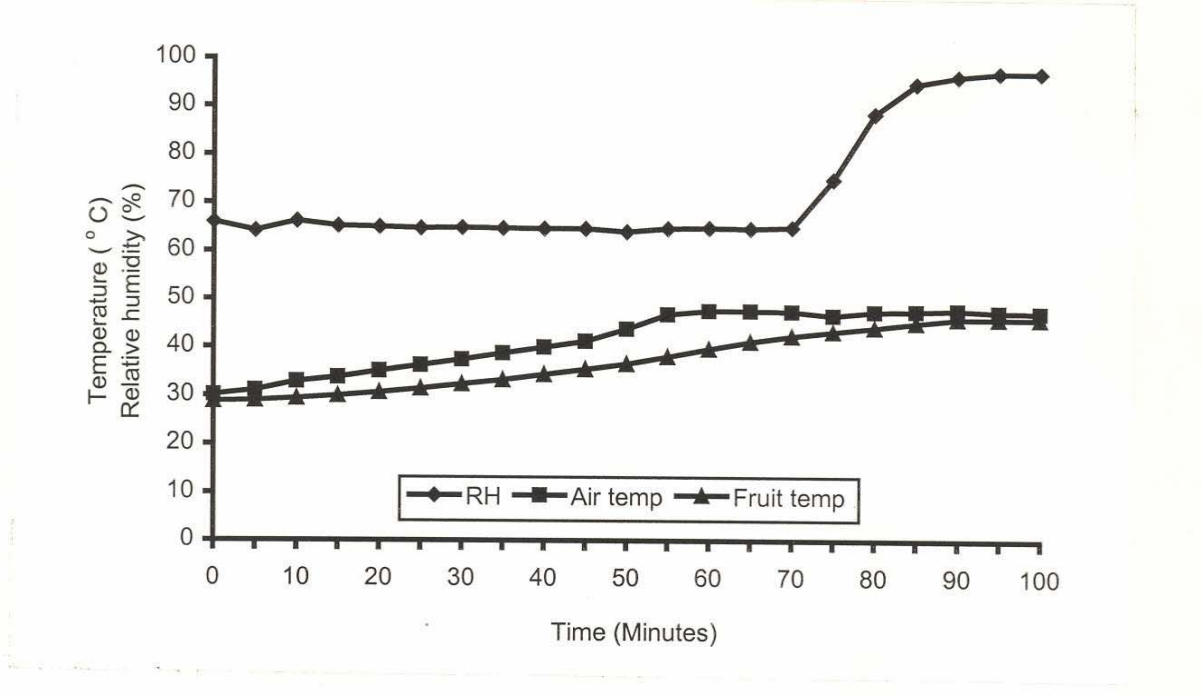
การทดลอง	กรรมวิธี	ขนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม(%)		
		0 ชั่วโมง	1 ชั่วโมง	2 ชั่วโมง
ครั้งที่ 1	VHT	50[1/] (40)[2/]	87.5[1/] (40)[2/]	100[1/] (40)[2/]
	MVHT	87.5 (40)	100 (40)	100 (40)
	Control	25 (40)		
ครั้งที่ 2	VHT	62.5 (40)	90 (40)	100 (40)
	MVHT	95 (40)	100 (40)	100 (40)
	Control	30 (40)		

[1/] เปอร์เซ็นต์ความเสียหายที่เกิดจากความร้อนที่ทำให้เปลือกเงาะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม

[2/] จำนวนเงาะทดลอง 40 ผล/ครั้ง



ภาพที่ 1 วิธีอบไอน้ำ (vapor heat treatment,VHT)



ภาพที่ 2 วิธีอบไอน้ำปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ (modified vapor heat treatment, MVHT).

การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์พืชสกุลแตงบางชนิดเพื่อการส่งออก

Efficiency of Chemical to Control *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* some cucubits seeds for Export

วันเพ็ญ ศรีชาติ วานิช คำพานิช ปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคผลเน่าแบคทีเรีย (Bacterial fruit blotch) ของพืชตระกูลแตง สาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac.) สาเหตุซึ่งแยกได้จากส่วนผลและใบของแตงโมและแตงเทศโดยการเก็บตัวอย่าง ใบที่แสดงอาการใบจุดฉ่ำน้ำขนาดเล็กสีน้ำตาลแดงหรือจุดสีน้ำตาลดำมีวงสีเหลืองล้อมรอบหรือเกิดอาการฉ่ำน้ำตามเส้นใบในช่วงที่มีฝนตก โดยแผลจะขยายออกตามเส้นกลางใบ ต่อมาแผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมีอาการใบไหม้บนเนื้อใบ ส่วนผลที่เป็นโรคจะแสดงอาการเป็นจุดฉ่ำน้ำและจะขยายเป็นปื้นสีเขียวเข้มขนาดใหญ่และต่อมาแผลจะมีสีน้ำตาลและมีรอยแตกตามบริเวณแผล ทำการเก็บลักษณะอาการโรคดังกล่าวจากแปลงเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก จังหวัดน่าน ลำปาง กาญจนบุรี ขอนแก่น กาฬสินธุ์ อุดรธานี มุกดาหาร สกลนคร และอุบลราชธานี จำนวน 25 แปลง ทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์จำนวน 5 ไอโซเลท จากจังหวัดขอนแก่นและกาญจนบุรี คือ 51KK1, 51KK2, 51KK3, 51KK4 และ 51KJ1 เมื่อทดสอบปลูกเชื้อลงบนต้นพืชสกุลแตง 4 ชนิด พบว่าเชื้อ 5 ไอโซเลท ทำให้เกิดอาการฉ่ำน้ำบนพืชทดสอบ ลักษณะอาการรุนแรงในทุกพืชทดสอบ และเมื่อทดสอบด้วยวิธี ELISA พบว่า ให้ผลเป็นลบ และการทดสอบทางชีวเคมีให้ผลไม่ตรงกับเชื้อสาเหตุโรคผลเน่าของพืชสกุลแตง ซึ่งกำลังดำเนินการขอความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าในพืชสกุลแตงเพื่อใช้ในการทดสอบการกำจัดด้วยสารเคมีต่อไป

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-01-02-06-51

คำนำ

ประเทศไทยมีการผลิตแตงโมและแตงชนิดต่างๆ เพื่อการบริโภคผลสดเป็นจำนวนมาก และยังเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออกที่สำคัญ อีกทั้งเกษตรกรมีทักษะในการเพาะปลูกได้เป็นอย่างดี ค่าแรงงานต่ำเมื่อเทียบกับประเทศอื่นๆ และเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้มีคุณภาพดีเป็นที่ต้องการของประเทศต่างๆ ทั่วโลก เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ที่ได้มีความงอกสูง ความตรงต่อสายพันธุ์สูง อย่างไรก็ตามการนำเข้าของหลายประเทศมีเงื่อนไขต้องการให้รับรองการปลอดโรคพืชโดยระบุข้อความลงในใบรับรองปลอดศัตรูพืชว่าเมล็ดพันธุ์พืชดังกล่าวได้จากพืชปราศจากเชื้อโรคพืชที่สำคัญบางชนิดในช่วงพืชเจริญเติบโตในแปลงปลูก และเมล็ดพันธุ์หลังเก็บเกี่ยวต้องปราศจากเชื้อโรคพืชสำคัญบางชนิด ซึ่งปัญหาของโรคที่สำคัญโรคหนึ่งคือ โรคผลเน่าของพืชสกุลแตง ในปี พ.ศ. 2534 มีรายงานพบโรคผลเน่าของแตงโมในพื้นที่ปลูกทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นแหล่งปลูกเมล็ดพันธุ์ที่สำคัญของประเทศ และในปีต่อมาพบว่าโรคนี้ระบาดทำความเสียหายต่อผลผลิตแตงโมผลสด และแตงโมสำหรับผลิตเมล็ดพันธุ์ซึ่งได้รับความเสียหายมากกว่า 50% (Pinyapong, 1994) และจากการนำเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากผลที่เกิดโรคพบว่าอัตราการเข้าทำลายมากกว่า 80% และสามารถถ่ายทอดโรคได้สูงถึง 45-80% (Hopkins *et.al.,* 1996) และมีรายงานว่าเชื้อสาเหตุโรคผลเน่าสามารถติดกับเมล็ดพันธุ์ เมื่อนำไปปลูกในฤดูต่อไปได้ ดังนั้นเพื่อเป็นการส่งเสริมการผลิตพืชสกุลแตงสำหรับบริโภคผลสดและผลิตเมล็ดพันธุ์ที่ปลอดโรคและการจัดการโรคผลเน่าแบคทีเรียได้อย่างถูกต้อง จึงได้ศึกษาหาวิธีการกำจัดเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac.) ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์เพื่อลดการแพร่ระบาดของโรคที่ผ่านทางเมล็ดและสามารถส่งเมล็ดพันธุ์ไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น Nutrient Agar (NA) Starch Agar King's medium B เป็นต้น
2. สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและสารเคมีที่ใช้ในการทดลองกำจัดเชื้อ
3. ชุดตรวจสอบ Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA Kit) ของ Agdia สำหรับตรวจสอบเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Aac.)
4. อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์สำหรับแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชและการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. โรงเรือนปลูกพืชที่มีตาข่ายกันแมลง
6. วัสดุและอุปกรณ์ในการปลูกพืช
7. วัสดุและอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างพืช

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคผลเน่าของพืชสกุลแตงจากแปลงเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างใบและผลของพืชสกุลแตง ได้แก่ แตงโม แตงกวา เมลอน ฟักทองและสควัอช จากแปลงเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก ในท้องที่จังหวัด อุดรธานี กาฬสินธุ์ มุกดาหาร อุบลราชธานี สกลนคร ลำปาง น่านและกาญจนบุรี โดยเก็บตัวอย่างอาการที่สงสัยนำตัวอย่างมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จากโรคผลเน่าของพืชสกุลแตง

นำตัวอย่างใบที่มีอาการของโรคผลเน่ามาล้างด้วยน้ำสะอาด และทำความสะอาดที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ตัดเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นโรคมาบดให้ละเอียด ใส่เนื้อเยื่อพืชที่บดแล้วลงในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อที่บรรจุในหลอดทดสอบคนให้เข้ากัน แล้วนำมาแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่มีสีขาวใส รูปร่างกลมนูน ขอบเรียบขนาดเล็ก นำมาเพิ่มปริมาณบนอาหาร NA โดยบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนตัวอย่างอาการผลเน่า ให้ทำการแยกเชื้อโดยทำความสะอาดผิวเปลือกบริเวณแผลด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้มีดฆ่าเชื้อโดยจุ่มในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เผาไฟ รอให้มีดเย็น ตัดบริเวณผิวเปลือกของผลแล้วจึงใช้มีดฆ่าเชื้อเจาะเอาเนื้อผลบริเวณแผล วางลงบนสไลด์กระจกฆ่าเชื้อ หยดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อบดตัวอย่างให้ผสมกับน้ำกลั่น แล้วนำไปแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อดำเนินการเช่นเดียวกับที่แยกเชื้อจากใบที่เกิดอาการโรค จนได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อที่สงสัยในพืชสกุลแตง

นำเชื้อแบคทีเรีย ที่แยกได้นำมาศึกษาลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA แล้วนำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชทดสอบคือ ต้นกล้าแตงโม แตงเทศ แตงกวาและฟักทอง โดยการเตรียมสารแขวนลอยแบคทีเรียทดสอบ โดยนำเชื้อที่คัดเลือกมาเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารและใช้เข็มเขี่ยรูปทรงกลมกวาดโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียออกจากผิวหน้าอาหารที่บ่มเชื้อ ปรับความเข้มข้นของสารแขวนลอยแบคทีเรียให้มีความขุ่นเมื่อวัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโต-มิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 600 นาโมเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 0.1 ซึ่งมีความเข้มข้นของสารแขวนลอยแบคทีเรียประมาณ 10^8 cfu/มิลลิลิตร สำหรับนำไปปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ

การปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าลงบนพืชทดสอบ โดยเตรียมปลูกพืชทดสอบ 4 ชนิด ได้แก่ ต้นกล้าแตงโม แตงเทศ แตงกวา และฟักทอง อายุ 15 วัน ต้นกล้ามีใบจริงจำนวน 2 ใบ ใช้เข็มฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารแขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียจากข้อ 3.1 และฉีดเข้าใต้ใบ

เลี้ยงปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร คลุมต้นพืชทดสอบด้วยถุงพลาสติกเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงนำถุงพลาสติกออกราดน้ำลงบนพื้นเรือนทดลอง เพื่อควบคุมเปอร์เซ็นต์ความชื้นให้อยู่ที่ 60-70 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 28-35 องศาเซลเซียส รดน้ำเช้า-เย็น สังเกตอาการของโรคบนพืชทดสอบเปรียบเทียบกับต้นพืชเปรียบเทียบที่ทำการปลูกเชื้อโดยใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

4. การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของพืชสกุลแตง

4.1 การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค direct ELISA มีขั้นตอนดังนี้

4.1.1 เขียนแผนผังของการตรวจตัวอย่าง buffer negative control positive control ข้อมูลรายละเอียดของตัวอย่างที่ตรวจ และ antiserum ที่ใช้ ลงบน loading diagram ให้ครบสมบูรณ์

4.1.2 เจือจาง capture antibody ที่จำเพาะกับเชื้อ Aac. ด้วยสารละลาย Coating buffer ในอัตราส่วน 1 ต่อ 200 จากนั้นเติมสารละลาย capture antibody ดังกล่าวลงใน ELISA Plate หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง หรือทิ้งข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4.1.3 ล้าง plate ELISA ด้วย PBST buffer 7 - 8 ครั้ง จากนั้นเคาะ plate ให้แห้ง

4.1.4 ปรับความเข้มข้นของสารแขวนลอยแบคทีเรียให้ได้ความเข้มข้นเชื้อประมาณ 10^8 cfu/มิลลิลิตร ด้วยสารละลาย General extraction buffer

4.1.5 เติมสารละลาย General extract buffer, negative control, positive control และ ตัวอย่างสารแขวนลอยแบคทีเรีย ลงใน ELISA Plate หลุมละ 100 ไมโครลิตร ตามตำแหน่งบนแผนผังที่เขียนไว้ จากนั้นนำไปบ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงหรือทิ้งข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4.1.6 ล้าง plate ELISA ด้วย PBST buffer 7 - 8 ครั้ง จากนั้นเคาะ plate ให้แห้ง

4.1.7 เติม 1X Enzyme conjugate ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มในกล่องชื้นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

4.1.8 ล้าง Plate ELISA ด้วย PBST buffer 7 - 8 ครั้ง จากนั้นเคาะ plate ให้แห้ง

4.1.9 เติมสารละลาย PNP substrate ลงใน ELISA Plate หลุมละ 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มในกล่องชื้น นาน 30-60 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลาย 3 M NaCl ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตรวจสอบผลด้วยตาเปล่าหรือนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง ELISA reader ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร โดยตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวกจะให้สีเหลืองและตัวอย่างที่ปกติจะใส

4.2 การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย

ดำเนินการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากอาการผลเน่า เพื่อเป็นการตรวจสอบยืนยันการจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรีย 7 วิธี ตามการทดสอบของ()ดังนี้

4.2.1. ความสามารถในการย่อยแป้ง (Starch hydrolysis)

4.2.2. ปฏิกิริยาออกซิเดส (Oxidase reaction)

4.2.3. การสร้างสารเรืองแสง (Fluorescent pigment production)

4.2.4. การไฮโครไลด์ arginine (Arginine hydrolase activity)

4.2.5 การสร้าง Levan (Levan production)

4.2.6 ปฏิกิริยาไลโปโลติต (Lypolytic activity)

4.2.7 การรีดิวซ์ในเตรท (Nitrate reduction)

5. การทดสอบการกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าในพืชสกุลแตงบางชนิด

5.1 การทดสอบการกำจัดเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมสารแขวนลอยแบคทีเรียความเข้มข้น 10^8 cfu/มิลลิลิตร นำสารละลายเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารปริมาตร 300 ไมโครลิตรต่อ 1 จานอาหาร แล้วนำกระดาษกรองที่แช่ในสารทดสอบชนิดต่างๆ วางตรงกลางจานอาหาร ซึ่งสารเคมีที่นำมาทดสอบ จำนวน 5 ชนิด ชนิดละ 3 ความเข้มข้นและน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) รวมทั้งสิ้น16 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ๆ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 2 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 4 สารซึนามิ (Tsunami 100) เข้มข้น 24 มิลลิลิตรต่อน้ำ 100 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 สารซึนามิ (Tsunami 100) เข้มข้น 48 มิลลิลิตรต่อน้ำ 100 ลิตร (ตามคำแนะนำ)

กรรมวิธีที่ 6 สารซึนามิ (Tsunami 100) เข้มข้น 28 มิลลิลิตรต่อน้ำ 100 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 สารเบนซอลโคเนียมคลอไรด์ (Benzalkonium Chloride) เข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 8 สารเบนซอลโคเนียมคลอไรด์ (Benzalkonium Chloride) เข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 9 สารเบนซอลโคเนียมคลอไรด์ (Benzalkonium Chloride) เข้มข้น 10.0เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 10 สารโซเดียมเบนโซเอท (Sodium Benzoate) เข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 11 สารโซเดียมเบนโซเอท (Sodium Benzoate) เข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 12 สารโซเดียมเบนโซเอท (Sodium Benzoate) เข้มข้น 10.0 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 13 สารโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ (Sodium hypochloride) เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 14 สารโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ (Sodium hypochloride) เข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 15 สารโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ (Sodium hypochloride) เข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์
กรรมวิธีที่ 16 น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

นำจานอาหารทดสอบบ่มอุณหภูมิ 24-35 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน ทำการวัดขนาดวงใสที่เกิดขึ้นบนอาหาร บันทึกผล

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์แตงโม

5.2.1 การศึกษาการถ่ายทอดโรคผลเน่า (Bacterial Fruit Blotch) บนเมล็ดพันธุ์แตงโม

เตรียมสารแขวนลอยแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร Nutrient blotch ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่หยดสาร tween 80 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง และเตรียมเมล็ดพันธุ์แตงโมที่สมบูรณ์นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายคลอร๊อกเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์นาน 3 นาที แล้วนำเมล็ดฆ่าเชื้อต่อด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที แล้วฆ่าเชื้อด้วยคลอร๊อกเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที หลังจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ นำไปผึ่งให้แห้งในตู้ถ่ายเชื้อจนแห้ง หลังจากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ทดสอบปลูกเชื้อโดยใช้เมล็ดพันธุ์ 100 เมล็ด แช่กับสารแขวนลอยแบคทีเรีย นำตั้งบนเครื่องเขย่าบ่มในอุณหภูมิห้อง ในระยะเวลาต่างๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดแตงโมแช่ในสารแขวนลอยแบคทีเรียนาน 24 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดแตงโมแช่ในสารแขวนลอยแบคทีเรียนาน 36 ชั่วโมง
กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดแตงโมแช่ในสารแขวนลอยแบคทีเรียนาน 48 ชั่วโมง

นำเมล็ดพันธุ์ที่ได้นำไปปลูกในดินฆ่าเชื้อในโรงเรือนเป็นเวลา 14 วัน ทำการเก็บยอดต้นอ่อนของแตงโมนำมาทดสอบด้วยวิธี ELISA บันทึกผลเปอร์เซ็นต์ความงอกและเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ

5.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์แตงโม

ทดสอบสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อสาเหตุโรคผลเน่า โดยใช้เมล็ดพันธุ์ที่ในข้อ 5.2.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด เมล็ดแตงโมทดสอบจากทุกกรรมวิธีหลังจากล้างด้วยน้ำประปาแล้วนำไปผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 3 วัน เพาะเมล็ดแตงโมในกระบะพลาสติกกระบะละ 100 เมล็ด เป็นหนึ่งซ้ำวางกระบะเพาะในโรงเรือนที่มีตาข่ายกันแมลง และมีอุณหภูมิ 24-35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วคลุมกระบะที่มีพืชทดสอบด้วยถุงพลาสติกเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจการเกิดโรคหลังการเพาะเมล็ด 10 วัน บันทึกจำนวนต้นที่งอก และจำนวนต้นที่เป็นโรคนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอก และเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคโดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเป็นโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นกล้าเป็นโรค}}{\text{จำนวนต้นกล้าไม่เป็นโรค}} \times 100$$

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ระยะเวลา ตุลาคม 2550 - กันยายน 2552

สถานที่ทำการทดลอง

1. แปลงปลูกแตงโมและแตงเทศของเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออกในท้องที่ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคผลเน่าของพืชสกุลแตงจากแปลงเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออก

เก็บตัวอย่างใบและผลของแตงโมและแตงเทศที่แสดงอาการโรคผลเน่า จากแปลงเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อการส่งออกในท้องที่จังหวัดขอนแก่น กาฬสินธุ์ มหาสารคาม มุกดาหารและอุบลราชธานี จำนวน 25 แปลง โดยเก็บอาการผลที่มีแผลแตกสีน้ำตาลบนผิวของผลและผลที่แสดงอาการฉ่ำน้ำมีสีเขียวเข้มเป็นปื้นที่ผิว เมื่อตัดดูภายในเนื้อผลมีอาการฉ่ำน้ำสีน้ำตาล

2. การแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์จากโรคผลเน่าของพืชสกุลแตง

จากการนำตัวอย่างผลของแตงโมที่แสดงอาการโรคผลเน่ามาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบว่า สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ได้ 5 ไอโซเลท เป็นเชื้อจากจังหวัดขอนแก่น จำนวน 4 ไอโซเลท คือ 51KK1, 51KK2, 51KK3 และ 51KK4 และแยกเชื้อจากผลเน่าของจังหวัดกาญจนบุรี ได้เชื้อ จำนวน 1 ไอโซเลท คือ 51KJ1 ซึ่งทุกไอโซเลทมีลักษณะโคโลนีสีขาวใส กลม ขอบเรียบ นูน เนื้อผิวหน้าอาหาร และขนาดเล็ก

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อที่สงสัยในพืชสกุลแตง

การทดสอบการเกิดโรคบนพืชทั้ง 4 ชนิดได้แก่ แตงโม แตงกวา แตงเทศ และฟักทอง พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท 51KJ1 ไม่สามารถทำให้เกิดอาการใดๆ บนใบเลี้ยงของพืชทดสอบทั้ง 4 ชนิด แต่แบคทีเรียไอโซเลท 51KK1, 51KK2, 51KK3 และ 51KK4 ทำให้เกิดอาการฉ่ำน้ำทั้งบนใบและใต้ใบเลี้ยงของพืชทดสอบ ทั้ง 4 ชนิด แต่เนื้อใบของต้นกล้าแตงโมและแตงกวามีอาการยุบตัว

และเนื้อใบของต้นกล้าฟักทองเกิดอาการเน่าเละเป็นผลทำให้เนื้อใบฉีกขาด ส่วนอาการฉ่ำน้ำของใบต้นกล้าเมลอนลามไปถึงใบจริงและเกิดอาการยอดหักพับ ซึ่งเป็นลักษณะอาการที่รุนแรง บ่งชี้ว่าไม่น่าจะเป็นเชื้อสาเหตุของโรคผลเน่า

4. การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของพืชสกุลแตง

4.1 การตรวจวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค direct ELISA

ผลการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิค direct ELISA ปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท ดังกล่าวให้ปฏิกิริยาเป็นลบ คือ ไม่เกิดสีเหลือง

4.2 การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย

จากการทดสอบคุณสมบัติของชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลท พบว่า เชื้อไอโซเลท 51KK1, 51KK2, 51KK3 51KK4 และ 51KJ1 ให้ผลเช่นเดียวกัน คือ

4.2.1. ความสามารถในการย่อยแป้ง (Starch hydrolysis) พบว่า ให้ผลเป็นลบ เพราะไม่สามารถย่อยแป้งได้บนอาหาร yeast extract nutrient agar (YNA)

4.2.2. ปฏิกิริยาออกซิเดส (Oxidase reaction) พบว่าให้ผลเป็นลบ เนื่องจากไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดส บนแผ่นกระดาษ tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

4.2.3. การสร้างสารเรืองแสง (Fluorescent pigment production) พบว่าให้ผลเป็นบวก เนื่องจากเกิดการสร้างสารเรืองแสงบนอาหาร King's medium B

4.2.4. การไฮโดรไลด์ arginine (Arginine hydrolase activity) พบว่าให้ผลเป็นบวก เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาสีไฮโดรไลด์ เนื่องจากสีของอาหารเปลี่ยนจากสีเหลืองส้มเป็นสีแดง แสดงว่าเกิดแอมโมเนีย

4.2.8 การสร้าง Levan (Levan production) พบว่าให้ผลเป็นบวก คือ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่เจริญบนอาหารมีลักษณะสีขาว นูน และเป็นเมือกเยิ้มบนอาหาร nutrient sucrose agar

4.2.9 ปฏิกิริยาไลโปโลติต (Lypolytic activity) พบว่าให้ผลเป็นลบ เนื่องจากแบคทีเรียทดสอบสามารถสร้างฝ้าสีขาวบนอาหาร tween 80 agar การรีดิวซ์ในเตรท (Nitrate reduction)

5. การทดสอบการกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าในพืชสกุลแตงบางชนิด

5.1 การทดสอบการกำจัดเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์แตงโม

5.2.1 การศึกษาการถ่ายทอดโรคผลเน่า (Bacterial Fruit Blotch) บนเมล็ดพันธุ์แตงโม

5.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์แตงโม

การทดลองกำลังดำเนินการในปีงบประมาณ 52

สรุปผลการทดลอง

จากการเก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าจากแปลงเกษตรกรที่ผลิตเมล็ดพันธุ์พืชสุกลแตงเพื่อการส่งออกของเกษตรกรจากภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รวม 25 แปลง ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ จำนวน 5 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคกับพืชทดสอบ 4 ชนิด คือ แตงโม แตงเทศ แตงกวาและ ฟักทอง พบว่า ทุกเชื้อสามารถทำให้เกิดอาการฉ่ำน้ำ บางพืชทดสอบใบเน่าเละและต้นเหี่ยวทั้งต้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและตรวจด้วยเทคนิค ELISA ผลปรากฏว่า แบคทีเรียทุกไอโซเลท ไม่เป็นเชื้อสาเหตุโรคผลเน่า ดังนั้น ในปีงบประมาณปี 51 ยังไม่สามารถหาเชื้อสาเหตุโรคผลเน่าในพืชสกุลแตงมาทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์แตงโมได้ จึงดำเนินการขอความอนุเคราะห์จากกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร และภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เพื่อใช้ในการดำเนินการทดสอบต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พยอม พินยพงศ์. 2537. รายงานครั้งแรกของโรคผลเน่า (Bacterial fruit blotch) ของแตงโมในประเทศไทย. แก่นเกษตร 22 : 55-57.

ศรีวิเศษ เกษสังข์. 2548. ผลงานฉบับเต็ม. ขอประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิชาการเกษตร 8ว. กลุ่มงานวิชาการกักกันโรคพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 1-16.

Hopkins, D.L., J.D. Cucuzza and J.C. Watterson. 1996. Wet seed treatments for the control of bacterial fruit blotch of watermelon. Plant Dis. 80: 529-532.

Pinyapong, P.S. 1994. Etiology and factors affecting the development of fruit blotch of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum&Nakai) in Northeastern Thailand. M.S. Thesis. University of the Philippines at Los Banos. 99.

การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของรา *Guignardia citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ

Surveillance and Distribution of *Guignardia citricarpa* Caused Black Spot Disease of Pummelo

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด
ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจติดตามการระบาดของโรคจุดดำของส้มโอในเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2551 ในแปลงที่ 1 อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย พบโรคที่ใบในเดือนตุลาคม 2550 – มิถุนายน 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนพฤษภาคม –กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 15, 15, 33, 36 และ 57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแปลงที่ 2 อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย พบโรคที่ใบในเดือนพฤศจิกายน 2550 – กุมภาพันธ์ 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนพฤษภาคม –กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 5, 5, 65, 66 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแปลงที่ 1 อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม พบโรคที่ใบในเดือนมกราคม – มิถุนายน 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนกรกฎาคม – กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 10, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในแปลงที่ 2 อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม พบโรคที่ใบในเดือนตุลาคม 2550 – มีนาคม 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนมิถุนายน –กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 07-01-51-01-01-01-01-51

คำนำ

ราสกุล *Guignardia* Viala & Ravaz อยู่ใน Class Ascomycetes, Order Sphaeropsidales, Family Mycosphaerellaceae มีรา *Phyllosticta* Pers เป็น Anamorphic state อยู่ใน Class Coelomycetes ส่วนใหญ่ราสกุลนี้เจริญอยู่บนใบพืชทำให้เกิดโรคใบจุด โดยราสร้าง pycnidia บนใบพืช conidia มี 1 เซลล์ นอกจากอยู่บนใบพืชแล้วรายังเจริญอยู่บนกิ่ง ลำต้นของพืชด้วย รา *Guignardia* เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ โรค Black spot ของพืชตระกูลส้มสาเหตุเกิดจาก *Guignardia citricarpa* (anamorphic state: *Phyllosticta citricarpa*) (Kiely, 1949; Sutton and Waterston, 1966) โรค Black rot ขององุ่น สาเหตุเกิดจาก *Guignardia bidwelli* (anamorphic state: *Phyllosticta ampelicida*) (Sivanesan and Holliday, 1981) โรคใบจุดของกล้วยสาเหตุเกิดจาก *Guignardia musae* (anamorphic state: *Phyllosticta musarumi*) (Punithalingam and Holliday, 1975)

นอกจากราสกุลนี้เป็นสาเหตุโรคพืชแล้วยังเป็นราเอ็นโดไฟท์เจริญอยู่บนใบพืชที่ปกติโดยเฉพาะโรค Black spot ของพืชส้ม ซึ่งมีสาเหตุเกิดจาก *G. citricarpa* แต่มักพบรา *G. mangiferae* ด้วยแต่พบว่าราดังกล่าวไม่ได้เป็นสาเหตุของโรคพืช (Glienke-Blanco และคณะ, 2002; Baayen และคณะ, 2002) ดังนั้นการศึกษาลักษณะต่างของราเพื่อจำแนกชนิดนั้นเป็นสิ่งที่สำคัญและจะทำการพิสูจน์การเกิดโรคของราแต่ละชนิดด้วยเพื่อยืนยันว่านั้นเป็นสาเหตุของโรคหรือไม่ใช่สาเหตุของโรค การจำแนกราสกุลนี้ในระดับ species โดยศึกษาลักษณะ morphological characters นั้น จะเห็นได้ว่าลักษณะของราทาง morphological characters จะไม่แตกต่างกันอย่างเด่นชัด ซึ่งชนิดของราอาจจะมีความสัมพันธ์กับพืชอาศัย รา *Phyllosticta* ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชอาจมีความแตกต่างกับราที่อาศัยอยู่บนใบพืชที่ร่วงอยู่บนพื้นดิน การจำแนกราสกุลนี้นอกจากใช้ลักษณะทาง morphological characters แล้วก็ยังใช้ข้อมูลทางนิเวศวิทยาของเชื้อมาประกอบการจำแนก ดังนั้นจึงต้องทำการสำรวจการสถานการณ์โรค black spot ในประเทศไทยและศึกษาการจำแนกรา *Guignardia citricarpa* ที่เป็นสาเหตุโรค black spot และ *Guignardia mangiferae* โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ เพื่อให้ได้ข้อมูลของเชื้อได้แก่ ชนิดชองเชื้อ (species) ลักษณะประจำสายพันธุ์ และเขตแพร่ระบาด จะเป็นข้อมูลและเป็นประโยชน์ต่อการส่งออกส้มโอไปยังต่างประเทศ

ราสาเหตุของโรคจะชอบเข้าทำลายในสภาพอากาศร้อนชื้นโดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อน ซึ่งสภาพอากาศดังกล่าวเป็นลักษณะภูมิอากาศของประเทศที่ปลูกพืชตระกูลส้มในแถบ Southeast Asia, Africa, South America, Australia ระยะที่ผลอ่อนแอต่อการเข้าทำลายคือช่วงที่ผลมีอายุ 4-5 เดือนแต่จะไม่แสดงอาการของโรคจนผลกระทั่งส้มอายุใกล้เก็บเกี่ยว มีการศึกษาเกี่ยวกับ

อิทธิพลของอุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน ความชื้นที่ใบ และปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ ที่มีผลต่อการเกิดการปล่อยและการงอกของ ascospores มากมาย (Pinkerton และคณะ, 1998; Hartman และคณะ, 1999; MacHardy และคณะ, 2001; Mondal และ Timmer, 2002; Renato และคณะ, 2006) ปัจจัยต่าง ๆ นี้มีความสำคัญต่อการเกิดและระบาดของโรค ดังนั้นข้อมูลเหล่านี้สามารถนำใช้ในการควบคุมโรคที่เหมาะสมต่อไป เนื่องจากโรค black spot มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาก มีรายงานพบโรคนี้ในทุกแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มใน เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แอฟริกา อเมริกาใต้ ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ แต่ยังไม่มีรายงานพบในสหภาพยุโรป (European Union, 2000) และสหรัฐอเมริกา (Kotzé, 1981) โรคนี้จึงจัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศในสหภาพยุโรป และสหรัฐอเมริกา การนำเข้าส้มทั้งสองแหล่งนี้ต้องปลอดโรค black spot

วิธีดำเนินการ

วิธีการ

1. กำหนดแปลงทดลองที่จะทำการสำรวจการแพร่กระจายของโรค black spot ทั้งหมด 4 แปลง ได้แก่ แปลงส้มโออำเภอนครชัยศรีและอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม และแปลงส้มโอจำนวน 2 แปลง ในอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย

2. สำรวจการแพร่กระจายของโรค black spot ของส้มโอ จากแปลงส้มโอ 4 แปลง ได้แก่ แปลงส้มโออำเภอนครชัยศรีและอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม และแปลงส้มโอจำนวน 2 แปลง ในอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย โดยสุ่มตรวจต้นส้มโอที่เป็นโรคอย่างมีแบบแผนแต่ละแปลง กำหนดตรวจ 1 ต้น เว้น 3 ต้น ประเมินการเกิดโรค

3. รวบรวมสรุปข้อมูลการแพร่กระจายของโรค black spot ของส้มโอ

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น – สิ้นสุด**

ตุลาคม 2550 – **กันยายน** 2553

สถานที่
- แปลงส้มโอ อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย 2 แปลง
- แปลงส้มโอ อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม 1 แปลง
- แปลงส้มโอ อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม 1 แปลง
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

กำหนดแปลงส้มโอที่จะทำการสำรวจและประเมินความรุนแรงของโรคจุดดำของส้มโอในอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย จำนวน 2 แปลง และที่จังหวัดนครปฐม 2 แปลง ได้แก่ อำเภอนครชัยศรีและอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

แปลงที่ 1 อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย

พบโรคที่ใบในเดือนตุลาคม 2550 – มิถุนายน 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนพฤษภาคม – กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 15, 15, 33, 36 และ 57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

แปลงที่ 2 อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย

พบโรคที่ใบในเดือนพฤศจิกายน 2550 – กุมภาพันธ์ 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนพฤษภาคม –กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 5, 5, 65, 66 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

แปลงที่ 1 อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

พบโรคที่ใบในเดือนมกราคม – มิถุนายน 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนกรกฎาคม – กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 10, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

แปลงที่ 2 อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม

พบโรคที่ใบในเดือนตุลาคม 2550 – มีนาคม 2551 และพบโรคที่ผลในเดือนมิถุนายน – กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ในแปลงที่ 1 อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย พบโรคที่ใบในเดือนตุลาคม 2551 – มิถุนายน 2552 และพบโรคที่ผลในเดือนพฤษภาคม –กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 15, 15, 33, 36 และ 57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแปลงที่ 2 อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย พบโรคที่ใบในเดือนพฤศจิกายน 2551 – กุมภาพันธ์ 2552 และพบโรคที่ผลในเดือนพฤษภาคม – กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 5, 5, 65, 66 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแปลงที่ 1 อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม พบโรคที่ใบในเดือนมกราคม – มิถุนายน 2552 และพบโรคที่ผลในเดือนกรกฎาคม –กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 10, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในแปลงที่ 2 อำเภอนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม พบโรคที่ใบในเดือนตุลาคม 2551 – มีนาคม 2552 และพบโรคที่ผลในเดือนมิถุนายน –กันยายน โดยมีความรุนแรงของโรค 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

Baayen, R. ,P., Bonants, P. J. M., Verkley, G., Carroll, G. C., Van der Aa, H. A., Weerdt, M., van Brouweeershaven, I. R., Schutte, G. C., Maccheroni, W.,Jr., Glienke de Blanco, C., and Azevedo, J. L. 2002. Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, identified as a cosmopolitant endophyte bof woody plants, G. *mangifera* (*Phyllosticta* capitalensis). Phytopathology 92:264-477

Bonants, P.J.M., G.C. Carroll, M. de Weerdt, I R van Brouwershaven and R.P. Baayen. 2003. Development and validation of a fast PCR-based detection method for pathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*/ European Journal of Plant Pathology, 109: 503-513.

Everett, K.R., J. Ress-George. 2006a. Reclassification of an isolate of *Guignardia citricarpa* from New Zealand as *Guignardia mangiferae* by sequence analysis. Plant Pathology 55: 194-199.

Everett, K.R., J. Ress-George. 2006b. Species-specific PCR primers for *Guignardia citricarpa* and *Guignardia mangiferae*. New Zealand Plant Protection 59: 141-145.

Glienke-Blanco, C., Carlos Ivan Aguilar-Vidoso, Maria LÚcia Carneiro Vieira, Paulo Augusto Vianna Barroso and João LÚcio Azevedo. 2002. Genetic variability in the endophytic fungus *Guignardia citricarpa* isolated from citrus plants. Genetics and Molecular Biology, 25 (2): 251-255.

Gonzlez, M. S. and Rondn. 2005. First Report of *Guignardia psidii*, an Ascigerous State of *Phyllosticta psidiicola*, Causing Fruit Rot on Guava in Venezuela. Plant Dis. 89:773

Kiely, T.B. 1949. Black spot of citrus in New South Wales coastal orchards. Agricultural Gazette of New South Wales 60: 17-20.

Kotzé, J., M., 2000. Black spot. Pages 23-25 in : Compendium of Citrus Diseases 2nd ed. L.W.Timmer, S. M. Garnsey, and J. H. Graham, eds. The American Phytopathological Society, St. Paul,MN.

Meyer, G. M., Sanders, R. Jacobs, and L. Korsten. 2006. A One-Day Sensitive Method to Detect and Distinguish Between the Citrus Black Spot Pathogen *Guignardia citricarpa* and *Guignardia mangiferae*. Plant Dis. 90:97-101.

Punithalingam, E and Holliday, P. 1975. *Guignardia musae*. No. 467 *In:* CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, UK.

Sivanesan, A and P. Holliday. 1981. *Guignardia bidwelli*. No. 710 *In*: CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, U.K.

Sutton, B.C and J.M Waterson. 1966. *Guignardia citricarpa*. No. 85 *In*: CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, UK.

Van der Aa HA. 1973. Studies in *Phyllosticta*. Studies in Mycology 5, 110pp.

ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อรา *Guignardia citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ : การเข้าทำลายของรา *Guignardia citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ

Biology and Ecology of *Guignardia citricarpa*, the Pomelo Black Spot Pathogen : Infection Period of *Guignardia citricarpa*, the Pomelo Black Spot Pathogen

สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
ชนินทร ดวงสอาด ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการทดลอง เพื่อให้ทราบช่วงเวลาการเข้าทำลายผลส้มโอของรา *G citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำ โดยทดลองกรรมวิธีต่างๆ คือ เปิดถุงห่อผลเพื่อให้เชื้อรามีโอกาสได้เข้าสู่ผล เมื่อผลส้มโออายุ 0 15 30 45 60 75 90 105 วัน กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ห่อผล และกรรมวิธีที่ห่อผลตลอดเวลาการทดลอง ผลการประเมินการเกิดโรคจุดดำบนผลส้มโอ หลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต พบว่า มีเพียงกรรมวิธีที่ เปิดถุงห่อผล เมื่อผลส้มโออายุ 60 วัน และกรรมวิธีที่ไม่ห่อผลส้มโอ พบการเกิดโรค 2 เปอร์เซ็นต์ ความรุนแรงของโรคเฉลี่ย ระดับ 1 และเกิดโรค 70 เปอร์เซ็นต์ ความรุนแรงของโรคเฉลี่ย ระดับ 3 ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีอื่นๆไม่พบการเกิดโรค จากการทดลองครั้งนี้ เนื่องจากเกิดการระบาดของไรสนิม และเพลี้ยไฟ ในระหว่างการทดลอง ไรสนิม และเพลี้ยไฟสามารถเข้าภายในถุงห่อผลได้ ผลส้มโอส่วนใหญ่ในทุกกรรมวิธี จึงถูกไรสนิม และเพลี้ยไฟทำลาย และบางผลพบราดำ ทำให้ไม่สามารถสรุปผลได้ว่า เชื้อรา *G citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำ เข้าทำลายผลส้มโอในช่วงใด

รหัสการทดลอง 07-01-51-01-01-01-02-51

คำนำ

โรคจุดดำ (Black spot) ของพืชตระกูลส้ม มีสาเหตุจากรา *Guignardia citricarpa* Kiely (Anamorph: *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Van der Aa) ทำให้เกิดแผลบนเปลือกของผลส้ม ถ้าอาการรุนแรงจะเป็นแผลจุดเล็กทั่วทั้งผล อาการของโรคไม่ทำให้ผลส้มเน่าหลังการเก็บเกี่ยว (Kotzé, 1981) แต่จะทำให้ราคาของผลผลิตต่ำลง พันธุ์ส้มที่ปลูกเป็นการค้ามักอ่อนแอต่อโรคนี้ ได้แก่ มะนาว ส้ม (โดยเฉพาะพันธุ์ Valencia) navel oranges (*C. sinensis* (L.) Osbeck) และ grapefruit (*C. paradise* Macf.) ยกเว้น sour orange (*C. aurantium* L.) และพันธุ์ลูกผสมจะต้านทานต่อโรคนี้ (Kotzé, 1981)

โรคนี้พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1895 ที่ New South Wales ประเทศออสเตรเลียบนส้มพันธุ์ Valencia (Kiely, 1949) และต่อมาพบการแพร่ระบาดในประเทศ South Africa โดยการติดมาจากตาส้มที่นำเข้ามาจากประเทศออสเตรเลีย ปัจจุบันมีรายงานโรคนี้ในทุกแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แอฟริกาใต้ อเมริกาใต้ ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ แต่ยังไม่มีรายงานพบในสหภาพยุโรป (European Union, 2000) และสหรัฐอเมริกา (Kotzé, 1981) โรคนี้จัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศในสหภาพยุโรป

มีการศึกษาพบว่าปัจจัยต่าง ๆ ทางอุตุนิยมวิทยา ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณน้ำฝน ความชื้นที่ใบ และปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ มีผลต่อการเกิด การปล่อย และการงอกของ ascospores ของรา *G. citricarpa* ซึ่งมีความสำคัญต่อการเกิด และระบาดของโรค (Pinkerton *et. al*., 1998 ; Hartman *et. al*., 1999 ; MacHardy *et. al*., 2001 ; Mondal *et. al*., 2002 ; Renato *et. al*., 2006) Renato และคณะ (2006) ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ความชื้นของใบ และปริมาณน้ำฝนต่อการผลิต ascospores ของรา *G. citricarpa* และความรุนแรงของโรคจุดดำของส้มพันธุ์ Valencia (sweet orange) และพันธุ์ Natal ทำการทดลองในสวนส้ม 2 สวน ใน Mogi Guacu ในรัฐ Sao Paulo ประเทศบราซิล ระหว่างเดือนพฤศจิกายน ค.ศ. 2000 –มีนาคม ค.ศ. 2001 โดยการใช้ spore trap พบว่าการผลิต ascospores ของเชื้อรา ทั้งสองสวนขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความชื้นของใบ และปริมาณน้ำฝน และพบ ascospores มาก ตั้งแต่ช่วงฤดูใบไม้ผลิจนถึงฤดูร้อนหลังจากมีฝนตกครั้งแรก โดยพบสปอร์มากที่สุดในเดือนมกราคมและกุมภาพันธ์

ในประเทศไทยยังไม่พบรายงานการศึกษาถึงการเข้าทำลายของเชื้อ รา *G citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษา เพื่อทราบช่วงเวลาการเข้าทำลายผลส้มโอของรา *G citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคที่มีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ส้มโอ พันธุ์ทองดี ในแปลงของเกษตรกร อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงปลูกพืช ได้แก่ ถุงห่อผลไม้ (ถุงรีเมย์) ป้ายเลเบล กรรไกรตัดแต่งกิ่ง เครื่องพ่นสารเคมี และจอบ เป็นต้น

3. สารป้องกันกำจัดโรคพืช และสารฆ่าแมลง

4. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์

5. กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกล้องถ่ายภาพ และฟิล์ม

วิธีการ

1. กำหนดแปลงทดลอง

กำหนดแปลงทดลอง โดยทดสอบกับแปลงส้มโอ พันธุ์ทองดี ที่ อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย จำนวน 1แปลง

2. บันทึกข้อมูลสภาพอากาศ

บันทึกข้อมูลสภาพอากาศ ได้แก่ อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน บริเวณแปลงปลูกส้มโอ โดยเริ่มเก็บข้อมูลตั้งแต่ เดือนกุมภาพันธ์ ถึง กันยายน พ.ศ. 2551

3. ประเมินการเกิดโรคจุดดำของส้มโอ

เลือกต้นส้มโอที่ออกดอกอายุสม่ำเสมอ จำนวน 8 ต้น เริ่มทำการทดลองหลังจากดอกส้มโอร่วงจากต้นประมาณ ¾ ของดอกส้มโอทั้งหมด หลังจากพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช และแมลงศัตรู เป็นเวลา 14 วัน สุ่มผลส้มโอ จำนวน 400 ผล ห่อผลส้มโอที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.4 เซ็นติเมตร ด้วยถุงห่อผลไม้ ขนาด 35 x 50 เซ็นติเมตร หลังจากห่อผลส้มโอ 15 วัน สุ่มเลือกผลส้มโอที่ห่อแล้ว จำนวน 10 ผล จากส้มโอแต่ละต้น เอาถุงห่อผลออก ทิ้งไว้ 15 วัน แล้วนำถุงห่อผลไม้มาห่อใหม่อีกครั้งหนึ่ง พร้อมทั้งติดป้ายชื่อให้สัญลักษณ์ไว้ ทำเช่นนี้ทุก ๆ 15 วัน จนกระทั่งส้มโอใกล้เก็บเกี่ยว

วางแผนการทดลอง แบบ RCB โดยมี10 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆละ 10 ผล ดังนี้

กรรมวิธีที่1 เปิดถุงห่อผลออกเมื่อผลส้มโอ อายุ 0 วัน (กลีบดอกร่วง)

กรรมวิธีที่2 เปิดถุงห่อผลออกเมื่อผลส้มโอ อายุ 15 วัน

กรรมวิธีที่3 เปิดถุงห่อผลออกเมื่อผลส้มโอ อายุ 30 วัน

กรรมวิธีที่4 เปิดถุงห่อผลออกเมื่อผลส้มโอ อายุ 45 วัน

กรรมวิธีที่5 เปิดถุงห่อผลออกเมื่อผลส้มโอ อายุ 60 วัน

กรรมวิธีที่6 เปิดถุงห่อผลออกเมื่อผลส้มโอ อายุ 75 วัน

กรรมวิธีที่7 เปิดถุงห่อผลออกเมื่อผลส้มโอ อายุ 90 วัน

กรรมวิธีที่8 เปิดถุงห่อผลออกเมื่อผลส้มโอ อายุ 105 วัน

กรรมวิธีที่9 ไม่ห่อผลส้มโอ (กรรมวิธีควบคุม 1)

กรรมวิธีที่10 ไม่เปิดถุงห่อผลส้มโอ (กรรมวิธีควบคุม 2)

ประเมินความรุนแรงของโรคจุดดำของส้มโอ หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยให้ระดับความรุนแรงของโรคดังนี้

ระดับ 0 ผลส้มโอไม่แสดงอาการโรค

ระดับ 1 เกิดแผลบนผล 1-3 แผล

ระดับ 2 เกิดแผลบนผล 4-6 แผล

ระดับ 3 เกิดแผลบนผลมากกว่า 6 แผล

และคำนวณเปอร์เซ็นต์ผลส้มโอที่เป็นโรค

4. บันทึกผลการทดลอง

บันทึกข้อมูลอุตุนิยมวิทยา ได้แก่ อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน บริเวณแปลงปลูกส้มโอ โดยเริ่มเก็บข้อมูลตั้งแต่ เดือนกุมภาพันธ์ ถึง กันยายน พ.ศ. 2551

บันทึกการเกิดโรค หาค่าเฉลี่ยความรุนแรงของการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2550 **สิ้นสุด** กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกส้มโอของเกษตรกร อำเภอ เวียงแก่น จังหวัดเชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการประเมินการเกิดโรคจุดดำบนผลส้มโอ หลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต ของผลส้มโอที่ทดลองกรรมวิธีต่างๆ คือ เปิดถุงห่อผลเมื่อผลส้มโออายุ 0 15 30 45 60 75 90 105 กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ห่อผล และกรรมวิธีที่ห่อผลตลอดเวลาการทดลอง พบว่า มีเพียงกรรมวิธีที่ 5 คือ เปิด

ถุงห่อผล เมื่อผลส้มโออายุ 60 วัน และกรรมวิธีที่ 9 ไม่ห่อผลส้มโอ พบการเกิดโรค 2 เปอร์เซ็นต์ ความรุนแรงของโรคเฉลี่ย ระดับ 1 และเกิดโรค 70 เปอร์เซ็นต์ ความรุนแรงของโรคเฉลี่ย ระดับ 3 ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีอื่นๆไม่พบการเกิดโรค (ตารางที่ 1)

ข้อมูลอุตุนิยมวิทยา ในระหว่างการทดลอง (เดือนกุมภาพันธ์ ถึง กันยายน พ.ศ. 2551) คือ อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 30.7 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 20.6 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ย 23.8 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 5.7 มิลลิเมตร ความชื้นเฉลี่ย 74 เปอร์เซ็นต์ และแสงแดดเฉลี่ย 4.6 ชั่วโมง (ตารางที่ 2)

การทดลองครั้งนี้ เนื่องจากเกิดการระบาดของไรสนิม และเพลี้ยไฟ ในระหว่างการทดลอง ซึ่งไรสนิม และเพลี้ยไฟ สามารถเข้าไปในถุงห่อผลได้ ผลส้มโอส่วนใหญ่ของทุกกรรมวิธี จึงถูกไรสนิม และเพลี้ยไฟทำลาย และบางผลพบราดำ ทำให้ไม่เห็นการเกิดโรค และการห่อผลทำให้ในถุงมีความชื้นสูงจึงทำให้เกิดราดำที่บริเวณขั้วผล จากการทดลองนี้จึงไม่สามารถสรุปผลได้ว่า เชื้อรา *G citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำ เข้าทำลายผลในช่วงใด ซึ่งต้องทำการทดลองใหม่ในปีต่อไป และในการทดลองครั้งต่อไปควรเลือกถุงห่อผลที่มีประสิทธิภาพ และทำการป้องกันกำจัดแมลงอย่างมีประสิทธิภาพ ไม่ให้เข้าทำลายผลได้

<u>ตารางที่ 1</u> เปอร์เซ็นต์ของผลส้มโอที่เป็นโรคจุดดำ และระดับความรุนแรงของโรค เมื่อเปิดถุงห่อผลส้มโอที่อายุต่างๆ ซึ่งประเมินการเกิดโรคหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิต

กรรมวิธี	% ผลส้มโอที่เป็นโรค	ระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย	หมายเหตุ
กรรมวิธีที่1 ผลส้มโอ อายุ 0วัน	0	-	ทุกกรรมวิธี ผลส้มโอส่วนใหญ่ถูกไรสนิม และเพลี้ยไฟทำลาย และบางผลพบราดำ
กรรมวิธีที่2 ผลส้มโอ อายุ 15วัน	0	-	
กรรมวิธีที่3 ผลส้มโอ อายุ 30วัน	0	-	
กรรมวิธีที่4 ผลส้มโอ อายุ 45วัน	0	-	
กรรมวิธีที่5 ผลส้มโอ อายุ 60วัน	2	1	
กรรมวิธีที่6 ผลส้มโอ อายุ 75วัน	0	-	
กรรมวิธีที่7 ผลส้มโอ อายุ 90วัน	0	-	
กรรมวิธีที่8 ผลส้มโอ อายุ 105วัน	0	-	
กรรมวิธีที่9 ไม่ห่อผลส้มโอ (กรรมวิธีควบคุม 1)	70	3	
กรรมวิธีที่10 ไม่เปิดถุงห่อผลส้มโอ (กรรมวิธีควบคุม 2)	0	-	

ตารางที่ 2 ข้อมูลอุตุนิยมวิทยา ช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึง กันยายน พ.ศ. 2551

เดือน	อุณหภูมิสูงสุด	อุณหภูมิต่ำสุด	อุณหภูมิเฉลี่ย	ฝน (มม.)	ความชื้น (%)	แสงแดด (ชม.)
ก.พ.-51	28.7	15.7	22.2	1.6	71	6.1
มี.ค.-51	28.6	13.4	21.0	1.0	71	6.0
เม.ย.-51	33.5	22.0	27.8	2.9	71	6.4
พ.ค.-51	31.6	22.8	27.2	4.6	77	4.7
มิ.ย.-51	31.5	23.4	27.5	7.2	79	3.8
ก.ค. 51	30.4	23.4	26.9	12.4	81	2.2
ส.ค.51	30.4	23.4	26.9	10.1	82	3.1
ก.ย. 51	-	-	10.8	-	94.9	-
เฉลี่ย	30.7	20.6	23.8	5.7	74	4.6

หมายเหตุ ข้อมูลจากสถานีอุตุนิยมวิทยาเชียงราย (กลุ่มงานอากาศเกษตร) อ.เมือง จ.เชียงราย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดลองนี้ไม่สามารถสรุปผลได้ว่า เชื้อรา *G citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำ เข้าทำลายผลในช่วงใด จึงต้องทำการทดลองใหม่ในปีต่อไป และในการทดลองครั้งต่อไปควรเลือกถุงห่อผลที่มีประสิทธิภาพ และทำการป้องกันกำจัดแมลงอย่างมีประสิทธิภาพ ไม่ให้เข้าทำลายผลได้

คำขอบคุณ

ขอขอบพระคุณ คุณสุธามาศ ณ น่าน และกลุ่มงานอากาศเกษตร สถานีอุตุนิยมวิทยาเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย ที่อนุเคราะห์ข้อมูลอุตุนิยมวิทยา เพื่อใช้ประกอบการวิเคราะห์ผลการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

European Union. 2000. Special Requirement of Import Plants, Plant Products and Other Object Originating in Third Countries. *Office Journal of European Community*. 169: 44-45.

Hartman, J.R., L, Parisi and P. Bautrais. 1999. Effect of Leaf Wetness Duration, Temperature, and Conidial Inoculum Dose on Apple Scab Infections. *Plant Disease* 83: 531-534.

Kiely, T.B. 1949. Black Spot of Citrus in New South Wales Coastal Orchards. *Agricultural Gazette of New South Wales* 60: 17-20.

Kotzé, J.M. 1981. Epidemiology and Control of Citrus Black Spot in South Africa. *Plant Disease* 65 (12): 945-950.

MacHARDY, W.E., D.M. Gadoury and C. Gessler. 2001. Parasitic and Biological Fitness of *Venturia inaequalis*: Relationship to Disease Management Strategies. *Plant Disease* 85: 1036-1051.

Mondal, S.N. and L.W. Timmer. 2002. Environmental Factors Affecting Pseudothecial Development and Ascospore Production of *Mycosphaerella citri*, the Causal of Citrus Greasy Spot. *Phytopathology* 92: 1267-1275.

Pinkerton, J.N., K.B. Johnson, J.K. Stone and K.L. Ivors. 1998. Factors Affecting the Release of Ascospore of *Anisogramma anomala*. *Phytopathology* 88: 122-128.

Renato F.R., L.W. Timmer and A de Goes. 2006. Effect of Temperatures, Leaf Wetness, and Rainfall on the Production of *Guignardia citricarpa* Ascospores and on Black Spot Severity on Sweet Orange. *Fitopathol. Bras*. 31 (1): 29-34.

การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของรา *Sclerophthora rayssiae* และ *Sclerophthora macrospora* สาเหตุโรคราน้ำค้างของข้าวโพด

Surveillance and Distribution of Corn Downy Mildew Caused by *Sclerophthora rayssiae* and *Sclerophthora macrospora*

พีระวรรณ พัฒนวิภาส บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ทัศนาพร ทัศคร
อมรรัตน์ ภูไพบูลย์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

รวบรวมข้อมูลพื้นฐานของข้าวโพด และของเชื้อรา *Sclerophthora rayssiae* **และ** *Sclerophthora macrospora* จากเอกสารวิชาการและเวบไซต์ ได้สำรวจพื้นที่และวางแผนการเก็บข้อมูลโรคราน้ำค้างข้าวโพดในพื้นที่ที่มีปลูกข้าวโพดเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ จำนวน 4 จังหวัด ได้แก่ จ. เชียงราย จ. ตาก จ. นครราชสีมา และจ.สระบุรี สุ่มเก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้างข้าวโพดจำนวน 2 ครั้งเมื่อข้าวโพดที่อายุประมาณ 3-4 สัปดาห์ และเมื่อข้าวโพดที่อายุประมาณ 7-8 สัปดาห์ ที่ อ. เมือง จังหวัดเชียงรายจำนวน 2 แปลง ที่ อ. แม่ระมาด และ อ. แม่สอด จังหวัดตาก จำนวน 4 แปลง ที่ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา จำนวน 3 แปลง อ. มวกเหล็ก จ. สระบุรี จำนวน 1 แปลง ไม่พบเชื้อรา *Sclerophthora rayssiae* **และ** *Sclerophthora macrospore* สาเหตุโรคราน้ำค้างข้าวโพดในแปลงเก็บข้อมูล

รหัสโครงการ 07-01-51-01

คำนำ

โครานำ้ค้างของข้าวโพดมีสาเหตุจากเชื้อรา 3 genus 10 species ได้แก่ *Peronosclerospora sorghi* สาเหตุโรค Sorghum downy mildew เชื้อ *P. maydis* สาเหตุโรค java downy mildew เชื้อ *P. philippinensis* สาเหตุโรค Philippine downy mildew เชื้อ *P. sacchari* สาเหตุโรค Sugarcane downy mildew เชื้อ *Sclerospora graminicola* สาเหตุโรค Graminicola downy mildew หรือ Green ear of pearl millet เชื้อ *Sclerophthora macrospora* สาเหตุโรค Crazy top เชื้อ *S. rayssiae* var. zeae Payak & Renflo สาเหตุโรค Brown stripe downy mildew (Donald, G. W. 2000) ในประเทศไทยมีรายงานโครานำ้ค้างที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Sclerospora sorghi* สาเหตุโรค sorghum downy mildew เชื้อ *Sclerophthora. rayssiae* var. zeae สาเหตุโรค brown stripe downy mildew (Pitakspraiwan and Piya, 1976) ข้าวโพดที่เป็นโรคราน้ำค้าง brown stripe downy mildew พบใบข้าวโพดมีลักษณะเขียวสลับเขียวอ่อนข้าวโพดที่เป็นโรคนี้จะทำให้ผลผลิตลดลง 20-90% (Payak,1975) เชื้อ *Sclerophthora macrospora* (Shaw CG, *et al*. 1976) เชื้อ *Sclerophthora. rayssiae* var. zeae พบในหลายประเทศได้แก่ เนปาล(Shah. S. M. 1976) อินเดีย และปากีสถาน (Donald, G. W. 2000) *Sclerophthora macrospora* พบในอาฟริกาใต้ (Roth, G. 1967) อเมริกา (Ullstrup A. J. ,1970) ยุโรป และเอเชีย (Donald, G. W. 2000) ข้าวโพดส่วนยอดจะมีใบข้าวโพดเล็กๆแตกออกมา ข้าวโพดที่เป็นโรคนี้ไม่เกิดความเสียหายมาก (Ullstrup A. J. ,1970)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1 สืบค้นข้อมูล

รวบรวมข้อมูลพื้นฐานของข้าวโพดได้แก่ แหล่งปลูก จำนวนพื้นที่ปลูก พันธุ์ และข้อมูลด้านโรคของข้าวโพดเพื่อกำหนดแปลงที่จะต้องสำรวจเก็บตัวอย่าง ตลอดจนข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับรา *Sclerophthora. rayssiae* และ *Sclerophthora macrospore* เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโครานำ้ค้างของข้าวโพด

2. สำรวจและเก็บข้อมูลโรคราน้ำค้างข้าวโพดในพื้นที่ปลูกข้าวโพด

กำหนดจุดสุ่มสำรวจในในแปลงปลูกข้าวโพด โดยกำหนดจุดสำรวจ 10 จุด ต่อพื้นที่ 1 ไร่ การเดินสำรวจในแต่ละพื้นที่ที่กำหนดโดยเดินสำรวจแบบ ตัวอักษร W ตามวิธีของ Delp, *et al*. (1986)

3. การเก็บตัวอย่าง

เก็บใบ หรือส่วนของข้าวโพดที่แสดงอาการโรคราน้ำค้าง ถ่ายภาพโรคในสภาพแปลงปลูก สุ่มเก็บตัวอย่างใบหรือส่วนที่แสดงอาการของโรคนำไปตรวจสอบยืนยันเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ จัดทำตัวอย่างแห้งส่งเก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืชเพื่อใช้เป็นหลักฐานในการตรวจยืนยันการเกิดโรคเก็บสปอร์ของโรคราน้ำค้างในรูป permanent slide เพื่อจำแนกเชื้อ

4. การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลระหว่างการสำรวจได้แก่ สถานที่ วันที่ ชื่อพืช ระยะการจริญเติบโตของพืช ส่วนของพืชที่ถูกทำลาย ระดับความรุนแรงของโรค การแพร่กระจาย สภาพภูมิอากาศ ภูมิประเทศ

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2550 - กันยายน 2553

แหล่งปลูกข้าวโพดของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูล

ได้รวบรวมข้อมูลพื้นฐานของข้าวโพด และของเชื้อรา ***Sclerophthora rayssiae* และ *Sclerophthora macrospor*a** จากเอกสารวิชาการและเวบไซด์

2. สำรวจและเก็บข้อมูลโรคราน้ำค้างข้าวโพดในพื้นที่ปลูกข้าวโพด

ได้สำรวจพื้นที่และวางแผนการเก็บข้อมูลโรคราน้ำค้างข้าวโพดในพื้นที่ที่มีปลูกข้าวโพดเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ จำนวน 4 จังหวัด ได้แก่ จ. เชียงราย จ. ตาก จ. นครราชสีมา และ จ. สระบุรี สุ่มเก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้างข้าวโพดครั้งที่ 1 จากแปลงข้าวโพดที่มีอายุ 3-5 สัปดาห์ ที่ อ. เมือง จังหวัดเชียงรายจำนวน 2 แปลง ที่ อ. แม่ระมาด และ อ. แม่สอด จังหวัดตาก จำนวน 4 แปลง ที่ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา จำนวน 3 แปลง อ. มวกเหล็ก จ. สระบุรี จำนวน 1 แปลง จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้างข้าวโพดครั้งที่ 2 เมื่อข้าวโพดที่อายุประมาณ 7-8 สัปดาห์

3. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

ผลการศึกษาลักษณะอาการโรคราน้ำค้างที่ปรากฏบนข้าวโพดและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุในห้องปฏิบัติการจากตัวอย่างข้าวโพดที่แสดงอาการโรคราน้ำค้าง

ไม่พบเชื้อรา *Sclerophthora rayssiae* และ *Sclerophthora macrospore* สาเหตุโรคราน้ำค้างข้าวโพดในแปลงเก็บข้อมูล

สรุปผลการทดลอง

รวบรวมข้อมูลพื้นฐานของข้าวโพด และของเชื้อรา ***Sclerophthora rayssiae* และ *Sclerophthora macrospora*** จากเอกสารวิชาการและเวบไซต์ ได้สำรวจพื้นที่และวางแผนการเก็บข้อมูลโรคราน้ำค้างข้าวโพดในพื้นที่ที่มีปลูกข้าวโพดเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ จำนวน 4 จังหวัด ได้แก่ จ. เชียงราย จ. ตาก จ. นครราชสีมา และจ.สระบุรี สุ่มเก็บตัวอย่างโรคราน้ำค้างข้าวโพดจำนวน 2 ครั้งเมื่อข้าวโพดที่อายุประมาณ 3-4 สัปดาห์ และเมื่อข้าวโพดที่อายุประมาณ 7-8 สัปดาห์ ที่ อ. เมือง จังหวัดเชียงรายจำนวน 2 แปลง ที่ อ. แม่ระมาด และ อ. แม่สอด จังหวัดตาก จำนวน 4 แปลง ที่ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา จำนวน 3 แปลง อ. มวกเหล็ก จ. สระบุรี จำนวน 1 แปลง นำมาศึกษาลักษณะอาการโรคราน้ำค้างที่ปรากฏบนข้าวโพด จำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ ผลการทดลองพบว่าไม่พบเชื้อรา ***Sclerophthora rayssiae* และ *Sclerophthora macrospore*** สาเหตุโรคราน้ำค้างข้าวโพดในแปลงเก็บข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

Delp, B. R., L. J. Stowel, and J. J. Marois. 1986. Evaluation of field sampling techniques for estimation of disease incidence. Phytopathology. 76: 1299-1305.

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

Payak, M. M. ,1975. Trp. Agric. Res. Ser. Tokyo. 8,13-18.

Pitakspraiwan, P. and Piya, G. 1976. Morphological and cytological studies of *Sclerospora* species on corn in Thailand. Kasetsart J. 10:118-120.

Roth, G. 1967. *Sclerophthora macrospora* Sacc. on sugarcane in south Africa. Pflanzenkr.Pflanzenschutz. 74:83-100.

Shah. S. M. 1976. Downy mildew of maize in Nepal. Conference on the downy mildew diseases of maize . 4-7 October 1976. Thailand Kasetsart Journal. 10: 137-142.

Shaw CG, et al. 1976. Conference on the downy mildew diseases of maize . 4-7 October 1976. Thailand Kasetsart Journal. 10: 79-207.

Ullstrup A. J. ,1970. Crazy top of maize. Indian Phytopathol. 23: 250-261.

การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ศรีสุข พูนผลกุล ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจการเกิดโรคผลเน่า (Fruit blotch) จากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ในแปลงผลิตเมลอน (แคนตาลูป) อำเภอ อรัญประเทศ จังหวัด สระแก้ว ระหว่างเดือน มกราคม 2550 ถึงเดือนมิถุนายน 2551 สุ่มสำรวจติดตามการเกิดโรคใน 4 ระยะการเจริญ คือ ระยะกล้า ระยะติดดอก ระยะผลอ่อน และระยะผลแก่เก็บเกี่ยวผลผลิต พบการเกิดโรคระยะกล้าในระดับต่ำ ลักษณะอาการใบเลี้ยงเป็นแผลไหม้ช้ำ ในระยะผลอ่อนมีอาการผลจุดช้ำขนาดเล็ก 0.1-0.3 มม. พบผลที่แสดงอาการแผลจุด 20-80 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่แผลจุดกระจายเฉลี่ย 1-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผล ซึ่งอาจพัฒนาแผลจุดช้ำขนาดใหญ่และเข้าทำลายลึกถึงเนื้อในผลเกิดโรคผลเน่าในระยะผลแก่เก็บเกี่ยวผลผลิต 10-15 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตส่วนใหญ่เป็นผลที่มีอาการแผลจุดแต่ไม่เกิดอาการผลเน่า 80-90 เปอร์เซ็นต์ สำหรับอาการที่ใบพบแผลจุดขอบแผลช้ำ ที่ก้านใบและลำต้นพบอาการเน่าช้ำ แต่เมื่อนำมาแยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ไม่พบแบคทีเรียสาเหตุโรค

รหัสการทดลอง 07-01-51-01-01-01-05-51

คำนำ

โรคผลเน่า (Fruit blotch) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* (Schaad et al.,1978) ต่อมามีการเปลี่ยนชื่อเป็น *Acidovorax avanae* subsp.*citrulli* โรคผลเน่าเป็นโรคที่สำคัญในการผลิตพืชตระกูลแตง โดยเฉพาะ แตงโม แคนตาลูป เมลอน และสควอช พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1965 ที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ต่อมาพบระบาดในหลายประเทศทั่วโลก ได้แก่ จีน อิสราเอล ญี่ปุ่น ตุรกี บราซิล และออสเตรเลีย (CAB International, 2005) Latin and Rane (1990) รายงานพบการระบาดในรัฐอินเดียน่า ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำให้ผลผลิตแตงโมที่เจริญเติบโตเต็มที่เน่าเสียหายมากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกษตรกรสูญเสียรายได้เป็นจำนวนมาก ต่อมาพบระบาดในอีกหลายรัฐของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แก่ ฟลอริดา (Somodi et al.,1991), โอคลาโฮมา (Jacob et al., 1992) เซาท์คาโรไรน่า , นอร์ธคาโรไรน่า, เมรี่แลนด์ (Hopkins et al., 1992)

ในประเทศไทย มีรายงานการพบโรคผลเน่าแตงโม ในเขต จ.สกลนคร และ จ.นครราชสีมา ในปี 2536 (ณัฏฐิมา, 2537) ต่อมาในปี พ.ศ. 2538-2540 ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่า พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสารเรืองแสง (non-fluorescent) สร้างเอนไซม์ oxidase รูปร่างเป็นท่อนสั้น (rod-shape) ลักษณะโคโลนีกลมนูน ขอบเรียบ สีขาวครีม เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ไปปลูกเชื้อลงบนใบเลี้ยงของต้นกล้าแตงโมทำให้ต้นกล้าแสดงอาการ โดยทำให้ใบเลี้ยงหลุดร่วงภายใน 7 วัน และเมื่อปลูกเชื้อลงบนผลแตงโมสามารถทำให้ผลแตงโมเน่าเสียภายใน 14 วัน (ณัฏฐิมา, 2540) ทั้งนี้เชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* จัดเป็นเชื้อต้องห้ามที่สำคัญทางการกักกันพืช (Wall et al.,1990)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจโรคในแหล่งปลูก

สำรวจ รวบรวมโรคจาก แหล่งปลูกพืชตระกูลแตง ได้แก่ แตงโม แตงแคนตาลูป เมลอน เป็นต้น โดยทำการสุ่มสำรวจเพื่อประเมินและติดตามการเกิดโรคผลเน่าแตง ในแหล่งปลูกที่สำคัญในการผลิต และในแหล่งปลูกที่เคยมีรายงานการเกิดโรคระบาด จากการสอบถามข้อมูลพบว่าเกษตรกรในเขตอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว มีการปลูกเมลอน (แคนตาลูป) ซึ่งเป็นพืชตระกูลแตงที่ได้รับความเสียหายจากโรคผลเน่ามานาน และมีความรุนแรงขึ้นทุกปี จึงเลือกสุ่มสำรวจโรค โดยการติดตามการเกิดโรคในระยะการเจริญต่าง ๆ โดยเมลอน เป็นพืชที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 60-70 วัน จึงแบ่งช่วงการสำรวจ ดังนี้

-ระยะกล้า อายุ10-20 วัน มีใบเลี้ยง 2 คู่ หรือต้นกล้าหลังการย้ายกล้ามีใบจริง 1-2 ใบ

-ระยะการเจริญและออกดอก อายุ 21-35 วัน เป็นระยะที่ต้นเจริญ ออกดอกและติดผลอ่อน

-ระยะติดผล อายุ 36-50 วัน เป็นระยะติดผลขนาดเล็ก ถึงขนาดใหญ่

-ระยะผลแก่และเก็บเกี่ยว อายุ 51-70 วัน เป็นระยะที่ผลใหญ่และมีการเก็บเกี่ยว

การเก็บและบันทึกข้อมูล

- บันทึกแหล่งที่สำรวจ ชื่อพืช พื้นที่ปลูก พันธุ์ ระยะการเจริญของพืช สภาพแวดล้อมอื่นๆ

- บันทึกลักษณะอาการการเกิดโรค ส่วนของพืชที่พบอาการ ประเมินความรุนแรงของโรค คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค

- บันทึกการเกิดโรคบนพืชอาศัยอื่นๆ ลักษณะอาการหรือบนวัชพืชบริเวณแปลงปลูก

สุ่มตรวจดูอาการผิดปกติทั้งต้น ประเมินความรุนแรง จำนวน 25 ต้นต่อแปลง จากนั้นประเมินการเกิดโรคในภาพรวมทั้งแปลง

2. **วินิจฉัยตัวอย่างโรคพืช และตรวจพิสูจน์เชื้อ** *A. avenae* subsp. *citrulli*

เก็บตัวอย่างอาการโรคจากแปลงปลูก นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการบนอาหารสังเคราะห์ เลือกโคโลนีเดี่ยว เลี้ยงให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ จำแนกชนิดของเชื้อ ตรวจเชื้อด้วยเทคนิคเซรุ่มวิทยา และเทคนิคพีซีอาร์ ทดสอบคุณสมบัติการก่อให้เกิดโรค โดยการฉีดเซลล์แขวนลอยเชื้อเข้าใต้ใบเลี้ยงของต้นกล้าแตงโม และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีอื่น ๆ ของเชื้อ

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2550 – กันยายน 2551

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
แปลงปลูกเมลอนของเกษตรกร อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจโรคในแหล่งปลูก

สำรวจโรคในแหล่งปลูกเมลอน อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว ซึ่งมีการปลูกเมลอนเป็นการค้ามานานนับ 40 ปี พื้นที่ปลูกรวม 600 -1,200 ไร่ ต่อปี ปลูกมากที่ตำบลผ่านศึก และตำบลป่าไร่ มีการปลูกหมุนเวียนตลอดปี (5-6 รุ่นต่อปี) เกษตรกรมีการย้ายที่ปลูกเนื่องจากปัญหาศัตรูพืช พันธุ์เมลอนที่ปลูกได้แก่ พันธุ์ซันเลดี้ พันธุ์สีทอง พันธุ์ฮันนี่เวิล์ด เรดดิว พอร์ทออเรนท์ และฮันนี่ดิว เกษตรกรซื้อเมล็ดพันธุ์ลูกผสมจากบริษัทเพื่อนเกษตร และบริษัทตะวันรุ่ง

จากการสอบถามเกษตรกร พบว่าปัญหาโรคที่พบในการผลิต ได้แก่ ราแป้ง ราน้ำค้าง พบบ้างแต่ไม่เป็นปัญหาเนื่องจากมีการพ่นสารเคมีควบคุม โรคใบด่างเหลืองจากไวรัส ยอดหงิก

เนื่องจากแมลงเป็นพาหะนำโรคพบมากแต่ยังเก็บผลผลิตได้ และปัญหาที่สำคัญคือโรคผลเน่า ทำให้ผลเมลอนเน่าเสีย ผลผลิตไม่มีคุณภาพ โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนที่มีอากาศร้อนชื้นโรคผลเน่าเป็นปัญหามากที่สุด

ในการปลูกเมลอนเกษตรกรเพาะเมล็ดในถาดหลุมวางเรียงบนแพท่อนไม้ไผ่บนดิ จากนั้นย้ายกล้าปลูก ขึ้นค้างไม้ไผ่เมื่อต้นเริ่มสูงขึ้นและเลื้อย (ภาพที่ 1) เก็บผลผลิตเมื่อเมลอนอายุประมาณ 60 วัน เก็บผลผลิตรวมกันแล้วคัดขนาดและคุณภาพ ผลจากการสำรวจติดตามอาการโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เก็บตัวอย่างเพื่อแยกเชื้อและพิสูจน์โรค ดังนี้

-ระยะกล้า พบอาการใบเลี้ยงเน่าช้ำ และไหม้ ในต้นกล้าหลังการย้ายปลูกลงแปลง อายุประมาณ 15 วัน (ภาพที่ 2ก) พบการเกิดโรคต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่อมาพบว่าใบเลี้ยงไหม้และหลุดร่วงไป ทำให้ต้นเมลอนสามารถเจริญได้ปกติ ซึ่ง Hopkins และคณะ (1992) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของแตงโมสามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า หากอาการรุนแรงสามารถทำให้ต้นกล้าตายได้

-ระยะการเจริญและออกดอก ที่ใบพบอาการแผลจุดขอบแผลช้ำสีเขียวอมเหลืองอ่อน (ภาพที่ 2ข) ซึ่งพบได้เกือบทั้งต้นโดยพบมากบริเวณใบที่ 2-5 จากยอด พบมาก 20-50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ไม่มีรายงานอาการโรคทางใบ Hopkins et al. (1992) รายงานว่าในระยะต้นโตเชื้อแบคทีเรียสามารถเข้าทำลายพืชได้แต่อาการไม่รุนแรงหรือไม่แสดงอาการเลยแต่แฝงอยู่บนต้น เมื่อผลเจริญเติบโตเต็มที่ใกล้เก็บเกี่ยวเชื้อจะเข้าทำลายผล ทำให้ผลแตงโมแสดงอาการของโรคและเน่าเสียไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้

-ระยะติดผล พบอาการผลจุดขนาดเล็ก 1 มม. แผลขยายขนาดขึ้นเมื่อผลใหญ่ขึ้น (2-3 มม.)บางแผลมีอาการจุดนูนช้ำเป็นสีเขียว (ภาพที่ 2ค) พบอาการโรค 20-80 เปอร์เซ็นต์ และอาการก้านใบและลำต้นเน่าช้ำ (ภาพที่ 2ง)

-ระยะผลแก่และเก็บเกี่ยว พบอาการผลจุด 80-90 เปอร์เซ็นต์ โดยพบอาการผลเน่า 5-10 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2จ-ฉ) เช่นเดียวกับอาการโรคผลเน่าของแตงโม ผลที่เจริญเติบโตเต็มที่ใกล้เก็บเกี่ยว พบอาการเป็นจุดแผลช้ำฉ่ำน้ำ แผลพัฒนาอย่างรวดเร็วเปลี่ยนเป็นสีเขียวคล้ำคล้ายรอยเปื้อนน้ำมันขยายลามไม่มีขอบเขต ในเวลา 2-3 วันจะขยายลามคลุมทั่วทั้งผลทำให้ผลแตงโมแตกเนื้อแตงโมภายในเน่าเสีย ไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ (Schaad et al.,1978; Hopkins et al.,1992 ; Latin and Rane,1990)

สำหรับผลเน่าที่เกษตรกรเก็บผลผลิตออกจากแปลง จะถูกคัดออกและโยนทิ้งไว้ข้างแปลง ซึ่งจะเป็นแหล่งเชื้อในการปลูกพืชรุ่นต่อไป ทำให้เกษตรกรไม่สามารถปลูกซ้ำที่ได้ จึงต้องย้ายที่ปลูกบ่อย ๆ

2. วินิจฉัยตัวอย่างโรคพืช และตรวจพิสูจน์เชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli*

การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าจากอาการที่เก็บตัวอย่างจากแปลงปลูกเมลอน บนอาหาร Nutrient glucose agar (NGA) อายุ 48 ชั่วโมง พบแบคทีเรียลักษณะโคโลนีกลมนูนสีขาวขุ่น ขนาดเล็ก 1-2 มม. บนอาหาร Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ (YDC) โคโลนีกลมสีครีมอมส้ม ขอบราบ เมื่อโคโลนีอายุ 4-5 วันจะสร้างคราบเป็นรอยบางรอบโคโลนี และบนอาหาร Tween agar (TW) อายุ 48 ชั่วโมง แบคทีเรียมีโคโลนีกลมนูนสีขาวขุ่น ขนาดเล็ก รอบโคโลนีสร้างฝ้าเป็นตะกอนขาวขุ่น (ภาพที่ 3) แยกเชื้อแบคทีเรียบนอาหารจากตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้จากการสำรวจ ได้ผลดังนี้

-อาการแผลเน่าช้ำบริเวณใบเลี้ยง แยกได้เชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli*

-อาการแผลจุดช้ำที่ใบ จากการเก็บตัวอย่าง 5 ครั้ง 25 ตัวอย่าง แยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ ไม่พบลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค โดยส่วนมากพบโคโลนีกลมนูนสีเหลือง ซึ่งเมื่อทำการปลูกเชื้อกลับที่ใบเมลอน ไม่เกิดอาการโรค

-อาการก้านใบเน่าช้ำ แยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ ไม่พบแบคทีเรียสาเหตุโรค

-อาการผลจุด แผลจุดช้ำที่แยกได้เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค ลักษณะอาการแผลจุดที่เป็นร่องแผลลึก เมื่อผ่าผลพบอาการที่เชื้อเข้าทำลายทะลุไปถึงเนื้อทำให้เนื้อเมลอนเป็นสีน้ำตาล และทำให้เนื้อเยื่อที่ยึดเกาะเมล็ดล่มกลายเป็นน้ำ และอาการแผลจุดช้ำที่เชื้อลุกลาม ไหลเป็นร่องช้ำเป็นแนว ต่อมาเชื้อลุกลามลงไปที่เนื้อทำให้เกิดอาการเน่าช้ำ (ภาพที่ 4) โดยอาการทั้งสองลักษณะแยกเชื้อได้เชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli*

จากข้อสังเกตพบว่าอาการโรคผลเน่าของเมลอน มีลักษณะคล้ายกับอาการโรคผลเน่าของแตงโม โดยพบได้ในระยะกล้าและพบอาการที่ผล Hopkins et al. (1992) รายงานว่าผลแตงโมที่เจริญเติบโตเต็มที่ใกล้เก็บเกี่ยว พบอาการเป็นจุดแผลช้ำฉ่ำน้ำ แผลพัฒนาอย่างรวดเร็วเปลี่ยนเป็นสีเขียวคล้ำคล้ายรอยเปื้อนน้ำมันขยายลามไม่มีขอบเขต แต่เมลอนมีลักษณะของผิวเปลือกและเนื้อที่แข็งกว่าแตงโม ทำให้การพัฒนาอาการเกิดได้ช้ากว่าเล็กน้อย

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจโรคเพื่อการเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง พบการเกิดโรคระยะกล้าในระดับต่ำ ลักษณะอาการใบเลี้ยงเป็นแผลไหม้ช้ำ ในระยะผลอ่อนมีอาการผลจุดช้ำขนาดเล็ก 0.1-0.3 มม. พบผลที่แสดงอาการแผลจุด 20-80 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่แผลจุดกระจายเฉลี่ย 1-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผล ซึ่งอาจพัฒนาแผลจุดช้ำขนาดใหญ่และเข้าทำลายลึกถึงเนื้อในผลเกิดโรคผลเน่าในระยะผลแก่เก็บเกี่ยวผลผลิต 10-15 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตส่วนใหญ่เป็นผลที่มีอาการแผลจุด

แต่ไม่เกิดอาการผลเน่า 80-90 เปอร์เซ็นต์ สำหรับอาการที่ใบพบแผลจุดขอบแผลช้ำ ที่ก้านใบและลำต้นพบอาการเน่าช้ำ แต่เมื่อนำมาแยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์ไม่พบแบคทีเรียสาเหตุโรค ทั้งนี้จะได้ทำการสำรวจติดตามการเกิดโรค ศึกษาลักษณะอาการ และตรวจเชื้อด้วยเทคนิคอื่น ๆ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา บุญวัฒน์. 2537. โรคผลเน่า : ปัญหาใหม่ของแตงโม. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา.4:20

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วนิดา ฐิตะฐาน. 2540. การศึกษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของแตงโม. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย ปี 2540 กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Hopkins, D.L, T. Kucharek, D. Gay, R. Gitaitis, W. Cook and A. Keirath. 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon. Report of Asgrow Seed Company. USA. 3 p.

Jacobs, J.L., J.P. Damicone and B.D. Mcgraw. 1992. First Report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oklahoma. Plant Dis. 76: 1185.

Latin, R.X. and K.K. Rane. 1990. Bacterial fruit blotch of watermelon in Indiana. Plant Dis. 74: 331.

Schaad, N.W., G.Jr. Sowell, R.W. Goth, R.R. Colwell and R.E. Webb. 1978. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov.. Int. J. Syst. Bacteriol.28:117-125.

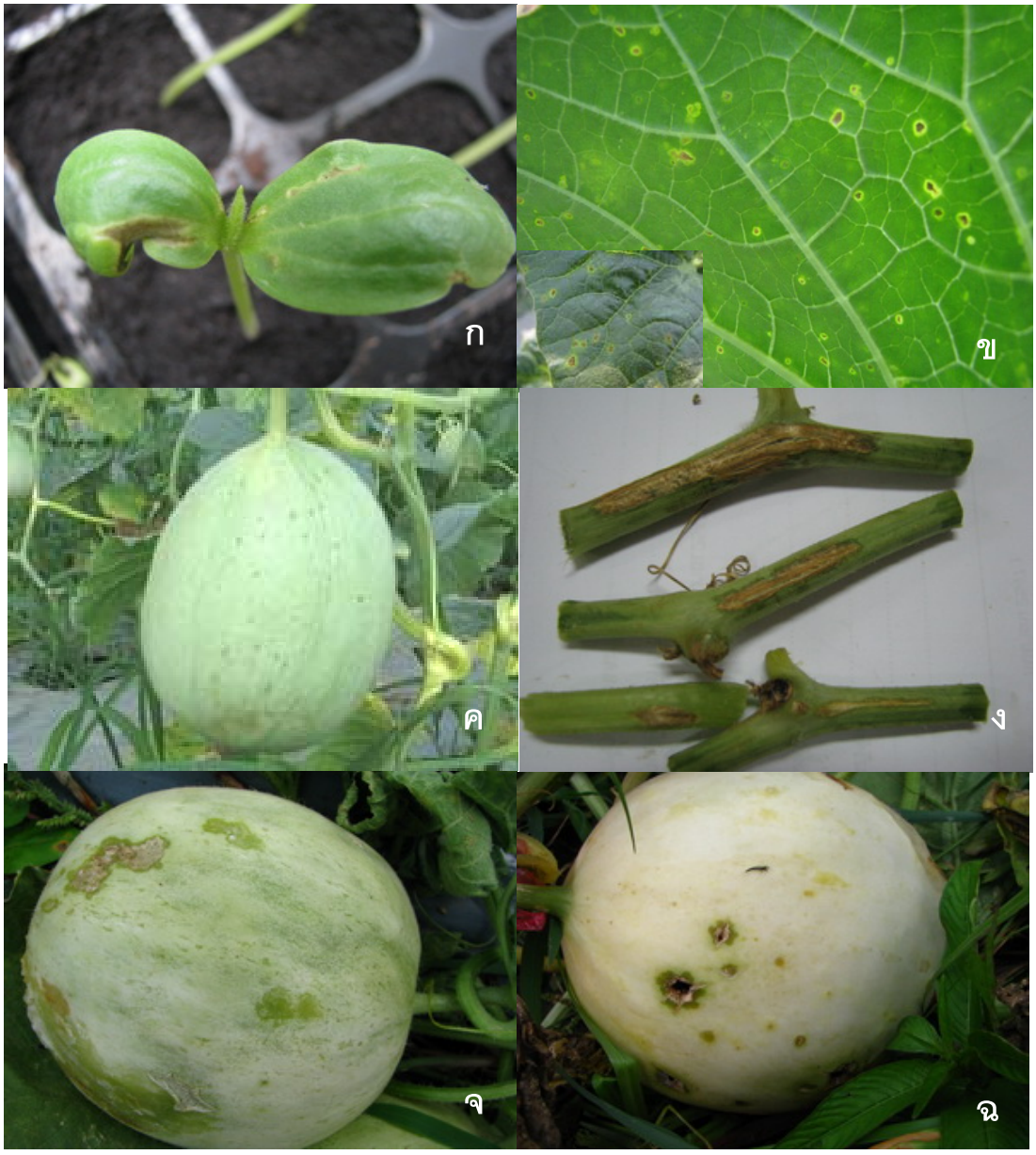
Somodi, G.C., J.B. Jones, D.L. Hopkins, R.E. Stall, T.A. Kucharek, N.C. Hodge and J.C. Watterson. 1991. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. Plant Dis. 75: 1053-1056.

Sowell, G.Jr. and N.W. Schaad. 1979. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subp. *citrulli.* on watermelon : Seed transmission and resistance of plant introductions. Plt. Dis. Rept. 63 : 437-441.

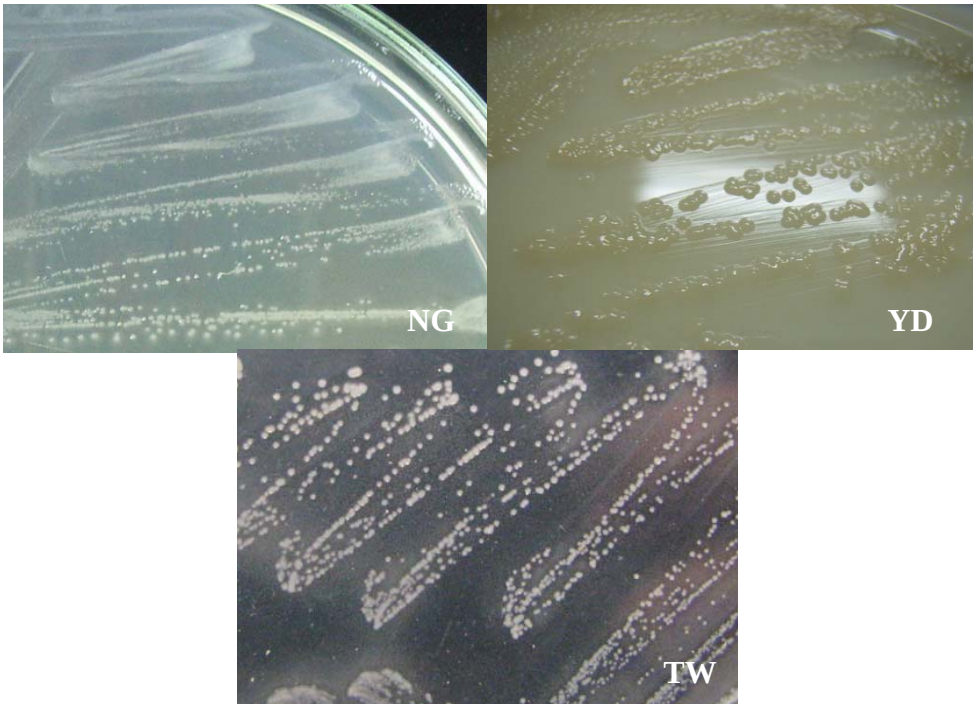
Wall, G.C., V.M. Santos, F.J. Cruz and D.A. Nelson. 1990. Outbreak of watermelon fruit blotch in the Mariana Islands. Plant Dis. 74:80.

Willems, A., M. Goor, S. Thielemans, M. Gillis, K. Kersters and J. De Ley. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Psuedomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovarax avenae* subsp. *avenae* subsp.nov. comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidorovax konjaci*. Int. J. Syst. Bacteriol. 42 : 107-119.

ภาพที่ 1 การปลูกเมลอนของเกษตรกร อ.อรัญประเทศ จ.สระแก้ว



ภาพที่ 2 ลักษณะอาการที่คาดว่าเป็นโรคผลเน่า ที่เก็บรวบรวมตัวอย่างมาพิสูจน์เชื้อ



ภาพที่ 3 ลักษณะ typical โคโลนีเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

ภาพที่ 4 อาการผลเน่าของเมลอนเปรียบเทียบลักษณะแผลภายนอกผลและภายในผล

ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* ในพืชตระกูลแตง

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ บุษราคัม อุดมศักดิ์
ศรีสุข พูนผลกุล ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* ด้วยวิธี cotyledon injection และการพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD มี 2 ปัจจัย โดยให้ปัจจัยหลักคือ ไอโซเลตของเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *Citrulli* ที่แยกได้จากแตงโม และเมลอน ปัจจัยร่วมคือ ชนิดของพืชทดสอบ 9 ชนิด คือ เมลอนเขียว พันธุ์ฮันนี่เวิล์ด เมลอนเนื้อส้ม พันธุ์ฮันนี่ดิว แคนตาลูป แตงร้าน แฟง บวบเหลี่ยม แตงกวา แตงโม ฟักทอง ทำการทดลอง 5 ซ้ำ โดยปลูกพืชทดสอบในเรือนทดลอง พบว่าพืชทดสอบแสดงอาการโรคเมื่อทำการปลูกเชื้อบนใบเลี้ยงด้วยวิธี cotyledon injection ในทั้ง 2 ไอโซเลทที่ทำการทดสอบ และเมื่อนำแผลที่เกิดกับพืชทดสอบมาแยกเชื้อ และนำไปปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ ก็พบว่าพืชทดสอบทั้ง 9 ชนิด แสดงอาการของโรค จึงสามารถสรุปได้ว่าพืชทั้ง 9 ชนิดเป็นพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่า

รหัสโครงการ 07-01-51-01

คำนำ

โรคผลเน่า (Fruit blotch) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* (Schaad et al.,1978) ต่อมามีการเปลี่ยนชื่อเป็น *Acidovorax avanae* subsp.*citrulli* (Aac.) โรคผลเน่าเป็นโรคที่สำคัญในการผลิตพืชตระกูลแตง โดยเฉพาะ แตงโม แคนตาลูป เมลอน และสควอช พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1965 ที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ต่อมาพบระบาดในหลายประเทศทั่วโลก ได้แก่ จีน อิสราเอล ญี่ปุ่น ตุรกี บราซิล และออสเตรเลีย (CAB International, 2005) Latin และ Rane (1990) รายงานพบการระบาดในรัฐอินเดียน่า ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำให้ผลผลิตแตงโมที่เจริญเติบโตเต็มที่เน่าเสียหายมากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกษตรกรสูญเสียรายได้เป็นจำนวนมาก ต่อมาพบระบาดในอีกหลายรัฐของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แก่ ฟลอริดา (Somodi et al.,1991), โอคลาโฮมา (Jacob et al., 1992) เซาท์คาโรไรน่า , นอร์ธคาโรไรน่า, เมรี่แลนด์ (Hopkins et al., 1992)

ในประเทศไทย มีรายงานการพบโรคผลเน่าแตงโม ในเขต จ.สกลนคร และ จ.นครราชสีมา ในปี 2536 (ณัฏฐิมา, 2537) ต่อมาในปี พ.ศ. 2538-2540 ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่า พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสารเรืองแสง (non-fluorescent) สร้างเอนไซม์ oxidase รูปร่างเป็นท่อนสั้น (rod-shape) ลักษณะโคโลนีกลมนูน ขอบเรียบ สีขาวครีม เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ไปปลูกเชื้อลงบนใบเลี้ยงของต้นกล้าแตงโมทำให้ต้นกล้าแสดงอาการ โดยทำให้ใบเลี้ยงหลุดร่วงภายใน 7 วัน และเมื่อปลูกเชื้อลงบนผลแตงโมสามารถทำให้ผลแตงโมเน่าเสียภายใน 14 วัน (ณัฏฐิมาและคณะ, 2540)

ณัฏฐิมา และคณะ (2540) ได้ผลิตแอนติซีรัมโดยวิธี Glutaraldehyde Fixed Cells เพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของแตงโม พบว่าแอนติซีรัมที่ได้สามารถเกิดปฏิกิริยากับเชื้อ *A. avenae* subsp. *citrulli* ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ แต่ไม่เกิดปฏิกิริยากับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv.*citri* ,*X. campestris* pv.*campestris*, *Erwinia carotovora* pv.*cartovora* และ *Pseudomonas solanacearum* แสดงว่าแอนติซีรัมที่ได้ค่อนข้างเฉพาะเจาะจงกับเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*

โรคผลเน่าพบเป็นปัญหาระบาดครั้งแรกในแตงโม ผลที่เจริญเติบโตเต็มที่ใกล้เก็บเกี่ยว พบอาการเริ่มแรกเป็นจุดแผลช้ำฉ่ำน้ำ แผลพัฒนาอย่างรวดเร็วเปลี่ยนเป็นสีเขียวคล้ำคล้ายรอยเปื้อนน้ำมันขยายลามไม่มีขอบเขต ในเวลา 2-3 วันจะขยายลามคลุมทั่วทั้งผลทำให้ผลแตงโมแตกเนื้อแตงโมภายในเน่าเสีย ไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ (Schaad et al.,1978; Hopkins et al.,1992 ; Latin and Rane,1990)

Latin และ Rane (1990) พบว่าการระบาดของโรครุนแรงบนผลแตงโมก่อนเก็บเกี่ยว 2 อาทิตย์ Hopkins และคณะ (1992) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรคผลเน่าของแตงโม สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าโดยสามารถทำให้ต้นกล้าตายได้ แต่ในระยะต้นโตในสภาพแปลงปลูกเชื้อแบคทีเรียนี้เข้าทำลายได้แต่อาการไม่รุนแรงหรือไม่แสดงอาการเลยแต่แฝงอยู่บนต้นแตงโม เมื่อผลแตงโมเจริญเติบโตเต็มที่ใกล้เก็บเกี่ยวเชื้อจะเข้าทำลายผลแตงโม ทำให้ผลแตงโมแสดงอาการของโรคและเน่าเสียไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้ Frankle et al. (1993) รายงานว่า เชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรคผลเน่าของแตงโมสามารถเข้าทำลายผลแตงโมโดยเข้าทางปากใบของผลแตงโม เชื้อแบคทีเรียสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ และแพร่กระจายไปยังแหล่งต่างๆทั่วโลกได้ (Sowell and schaad,1979 ; Rane and Latin,1992) ในปัจจุบันเชื้อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *citrulli* จัดเป็นเชื้อต้องห้ามที่สำคัญทางด้านการกักกันพืช (Wall et al., 1990)

การป้องกันกำจัดโรคนี้ได้มีรายงานโดย Hopkins et al.(1992) ว่า วิธีการป้องกันกำจัดโรคนี้ควรใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากโรคและสามารถใช้สารเคมีพวกสารประกอบทองแดงลดการเกิดโรคได้ โดยฉีดพ่นขณะที่เริ่มติดผลควรใช้ 2-3 ครั้ง แต่ต้องระมัดระวังเนื่องจากสารประกอบทองแดงอาจมีผลทำให้ต้นแตงโมชะงักการเจริญเติบโตได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่า ที่แยกจากแตงโม และเมลอน มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชทดสอบ โดยการปลูกเชื้อบนพืชตระกูลแตง 9 ชนิดที่ปลูกไว้ในเรือนทดลองด้วยวิธี Cotyledon injection และวิธีการพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย

เตรียมเชื้อทดสอบโดยนำเชื้อที่แยกจากแตงโม และเมลอนมาเลี้ยงบนอาหาร NA ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารแล้วใช้เข็มเขี่ยปลายวงกลมกวาดโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียออกจากผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ปรับสารแขวนลอยแบคทีเรียให้มีความขุ่นเมื่อวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1 สำหรับนำไปปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ

เตรียมพืชทดสอบโดยการเพาะกล้าเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตง 9 ชนิด ได้แก่ เมลอนเขียว พันธุ์ฮันนี่เวิล์ดเมลอนเนื้อส้ม พันธุ์ฮันนี่ดิว แคนตาลูป แตงร้าน แฟง บวบเหลี่ยม แตงกวา แตงโม ฟักทอง ลงในถาดเพาะเมล็ด และทำการปลูกเชื้อบนใบเลี้ยงเมื่อพืชทดสอบมีใบจริง 2 ใบ (อายุประมาณ 15 วัน) ด้วยวิธี cotyledon injection โดยใช้เข็มฉีดยาดูดสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียแล้วฉีดเข้าไปบริเวณใต้ใบเลี้ยง 0.1 มิลลิลิตร และมีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทนสาร

แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ คลุมต้นพืชทดสอบด้วยถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำถุงพลาสติกออก จากนั้นทำการสังเกตอาการของโรคด้วยสายตา ว่าพืชแสดงอาการของโรคหรือไม่

เตรียมพืชทดสอบโดยการเพาะกล้าเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตง 9 ชนิด ได้แก่ เมลอนเขียว พันธุ์ฮันนี่เวิล์ดเมลอนเนื้อส้ม พันธุ์ฮันนี่ดิว แคนตาลูป แตงร้าน แฟง บวบเหลี่ยม แตงกวา แตงโม ฟักทอง ลงในกระถาง และทำการปลูกเชื้อบนใบจริงเมื่อพืชทดสอบมีใบจริง 4 ใบ (อายุประมาณ 20 วัน) ด้วยวิธีการพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย และมีการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทนสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ คลุมต้นพืชทดสอบด้วยถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำถุงพลาสติกออก จากนั้นทำการสังเกตอาการของโรคด้วยสายตา ว่าพืชแสดงอาการของโรคหรือไม่

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบพืชอาศัย โดยการตรวจผลการเกิดโรคทุก 3, 5 และ 7 วัน พบพืชทั้ง 9 ชนิด แสดงอาการโรคบริเวณใบเลี้ยงที่ฉีดเชื้อด้วยวิธี cotyledon injection แต่ความรุนแรงในการเกิดโรคแตกต่างกันระหว่างเชื้อ 2 ไอโซเลตในพืชทดสอบทั้ง 9 ชนิด โดยพืชทดสอบจะมีขนาดของแผลที่ใหญ่กว่า ในพืชที่ฉีดด้วยเชื้อไอโซเลตที่แยกจากเมลอน ส่วนพืชที่ฉีดด้วยเชื้อไอโซเลตที่แยกจากแตงโมจะแสดงอาการของโรคน้อยกว่ามีขนาดแผลเล็กกว่าในทุกๆ พืชที่ทดสอบ และพบการแสดงอาการของโรคเมื่อปลูกเชื้อได้ 3 วัน และแผลจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ โดยเริ่มแรกแผลจะมีลักษณะช้ำฉ่ำน้ำ ต่อมาแผลจะเริ่มไหม้และขยายขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ ตามความยาวของใบเลี้ยง และใบเลี้ยงจะหลุดร่วงภายใน 7 วัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของณัฏฐิมา และคณะ (2540)

การทดสอบพืชอาศัย โดยการตรวจผลการเกิดโรคทุก 3, 5 และ 7 วัน พบพืชทั้ง 9 ชนิด แสดงอาการโรคบริเวณใบจริงด้วยวิธีการพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียไม่ชัดเจนทั้ง 2 ไอโซเลตในพืชทดสอบทั้ง 9 ชนิด โดยพืชทดสอบจะมีขนาดของแผลที่เล็ก มีลักษณะของแผลเป็นจุดเล็กๆ สีน้ำตาลมีสีเหลืองล้อมรอบ และแผลมีขนาดเท่าเดิมไม่เปลี่ยนแปลง และเมื่อนำแผลที่เกิดกับพืชทดสอบมาแยกเชื้อ และนำไปปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ ก็พบว่าพืชทดสอบทั้ง 9 ชนิดไม่แสดงอาการของโรค ซึ่งอาจแสดงได้ว่าแผลดังกล่าวไม่ใช่แผลที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *Citrulli* แต่อาจเป็นแผลที่เกิดจากสาเหตุอื่นเช่นแผลที่เกิดจากการทำแผลในระหว่าการปลูกเชื้อ เป็นต้น ในการปลูกเชื้อด้วยวิธีการพ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย และพืชทั้ง 9 ชนิดไม่แสดงอาการของโรคอาจมีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือปริมาณของเชื้อที่ใช้น้อยเกินไปก็ได้

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าพืชที่นำมาทดสอบการเกิดโรคทั้ง 9 ชนิด ได้แก่ เมลอนเขียว พันธุ์ฮันนี่เวิล์ด เมลอนเนื้อส้ม พันธุ์ฮันนี่ดิว แคนตาลูป แตงร้าน แฟง บวบเหลี่ยม แตงกวา แตงโม ฟักทอง แสดงอาการโรคเมื่อทำการปลูกเชื้อบนใบเลี้ยงด้วยวิธี cotyledon injection ในทั้ง 2 ไอโซเลทที่ทำการทดสอบ และเมื่อนำแผลที่เกิดกับพืชทดสอบมาแยกเชื้อ และนำไปปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ ก็พบว่าพืชทดสอบทั้ง 9 ชนิดแสดงอาการของโรค จึงสามารถสรุปได้ว่าพืชทั้ง 9 ชนิดเป็นพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่า

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา บุญวัฒน์. 2537. โรคผลเน่า : ปัญหาใหม่ของแตงโม. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา.4:20

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วนิดา ฐิตะฐาน. 2540. การศึกษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคผลเน่าของแตงโม. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย ปี 2540 กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วงศ์ บุญสืบสกุล วนิดา ฐิตะฐาน และรุ่งนภา คงสุวรรณ์. 2540. การผลิตแอนติซีรัมโดยวิธี Glutaraldehyde Fixed Cells เพื่อใช้ในการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของแตงโม. รายงานความก้าวหน้าผลงานวิจัย ปี 2540 กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Frankle, W.G., D.L. Hopkins and R.E. Stall. 1993. Ingress of the watermelon fruit blotch bacterium into fruit. Plant Dis. 77: 1090-1092.

Hopkins, D.L, T. Kucharek, D. Gay, R. Gitaitis, W. Cook and A. Keirath. 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon. Report of Asgrow Seed Company. USA. 3 p.

Hu, F.P., J.M. Young and C.M. Triggs. 1991. Numerical analysis and determinative test for nonfluorescent plant-pathologenic *Pseudomonas* spp. and genomic analysis and reclassification of species related to *Pseumonas avenae* Manns 1909. Int. J. Syst. Bacteriol. 41. 516-525.

Jacobs, J.L., J.P. Damicone and B.D. Mcgraw. 1992. First Report of bacterial fruit blotch of watermelon in Oklahoma. Plant Dis. 76: 1185.

Latin, R.X. and K.K. Rane. 1990. Bacterial fruit blotch of watermelon in Indiana. Plant Dis. 74: 331.

Rane, K.K. and R.X. Latin. 1992. Bacterial fruit blotch of watermelon : Association of the pathogen with seed . Plant Dis. 76: 509-512.

Hidebrand, D.C., M.N. Scroth and D.C. Sands. 1988. Part C. *Pseudomonas* . p. 60 - 80 *In*: Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 2nd ed. (N.W. Schaad, Eds.). The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.

Schaad, N.W., G.Jr. Sowell, R.W. Goth, R.R. Colwell and R.E. Webb. 1978. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subsp. *citrulli* subsp. nov.. Int. J. Syst. Bacteriol.28:117-125.

Somodi, G.C., J.B. Jones, D.L. Hopkins, R.E. Stall, T.A. Kucharek, N.C. Hodge and J.C. Watterson. 1991. Occurrence of a bacterial watermelon fruit blotch in Florida. Plant Dis. 75: 1053-1056.

Sowell, G.Jr. and N.W. Schaad. 1979. *Pseudomonas pseudoalcaligenes* subp. *citrulli.* on watermelon : Seed transmission and resistance of plant introductions. Plt. Dis. Rept. 63 : 437-441.

Wall, G.C., V.M. Santos, F.J. Cruz and D.A. Nelson. 1990. Outbreak of watermelon fruit blotch in the Mariana Islands. Plant Dis. 74:80.

Willems, A., M. Goor, S. Thielemans, M. Gillis, K. Kersters and J. De Ley. 1992. Transfer of several phytopathogenic *Psuedomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovarax avenae* subsp. a*venae* subsp.nov. comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidorovax konjaci*. Int. J. Syst. Bacteriol. 42 : 107-119.

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ในไม้น้ำและไม้ดอกไม้ประดับ

Surveillance of of *Radopholus similis* in Aquatic Plant and Ornamental Plant

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด[1/] วานิช คำพานิช[2/]
กลุ่มวิจัยโรคพืช[1/] กลุ่มวิจัยการกักกันพืช[2/] สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสุ่มเก็บไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. ของฟาร์มปลูกพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออกในเขตกรุงเทพมหานคร โดยทำการเก็บตัวอย่างต้นไม้น้ำพร้อมรากจำนวน 10 ตัวอย่าง (บ่อปลูก) ตัวอย่างละ 10 ต้น/บ่อ รวม 100 ต้น/เดือน เริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม-เดือนกันยายน 2551 เป็นเวลา 9 เดือน โดยการแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชด้วยเทคนิค Mist chamber ผลการตรวจและนับจำนวนพบไส้เดือนฝอย *R. similis* ในบ่อปลูกไม้น้ำแพร่ระบาดตั้งแต่ระดับ 0-20 % ของพื้นที่สุ่ม โดยตรวจพบ *R. similis* ในรากไม้น้ำสูงที่สุดในเดือนมกราคมและมิถุนายน 2551 จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นการแพร่ระบาดเท่ากับ 20 % และพบจำนวน *R. similis* ในรากสูงที่สุดในเดือนมีนาคม 2551 จำนวน 36 ตัว/ราก 10 ต้น/1 ตัวอย่าง รองลงมาคือ เดือนเมษายน 2551 จำนวน 28 ตัว/ราก 10 ต้น/1 ตัวอย่าง และตรวจไม่พบในเดือนกุมภาพันธ์ กรกฎาคม สิงหาคม และกันยายน 2551 คิดเป็นค่าเฉลี่ยการแพร่ระบาดของประชากรไส้เดือนฝอย *R. similis* เท่ากับ 7.78 % ในระยะเวลา 9 เดือน

รหัสโครงการ 07-01-51-01

คำนำ

ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช (plant parasitic nematodes) จัดเป็นจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชที่สามารถทำให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกพืชทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ พบแพร่ระบาดในหลายประเทศทั่วโลก และในปัจจุบันไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมีบทบาทสำคัญต่อการกักกันพืชระหว่างประเทศเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะการตรวจสอบเพื่อกักกันไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดที่มีความสำคัญและยังไม่มีการแพร่กระจายเข้ามาสู่ประเทศนั้นๆ ในขณะเดียวกันการส่งออกพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ และพืชอื่นๆ ไปขายยังต่างประเทศ ต้องมีความมั่นใจว่าปลอดจากไส้เดือนฝอยต้องห้ามอย่างแท้จริง เพื่อลดการกีดกันทางการค้าที่อาจเกิดขึ้นได้ตามมา

ในการส่งออกพืชของประเทศไทยไปยังต่างประเทศยังคงประสบปัญหาเรื่อง การตรวจสอบไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกันของประเทศนั้นๆ เช่นกัน ตัวอย่างของปัญหาที่เกิดขึ้นบ่อยครั้งคือ การติดไปของไส้เดือนฝอย burrowing nematode *(Radopholus similis*) กับพืชส่งออกจากประเทศไทยไปยังต่างประเทศ (นุชนารถ, 2551)

ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชบางชนิดต้องมีการควบคุมการนำเข้าและนำผ่าน ซึ่งกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้ประกาศให้ไส้เดือนฝอยดังต่อไปนี้เป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทย คือ *Anguina agrostis*, *A. graminis*, *A. tritici*, *Aphelenchoides arachidis*, *A. besseyi*, *Belonolaimus longicaudatus*, *Bursaphelenchus xylophilus*, *Cactodera cacti*, *Ditylenchus destructor*, *D. dipsaci*, *Dolichodorus heterocephalus*, *Globodera pallida*, *G. rostochiensis*, *Heterodera avenae*, *H. glycines*, *H. graminis*, *H. oryzicola*, *H. punctata*, *H. sorghi*, *H. trifolii*, *Hirschmanniella miticausa*, *Hoplolaimus columbus*, *Longidorus sylphus*, *Meloidogyne brevicauda*, *M. camielliae*, *M. chitwoodi*, *M. coffeicola*, *M. graminis*, *Nacobbus aberrans*, *Paratrichodorus porosus*, *Pratylenchus goodeyi*, *P. loosi*, *Rhadinaphelenchus cocophilus*, *Rotylenchulus macrodoratus*, *Scutellonema bradys*, *Trichodorus viruliferus*, *Xiphinema diversicaudatum* (นุชนารถ และ สุรพล, 2549)

ไส้เดือนฝอย *Anguina tritici* สามารถติดมากับเมล็ดข้าวบาร์เลย์ ไรน์ โอ๊ต และข้าวสาลี (Evan *et al*., 1993) *A. tritici* เป็น sedentary endoparasite ที่เข้าทำลายต้นกล้าของธัญพืช และก่อให้เกิดอาการหงิกงอและการเจริญเติบโตที่ลดลงของต้นกล้า ไส้เดือนฝอยชนิดนี้สามารถเข้าทำลายรวงและเมล็ดธัญพืช ซึ่งมีผลทำให้เกิดปมที่เมล็ดและขนาดของเมล็ดธัญพืชลดลง

Aphelenchoides besseyi สามารถทำให้เกิดโรค white tip ในข้าว และมีการกระจายตัวทั่วไปในเขตที่มีการปลูกข้าวทั่วโลก (Katsumi and Shigeru, 2001) การตรวจพบไส้เดือนฝอยชนิดนี้ที่ติดมากับเมล็ดข้าวในรัฐแคลิฟอร์เนียเมื่อไม่นานมานี้ มีผลทำให้เกิดความกังวลกับผู้ที่มีส่วน

เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมข้าวในรัฐแคลิฟอร์เนียเป็นอย่างมาก *A. besseyi* เป็นไส้เดือนฝอยต้องห้ามของรัฐบาลกลางสหรัฐอเมริกา โดยเมล็ดข้าวที่มีเปลือกที่จะนำเข้าอเมริกาจะต้องได้รับการรับรองว่าปลอดจากไส้เดือนฝอยชนิดดังกล่าว ในขณะเดียวกันรัฐบาลตุรกีก็ประกาศว่าข้าวที่นำเข้าตุรกีจากสหรัฐอเมริกาต้องปลอดจากไส้เดือนฝอยชนิดนี้เช่นกัน นอกจากนั้น *A. besseyi* สามารถเข้าทำลายสตรอเบอร์รี่และทำให้เกิดโรค “summer dwarf” หรือ “crimp” ในสหรัฐอเมริกาและออสเตรเลีย *A. besseyi* มีพืชอาศัยกว้าง ยกตัวอย่างเช่น หอม กระเทียม ข้าวโพดหวาน ถั่วเหลือง และพืชผักหลายชนิด มีความสามารถในการอยู่รอดภายในเปลือกข้าวในสภาพขาดน้ำ (anhydrobiosis) เป็นเวลานานกว่า 3 ปี และเข้าทำลายพืชในลักษณะเป็น ectoparasite

A. fragariae เป็นไส้เดือนฝอยในสกุล *Aphelenchoides* อีกชนิดที่เข้าทำลายพืชพวกอัลฟัลฟา สตรอเบอร์รี่ และไม้ดอกไม้ประดับอีกหลายชนิด (Ganpati and Parwinder, 2004) ต้นสตรอเบอร์รี่ที่ถูกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลายจะมีอาการแคระแกร็น ใบบิดเบี้ยวมีขนาดเล็กและใบเปลี่ยนเป็นสีแดง *A. fragariae* ดำรงชีวิตเป็นแบบ ectoparasite ของเนื้อเยื่อเจริญของสตรอเบอร์รี่ นอกจากนี้ยังสามารถอยู่รอดได้ในสภาพขาดน้ำและที่อุณหภูมิต่ำได้อีกด้วย พบได้ทั้งในเขตหนาวและเขตร้อนทั่วโลก

Ditylenchus dipsaci คือไส้เดือนฝอยที่สามารถติดมากับหอม กระเทียม อัลฟัลฟา ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ (Evan *et al*., 1993) *D. dipsaci* มีการกระจายตัวอยู่ทั่วโลก แต่ทำความเสียหายกับพืชในเขตหนาวเป็นส่วนใหญ่ การเข้าทำลายพืชเป็นแบบ endoparasite โดยตัวอ่อนระยะที่ 4 จะเข้าทำลายต้นกล้าโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะที่ต้นกล้ายังไม่พ้นผิวดิน เมื่อไส้เดือนฝอยเข้าทำลายต้นกล้าพืชได้แล้ว ตัวอ่อนของ *D. dipsaci* จะปลดปล่อยเอนไซม์ pectinase ทำให้เซลล์พืชแยกออกจากกันและไส้เดือนฝอยสามารถเคลื่อนที่ผ่านไปได้ ในกรณีที่พืชถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายในปริมาณมาก พืชอาจตายหรือแคระแกร็น ไส้เดือนฝอย *D. dipsaci* สามารถเข้าทำลายพืชโดยตรง (direct penetration) หรือการเข้าทำลายผ่านทางรูเปิดของปากใบ (stomata)

ไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* เป็นไส้เดือนฝอยกักกันที่มีความสำคัญอีกชนิดหนึ่งที่พบในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนทั่วโลก (Fogain, 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งที่มีการปลูกกล้วย ประเทศที่พบ ได้แก่ ทุกประเทศในทวีปอัฟริกา บางประเทศในทวีปเอเชีย อเมริกากลางและใต้ ประเทศคิวบา ออสเตรเลีย และในหลายประเทศในทวีปยุโรป ในสหรัฐอเมริกา ไส้เดือนฝอย *R. similis* มีการกระจายตัวในเขตภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศเปอร์โตริโก และในรัฐฮาวาย (Sipes and Delate, 1996)

ไส้เดือนฝอย *R. similis* มีพืชอาศัยมากกว่า 600 ชนิด (Uchida *et al*., 2003) แต่พืชอาศัยที่สำคัญได้แก่ กล้วย และส้ม ที่ปลูกในเขตร้อน กล้วยจัดเป็นพืชอาศัยที่สำคัญอันดับหนึ่งของ

ไส้เดือนฝอยชนิดนี้ โดยพบว่ากล้วยเกือบทุกสายพันธุ์สามารถเป็นพืชอาศัยของ *R. similis* พืชชนิดอื่น ๆ ที่จัดเป็นพืชอาศัย ได้แก่ มะพร้าว ขิง ปาล์ม อโวกาโด กาแฟ พริกไทย อ้อย ชา พืชผักและไม้ดอกไม้ประดับ หญ้า และวัชพืชหลายชนิด

ไส้เดือนฝอย *R. similis* สามารถครบวงจรชีวิตได้ภายในส่วนของ cortex พืช วงจรชีวิตของ *R. similis* ในพืชพวกส้ม พบว่า ตัวอ่อนฟักออกจากไข่ภายในระยะเวลา 3 ถึง 7 วัน และไส้เดือนฝอยครบวงจรชีวิตภายใน 18 ถึง 20 วัน ที่ 24 ถึง 26 องศาเซลเซียส (Evan *et al*., 1993) วงจรชีวิตของ *R. similis* จะนานมากขึ้นที่อุณหภูมิต่ำลง ตัวเมียของไส้เดือนฝอย *R. similis* จะวางไข่โดยเฉลี่ย 2 ฟองต่อวัน โดยทั่วไปแล้ว *R. similis* ต้องการตัวผู้เพื่อการผสมพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตามในบางครั้งพบว่าตัวเมียของไส้เดือนฝอย สามารถออกไข่ได้โดยไม่มีการผสมพันธุ์จากตัวผู้ (parthenogenesis) ตัวผู้ของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ไม่มีการเข้าทำลายและดูดกินน้ำเลี้ยงจากรากพืช (Evan *et al*., 1993)

ไส้เดือนฝอย *R. similis* จัดเป็นศัตรูพืชแบบ migratory endoparasite และทำให้เกิดโรค spreading decline ในพืชพวกส้ม (Duncan and Cohn, 1990) โดยอาการดังกล่าวมักเกิดขึ้นหลังจากไส้เดือนฝอยเข้าทำลายรากแล้วหนึ่งปี ส้มที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีจำนวนใบและการเจริญเติบโตลดลง สีของใบมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะซีดลง และเกิดอาการ dieback ของกิ่งส้ม ใบของส้มอาจเหี่ยวในเวลากลางวันแต่จะกลับเป็นปกติเมื่อเวลาได้รับน้ำหรือเมื่อฝนตก ส้มจะให้ผลผลิตลดลงและผลที่ได้จะมีขนาดเล็กและมีลักษณะเหมือนขาดธาตุอาหาร ในรัฐฟลอริดาพบว่าไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้ผลผลิตของ grapefruit ลดลง 50 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของ orange พบว่า ไส้เดือนฝอยมีส่วนทำให้ผลผลิตลดลง 40 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ในพืชพวกอาโวกาโดก็เช่นเดียวกันพบว่า ผลผลิตลดลงเมื่อถูกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลาย เมื่อทำการขุดรากที่ระดับความลึก 2.5 ฟุต จากระดับผิวดินพบว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของรากหาอาหาร (feeder roots) ได้ถูกทำลาย และเมื่อขุดลงไปลึกมากกว่านั้นพบว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของรากที่พบได้ถูกทำลายโดยไส้เดือนฝอย ในกล้วยพบว่าการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้เกิดอาการโค่นล้มของต้นกล้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นที่กำลังให้ผลผลิต เนื่องจากระบบรากได้ถูกทำลาย ในส่วนของรากพบว่าเกิดอาการเน่า (lesion) สีน้ำตาลหรือสีดำที่บริเวณจุดที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย เมื่อไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ผ่านชั้น cortex ของรากพืช ทำให้เกิดโพรง และเปิดทางให้เชื้อโรคในดิน เช่น *Fusarium oxysporum* และ *Rhizoctonia solani* เข้าทำลายรากพืชซึ่งทำให้เกิดอาการรุนแรงมากยิ่งขึ้น (Sipes *et al*., 2001)

ในประเทศไทย มีรายงานการสำรวจพบ *R. similis* ในพริกไทย และกล้วย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2506 แต่ไม่มีรายงานความเสียหายที่เกิดจากไส้เดือนฝอยชนิดนี้ เนื่องจากบ้านเราไม่เคยประสบปัญหาความเสียหายในพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ แต่ในปัจจุบัน *R. similis* สร้างปัญหาให้กับพืช

ส่งออกไปยังกลุ่มสหภาพยุโรปหรือ EU มีการเผาทำลายทันที ณ ประเทศปลายทาง และ/หรือ บางกรณีปฏิเสธการนำเข้า เนื่องจากมีการตรวจพบ *R. similis* ในพรรณไม้น้ำสกุล *Anubias* spp. โดยในปี พ.ศ. 2550-2551 ไม้น้ำจากประเทศไทยถูกเผาทำลายไป 11 ครั้ง ทำให้มีผลกระทบต่อธุรกิจการส่งออกพรรณไม้น้ำของไทยเป็นอย่างมาก นอกจากนั้นยังพบไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* spp. ในไม้น้ำที่ส่งไปประเทศโปแลนด์ถูกเผาทำลายด้วยเช่นกัน (นุชนารถ, 2551)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุ-อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดินและรากพืช ได้แก่ ถุงพลาสติก ป้ายติดถุงตัวอย่าง พลั่วมือ
2. เครื่องพ่นหมอก (Mist chamber)
3. เครื่องนับไส้เดือนฝอยและวัสดุ-อุปกรณ์การตรวจแยกไส้เดือนฝอย ได้แก่ จานแก้วชนิด Syracuse ที่มีช่องตารางตรวจนับ บีกเกอร์ กรวยแก้ว กรวยพลาสติก คลิ๊ปหนีบ และสายยาง
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด Compound microscope และ Stereo microscope

วิธีการ

1. เลือกบ่อปลูกพรรณไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. ของผู้ประกอบการไม้น้ำส่งออกในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 10 บ่อ โดยสุ่มเลือกจากบ่อปลูกไม้น้ำเก่า
2. ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นไม้น้ำพร้อมรากจากบ่อปลูกเดือนละ 1 ครั้ง จำนวน 10 ตัวอย่างๆ ละ 10 ต้น/บ่อ รวม 100 ต้น
3. นำไม้น้ำแต่ละตัวอย่างมาตัดแยกเฉพาะส่วนราก และนำรากไปแยกไส้เดือนฝอยโดยใช้เครื่อง Mist chamber เป็นเวลา 48 ชม. ตามเทคนิคดังต่อไปนี้ :-

<u>เทคนิคการตรวจแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชปนเปื้อนในรากไม้น้ำ</u>

การตรวจแยกไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ที่อาศัยอยู่ในรากในลักษณะ Endoparasite ออกจากรากไม้น้ำ โดยใช้เครื่อง Mist chamber (นุชนารถ และ วานิช, 2551) เป็นวิธีแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชด้วยการพ่นน้ำเป็นฝอยลงบนรากพืช ความชื้นของละอองน้ำทำให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ออกจากรากพืชลงสู่ปลายกรวย (ภาพที่ 1)

มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างดังนี้ :-

1. การเตรียมตัวอย่างรากไม้น้ำ ทำการตัดรากไม้น้ำถึงโคนต้น จากนั้นตัดย่อยรากให้เป็นชิ้นเล็กๆ นำไปใส่ในถุงผ้ากรองชนิดเนื้อผ้าละเอียด น้ำหนักรากประมาณ 10 กรัม/1 ตัวอย่าง/1 ถุง

2. การเตรียมกรวยแยก นำกรวยแก้วต่อสายยางที่ก้านกรวยและใช้คลิ๊ปหนีบสายยาง เทน้ำสะอาดใส่ลงไปในกรวย นำไปตั้งวางในเครื่อง Mist chamber จากนั้นนำตัวอย่างรากที่อยู่ในถุงผ้าวางบนตะแกรงลวดที่อยู่บนกรวยพลาสติก นำไปซ้อนบนกรวยแก้ว

3. เปิดเครื่อง Mist chamber ปล่อยน้ำตามท่อสายยางผ่านหัวพ่นฝอย ที่ติดตั้งไว้ด้านบนของกรวย เปิดเครื่องพ่นฝอยตลอด 48 ชม. หลังจากนั้นไขน้ำจากปลายสายยางกรวยแก้วใส่ภาชนะแก้วใสหรือบีกเกอร์ ในปริมาตรน้ำ 50 มล.

4. นำไปตรวจหาไส้เดือนฝอยภายใต้กล้อง Stereo microscope กำลังขยายอย่างน้อย 70 เท่า

ภาพที่ 1 การเตรียมตัวอย่างรากไม้น้ำเพื่อตรวจสอบโดยใช้เทคนิค Mist chamber

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2550 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2553

สถานที่ B&B Aquarium Co., Ltd. ผู้ประกอบการไม้น้ำส่งออก เขตกรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสุ่มเก็บไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. ของฟาร์มปลูกไม้น้ำในเขตกรุงเทพมหานคร (ภาพที่ 2) ซึ่งเป็นแหล่งผลิตพรรณไม้น้ำส่งออกรายใหญ่จำหน่ายไปยังกลุ่มสหภาพยุโรป (EU) โดยทำการเก็บตัวอย่างต้นไม้น้ำพร้อมรากจำนวน 10 ตัวอย่าง (บ่อปลูก) ตัวอย่างละ 10 ต้น/บ่อ รวม 100 ต้น/เดือน เริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม-เดือนกันยายน 2551 เป็นเวลา 9 เดือน โดยการแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืชด้วยเทคนิค Mist chamber ผลการตรวจและนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope พบไส้เดือนฝอย *R. similis* ในบ่อปลูกไม้น้ำมีการแพร่ระบาดตั้งแต่ระดับ 0-20 % ของพื้นที่สุ่ม โดยตรวจพบ *R. similis* ในรากไม้น้ำสูงที่สุดในเดือนมกราคมและมิถุนายน 2551 จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นการแพร่ระบาดเท่ากับ 20 % และพบจำนวน *R. similis* ในรากสูงที่สุดในเดือนมีนาคม 2551 จำนวน 36 ตัว/ราก 10 ต้น/1 ตัวอย่าง รองลงมาคือ เดือนเมษายน 2551 จำนวน 28 ตัว/ราก 10 ต้น/1 ตัวอย่าง และตรวจไม่พบในเดือนกุมภาพันธ์ กรกฎาคม สิงหาคม และกันยายน 2551 (ตารางที่ 1)

การตรวจพบไส้เดือนฝอย *R. similis* ในแหล่งผลิตพรรณไม้น้ำส่งออกไปประเทศในกลุ่ม EU คิดเป็นค่าเฉลี่ยการแพร่ระบาดของประชากรไส้เดือนฝอย เท่ากับ 7.78 % ระยะเวลา 9 เดือน เป็นข้อมูลการตรวจพบที่ไม่สูงมาก เนื่องจากบางเดือนตรวจไม่พบ ซึ่งอาจเป็นผลจากจำนวนตัวอย่างสุ่มมีปริมาณน้อย โดยสามารถสุ่มตรวจได้จำนวน 10 บ่อปลูก/ครั้ง/เดือน เท่านั้น จากจำนวนบ่อรวม 300 บ่อ คิดเป็นการสุ่มตรวจเพียง 3.33 % ของพื้นที่ปลูก เนื่องจากมีข้อจำกัดในเรื่องของราคาต้นไม้น้ำที่มีราคาสูง (ราคาจำหน่ายไป EU ต้นละ 1 US $) และต้นไม้น้ำที่นำมาตรวจแยกไส้เดือนฝอยด้วยเทคนิค Mist chamber ไม่สามารถนำกลับไปปลูกใหม่ได้ แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจพบไส้เดือนฝอยจำนวนน้อยหรือมากนั้น ยังคงมีความสำคัญต่อการเฝ้าระวังไส้เดือนฝอย *R. similis* ในแหล่งผลิตเพื่อการส่งออกพรรณไม้น้ำโดยเฉพาะไปประเทศในกลุ่ม EU ซึ่งต้องหาวิธีในการกำจัดไส้เดือนฝอยไม่ให้ติดไปกับรากพืช และต้องหาวิธีการควบคุมไม่ให้เกิดการแพร่ระบาดจากบ่อสู่บ่อปลูกอื่นๆ อีกด้วย

ภาพที่ 2 ฟาร์มผลิตพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก ในเขตกรุงเทพมหานคร

ตารางที่ 1 จำนวนไส้เดือนฝอย *Radopholus similia* ในรากไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. จากบ่อปลูกไม้น้ำในเขตกรุงเทพมหานคร

เดือน 2551	จำนวนตัวอย่างที่สุ่มเก็บ[1/]	จำนวนตัวอย่างที่พบ (จำนวนไส้เดือนฝอย *R. similis*)	คิดเป็น %
มกราคม	10	2 ตัวอย่าง (ตัวอย่างที่ 1 = 4 ตัว ตัวอย่างที่ 2 = 6 ตัว)	20
กุมภาพันธ์	10	ไม่พบ	-
มีนาคม	10	1 ตัวอย่าง (จำนวน 36 ตัว)	10
เมษายน	10	1 ตัวอย่าง (จำนวน 28 ตัว)	10
พฤษภาคม	10	1 ตัวอย่าง (จำนวน 12 ตัว)	10
มิถุนายน	10	2 ตัวอย่าง (ตัวอย่างที่ 1 = 5 ตัว ตัวอย่างที่ 2 = 7 ตัว)	20
กรกฎาคม	10	ไม่พบ	-
สิงหาคม	10	ไม่พบ	-
กันยายน	10	ไม่พบ	-

[1/] 1 ตัวอย่าง เท่ากับ 10 ต้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการตรวจรากไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. ณ แหล่งผลิตพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออก มีจำนวนครั้งของการพบไส้เดือนฝอย *R. similis* เข้าทำลายราก คิดเป็นค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.78 % ในระยะเวลา 9 เดือน และพบจำนวนไส้เดือนฝอยในรากพืชสูงที่สุดในช่วงเดือนมีนาคม 2551 จำนวน 36 ตัว/1 ตัวอย่าง/10 ต้น จากข้อมูลการตรวจพบไส้เดือนฝอยดังกล่าว ยังคงต้องเฝ้าระวังการแพร่ระบาดจากบ่อสู่บ่อปลูกอื่นๆ และเร่งหาวิธีการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย *R. similis* เพื่อลดปัญหาการเผาทำลายไม้น้ำจากประเทศไทย ณ ประเทศปลายทางอย่างเร่งด่วนต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ฟาร์มไม้น้ำบริษัท B&B Aquarium Co., Ltd. กรุงเทพมหานคร ที่อนุเคราะห์ตัวอย่างรากไม้น้ำเพื่อใช้ในงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2551. Burrowing Nematode ศัตรูพืชกักกันของไม้น้ำส่งออก. ข่าวอารักขาพืช 3(3) : 3.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ วานิช คำพานิช. 2551. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม “การพัฒนาเครื่องมือและเทคนิคการแยกไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับพืชนำเข้าและส่งออก”. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 26 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และ สุรพล ยินอัศวพรรณ. 2549. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกัน. ข่าวอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 1(9) : 4.

Duncan, L. W., and E. Cohn. 1990. Nematode parasites of citrus. Pp. 321-346 in M. Luc, R.A. Sikora, and J. Bridge, eds. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford, U.K.

Evans, K., D.L. Trudgill, and J.M. Webster. 1993. Chapter 1. Extraction, Identification and Control of Plant Parasitic Nematodes. in Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. CAB International, UK. 648 pages.

Fogain, R. 2000. Effect of *Radopholus similis* on plant growth and yield of plantains (*Musa*, AAB). Nematology 32: 129-133.

Ganpati, G. B., and G. Parwinder. 2004. Effectiveness of a hot water drench for the control of foliar nematodes *Aphelenchoides fragariae* in floriculture. Nematology 36 : 49-53.

Katsumi, T., and H. Shigeru. 2001. Distribution pattern and mortality of the white tip nematode, *Aphelenchoides besseyi* (Nematoda : Aphelenchoididae), among rice seeds. Nematology 33 : 17-24.

Sipes, B.S., D.P. Schmitt, and S.C. Nelson. 2001. Burrowing nematode, a major pest in the tropics. University of Hawaii, CTAHR Plant Disease Publication PD-21.

Sipes, B.S., and K. M. Delate. 1996. Potential of biologically-derived nematicides for control of anthurium decline. Nematropica 26 : 171-175.

Uchida, J.Y., B.S. Sipes, and C.Y. Kadooka. 2003. Burrowing nematode on anthurium: Recognizing symptoms, understanding the pathogen, and preventing disease. University of Hawaii, CTAHR Plant Disease Publication PD-24.

ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ในไม้น้ำและไม้ดอกไม้ประดับ

Biology and Ecology of *Radopholus similis* In Aquatic Plant and Ornamental Plant

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด[1/] วานิช คำพานิช[2/]
กลุ่มวิจัยโรคพืช[1/] กลุ่มวิจัยการกักกันพืช[2/] สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาวงจรชีวิตและความอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ในพืชอาศัย ได้ทำการทดสอบเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย *R. similis* ในชิ้นแครอท สภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 2 เดือน จากการตรวจผลครั้งที่ 1 พบว่าไส้เดือนฝอยสามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ให้ลูกประมาณ 2 ชั่วอายุ นับจำนวนเฉลี่ยจาก 10 ซ้ำ เท่ากับ 321 ตัว/จานเพาะเลี้ยง ไส้เดือนฝอยเพิ่มขึ้น 6.42 เท่า โดยมีค่าต่ำสุดที่ 180 ตัว/จานเพาะเลี้ยง และสูงที่สุดเท่ากับ 480 ตัว/จานเพาะเลี้ยง เมื่อนำไส้เดือนฝอยที่เพาะเลี้ยงจากชิ้นแครอทไปปลูกเชื้อในรากไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. ที่ปลูกในทรายหยาบ จำนวน 20 ตัว/ต้น เป็นเวลา 25 วัน พบตัวเต็มวัยเพศเมียของ *R. similis* เริ่มวางไข่ภายในราก โดยพบไข่ของไส้เดือนฝอยติดสีแดงของสีย้อม acid fuchsin

---

รหัสโครงการ 07-01-51-01

คำนำ

Burrowing nematode (*Radopholus similis* Cobb, 1893; Thorne, 1949) เป็นศัตรูพืชกักกันของหลายประเทศ พบในแถบยุโรป อเมริกา และบางประเทศในเอเชีย เช่น เกาหลี และญี่ปุ่น ซึ่งแพร่ระบาดในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนทั่วโลก (Fogain, 2000) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งที่มีการปลูกกล้วย ได้แก่ ทุกประเทศในทวีปอัฟริกา บางประเทศในทวีปเอเชีย ออสเตรเลีย อเมริกาใต้ และบางรัฐของอเมริกา พบมีพืชอาศัยมากกว่า 600 ชนิด แต่พืชอาศัยที่สำคัญ ได้แก่ กล้วย และส้ม ที่ปลูกในเขตร้อน กล้วยจัดเป็นพืชอาศัยที่สำคัญอันดับหนึ่งของไส้เดือนฝอยชนิดนี้ โดยพบว่า กล้วยเกือบทุกสายพันธุ์สามารถเป็นพืชอาศัยของ *R. similis* พืชชนิดอื่นๆ ที่จัดเป็นพืชอาศัย ได้แก่ มะพร้าว ขิง ปาล์ม อโวกาโด กาแฟ พริกไทย อ้อย ชา พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ หญ้า และวัชพืชหลายชนิด (Uchida *et al*., 2003) ไส้เดือนฝอย *R. similis* มีลักษณะการทำลายแบบ endoparasite โดยดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณท่อน้ำ-ท่ออาหารของรากพืช และเจริญเติบโตขยายพันธุ์อยู่ภายในรากจนครบวงจรชีวิต เริ่มจากตัวอ่อนระยะที่ 1 ฟักออกจากไข่ ใช้เวลา 3-7 วัน จากนั้นลอกคราบเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 3 และ 4 ตามลำดับ เจริญเป็นตัวเต็มวัยเพศผู้-เพศเมีย และครบวงจรชีวิตในเนื้อเยื่อ พืชใช้เวลา 18-20 วัน ที่อุณหภูมิ 24-26 องศาเซลเซียส วงจรชีวิตนานมากขึ้น เมื่ออุณหภูมิต่ำลง ตัวเมียวางไข่โดยเฉลี่ย 2 ฟองต่อวัน ในบางครั้งพบว่าตัวเมียสามารถออกไข่ได้โดยไม่มีการผสมพันธุ์กับตัวผู้ (parthenogenesis) และตัวผู้ของไส้เดือนฝอยชนิดนี้จะไม่เข้าทำลายหรือดูดกินน้ำเลี้ยงจากรากพืช (Evan *et al*., 1993)

ไส้เดือนฝอย *R. similis* จัดเป็นศัตรูพืชแบบ migratory endoparasite และทำให้เกิดโรค spreading decline ในพืชพวกส้ม (Duncan and Cohn, 1990) โดยอาการดังกล่าวมักเกิดขึ้นหลังจากไส้เดือนฝอยเข้าทำลายรากแล้วหนึ่งปี ส้มที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีจำนวนใบและการเจริญเติบโตลดลง สีของใบมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะซีดลง และเกิดอาการ dieback ของกิ่งส้ม ใบของส้มอาจเหี่ยวในเวลากลางวันแต่จะกลับเป็นปกติเมื่อเวลาได้รับน้ำหรือเมื่อฝนตก ส้มจะให้ผลผลิตลดลงและผลที่ได้จะมีขนาดเล็กและมีลักษณะเหมือนขาดธาตุอาหาร ในรัฐฟลอริดาพบว่าไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้ผลผลิตของ grapefruit ลดลง 50 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของ orange พบว่า ไส้เดือนฝอยมีส่วนทำให้ผลผลิตลดลง 40 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ในพืชพวกอาโวกาโดก็เช่นเดียวกันพบว่า ผลผลิตลดลงเมื่อถูกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เข้าทำลาย เมื่อทำการขุดรากที่ระดับความลึก 2.5 ฟุต จากระดับผิวดินพบว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของรากหาอาหาร (feeder roots) ได้ถูกทำลาย และเมื่อขุดลงไปลึกมากกว่านั้นพบว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของรากที่พบได้ถูกทำลายโดยไส้เดือนฝอย ในกล้วยพบว่าการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *R. similis* ทำให้เกิดอาการโค่นล้มของต้นกล้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นที่กำลังให้ผลผลิต เนื่องจากระบบรากได้ถูกทำลาย ในส่วน

ของรากพบว่าเกิดอาการเน่า (lesion) สีน้ำตาลหรือสีดำที่บริเวณจุดที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย เมื่อไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่ผ่านชั้น cortex ของรากพืช ทำให้เกิดโพรงและเปิดทางให้เชื้อโรคในดิน เช่น *Fusarium oxysporum* และ *Rhizoctonia solani* เข้าทำลายรากพืชซึ่งทำให้เกิดอาการรุนแรงมากยิ่งขึ้น (Sipes *et al*., 2001)

ในประเทศไทย มีเพียงรายงานการสำรวจพบ *R. similis* ในพริกไทย และกล้วย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2506 (Timm, 1965) แต่ไม่มีรายงานความเสียหายและการป้องกันกำจัดที่เกิดจากไส้เดือนฝอยชนิดนี้ เนื่องจากบ้านเราไม่เคยประสบปัญหาความเสียหายในพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ แต่ในปัจจุบัน *R. similis* สร้างปัญหาให้กับพืชส่งออกไปยังกลุ่มสหภาพยุโรปหรือ EU มีการเผาทำลายทันที ณ ประเทศปลายทาง และ/หรือบางกรณีปฏิเสธการนำเข้า เนื่องจากมีการตรวจพบ *R. similis* ในพรรณไม้น้ำสกุล *Anubias* spp. โดยในปี พ.ศ. 2550-2551 ไม้น้ำจากประเทศไทยถูกเผาทำลายไป 11 ครั้ง ทำให้มีผลกระทบต่อธุรกิจการส่งออกพรรณไม้น้ำของไทยเป็นอย่างมาก นอกจากนั้นยังพบไส้เดือนฝอยสกุล *Hirschmanniella* spp. ในไม้น้ำที่ส่งไปประเทศโปแลนด์ ถูกเผาทำลายด้วยเช่นกัน (นุชนารถ, 2551) ดังนั้น จึงมีความจำเป็นในการศึกษาวิจัยด้านชีววิทยาและนิเวศวิทยา เพื่อทราบพืชอาศัยและการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอย *R. similis* ในไม้น้ำและไม้ดอก-ไม้ประดับ เป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะนำไปสู่วิธีการป้องกันกำจัด *R. similis* อย่างมีประสิทธิภาพและเหมาะสม ตลอดจนแก้ปัญหาการปนเปื้อนไปกับรากพืชส่งออกอีกด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุ-อุปกรณ์การแยกไส้เดือนฝอยออกจากรากพืช ได้แก่ เครื่องปั่น ตะแกรงแยกไส้เดือนฝอยขนาด 20 40 และ 200 mesh ชุดกรวยแก้วพร้อมคลิ๊ป บีกเกอร์ ตู้เขี่ยเชื้อ และ micropipette

2. วัสดุ-อุปกรณ์เพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในชิ้นส่วนพืช ได้แก่ หัวแครอท สารฆ่าเชื้อ (แอลกอฮอล์ 75% และ 0.1 % Hyamine) จานเพาะเลี้ยงฆ่าเชื้อ และพาราฟิล์ม

3. วัสดุ-อุปกรณ์ในการปลูกพืชอาศัย ได้แก่ ไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. กล่องสี่เหลี่ยมพลาสติกใสขนาด 18.5 x 27.5 x 10.0 ซม. ดินทรายหยาบนึ่งฆ่าเชื้อ และพลาสติกใส

4. วัสดุ-อุปกรณ์ในการตรวจ-นับจำนวนไส้เดือนฝอย ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ Compound microscope และ Stereo microscope

5. วัสดุ-อุปกรณ์ในการย้อมสีราก ได้แก่ hot plate สีย้อม acid fuchsin สาร lactophenol

วิธีการ

1. การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *R. similis* ในชิ้นแครอท

1.1 การแยกไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากรากพืช นำรากพืชมาล้างผ่านน้ำไหลและทำการตัดรากให้มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร จากนั้นนำชิ้นรากใส่ลงในเครื่องปั่นพร้อมทั้งเติมน้ำกลั่นลงไป ปั่น 3 ครั้งๆ ละ 10 วินาที ทิ้งระยะเวลาห่างกันเล็กน้อย เท suspension ที่ได้จากการปั่นผ่านตะแกรงขนาด 20 mesh เศษรากพืชขนาดใหญ่จะติดอยู่บนตะแกรง ไส้เดือนฝอยจะไหลไปกับน้ำผ่านตะแกรงลงสู่ภาชนะรองรับ เทน้ำที่มีไส้เดือนฝอยเก็บไว้ในบีกเกอร์ ต่อจากนั้นเทลงในตะแกรงลวดที่มีกระดาษทิชชูรองอยู่และนำมาตั้งวางบนกรวยที่มีน้ำกลั่น เป็นเวลา 24 ชม. (ช่วงเวลานี้น้ำจะระเหย ดังนั้น suspension จะเริ่มแห้ง ไส้เดือนฝอยจะเคลื่อนที่ลงสู่ปลายกรวยผ่านกระดาษทิชชูและรูของตะแกรง ซึ่งไส้เดือนฝอยหนักกว่าน้ำจึงทำให้ไส้เดือนฝอยตกลงไปอยู่บริเวณปลายกรวย) ทำการเก็บไส้เดือนฝอยจากบริเวณปลายกรวย โดยไขน้ำประมาณ 30 มล. ลงสู่บีกเกอร์ขนาด 50 มล.

1.2 การฆ่าเชื้อที่ผิวของไส้เดือนฝอย *R. similis* ปฏิบัติในสภาพปลอดเชื้อภายในตู้เขี่ยเชื้อ โดยนำไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำ 30 มล. ตั้งวางให้ตกตะกอนบริเวณก้นบีกเกอร์ แล้วใช้ micropipette ค่อยๆ ดูดน้ำบริเวณผิวน้ำทิ้งไป ให้เหลือน้ำที่มีไส้เดือนฝอยไม่เกิน 10 มล. จากนั้นเทสารละลาย ฆ่าเชื้อที่ผิวไส้เดือนฝอย (0.1 % Hyamine) ลงไปในอัตรา 1 : 1 ใช้แท่งแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้วกวนน้ำประมาณ 1 นาที และตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ให้ไส้เดือนฝอยตกตะกอน จากนั้นดูดน้ำบริเวณผิวน้ำทิ้งและล้าง-ตั้งตกตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทำซ้ำ 3 ครั้ง

1.3 การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *R. similis* ในชิ้นแครอท ปฏิบัติในสภาพปลอดเชื้อภายในตู้เขี่ยเชื้อ พ่นแอลกอฮอล์ 75 % บนหัวแครอท จากนั้นนำหัวแครอทไปลนไฟจนกระทั่งแอลกอฮอล์ 75 % หมด (เปลือกเริ่มดำและแห้ง) ตัดปลายหัวแครอทออกและทำการปอกเปลือกแครอทลงลึกด้วยมีดที่ฆ่าเชื้อแล้ว เผามีดทุกครั้งหลังการปอกเปลือกแครอท จากนั้นนำมาตัดเป็นชิ้นวงกลม และนำแครอท 1-2 ชิ้น วางลงในจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารวุ้น 1.5 % ทำการปลูกเชื้อไส้เดือนฝอยลงในชิ้นแครอท โดยใช้ micropipette ที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดไส้เดือนฝอยที่เตรียมไว้จากข้อ 1.2 หยดลงตรงบริเวณขอบของชิ้นแครอทที่อยู่ในจานเพาะเลี้ยง จำนวน 50 ตัว/จาน ปิดฝาและปิดขอบฝาด้วยพาราฟิล์ม นำไปบ่มไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิประมาณ 28°ซ เป็นเวลา 2 เดือน

1.4 การแยกล้างไส้เดือนฝอย *R. similis* ออกจากชิ้นแครอท นำชิ้นแครอทใส่ลงในเครื่องปั่นพร้อมทั้งเติมน้ำกลั่นลงไป ปั่น 3 ครั้งๆ ละ 10 วินาที ทิ้งระยะเวลาห่างกันเล็กน้อย (ระยะเวลาของการปั่นขึ้นอยู่กับขนาดของชิ้นแครอท) เท suspension ผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh เศษแครอทขนาดใหญ่จะติดอยู่บนตะแกรง ไส้เดือนฝอยจะไหลไปกับน้ำผ่านตะแกรงลงสู่ภาชนะรองรับ

เทน้ำที่มีไส้เดือนฝอยเก็บไว้ในบีกเกอร์ ต่อจากนั้นเทลงในตะแกรงลวดที่มีกระดาษทิชชูรองอยู่และนำมาตั้งวางบนกรวยที่มีน้ำกลั่น เป็นเวลา 24 ชม. ทำการเก็บไส้เดือนฝอยจากบริเวณปลายกรวยโดยไขน้ำประมาณ 50 มล. ลงสู่บีกเกอร์ เพื่อเตรียมนับจำนวนไส้เดือนฝอยสำหรับการปลูกเชื้อในต้นพืชอาศัยต่อไป

2. การปลูกพืชอาศัย (ไม้น้ำสกุล *Anubias* sp.)

นำต้นไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. ปลูกลงในกล่องสี่เหลี่ยมพลาสติกใสขนาด 18.5 x 27.5 x 10.0 ซม. ซึ่งบรรจุดินทรายหยาบนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว มีความสูงจากพื้นกล่องเท่ากับ 3 ซม. จำนวน 20 ต้น/กล่อง จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ท่วมโคนต้นไม้น้ำประมาณ 3 ซม. ปิดฝากล่องด้วยพลาสติกใสและเจาะรูระบายอากาศ (ภาพที่ 1) นำไปตั้งวางในห้องปกติ ดูแลเติมน้ำกลั่นทุก 7 วัน

ภาพที่ 1 การปลูกไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. เพื่อใช้เป็นพืชอาศัยของไส้เดือนฝอยศัตรูพืชกักกัน *Radopholus similis*

3. การปลูกเชื้อไส้เดือนฝอย *R. similis* ในพืชอาศัย

ใช้ micropipette ดูดไส้เดือนฝอย *R. similis* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Stereo microscope จำนวน 20 ตัว/น้ำ 200 ไมโครลิตร/ต้น และหยดลงใกล้บริเวณรากพืช โดยในขณะปลูกเชื้อไส้เดือนฝอย ให้ดินทรายภายในกล่องปลูกชุ่มน้ำเท่านั้น เพื่อให้ไส้เดือนฝอยเคลื่อนที่เข้าหารากพืชได้เร็วกว่าการที่ต้นพืชแช่น้ำ หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 12 ชม. จึงเติมน้ำเท่าระดับเดิม ดูแลต้นพืชตามปกติ

4. การตรวจไส้เดือนฝอยในรากพืช

นำรากพืชที่ปลูกเชื้อไส้เดือนฝอยแล้วเป็นเวลา 25 วัน มาย้อมสีเพื่อตรวจดูการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยภายในรากพืช โดยนำรากพืชมาล้างผ่านน้ำไหล จากนั้นใช้กรรไกรตัดรากให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในบีกเกอร์และเติมสีย้อม acid fuchsin ใน lactophenol (1 %acid

fuchsin 5 มล. + lactophenol 100 มล.) ให้ท่วมราก นำไปต้มที่อุณหภูมิประมาณ 80 °ซ เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำรากพืชขึ้นจากสารละลาย แล้วล้างผ่านน้ำไหลเพื่อล้างสีส่วนเกินออก และดูดซับน้ำออกด้วยกระดาษทิชชู นำชิ้นรากที่ติดสีใส่ใน Petri dish และเท lactophenol ให้ท่วมชิ้นส่วนของราก ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชม. เพื่อให้ lactophenol กัดสีย้อมที่ติดรากออก สีย้อมทำปฏิกิริยากับตัวไส้เดือนฝอยหรือไข่ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโปรตีน จะติดสีแดงของ acid fuchsin ส่วนเนื้อเยื่อรากไม่ติดสี (นุชนารถ, 2549) นำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2550 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2553

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาวงจรชีวิตและความอยู่รอดของไส้เดือนฝอย *Radopholus similis* ในพืชอาศัย ได้ทำการทดสอบเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย *R. similis* ในชิ้นแครอท สภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 2 เดือน (ตรวจผลครั้งที่ 1) พบว่า ไส้เดือนฝอยสามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ให้ลูกประมาณ 2 ชั่วอายุ นับจำนวนเฉลี่ยจาก 10 ซ้ำ (350 370 420 480 220 180 260 410 330 และ 190/จานเพาะเลี้ยง) เท่ากับ 321 ตัว/จานเพาะเลี้ยง โดยมีค่าต่ำสุดที่ 180 ตัว/จานเพาะเลี้ยง และสูงที่สุดเท่ากับ 480 ตัว/จานเพาะเลี้ยง เมื่อนำไส้เดือนฝอยที่เพาะเลี้ยงจากชิ้นแครอท ไปปลูกเชื้อในรากไม้น้ำสกุล *Anubias* sp. ที่ปลูกในทรายหยาบ จำนวน 20 ตัว/ต้น เป็นเวลา 25 วัน พบตัวเต็มวัยเพศเมียของ *R. similis* เริ่มวางไข่ภายในราก โดยพบไข่ของไส้เดือนฝอยติดสีแดงของสีย้อม acid fuchsin

ผลการทดลองดังกล่าว เป็นรายงานข้อมูลการตรวจผลครั้งที่ 1 เนื่องจากวิธีการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *R. similis* ในชิ้นส่วนของพืชหรือในชิ้นแครอทนั้น ได้ดัดแปลงวิธีการเพาะเลี้ยงของ INIBAP (1997) ซึ่งยังมีความยุ่งยากในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงและการเตรียมสารฆ่าเชื้อ ให้ปฏิบัติได้ง่าย รวดเร็วขึ้น และมีต้นทุนต่ำ ตลอดจนยังดัดแปลงวิธีการวางชิ้นแครอทบนอาหารวุ้น 1.5 % เพื่อเพิ่มความชื้นและพื้นที่เคลื่อนตัวให้กับไส้เดือนฝอยในขณะบ่มเพาะอีกด้วย นอกจากนั้นวิธีการปลูกพรรณไม้น้ำในกระบะทรายและการดูแลให้พืชน้ำรอดชีวิตและเจริญเติบโตได้ ต้องใช้เวลาในการศึกษาเพื่อได้ประสบการณ์และความชำนาญในการปลูก อย่างไรก็ตาม ผลของงานวิจัยในครั้งนี้เป็นงานแรกของประเทศไทยในการเพาะเลี้ยง *R. similis* ในชิ้นแครอทที่ประสบผลสำเร็จในระดับหนึ่ง ซึ่งในอนาคตจะสามารถพัฒนาวิธีการให้ก้าวหน้าต่อไป โดยการศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยา

ของไส้เดือนฝอย *R. similis* ในพืชอาศัยทุกชนิด มีความจำเป็นต้องใช้ inoculum ในปริมาณที่เพียงพอต่อการทดลอง โดยเฉพาะงานวิจัยด้านชีวและนิเวศวิทยาของเชื้อสาเหตุ ความรู้และความเข้าใจชีววิทยาของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช จะสามารถตอบโจทย์งานวิจัยที่ครอบคลุมไปถึงการป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย *R. similis* ซึ่งเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญต่อการส่งออกพืชน้ำ (aquatic plant) และไม้ประดับอื่นๆ ต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไส้เดือนฝอย *R. similis* สามารถเจริญเติบโตในชิ้นแครอทตามวิธีการเพาะเลี้ยงที่ดัดแปลงจาก INIBAP (1997) โดยเลี้ยงไส้เดือนฝอยเริ่มต้นจำนวน 50 ตัว เพิ่มเป็น 321 ตัว/จานเพาะเลี้ยง หรือเพิ่มขึ้น 6.42 เท่า ภายในเวลา 2 เดือน และเมื่อนำมาปลูกเชื้อในพืชอาศัย (ไม้น้ำสกุล *Anubias* sp.) พบตัวเมียเต็มวัยและไข่ภายในรากพืชที่เวลา 25 วันหลังใส่ไส้เดือนฝอย

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2549. ไส้เดือนฝอยศัตรูพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 42 หน้า.

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2551. Burrowing Nematode ศัตรูพืชกักกันของไม้น้ำส่งออก. ข่าวอารักขาพืช 3(3) : 3.

Duncan, L. W., and E. Cohn. 1990. Nematode parasites of citrus. Pp. 321-346 in M. Luc, R.A. Sikora, and J. Bridge, eds. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford, U.K.

Evans, K., D.L. Trudgill, and J.M. Webster. 1993. Chapter 1. Extraction, Identification and Control of Plant Parasitic Nematodes. in Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. CAB International, UK. 648 pages.

Fogain, R. 2000. Effect of *Radopholus similis* on plant growth and yield of plantains (*Musa*, AAB). Nematology 32 : 129-133.

Sipes, B.S., D.P. Schmitt, and S.C. Nelson. 2001. Burrowing nematode, a major pest in the tropics. University of Hawaii, CTAHR Plant Disease Publication PD-21.

INIBAP. 1997. INIBAP Technical Guidelines. 1. Screening of *Musa* Germplasm for resistance and tolerance to nematodes. Speijer, P.R. and De Waele, D.

International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France. 47 p.

Timm. R.W. 1965. A preliminary survey of plant parasitic nematodes of Thailand and the Philippines. Thai Sambhand Printing Press. Bangkok. 71 p.

Uchida, J.Y., B.S. Sipes, and C.Y. Kadooka. 2003. Burrowing nematode on anthurium: Recognizing symptoms, understanding the pathogen, and preventing disease. University of Hawaii, CTAHR Plant Disease Publication PD-24.

การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง, *Sternochetus mangiferae* ในมะม่วง

Distribution of Mango Seed Weevil, *Sternochetus mangiferae* on Mango

สราญจิต ไกรฤกษ์ บุษบง มนัสมั่นคง สัญญาณี ศรีคชา
ยุทธนา แสงโชติ ศรุต สุทธิอารมณ์ สุนัดดา เชาวลิต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บผลมะม่วงจากแหล่งที่ปลูกเพื่อการส่งออกและเพื่อการบริโภคภายในประเทศ ในพื้นที่การปลูกภาคตะวันตก : ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี ระหว่างเดือนมีนาคม-เมษายน 2551 ภาคเหนือ : ลำพูน เชียงใหม่ เดือน มิถุนายน-กรกฎาคม 2551 เลือกพันธุ์หลักที่เป็นพันธุ์ที่ปลูกเพื่อการส่งออก ได้แก่ พันธุ์แรด น้ำดอกไม้ หนังกลางวัน มหาชนก และพิมเสน และเก็บจากแปลงมะม่วงพันธุ์ที่ปลูกเพื่อการอุตสาหกรรมแปรรูป ได้แก่ มะม่วงแก้ว โชคอนันต์ เป็นต้น สุ่มเก็บกระจายรอบต้นๆละ 10 ผล จำนวน 20 ต้น/แปลง รวมทั้ง ผลมะม่วงที่ร่วงหล่นหรือถูกคัดทิ้ง มะม่วงที่สำรวจทางภาคตะวันตกส่วนใหญ่จะมีการจัดการดูแลอย่างดี ได้แก่พันธุ์น้ำดอกไม้ อกร่อง โชคอนันต์ มันเดือนเก้า มะม่วงแก้ว แก้วลืมรัง ฟ้าลั่น เขียวเสวย เป็นต้น จากการผ่าเมล็ดมะม่วงในอำเภอหัวหิน (1 แปลง) อำเภอสามร้อยยอด (35 แปลง) อำเภอปราณบุรี (3 แปลง) อำเภอกุยบุรี(3 แปลง) จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวม 42 แปลง และ อำเภอวัดเพลง(4 แปลง) อำเภอปากท่อ(2 แปลง) จังหวัดราชบุรี รวม 6 แปลง จำนวนทั้งหมด 11,899 เมล็ด พบด้วงงวงตัวเต็มวัย 11 ตัว ดักแด้ 1 ตัว และ หนอน 3 ตัว รวมเป็น 15 ตัว ในภาคเหนือเป็นมะม่วงพันธุ์เขียวมรกตที่ อำเภอบ้านโฮ่ง (2 แปลง) จังหวัดลำพูน พบด้วง 1 ตัว ส่วนที่ อำเภอพร้าว(1 แปลง) อำเภอเชียงดาว (1 แปลง) อำเภอแม่แตง(1 แปลง) จังหวัดเชียงใหม่ รวม 3 แปลง เป็นแปลงมะม่วงแก้วและเขียวมรกตที่ปลูกตามเชิงเขา มีการจัดการดูแลไม่มากนัก จำนวน 2,318 เมล็ด พบด้วงงวงตัวเต็มวัย 147 ตัว ดักแด้ 3 ตัว และ หนอน 2 ตัว รวมเป็น 152 ตัว ด้วงทั้งหมดจำแนกชนิดแล้วคือ *Sternochetus olivieri* (Faust) Family Curculionidae

---

รหัสโครงการ 07-01-51-01

คำนำ

ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง (mango seed weevil, mango pulp weevil, mango fruit weevil, mango flesh weevil, mango nut weevil) อยู่ในวงศ์ Curculionidae อันดับ Coleoptera เป็นแมลงศัตรูที่ทำลายและอาศัยในเมล็ด ชนิดที่พบมากในแหล่งปลูกมะม่วงในประเทศแอฟริกา ออสเตรเลีย อินเดีย ประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ประเทศในหมู่เกาะแปซิฟิก รวมทั้งฮาวาย และประเทศแถบอินเดียตะวันตกเป็นชนิด *S. mangiferae* รายงานที่พบในประเทศแอฟริกา อินเดีย อิหร่าน บังคลาเทศ ศรีลังกา และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ พม่า ไทย เวียดนาม มาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ เป็นชนิด *S. frigidus* (Fabricius) ที่พบในประเทศไทย มี 2 ชนิด คือ *S. olivieri* และ *S. frigidus* รูปร่างลักษณะของ *S. olivieri* (Faust) มีขนาดใหญ่กว่า *S. frigidus* (Fabricius) เล็กน้อย ปีกแข็งสีน้ำตาลเข้มเป็นรูปสามเหลี่ยม โดยฐานอยู่ที่โคนปีกมุมแหลมอยู่ด้านล่างยาวประมาณ 1/3 ของความยาวปีก ถัดมาเป็นสีน้ำตาลอ่อนเป็นแถบใหญ่ชัดเจน ส่วนที่เหลือตรงปลายปีกสีน้ำตาล ขนาดยาว 7.0 - 8.0 มิลลิเมตร กว้าง 4.0 - 4.5 มิลลิเมตร อีกชนิดหนึ่งคือ *S. frigidus* (Fabricius) เป็นด้วงงวงที่มีงวงยาว รูปร่างกลมรี สีน้ำตาล ผิวขรุขระ ปีกแข็งมีแถบสีน้ำตาลอ่อนเป็นรูปตัว V เริ่มจากริมขอบบนปีกแข็ง เป็นทางลงถึงกลางปีกแต่ยาวไม่ถึงขอบกลางปีก ขนาดยาว 6.0 - 6.5 มิลลิเมตร กว้าง 2.5-3.0 มิลลิเมตร (สมหมาย, 2535) **การสำรวจในประเทศไทย ที่พบส่วนใหญ่เป็นชนิด** *Sternochetus olivieri* (Faust) **แต่ชนิด** *S. frigidus* (Fabricius) **พบในปริมาณเล็กน้อยหรือแทบไม่พบ ส่วนชนิด** *S. mangifera* (Fabricius) **ยังไม่พบเลย**

ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง เป็นศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งของมะม่วง การทำลายของแมลงศัตรูชนิดนี้ไม่สามารถมองเห็นจากภายนอกได้ การส่งมะม่วงสดไปต่างประเทศนั้น นอกจากจะต้องปรับปรุงคุณภาพเพื่อให้ตรงตามความต้องการของประเทศคู่ค้าแล้ว ด้วงงวงเจาะเมล็ดเป็นปัญหาด้านกักกันพืชที่อาจติดไปกับผลผลิตได้ แต่ละประเทศจะมีมาตรการการนำเข้าด้านกักกันพืชแตกต่างกันไป มะม่วงของไทยที่จะส่งไปจำหน่ายในบางประเทศ จะต้องผ่านขั้นตอนและกรรมวิธีการควบคุมศัตรูพืชอย่างใกล้ชิด ทั้งนี้เพื่อป้องกันการระบาดของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง ที่ติดไปจากประเทศไทย

ด้วงงวงชนิดนี้เคยพบการทำลายในมะม่วงที่ปลูกทางภาคเหนือของประเทศไทยจากที่มีตัวอย่างรวบรวมในพิพิธภัณฑ์แมลง เป็นด้วงงวงเจาะเมล็ดที่พบเป็นครั้งแรก เมื่อปี พ.ศ. 2482 ที่จังหวัดเชียงใหม่ การทำลายของด้วงงวงเจาะเมล็ดนี้ส่วนใหญ่จะอยู่ภายในเมล็ดมะม่วงเท่านั้น แต่เมล็ดที่ถูกทำลายมากขึ้นจะเป็นปัญหาสำหรับเกษตรกรที่ต้องการนำเมล็ดไปผลิตเป็นต้นตอ และที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือการเป็นอุปสรรคต่อการค้าระหว่างประเทศดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ดังนั้นเพื่อเป็นการแก้ไขปัญหาการส่งออกมะม่วงไปต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศออสเตรเลีย ประเทศ

มาเลเซีย และเพื่อให้เมล็ดมะม่วงที่นำไปผลิตต้นตอได้สมบูรณ์ จึงสำรวจชนิดและปริมาณการทำลายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง ในพันธุ์มะม่วงเพื่อการส่งออกเพื่อได้ข้อมูลสถานการณ์การเกิดและการแพร่กระจายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงเพื่อใช้สนับสนุนการออกประกาศการปลอดศัตรูพืช โดย NPPO

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.แปลงมะม่วง

2. มีด กรรไกรตัดแต่งกิ่ง สำหรับผ่าผลและเมล็ดมะม่วง

3. อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างแมลง

วิธีการ

ขั้นตอนการทำงานวิจัย มีดังนี้

1. พื้นที่ : ดำเนินการสุ่มสำรวจในแหล่งปลูกเพื่อการส่งออกของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2551 ดำเนินการที่แหล่งปลูกภาคตะวันตก และภาคเหนือบางส่วน โดยสุ่มในแปลงมะม่วงในแต่ละแหล่งตามสัดส่วนพื้นที่ปลูก โดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (random sampling) จำนวนทั้งสิ้น 20-30 แปลง
2. ช่วงเวลาการสำรวจ : ช่วงการเก็บเกี่ยวผลผลิต 1 เดือน โดยสุ่มสำรวจ 2 ครั้ง
3. ขนาดตัวอย่าง : สุ่มเก็บผลมะม่วงจากต้นมะม่วง 20 ต้น/แปลงโดยวิธีสุ่มอย่างง่าย (random sampling) ต้นละ 10 ผล รอบทรงพุ่ม
4. นำผลมะม่วงที่สุ่มมาผ่าดูภายในผลเพื่อเก็บตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง

เก็บผลมะม่วงจากแหล่งที่ปลูกเพื่อการส่งออกและเพื่อการบริโภคภายในประเทศ เลือกพันธุ์หลักที่เป็นพันธุ์ที่ปลูกเพื่อการส่งออก ได้แก่ พันธุ์แรด น้ำดอกไม้ หนังกลางวัน มหาชนก และพิมเสน และเก็บจากแปลงมะม่วงพันธุ์ที่ปลูกเพื่อการอุตสาหกรรมแปรรูป ได้แก่ มะม่วงแก้ว โชคอนันต์ เป็นต้น บันทึกพิกัดพื้นที่ ข้อมูลพืชและการจัดการดูแลในแปลง บันทึก พันธุ์มะม่วง จำนวนผล จำนวนแมลงที่พบ ระยะของแมลงที่พบ โดยเก็บตัวอย่างแมลงทุกระยะที่พบ ถ้าเป็นระยะไข่หนอน และดักแด้ เก็บรักษาในขวดดองแมลง สำหรับตัวเต็มวัยจัดรูปร่างโดยใช้เข็มไร้สนิมจัดเตรียมเพื่อนำไปอบให้แห้ง เพื่อการจำแนกชนิดต่อไป

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553 รวม 3 ปี

ในปี 2551 ดำเนินการ ณ แหล่งมะม่วง จังหวัดราชบุรี จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดเชียงใหม่ และลำพูน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ได้สำรวจชนิดของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง ในปี พ.ศ. 2551 จากพื้นที่การปลูกมะม่วงที่ปลูกเพื่อการส่งออกในจังหวัดราชบุรี เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ เก็บผลมะม่วง ใน ตำบลศาลาลัย ตำบลศิลาลอย ตำบลไร่ใหม่ ตำบลไร่เก่า อำเภอสามร้อยยอด อำเภอหัวหิน และ อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 42 สวน (ภาพที่ 1) ผ่าเมล็ดมะม่วงประมาณ 11,899 เมล็ด เพื่อตรวจนับปริมาณด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง พบด้วงงวงตัวเต็มวัย 11 ตัว ดักแด้ 1 ตัว หนอน 3 ตัว (ตารางที่ 1) การสำรวจชนิดของด้วงงวงแหล่งปลูกภาคเหนือ (ภาพที่ 2) ปรากฏว่ามะม่วงแก้วที่ปลูกตามเชิงลาด เนินเขาในจังหวัดเชียงใหม่ที่ ตำบลแม่ป๋าม อำเภอเชียงดาว จำนวน 3 สวน ผ่าเมล็ดมะม่วง 93 เมล็ด พบด้วงงวงตัวเต็มวัย 57 ตัว ดักแด้ 3 ตัว หนอน 2 ตัว เป็นแปลงที่ไม่มีการใช้สารเคมีใดๆ เช่นเดียวกันกับแปลงมะม่วงพันธุ์เขียวมรกตที่ ตำบลสันมหาพน อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่เป็นมะม่วงในโครงการการผลิตมะม่วงอินทรีย์ ส่วนแปลงที่ อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน เป็นมะม่วงพันธุ์เขียวมรกตที่มีการป้องกันกำจัดโดยใช้สารฆ่าแมลง มะม่วงพันธุ์เขียวมรกตทั้ง 2 แปลงนี้ผ่าผลมะม่วงทั้งหมด 2,065 ผล พบด้วงตัวเต็มวัย 89 ตัว มะม่วงทองดำ อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน เมล็ดมะม่วง 35 ผล พบ ตัวเต็มวัย 1 ตัว มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ ที่ ตำบลป่าไหน่ อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 2 สวน เมล็ดมะม่วง 119 เมล็ด ไม่พบด้วง (ตารางที่ 2)

แหล่งการสำรวจมะม่วงในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ราชบุรี เชียงใหม่และลำพูน จำแนกชนิดแล้วทั้งหมดคือ *Sternochetus olivieri* (Faust) Family Curculionidae (ภาพที่ 3) ซึ่ง Cunningham (1990) ได้สำรวจใน จังหวัดราชบุรี และ สราญจิตและคณะ (2545) สำรวจในแหล่งปลูกภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่าเป็นชนิด *S. olivieri* (Faust) เช่นเดียวกัน โดยดำเนินการสำรวจในปี พ.ศ. 2541 - 2542 จากแปลงมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ที่ปลูกเพื่อการส่งออกในจังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรี ปราจีนบุรี และสระแก้ว พบการทำลาย 0.50% จากผลมะม่วงอายุประมาณ 60 วัน และไม่พบดักแด้หรือตัวเต็มวัยภายในเมล็ด ปี พ.ศ. 2543 - 2544 ได้สำรวจการทำลายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง จากมะม่วงที่ปลูกเพื่อบริโภคภายในประเทศจากแปลงที่เกษตรกรไม่ได้มีการใช้สารฆ่าแมลงมากนักในจังหวัดนครราชสีมา ศรีสะเกษ เพชรบูรณ์ ชัยภูมิ พบการเข้าทำลาย 8.38 - 65.71% ในปี พ.ศ. 2545 สำรวจจากมะม่วงแก้วที่ปลูกเพื่อการบริโภคในท้องถิ่นและไม่มีการใช้สารฆ่าแมลงในจังหวัดศรีสะเกษ พบการเข้าทำลาย 18.19% จังหวัดชัยภูมิ พบ 22.39% จังหวัดเพชรบูรณ์ 26.14% และสำรวจจากเมล็ดมะม่วงจากโรงงานแปรรูปผลไม้ที่จังหวัดเพชรบุรี ซึ่งรับซื้อมะม่วงแก้วจากทั่วประเทศ พบการทำลาย 22.23% สังเกตได้ว่าในแปลง

มะม่วงที่ปลูกเพื่อการส่งออก มีการดูแลสวนเป็นอย่างดี และมีวิธีการป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่นๆ อยู่เป็นปกติแล้ว มักไม่พบการเข้าทำลายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงเลย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงที่พบเป็นชนิด *Sternochetus oliveiri* (Faust) Family Curcolionidae Order Coleoptera พบการเข้าทำลายมากในแปลงมะม่วงพันธุ์เขียวมรกตและมะม่วงแก้ว ในสภาพการปลูกที่ไม่มีการใช้สารฆ่าแมลง ในการสำรวจแหล่งปลูกภาคเหนือในปีนี้เป็นการสำรวจปลายฤดูการเก็บผลผลิตแล้ว ปริมาณตัวอย่างผลมะม่วงจึงไม่มาก ซึ่งจะได้วางแผนดำเนินการสำรวจในฤดูการเก็บเกี่ยวในปี 2552

คำขอบคุณ

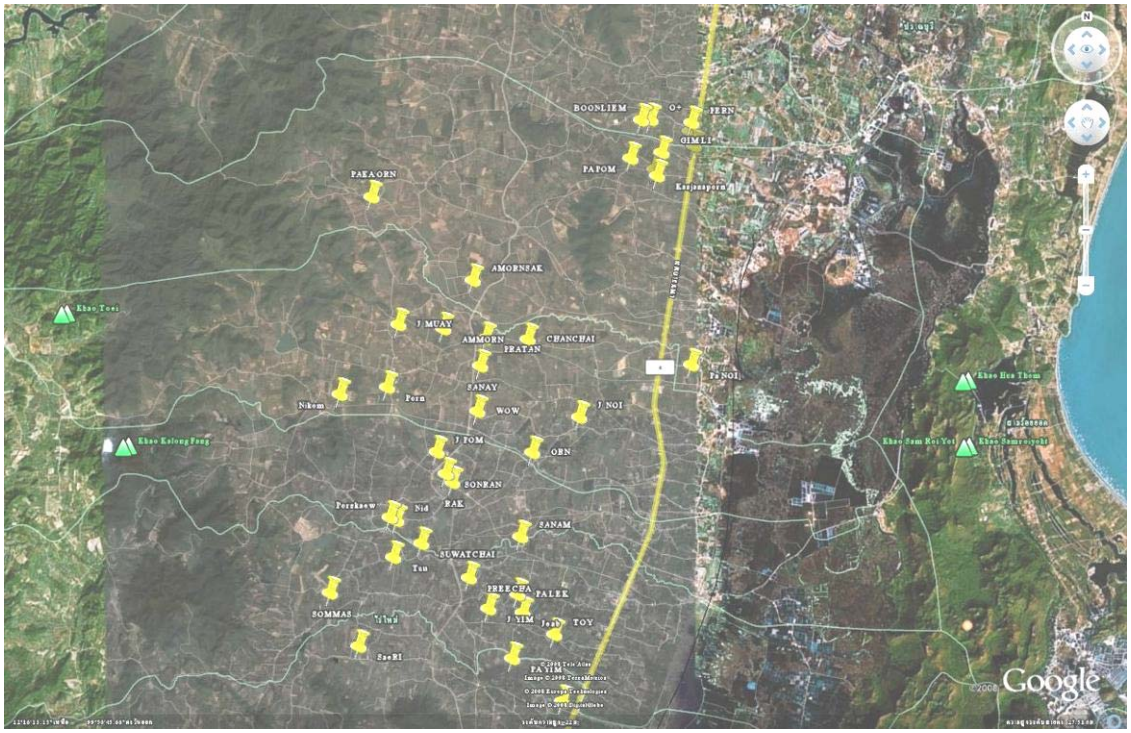
ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่สำนักงานส่งเสริมเกษตรอำเภอสามร้อยยอด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเพชรบุรี และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ที่ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในด้านยานพาหนะและแรงงานบางส่วน

เอกสารอ้างอิง

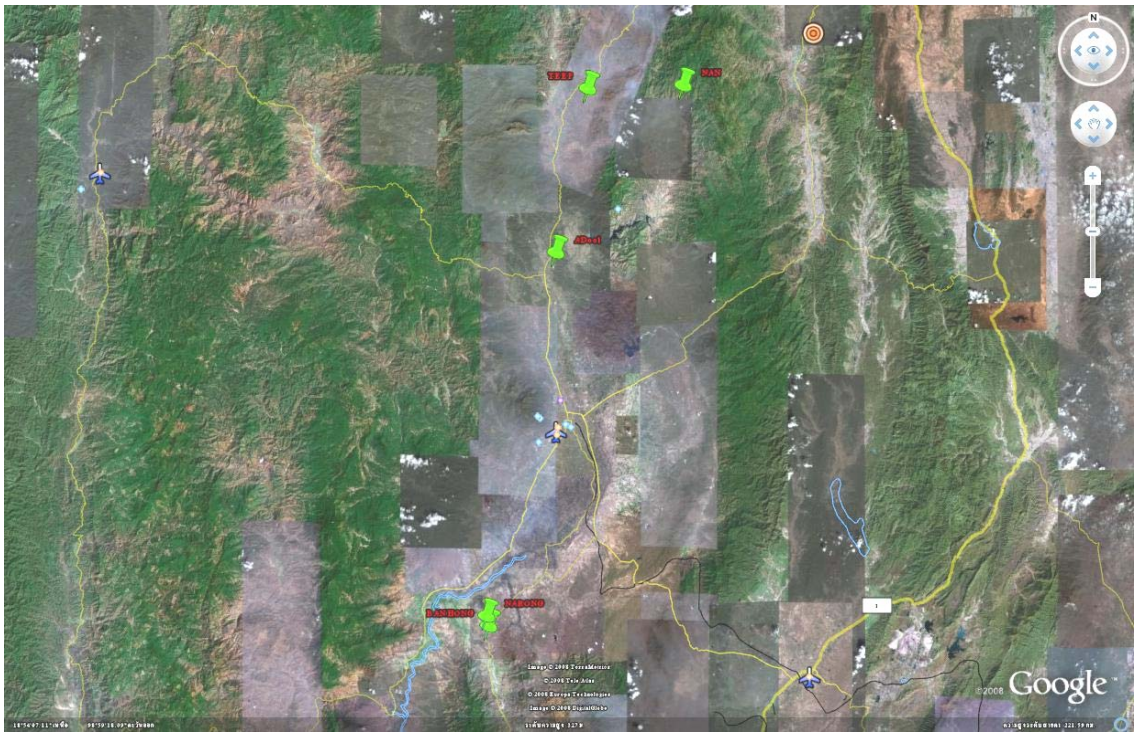
สมหมาย ชื่นราม. 2535. ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 14 (1): 53 – 59.

สราญจิต ไกรฤกษ์, อรุณี วงษ์กอบรัษฎ์ และ สมหมาย ชื่นราม. 2545. ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงและการป้องกันกำจัด. *ใน* เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 13 ประจำปี 2545 วันที่ 6-9 สิงหาคม 2545 ณ โรงแรมโกลเด้นแซนด์ อ. ชะอำ จ.เพชรบุรี. 263-276 น.

Cunningham, I.C. 1990. Mango weevil survey, Ratchaburi Province, Thailand. 11 p.



ภาพที่ 1 แปลงมะม่วงที่สำรวจแหล่งปลูกมะม่วงภาคตะวันตก (จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดเพชรบุรี และ จังหวัดราชบุรี) พ.ศ. 2551



ภาพที่ 2 แปลงมะม่วงที่สำรวจในแหล่งปลูกมะม่วงภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่ และ จังหวัดลำพูน) พ.ศ. 2551

ตารางที่ 1 การสำรวจและเก็บผลมะม่วงในการเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง *Sternochetus* spp. ในแหล่งปลูกภาคตะวันตก (กุมภาพันธ์-มิถุนายน 2551)

	พันธุ์	จำนวนผล	ด้วง	ดักแด้	หนอน	หมายเหตุ
1	แก้ว	866	3		1	
2	แก้วโมง	85				
3	แก้วลืมรัง	886				
4	เขียวเสวย	239	2		2	
5	โชคอนันต์	1,141	1			
6	ทองดำ	193				
7	น้ำดอกไม้	4,771	4	1		
8	ฟ้าลั่น	477				
9	มหาชนก	198			ๆ	
10	มันเดือนเก้า	1,018				
11	มันศาลายา	2				
12	หนังกลางวัน	137				
13	อกร่อง	1,602	1			
15	อื่นๆ	284				
	รวม	**11,899**	**11**	**1**	**3**	**15 ตัว**

เกษตรกร 42 ราย

ต.ศาลาลัย ต.ศิลาลอย ต.ไร่เก่า ต.ไร่ใหม่ อ.สามร้อยยอด จ.ประจวบคีรีขันธ์

ต.สามกระทาย อ.กุยบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์

ต.ห้วยมงคล อ.หัวหิน จ. เพชรบุรี

เกษตรกรราชบุรี 6 ราย

อ.เมือง อ. ปากท่อ อ.วัดเพลง จ.ราชบุรี

ตารางที่ 2 การสำรวจและเก็บผลมะม่วงในการเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง *Sternochetus* spp. ในแหล่งปลูกภาคเหนือ (มิถุนายน-กรกฎาคม 2551)

	พันธุ์	จำนวนผล	ด้วง	ดักแด้	หนอน	หมายเหตุ
1	แก้ว	93	57	3	2	
2	เขียวมรกต	2,065	89			
6	ทองดำ	35	1			
7	โชคอนันต์	119	4	1		
8	น้ำดอกไม้สีทอง	6				
	รวม	**2,318**	**147**	**3**	**2**	**152 ตัว**

เกษตรกร 5 ราย

ต.เหล่ายาว อ.บ้านโฮ่ง จ.ลำพูน

ต.สันมหาพน อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่

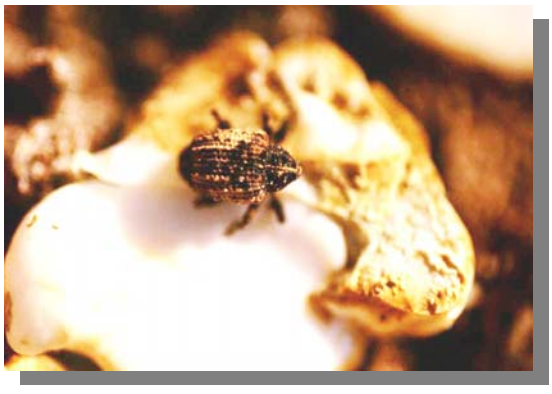
ต.ปิงโค้ง อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่

ต.ป่าไหน่ อ.พร้าว จ.เชียงใหม่

เมล็ดที่ถูกหนอนด้วงงวงเจาะเมล็ดเข้า

หนอนของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง

ดักแด้ของด้วงงวงเจาะเมล็ด



ตัวเต็มวัยของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง

ภาพที่ 3 การทำลายและระยะต่าง ๆของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง

สถานการณ์การแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง *Cataenococcus hispidus* Green และ*Planococcus lichi* Cox ในลำไย

Distribution of mealybug, *Cataenococcus hispidis* Green and *Planococcus lichi* Cox on Longan

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา บุษบง มนัสมั่นคง พวงผกา อ่างมณี
ชลิดา อุณหวุฒิ เกรียงไกร จำเริญมา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สถานการณ์การแพร่ระบาดของเพลี้ยแป้ง, *Cataenococcus hispidus* Green และ *Planococcus lichi* Cox ในลำไย ดำเนินการสำรวจในแหล่งปลูกจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และลำพูน ในระยะที่ผลลำไยมีอายุประมาณ 5 เดือน ถึงระยะเก็บเกี่ยว ระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม 2551 ผลการสำรวจ ในแหล่งปลูก อำเภอพร้าว (3) จอมทอง (6) ดอยเต่า (2) ฮอต (2) สารภี (3) หางดง (2) สันป่าตอง (3) แม่วาง (2) และดอยหล่อ (2) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอบ้านโฮ่ง (3) ป่าซาง (5) เมืองลำพูน (3) ลี้ (4) และเวียงหนองล่อง (3) จังหวัดลำพูน และอำเภอพาน (8) จังหวัดเชียงราย รวม 51 แปลง จากผลผลิตลำไยที่สุ่ม 281.51 กิโลกรัม จำนวน 28,718 ผล พบเพลี้ยแป้งที่ลงทำลายผลพบประมาณ 5 ชนิด ซึ่งอยู่ในระหว่างการจำแนกชนิด

คำหลัก : การสำรวจเพื่อตรวจหา (Detection surveys) การแพร่กระจาย (Distribution) ลำไย (Longan) เพลี้ยแป้ง (Mealy bug) *Cataenococcus hispidis* Green *Planococcus lichi* Cox

---

รหัสการทดลอง 07-01-51-01-02-01-03-51

คำนำ

จากการเปิดเสรีการค้าภายใต้องค์การการค้าโลก (World Tread Organization, WTO) ซึ่งได้ ยกเลิกมาตรการกีดกันทางภาษี และให้ใช้มาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) เป็นมาตรการทดแทน เพื่อให้ประเทศสมาชิกปกป้องมิให้ศัตรูพืชที่อาจจะติดไปกับสินค้าพืชจากประเทศหนึ่งไปสู่อีกประเทศหนึ่ง เป็นการอำนวยความสะดวกด้านการค้าระหว่างประเทศสมาชิก ประเทศไทยเป็นประเทศสมาชิกขององค์การการค้าโลก จึงต้องดำเนินการเพื่อเตรียมความพร้อมในด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้ในการต่อรองทางการค้าสินค้าเกษตรระหว่างประเทศ กรมวิชาการเกษตร โดยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชซึ่งเป็นหน่วยงานอารักขาพืชแห่งชาติ จึงมีความจำเป็นต้องเตรียมความพร้อมด้านข้อมูล ทางวิทยาศาสตร์ทางด้านพืชดังกล่าวเพื่อใช้ในการเจรจาการค้าสินค้าเกษตรภายใต้เงื่อนไขขององค์การการค้าโลก การสำรวจ ติดตามและตรวจสอบศัตรูพืชเป็นงานพื้นฐานที่มีความจำเป็นสำหรับใช้ในการ ดำเนินการด้านอื่นๆ อีก เช่น Pest Risk Analysis, Establishment for pest free area, Pest list, Pest report เป็นต้น ซึ่งแนวทางการดำเนินงานจะสอดคล้องกับ ISPMs (International Standard for Phytosanitary Measures) ฉบับที่ 6 (Guidelines for Surveillance)

ลำไยเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีศักยภาพในการผลิตและการตลาดสูง โดยเฉพาะตลาดส่งออกทั้งในรูป ผลไม้สด ผลไม้แช่แข็ง และผลิตภัณฑ์แปรรูป ดังนั้นจึงต้องมีขบวนการผลิตอย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีมาตรฐาน มีสุขอนามัยและสุขอนามัยพืชสามารถแข่งขันในตลาดโลก โดยแหล่งปลูกสำคัญของลำไยอยู่ทางภาคเหนือตอนบน กรมส่งเสริมการเกษตร (2546) ได้รายงานว่า พื้นที่การปลูกลำไย ปีการเพาะปลูก 2546 รวมทั้งประเทศ 618,128 ไร่ ผลผลิตรวม 396,668 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 642 กก./ไร่ โดยมีแหล่งปลูกใหญ่อยู่ในพื้นที่ภาคเหนือ พื้นที่ปลูกมากที่สุด คือ จ.เชียงใหม่มีพื้นที่ปลูก 180,770 ไร่ รองลงมา จ.ลำพูน 179,806 ไร่ จ.เชียงราย 70,533 ไร่ ตามลำดับ ลำไยพันธุ์ที่ปลูกมาก ได้แก่ พันธุ์อีดอ แห้ว สีชมพู และเบี้ยวเขียว การผลิตลำไยมักประสบปัญหาการให้ผลผลิตปีเว้นปี ปีที่มีผลผลิตมากมักเกิดปัญหาด้านการตลาด ลำไยสดมีตลาดส่งออกค่อนข้างแคบ เนื่องจากมีข้อจำกัดหลายอย่าง ตลาดสำคัญจึงอยู่เฉพาะในภูมิภาคใกล้เคียง เช่น จีน ฮ่องกง มาเลเซีย และสิงค์โปร์ ตลาดที่ไกลออกไปแต่มีปริมาณไม่มากนัก ได้แก่ แคนาดา อังกฤษ และเนเธอร์แลนด์ ส่วนประเทศที่พัฒนาแล้วมักจะไม่ค่อยรับซื้อ เนื่องจากกลัวปัญหาด้านโรคแมลงที่ติดไปกับผลลำไยหรือ ลิ้นจี่ ก่อนที่จะนำเข้าต้องยื่นคำขอเปิดตลาดพร้อมข้อมูลศัตรูพืช ซึ่งประกอบด้วยรายชื่อและรายละเอียด เกี่ยวกับศัตรูพืช เพื่อที่ประเทศผู้นำเข้าจะนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis, PRA) และอาจจะสอบถามข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อกำหนดเงื่อนไขการนำเข้า แต่ที่ผ่านมาข้อมูลเหล่านี้ยังขาดอยู่ จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการวิจัยเพื่อหาข้อมูลเกี่ยวกับแมลงศัตรูพืชดังกล่าว

จากการดำเนินการการขอเปิดตลาดลำไยกับประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งได้ส่งข้อมูลที่พบว่าลำไย มีเพลี้ยแป้งชนิด *C. hispidus* และ *P. lichi* ลงทำลายด้วย ซึ่งทางประเทศไทยไม่มีข้อมูลศัตรูพืชทั้งสองชนิด จึงต้องดำเนินการเฝ้าระวังและติดตาม เพลี้ยแป้ง *C. hispidus* และ *P. lichi* ในลำไยเพื่อการส่งออก เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการดำเนินการขอเปิดตลาดการค้าต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงลำไย
2. กรรไกรตัดกิ่ง
3. ถังน้ำแข็ง
4. เครื่องกำหนดพิกัด (GPS)
5. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง เช่น กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ยางรัดของ vial แอลกอฮอล์ 80% พู่กัน เข็มเขี่ย Label เป็นต้น
6. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแมลง เช่น slide KOH น้ำกลั่น แอลกอฮอล์ 95% สารละลาย carbo xylene กรดแอลกอฮอล์ น้ำยาย้อมสี สารละลายเอ็น-บิวทิวแอลกอฮอล์ กระดาษกรอง ตู้อบ เป็นต้น
7. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาน, ดินสอ, ปากกาเมจิก เป็นต้น

วิธีการ

ดำเนินการสุ่มเลือกพื้นที่การสำรวจในแหล่งปลูกลำไยทั่วประเทศ และแปลงลำไยในแต่ละจังหวัด โดยใช้วิธี purposive sampling ได้พื้นที่การสุ่มสำรวจ ดังนี้ อำเภอพร้าว (3) จอมทอง (6) ดอยเต่า (2) ฮอด (2) สารภี (3) หางดง (2) สันป่าตอง (3) แม่วาง (2) และดอยหล่อ (2) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอบ้านโฮ่ง (3) ป่าซาง (5) เมืองลำพูน (3) ลี้ (4) และเวียงหนองล่อง (3) จังหวัดลำพูน และอำเภอพาน (8) จังหวัดเชียงราย รวม 51 แปลง ดำเนินการสำรวจในช่วงที่ผลลำไยมีอายุ 5 เดือน - ระยะเก็บเกี่ยว ดำเนินการสุ่มสำรวจแมลงในแปลงโดยวิธีการสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) คือ สุ่มตัดช่อผลลำไยต้นละ 4 ทิศๆ ละ 1 ช่อ จำนวน 10 ต้น/แปลง ร่วมกับการเก็บผลที่พบการทำลายของเพลี้ยแป้งจากต้นลำไยโดยตรง เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่ได้ในแอลกอฮอล์ 80% บันทึกชนิดและจำนวนเพลี้ยแป้งที่ทำลายผลลำไย จำนวนผลลำไยที่สุ่ม พิกัดพื้นที่ สภาพภูมิอากาศ และข้อมูลพืชและการจัดการ

เวลาและสถานที่

ทำการสุ่มสำรวจระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม 2551 ในแหล่งปลูกลำไย จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และลำพูน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการสำรวจเพื่อตรวจหาชนิดและการแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง *C. hispidus* และ *P. lichi* ในแหล่งปลูก อำเภอพร้าว (3) จอมทอง (6) ดอยเต่า (2) ฮอต (2) สารภี (3) หางดง (2) สันป่าตอง (3) แม่วาง (2) และดอยหล่อ (2) จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอบ้านโฮ่ง (3) ป่าซาง (5) เมืองลำพูน (3) ลี้ (4) และเวียงหนองล่อง (3) จังหวัดลำพูน และอำเภอพาน (8) จังหวัดเชียงราย รวม 51 แปลง (ภาพที่ 1) จากผลผลิตลำไยที่สุ่มทั้งหมด 281.51 กิโลกรัม จำนวน 28,718 ผล พบเพลี้ยแป้งที่ลงทำลายผลลำไยทุกจุดสำรวจ (ตารางที่ 1) โดยคาดว่าจะพบเพลี้ยแป้งประมาณ 5 ชนิด (ภาพที่ 2) ซึ่งต้องรอการจำแนกชนิดต่อไป โดยจริยาและคณะ (2545) รายงานว่าเพลี้ยแป้งที่ลงทำลายผลลำไยในประเทศไทย คือ เพลี้ยแป้งชนิด *Nipaecoccus* sp.

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์โครงการ คุณณิชาพร ฉ่ำประวิง และ นายวรวิช สุดจริตธรรมจริยางกูล นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยดำเนินการสำรวจและเก็บข้อมูลในแปลง ตลอดจนรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นจึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

จริยา วิสิทธิ์พานิช ชาตรี สิทธิกุล และเยาวลักษณ์ จันทร์บาง. 2545. โรคและแมลงศัตรูลำไย ลิ้นจี่ และมะม่วง. หจก.ธนบรรณการพิมพ์, จังหวัดเชียงใหม่. 308 หน้า.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2546. สถิติการปลูกลำไยรายจังหวัด ปีการเพาะปลูก 2546. http://www.doae.go.th/temp.asp?gpg=data/kasetfx

ภาพที่ 1 แผนที่แสดงจุดสำรวจเพลี้ยแป้งในแปลงลำไยของเกษตรกร จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และลำพูน จำนวน 51 แปลง

ตารางที่ 1 แสดงผลการสำรวจเพลี้ยแป้งในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย มิถุนายน-กรกฎาคม 2551

จุดสำรวจ	เพลี้ยแป้ง
จ.เชียงใหม่ (25 แปลง)	
- อ.พร้าว (3)	+ [1/]
- อ.จอมทอง (6)	+
- อ.ดอยเต่า (2)	+
- อ.ฮอด (2)	+
- อ.สารภี (3)	+
- อ.หางดง (2)	+
- อ.สันป่าตอง (3)	+
- อ.แม่วาง (2)	+
- อ.ดอยหล่อ (2)	+
จ.ลำพูน (18 แปลง)	+
- อ.เวียงหนองล่อง (3)	+
- อ.ป่าซาง (5)	+
- อ.ลี้ (4)	+
- อ.บ้านโฮ่ง (3)	+
- อ.เมืองลำพูน (3)	+
จ.เชียงราย (8 แปลง)	
- อ.พาน (8)	+

[1/] + = พบ, - = ไม่พบ

ภาพที่ 2 เพลี้ยแป้งชนิดที่พบในแปลงสำรวจของเกษตรกร จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และลำพูน มิถุนายน-กรกฎาคม 2551

การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของ Congress grass (*Parthernium hysterophous* L.)

Surveillance of congress grass (*Parthernium hysterophous* L.)

ศิริพร ซึงสนธิพร จรัญญา ปิ่นสุภา มัตติกา ทองรส
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดศัตรูพืชเป็นสิ่งต้องห้าม ตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 6) พ.ศ.2550 ลงวันที่ 26 เมษายน 2550 และประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดพืชเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2550 ลงวันที่ 27 กรกฎาคม 2550 ได้ประกาศกำหนดวัชพืช 39 ชนิด จากทุกแหล่งเป็นสิ่งต้องห้าม เนื่องจากเป็นศัตรูพืชกักกัน ซึ่ง *Parthernium hysterophous* L. เป็นศัตรูพืชกักกันอันดับที่ 342 ในรายชื่อศัตรูพืชแนบท้ายประกาศฯ ดังกล่าว

P. hysterophous L. จัดอยู่ในวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) และ *P. lobatum* Buckl. เป็นชื่อพ้อง มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษหลายชื่อ เช่น congress grass, parthenium weed, ragweed parthenium, Santa Maria feverfew, white top weed, carrot weed และ star weed เป็นต้น มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา เป็นพืชรุกรานซึ่งเมื่อขึ้นในที่ใด มักขึ้นเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ ถูกนำเข้าในหลายประเทศโดยไม่ตั้งใจ เช่น ออสเตรเลีย อินเดีย ไต้หวัน และเอธิโอเปีย และยังพบระบาดในเวียตนาม จีน ด้วย ในหลายแหล่งได้กลายเป็นวัชพืชที่ก่อให้เกิดปัญหาอย่างรุนแรงในพื้นที่เกษตร และทุ่งเลี้ยงสัตว์

ลักษณะพืช เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ เนื้ออ่อน อายุสั้น ฤดูเดียว ต้นสูงถึง 2 เมตร (ในรัฐควีนแลนด์ ออสเตรเลีย สูงถึง 5 เมตร (Jordan, 2007)) ลำต้นแตกแขนงมากด้านบน ปกคลุมด้วยขน (trichomes) ใบเดี่ยว เมื่ออ่อนเป็นกระจุก เมื่อโตขึ้นใบเป็นแฉกลึก จนเหมือนเป็นใบแบบขนนก มีขนอ่อนปกคลุมทั้งสองด้าน คล้ายใบแครอท จำนวนใบในหนึ่งต้น 6-55 ใบ ช่อดอกกระจุกแน่น ก้านช่อดอกยาว เกิดตามซอกใบและปลายกิ่ง สีขาว-ครีม (ภาพที่ 1) ผลแก่แล้วไม่แตก เมล็ดสีดำ รูปลิ่มยาว ประมาณ 2 มิลลิเมตร มีเปลือกสีขาว ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด (Sankaran, 2009)

รหัสการทดลอง 07-01-51-01-03-01-01-51

ภาพที่ 1 ลักษณะ Congress grass (1) ลักษณะต้น (2) ต้นอ่อน (3) ใบ (4) ช่อดอก (5) ต้นแก่

คองเกรสกราส ที่เจริญเติบโตเต็มที่อาจสร้างเมล็ดได้ถึง 15,000-100,000 เมล็ด เมล็ดไม่มีการพักตัว สามารถงอกได้เมื่อมีความชื้นมากพอ (Sankaran, 2009) สามารถงอกได้ดีที่อุณหภูมิ 8-30 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกคือระว่า 22-25 องศาเซลเซียส (Sheldon Navie, 2003) เนื่องจากมีขนาดเมล็ดเล็ก และเบา จึงสามารถแพร่กระจายโดยสัตว์ ปนเปื้อนกับพืช

อื่น หรือเมล็ดพันธุ์ ยานพาหนะ อุปกรณ์การเกษตร กระแสน้ำ และลม ปัจจุบันพบระบาดในประเทศต่างๆ ทั่วโลกดังนี้ อาร์เย็นตินา ออสเตรเลีย บังคลาเทศ จีน คิวบา สาธารณรัฐโดมินิแกน เอธิโอเบีย ไฮติ ฮอนดูรัส อินเดีย จาไมก้า มาดามกัสการ์ มอริเชียส เม็กซิโก โมซัมบิก เนปาล นิวแคลิโดเนีย ปากีสถาน ปาบัวนิวกีนี เปอร์โตริโก แอฟริกาใต้ ศรีลังกา สวาซิแลนด์ ตรินิแดด สหรัฐอเมริกา เวเนซูเอลา เวียตนาม และหมู่เกาะเวสต์อินดีส (Sankaran, 2009)

คองเกรสกราส เข้ามาในอินเดีย ตั้งแต่ปี 1910 โดยปนเปื้อนมากับเมล็ดธัญพืช แต่ไม่มีการบันทึก จนในปี 1956 คองเกรสกราส ได้แพร่ระบาดอย่างรวดเร็วทั่วอินเดีย ประมาณว่าปัจจุบันคองเกรสกราส ครอบคลุมพื้นที่มากกว่า 5 ล้านเฮคแตร์ หรือประมาณ 31 ล้านไร่ในอินเดีย (Sankaran, 2009)

การทดสอบความคงทนของเมล็ดในดิน พบว่าเมล็ดที่ฝังใต้ผิวดิน 5 เซนติเมตร อย่างน้อย 2 ปี สามารถงอกได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ แต่เมล็ดที่ผิวดินมีอายุได้ประมาณ 6 เดือนเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบอีกว่าอัตราการงอกของเมล็ดคองเกรสกราส เร็วกว่าเมล็ดพืชชนิดอื่นที่พบในพื้นที่เดียวกัน (Sheldon Navie, 2003)

ผลกระทบ การแพร่ระบาดปกคลุมพื้นที่ของคองเกรสกราส ทำให้ระบบนิเวศตามธรรมชาติเปลี่ยนแปลงได้ การขึ้นเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ ทำให้พื้นที่เลี้ยงสัตว์ลดลง และผลผลิตของพืชอาหารสัตว์ลดลงด้วย เป็นที่ทราบกันว่าเรณุมีผลยับยั้งการติดผลของพืชหลายชนิด การงอกและการเจริญเติบโตของพืชท้องถิ่นถูกยับยั้งด้วยคุณสมบัติทางอัลลิโลพาธิของคองเกรสกราส

ผลกระทบต่อมนุษย์ เรณู ฝุ่นหรือผงที่เกิดจากรากและพืชแห้งทำให้เกิดอาการแพ้ในคน เช่นเดียวกับ hay fever หอบ-หืด ฝื่นคัน ผิวลอก เคืองตา-น้ำตาไหล เสียน้ำมาก บวมและคันตามปากและจมูก ไอ น้ำมูกไหล และแผลเปื่อย ในอินเดียช่วงที่มีการระบาดอย่างรุนแรง มีผู้ป่วยจากการแพ้คองเกรสกราส มากกว่า 1,000 ราย และมีบางรายถึงขั้นเสียชีวิตด้วย (Sankaran, K.V., 2009)

ในสัตว์ ทำให้เนื้อแกะเป็นจุด เสียคุณภาพ และทำให้นมมีกลิ่นเหม็น ไม่สามารถดื่มได้ ในรัฐควีนส์แลนด์ ประเทศออสเตรเลีย ประมาณการว่าคองเกรสกราส ทำให้อุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์เสียหายประมาณปีละ16 ล้านดอลล่าร์ออสเตรเลีย เพื่อควบคุมดูแลทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ (Sankaran, K.V., 2009)

หากมีการปนเปื้อนเมล็ดเข้ามาโดยวิธีใดก็ตาม คองเกรสกราส จะสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ในประเทศไทย และอาจก่อให้เกิดผลกระทบอย่างกว้างขวางได้ ในขณะที่ประเทศไทยมีการค้าสินค้าเกษตร และเครื่องจักรกลการเกษตรที่ใช้แล้ว กับหลายประเทศ และยังมีการเดินทางผ่านแดนโดยรถยนต์ หรือทางเท้าหลายจุด จึงเป็นพื้นที่เสี่ยง การเฝ้าระวังการระบาดของคองเกรสกราส จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อตรวจสอบในพื้นที่เสียงที่อาจมีส่วนขยายพันธ์ของพืชนี้เข้ามา และ

สามารถเจริญเติบโต เพื่อขยายเผ่าพันธุ์ต่อไป รวมไปถึงพื้นที่ที่มีศักยภาพที่พืชนี้จะสามารถเจริญเติบโตได้ เพื่อเป็นการป้องกันมิให้พืชดังกล่าวเจริญเติบโตและแพร่พันธ์ได้ในประเทศไทย จนกลายเป็นปัญหาร้ายแรง รวมไปถึงการรักษาสถานภาพการเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศไทยต่อไปด้วย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ ที่จำเป็นในการสำรวจ ได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก และกล้องถ่ายภาพ

การกำหนดพื้นที่ เนื่องจากคองเกรสกราส เป็นวัชพืชที่พบมีในเวียดนาม ซึ่งมีเขตแดนติดต่อกับกัมพูชาและลาว การพบระบาดเป็นพื้นที่กว้างในอินเดีย และจีน แต่ไม่พบรายงานในเมียนม่าร์ และประเทศเหล่านี้สามารถเดินทางถึงประเทศไทยโดยรถยนต์ได้ หรือโดยการเดินเท้าได้ด้วย น จึงกำหนดจุดสำรวจผ่านแดน พื้นที่ข้างถนนจากจุดผ่านแดน เข้ามาในประเทศไทย เป็นระยะทาง 5 กิโลเมตร และพื้นที่การเกษตร ที่อยู่ใกล้จุดผ่านแดน รวมถึงพื้นที่ตลอดแนวชายแดนที่สามารถเข้าถึงโดยรถยนต์ ดังนั้นพื้นที่สำรวจเพื่อการเฝ้าระวังในการศึกษานี้คือ

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ พื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ สุรินทร์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี มุกดาหาร อำนาจเจริญ นครพนม หนองคาย เลย

ภาคตะวันออก ได้แก่ ตราด จันทบุรี และสระแก้ว

ภาคกลาง ได้แก่ ราชบุรี กาญจนบุรี และประจวบคีรีขันธ์ รวมถึง สระบุรี ลพบุรี

ภาคเหนือ ได้แก่ น่าน เชียงราย แม่ฮ่องสอน ตาก

วิธีการ สำรวจพื้นที่บริเวณจุดผ่านแดน โดยเฉพาะที่มีเป็นพื้นดิน และพื้นที่ไหล่ทาง แปลงเกษตรกรในรัศมีประมาณ 10 กิโลเมตร จากจุดผ่านแดน โดยหยุดสำรวจเป็นระยะ และ/หรือพื้นที่ที่มีสภาพเหมาะแก่การเจริญเติบโตของคองเกรสกราสได้ เช่น สภาพไร่ มีความชุมชื้นมากพอ หรือมีวัชพืชที่แตกต่างจากวัชพืชที่พบทั่วไป รวมถึงพื้นที่ที่มีการชักนำพืชจากต่างประเทศมาปลูก

การสำรวจ ตรวจชนิดวัชพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงกับคองเกรสกราส บันทึกสถานที่ที่ทำการสำรวจ หากพบพืชที่สงสัย บันทึกสถานที่ที่พบ และนำพืชกลับมาศึกษา ตรวจสอบ ยืนยันชนิด

การกำจัด และการควบคุมการระบาด หากพบในปริมาณน้อย ต้องทำการกำจัดโดยทันที หลังจากตรวจสอบยืนยันชนิดได้ชัดเจน และรายงานให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องทราบอย่างเร่งด่วน แต่หากพบในพื้นที่กว้าง ไม่สามารถดำเนินการกำจัดได้ รีบแจ้งให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องทราบ และ เพื่อควบคุมการระบาด และกำจัดต่อไป

เวลาดำเนินการ เริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปีงบประมาณ 2551 ได้ทำการสำรวจพื้นที่ต่างๆ ในภาคตะวันออก ตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง จำนวน 7 ครั้ง ดังนี้

ครั้งที่ 1	ธันวาคม 2550	จังหวัดสระแก้ว	ไม่พบ
ครั้งที่ 2	มีนาคม 2550	อ.บ้านหมอ และ อ.พระทุทธบาท จ.สระบุรี	ไม่พบ
ครั้งที่ 3	เมษายน 2551	อ.ทองผาภูมิ และ อ.สังขละบุรี จ.กาญจนบุรี	ไม่พบ
ครั้งที่ 4	พฤษภาคม 2551	ด่านสิงขร อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์	ไม่พบ
ครั้งที่ 5	กรกฎาคม 2551	จ.อุบลราชธานี มุกดาหาร และนครพนม	ไม่พบ
ครั้งที่ 6	กันยายน 2551	ท่าสองยาง แม่ระมาด แม่สอด พบพระ อุ้มผาง จ.ตาก	ไม่พบ
ครั้งที่ 7	กันยายน 2551	อ.สวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี	ไม่พบ

จากการสำรวจทั้งหมดไม่พบพืชที่มีลักษณะใกล้เคียง หรือคล้ายกับคองเกรสกราสเลย

เอกสารอ้างอิง

Sankaran, K.V. *Parthenium hysterophorus*: Carrot weed. Invasive Pest Factsheet of Asia - Pacific Forest Invasive Species Network, supported by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and USDA Forest Service. Available at http://www.fao.org/forestry/media/13378/1/0/. Accessed on Apr. 6th, 2009.

Jordan Sonia. 2007. Parthenium weed. Available at http://www.dpi.qld.gov.au/cps/rde/dpi/hs.xsl/4790_7334_ENA_HTML.html. Accessed on Apr. 6th, 2008.

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอและความหลากหลายทางพันธุกรรม รา *Fusarium* spp.ในประเทศไทย

DNA Fingerprint and Genetic Variation of *Fusarium* spp. In Thailand

ธารทิพย ภาสบุตร อภิรัชต์ สมฤทธิ์ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ดารุณี ปุญญพิทักษ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา *Fusarium* ที่เก็บรวบรวมไว้แล้วและเก็บรวบรวมใหม่จำนวน 30 ไอโซเลท จำแนกชนิดเป็นรา *Fusarium oxysporum* นำรา *F. oxysporum* ทั้ง 30 ไอโซเลทมาศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprint) เปรียบเทียบความแตกต่างหรือความหลากหลายทางพันธุกรรมของราไอโซเลทต่างๆ ผลการศึกษาพบความแตกต่างกันในแต่ละไอโซเลทแต่ยังไม่สามารถสรุปผลได้ ต้องเพิ่มจำนวนรา *Fusarium oxysporum* ที่แยกจากมะเขือเทศ วนิลา กล้วยไม้ พริก และมะเขือเปราะที่แสดงอาการต้นเหี่ยว ให้ได้ตัวแทนรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคของแต่ละพืชมากกว่า 1 ไอโซเลท เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละไอโซเลทต่อไป

คำนำ

ปัจจุบันการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจำแนกชนิด (species) รา สาเหตุโรคพืชมีความสิ่งสำคัญและมีการพัฒนาไปอย่างมาก มีการนำวิทยาการทางอณูชีววิทยามาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการจำแนกชนิด ตรวจสอบความเหมือนกันหรือแตกต่างกันของชนิด รวมทั้งการวินิจฉัยสาเหตุของโรคพืชซึ่งโดยทั่วไปดูจากลักษณะสัณฐานวิทยา แต่หากได้มีการเปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอนเอแล้วจะให้ผลในทางสนับสนุนลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้อีกทางหนึ่ง ให้ความถูกต้องแม่นยำและรวดเร็วมากขึ้น

รา *Fusarium* Fries จัดอยู่ใน subdivision Deuteromycotina, form – class Hyphomycetes, form – order Tuberculariales, form - family Tuberculariaceae (Ainsworth, 1973) ราในสกุล (genus) *Fusarium* เป็นราสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ อาศัยใน

รหัสการทดลอง 09-01-49-02-01-01-08-50

ดิน พบได้ทั่วไปทุกแห่ง ราหลายชนิด (species) ในสกุลนี้เป็นเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับพืชมากมาย บางชนิดทำให้เกิดโรคอย่างรุนแรงกับพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น โรคถอดฝักดาบของข้าว โรคตายพรายของกล้วย โรคเหี่ยวของพืชผักและไม้ดอกไม้ประดับ โรครากเน่าของพืชตระกูลถั่ว โรคโคนเน่าและลำต้นเน่าของธัญพืช เป็นต้น ส่วนใหญ่ราในสกุลนี้เป็นราในดิน สามารถมีชีวิตอยู่รอดในดินได้นานในรูปของสปอร์ผนังหนาหรือ chlamydospore (Lester และคณะ, 1988; Windels, 1993) ปัจจุบันได้มีการสำรวจรวบรวมและจำแนกชนิดรา *Fusarium* spp. รวมทั้งศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาซึ่งเก็บเป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิชาการไว้บ้างแล้ว แต่การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprint) และความหลากหลายทางพันธุกรรมของรานี้เพื่อเก็บเป็นข้อมูลยังมีไม่มากนัก อีกทั้งในปัจจุบันบางพื้นที่ได้มีการปรับเปลี่ยนชนิดพืชที่ปลูก มีการนำพืชหลายชนิดมาปลูกในประเทศไทย จำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาลายพิมพ์ DNA ของรา *Fusarium* spp. ที่เก็บรวบรวมไว้แล้วและที่เก็บรวบรวมใหม่ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างหรือความหลากหลายทางพันธุกรรมของราแต่ละไอโซเลทที่พบ เพื่อให้ได้ข้อมูลทางพันธุกรรมของรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรคพืชที่ครบถ้วนสมบูรณ์มากขึ้น ซึ่งผลที่ได้จะเป็นองค์ความรู้ด้านโรคพืชนำไปใช้เผยแพร่ได้และเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปวิจัยต่อยอดด้านอื่นๆ หรือเป็นหลักฐานอ้างอิงเพื่อการจัดทำบัญชีรายชื่อโรคพืช อันจะนำไปใช้ในการเจรจาต่อรองทางการค้าสินค้าเกษตรกับต่างประเทศ และการป้องกันการนำเข้าสินค้าเกษตรที่มีโรคพืชสำคัญที่ไม่เคยมีปรากฏในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคที่เกิดจาก *Fusarium* spp. จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในประเทศไทยและรา *Fusarium* spp. ที่เก็บอยู่ในหน่วยเก็บรักษาจุลินทรีย์
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Water Agar (WA), Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Agar (PDB), Corn Leaf Ager (CLA) และ KCl
3. กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ
4. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ
5. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (U 2001 UV/Vis, Hitachi Instruments, Inc., USA)
6. เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วต่ำ และสูง
7. Gel Electrophoresis เครื่องมือตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ด้วยแสงยูวี (UV transiluminator)
8. สารเคมี ที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมีและเอนไซม์สำหรับการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

วิธีการ

1. การศึกษาและการจำแนกชนิด

ทำเชื้อบริสุทธิ์โดยการใช้ single spore technique

เขี่ยกลุ่มสปอร์ลงใน vial ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทำสปอร์แขวนลอยให้มีปริมาณสปอร์ประมาณ 10 สปอร์ ต่อ 1 loop ภายใต้ objective กำลังขยายต่ำ ใช้ห่วงลวด (loop) ที่ปลอดเชื้อจุ่มลงในสปอร์แขวนลอย แล้วลาก (streak) ลงบนผิวหน้าของอาหาร WA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ตักสปอร์เดี่ยวที่งอก มาเลี้ยงบนอาหารที่เหมาะสม ทำการจำแนกชนิด ศึกษาลักษณะของสัณฐานวิทยา ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และจำแนกตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983) ดังนี้

ศึกษาลักษณะการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Fusarium* ศึกษาการสร้าง pigment sclerotium และ sporodochium ในอาหาร PDA บันทึกลักษณะและวัดขนาดของ conidium, conidiophore บนอาหาร CLA อายุ 10-14 วัน ที่อุณหภูมิ 26-28 °ซ. ภายใต้แสง NUV บันทึกการสร้าง และลักษณะของ chlamydospore บนอาหาร KCl อายุ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 26-28 °ซ. ภายใต้แสง NUV ทำ slide culture เพื่อศึกษาลักษณะของ sporogenous cell, phialide, microconidium, macroconidium

2. การเตรียมดีเอ็นเอ (DNA) ของเชื้อรา

นำรา *Fusarium* spp. ที่จำแนกชนิดแล้วมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PAB บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 4 วัน กรองเส้นใย ล้างเส้นใยด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ นำเส้นใยไปเก็บไว้ที่ –20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาสกัด DNA จากนั้นหาความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของ DNA ที่เตรียมโดยวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร วิเคราะห์คุณภาพและความเข้มข้นของ DNA ที่เตรียมด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซีส (agarose gel electrophoresis) เก็บ DNA ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ศึกษาต่อไป

3. ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ microsatellite primers (Steenkamp *et al*., 2005) 9 คู่

No.	Name	5'----------->3'	length
1	MB2F	TGCTGTGTATGGATGGATGG	20
2	MB2R	CATGGTCGATAGCTTGTCTCAG	22
3	MB5F	ACTTGGAGGAAATGGGCTTC	20
4	MB5R	GGATGGCGTTTAATAAATCTGG	22
5	MB9F	TGGCTGGGATACTGTGTAATTG	22

6	MB9R	TTAGCTTCAGAGCCCTTTGG	20
7	MB10F	TATCGAGTCCGGCTTCCAGAAC	22
8	MB10R	TTGCAATTACCTCCGATACCAC	22
9	MB11F	GTGGACGAACACCTGCATC	19
10	MB11R	AGATCCTCCACCTCCACCTC	20
11	MB13F	GGAGGATGAGCTCGATGAAG	20
12	MB13R	CTAAGCCTGCTACACCCTCG	20
13	MB14F	CGTCTCTGAACCACCTTCATC	21
14	MB14R	TTCCTCCGTCCATCCTGAC	19
15	MB17F	ACTGATTCACCGATCCTTGG	20
16	MB17R	GCTGGCCTGACTTGTTATCG	20
17	MB18F	GGTAGGAAATGACGAAGCTGAC	22
18	MB18R	TGAGCACTCTAGCACTCCAAAC	

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2550
สิ้นสุด กันยายน 2552

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาและการจำแนกชนิด

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะของโคโลนีของรา *Fusarium* spp. ที่แยกได้จากส่วนของพืชที่เป็นโรคและรา *Fusarium* spp. ที่เก็บอยู่ในหน่วยเก็บรักษาจุลินทรีย์ เพื่อจำแนกชนิดรา *F. oxysporum* ตามวิธีการและระบบของ Nelson *et al.* (1983) มีรายละเอียดดังนี้

F. oxysporum Schlecht ex Fries, emend. Snyder & Hansen

ชื่อพ้อง : *F. oxysporum* Schlecht. Emend. Snyd. & Hans. pro parte

F. redolens Wollenw.

F. oxysporum Schlecht. Emend. Snyd. & Hans. var. *redolens* (Wollenw.) Gordon

F. oxysporum Schlecht.

F. oxysporum Schlecht. var. *redolens* (Wollenw.) Gordon

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เชื้อราสร้างเส้นใยฟู ละเอียด สีขาว สีขาวแซมม่วง สีชมพูม่วง สีม่วงอ่อน จนถึงสีม่วงเข้ม เจริญอย่างรวดเร็ว สร้าง sporodochium สีส้มจำนวนมาก โคโลนีด้านใต้ผิวอาหารมีสีม่วงอ่อน ม่วงเข้ม หรือน้ำเงินเข้ม และสร้างเม็ด sclerotium สีน้ำเงิน

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA : เชื้อราสร้าง microconidium จำนวนมากเกาะเป็นกลุ่มแบบ false head บน monophialide ซึ่งเกิดจากด้านข้างของเส้นใย phialide รูปร่างคล้ายขวดหรือพินโบว์ลิ่ง ไม่มีสี มีขนาดสั้นกว่า phialide ของ *F. moniliforme* และ *F. solani* microconidia รูปไข่ ยาวรี สั้นป้อม จนถึงรูปทรงกระบอก ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ส่วนใหญ่มี 1 เซลล์ macroconidia รูปร่างโค้งแบบ fusoid-subculate เซลล์ที่ฐานมีลักษณะคล้ายเท้า (foot-shaped) เซลล์ที่ปลายเรียวแหลม หรือทู่มน ผนังบาง ไม่มีสี มี septum 3-5 ขนาด 24-26 x 3-4.5 ไมครอน เกิดบน conidiophore ที่แตกกิ่งก้านมากหรือเกิดบน sporodochium ที่มีลักษณะเป็นก้อน (tubercularia-like) เชื้อราชนิดนี้สร้าง chlamydospore รูปไข่ หรือทรงกลม ผนังเรียบหรือผนังขรุขระ เกิดที่บริเวณส่วนปลายเส้นใย (terminal) และส่วนกลางเส้นใย (intercalary) มักเกิดเดี่ยว แต่บางครั้งเกิดเป็นคู่หรือเป็นลูกโซ่ 924

2. การเตรียมดีเอ็นเอ (DNA) ของเชื้อรา

ได้สกัดดีเอ็นเอของรา *F. oxysporum* จำนวน 30 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รา *F. oxysporum* จำนวน 30 ไอโซเลทและแหล่งที่มา

ลำดับที่	รหัส	*Fusarium oxysporum*	พืชอาศัย	โรค/อาการโรค	สถานที่เก็บโรค
1	DOAC 0874	*F. oxysporum* f.	มะเขือเทศ	ต้นเหี่ยว	ต.ช่องแคบ อ.พบพระ จ.ตาก
2	DOAC 1699	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.ปัตตานี
3	DOAC 1701	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	ต.ไทยสามัคคี อ.วังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา
4	DOAC 1703	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.เลย
5	DOAC 1704	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว, ตายพราย	ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพาน อ.เมือง จ.สกลนคร
6	DOAC 1705	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว, ตายพราย	จ.พระนครศรี-อยุธยา
7	DOAC 1706	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.พระนครศรี-อยุธยา
8	DOAC 1707	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.พระนครศรี-อยุธยา
9	DOAC 1708	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.อุดรธานี
10	DOAC 1709	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว, ตายพราย	จ.หนองคาย

ตารางที่ 1 รา *F. oxysporum* จำนวน 30 ไอโซเลทและแหล่งที่มา

ลำดับที่	รหัส	*Fusarium oxysporum*	พืชอาศัย	โรค/อาการโรค	สถานที่เก็บโรค
11	DOAC 1710	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.หนองคาย
12	DOAC 1712	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.หนองคาย
13	DOAC 1716	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.สระบุรี
14	DOAC 1717	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.เพชรบุรี
15	DOAC 1718	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.กาญจนบุรี
16	DOAC 1719	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.จันทบุรี
17	DOAC 1723	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.เชียงใหม่
18	DOAC 1725	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.เชียงใหม่
19	DOAC 1728	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว, ตายพราย	จ.เชียงใหม่
20	DOAC 1736	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.เชียงใหม่
21	DOAC 1738	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.เชียงใหม่
22	DOAC 1739	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.เชียงใหม่
23	DOAC 1748	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	จ.ชัยภูมิ

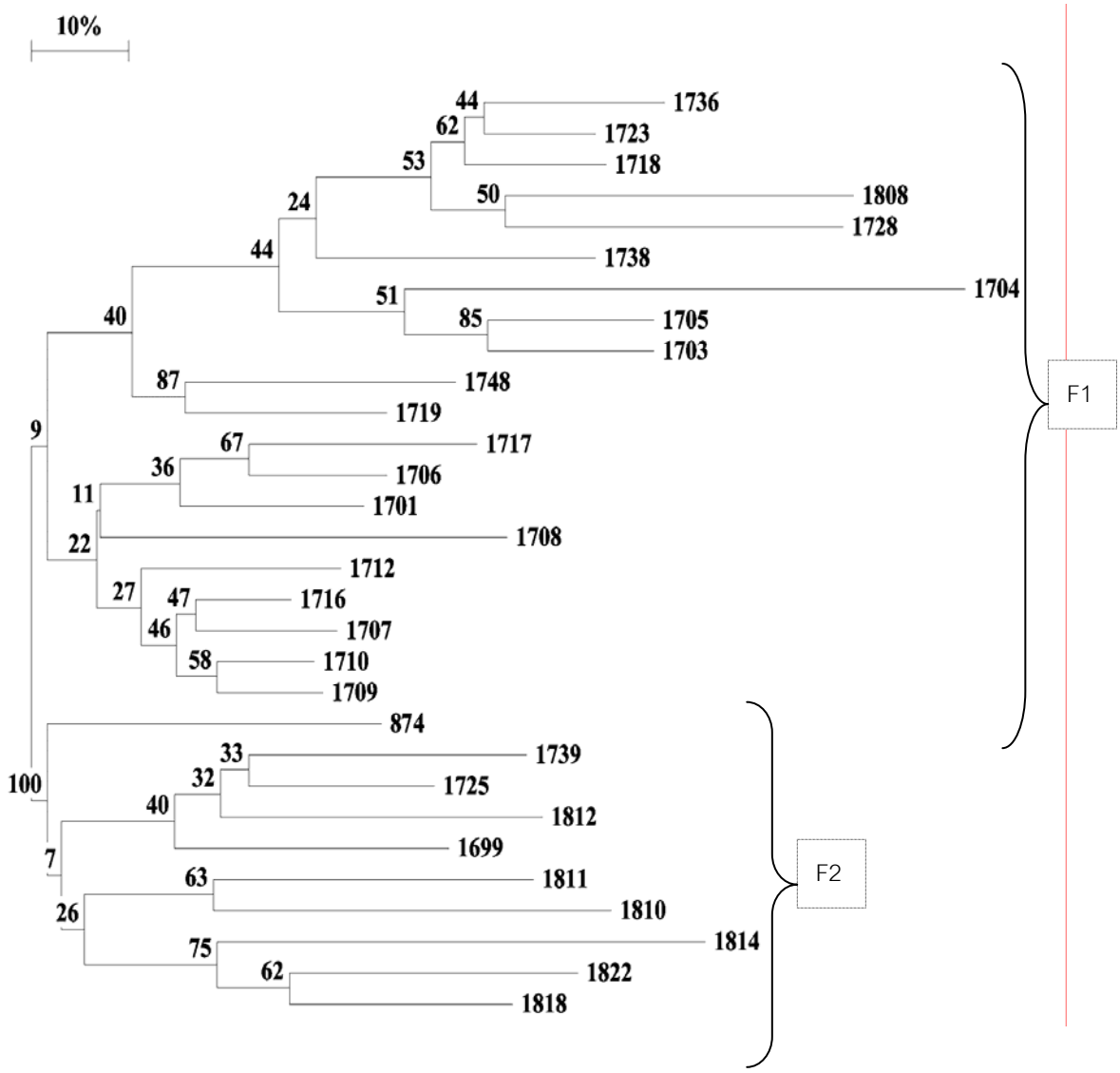
ตารางที่ 1 รา *F. oxysporum* จำนวน 30 ไอโซเลทและแหล่งที่มา

ลำดับที่	รหัส	*Fusarium oxysporum*	พืชอาศัย	โรค/อาการโรค	สถานที่เก็บโรค
24	DOAC 1808	*F. oxysporum*	กล้วยน้ำว้า	ต้นเหี่ยว ตายพราย	ต.ขี้เหล็ก อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่
25	DOAC 1810	*F. oxysporum*	กล้วยไม้	ต้นเหี่ยว ใบไหม้	ต.เนินหอม อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
26	DOAC 1811	*F. oxysporum*	วนิลา	เถาเหี่ยว	ต.เนินหอม อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
27	DOAC 1812	*F. oxysporum*	ปอเทือง	ต้นเหี่ยว	ต.สบป่อง อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน
28	DOAC 1814	*F. oxysporum*	พริก	ต้นเหี่ยว	ต.สบป่อง อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน
29	DOAC 1818	*F. oxysporum*	พริก	ต้นเหี่ยว	ต.บ่อหลวง อ.ฮอด จ.เชียงใหม่
30	DOAC 1822	*F. oxysporum*	มะเขือเปราะ	ต้นเหี่ยว	ต.สบป่อง อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน

3. การวิเคราะห์ผล

ทำการจำแนกขนาดแถบดีเอ็นที่พบใน *F. oxysporum* จำนวน 30 ไอโซเลท โดยเปรียบเทียบกับขนาดของดีเอ็นเอมาตรฐาน จากนั้นจัดกลุ่มของแถบดีเอ็นเอที่พบในแต่ละช่วงตามขนาดของดีเอ็นเอมาตรฐาน จากการรวบรวมข้อมูลไปคำนวณค่าระยะทางเฉลี่ยของความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างรา *F. oxysporum* 30 ไอโซเลท ผลการคำนวณและวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า คู่ไพรเมอร์ MB11F และ MB11R แสดงให้เห็นความแตกต่าง (polymorphic) มากที่สุด โดยที่ระดับความเหมือนมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในเบื้องต้นนี้สามารถจัดกลุ่ม รา *F. oxysporum* เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มรา *F. oxysporum* ที่แยกได้จากกล้วยที่แสดงอาการของโรคต้นเหี่ยวหรือตายพราย (F1)

และกลุ่มรา *F. oxysporum* ที่แยกได้จากมะเขือเทศ วนิลา กล้วยไม้ พริก มะเขือเปราะ ที่แสดงอาการต้นเหี่ยว (ภาพที่ 1)



ภาพที่1 สายวิวัฒนาการแสดงความสัมพันธ์ของ *Fusarium oxysporum* กลุ่มที่แยกได้จากกล้วยที่แสดงอาการของโรคต้นเหี่ยวหรือตายพราย (F1) และกลุ่มที่แยกได้จากมะเขือเทศ วนิลา กล้วยไม้ พริก และมะเขือเปราะที่แสดงอาการต้นเหี่ยว

รา *Fusarium oxysporum* ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (vascular wilt) กับพืชหลายชนิด เป็นราที่มีพืชอาศัยกว้างมาก ทำความเสียหายกับพืชมากที่สุด และมีความสามารถทำให้เกิดโรคเฉพาะกับพืช โดยลักษณะของสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน ดังนั้น นักอนุกรมวิธานราที่ได้ศึกษา และจัดระบบการจำแนก จึงได้ให้ชื่อเป็น form-species เฉพาะพืชอาศัยแต่ละชนิด เช่น โรคเหี่ยวของแตงเกิดจาก *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, โรคเหี่ยวของฝ้ายเกิดจาก *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*

และ โรคต้นเหี่ยวของถั่วเหลืองเกิดจาก *F. oxysporum* f. sp. *glycines* ซึ่งขนาดและรูปร่างของ macroconidia มีความผันแปรบ้างในระหว่าง form-species (Booth, 1971) ในประเทศไทยพบราชนิดนี้กระจัดกระจายอยู่ทั้งในดินและพืช มากกว่าราชนิดอื่นโดยเป็นสาเหตุของโรคในพืชที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ ธัญพืชเมืองหนาว ฝ้าย ถั่วลิสง หัวหอม กะหล่ำปลี แตงโม มะเขือเทศ พริก ถั่วฝักยาว และมันฝรั่ง (ปิยะวดี, 2533)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาความหลากหลายของรา *Fusarium oxysporum* ตามลักษณะ DNA fingerprint พบความแตกต่างกันในแต่ละไอโซเลทแต่ยังไม่สามารถสรุปผลได้ ต้องเพิ่มจำนวนรา *Fusarium oxysporum* ที่แยกจากมะเขือเทศ วนิลา กล้วยไม้ พริก และมะเขือเปราะที่แสดงอาการต้นเหี่ยว ให้ได้ตัวแทนรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคของแต่ละพืชมากกว่า 1 ไอโซเลท เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของแต่ละไอโซเลทต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ปิยะวดี เจริญวัฒนะ. 2533. ชนิดของเชื้อรา *Fusarium* จากพืชและดินในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Ainsworth, G. C. 1973. Introduction and keys to higher taxa, pp.1-7. *In* The fungi Vol.IV B. Eds., G.C. Ainsworth, F.K. Sparrow, and A.S. Sussman. Academic Press, New York.

Booth, C. 1971. The Genus Fusarium. C.M.I., Kew, Surrey, England. 237 p.

Lester, W. B., C. M. Liddell and B. A. Summerell. 1988. Laboratory Manual for Fusarium Research Incorporating a Key and Descriptions of Common Species Found in Australia, 2nd ed. University of Sydney, Australia. 156 p.

Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and W. H. O. Marasas. 1983. Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press, University Park and London. 193 p.

Windels, C. E. 1991. Current status of *Fusarium* taxonomy. Phytopathology 81 : 1948-1951.

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรม รา *Phytophthora parasitica* [1]

DNA Fingerprint and Genetic Variation of *Phytophthora parasitica*

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้ศึกษารา *Phytophthora*. spp. ที่ได้จากการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคใบไหม้ โรครากเน่า โคนเน่า ผลเน่า จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ในปี พ.ศ.2550-2551 และ ที่มีอยู่ใน culture collection จาก 11 จังหวัด คือ กรุงเทพฯ ปทุมธานี ปราจีนบุรี นครปฐม เชียงใหม่ ลำปาง ชลบุรี ระยอง เพชรบุรี ภูเก็ต กระบี่ ได้รา *P.parasitica* 25 ไอโซเลท บนพืช 9 ชนิด คือ ลองกอง มะเขือม่วงผลเล็ก มะเขือยาว สับปะรด กล้วยไม้ หน้าวัว แพงพวย สะระแหน่ และส้ม ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์และศึกษาแบบคู่ผสมของรา *P. parasitica* พบรา *P. parasitica* เป็น mating type A1 จำนวน 7 ไอโซเลท และเป็น mating type A2 จำนวน 3 ไอโซเลท แล้วศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จากเชื้อทุกไอโซเลทด้วยเทคนิค ITS-PCR และ AFLP

คำนำ

Phytophthora spp. เป็นเชื้อราศัตรูพืชที่สำคัญ ทำลายพืชผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจทั่วโลก (ทวี, 2545) ราสกุล *Phytophthora* บาง species สามารถเลี้ยงให้เจริญเติบโตได้บนอาหารสังเคราะห์ เช่น *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าส้ม และ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน แต่บาง species ก็ไม่สามารถเลี้ยงได้ เช่น *P. infestans* ราสาเหตุโรคใบไหม้มะเขือเทศและมันฝรั่ง หรือมีความยากในการเลี้ยงเชื้อ เช่น *P.milabiris* สาเหตุโรคราน้ำฝนลำไย เป็นต้น สำหรับเชื้อราที่เลี้ยงให้เจริญเติบโตบนอาหารสังเคราะห์นั้น แม้จะเป็น species เดียวกัน เป็นสาเหตุโรคพืชเดียวกัน แยกได้จากสถานที่แตกต่างกัน ยังพบความแตกต่างในการเจริญเติบโตบนอาหารสังเคราะห์ เช่น เชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนจากแยกจากทุเรียนจังหวัดจันทบุรี เจริญเติบโตดีและเร็วกว่าเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนบางไอ

รหัสการทดลอง 09-01-49-02-01-01-09-50

โซเลท จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี (อมรรัตน์ และคณะ, 2546) และพบความแตกต่างของความรุนแรงและความอ่อนแอของเชื้อราใน species เดียวกัน

การวินิจฉัยเชื้อราสาเหตุของโรค โดยทั่วไปดูจากลักษณะสัณฐานวิทยา แต่หากเปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอนเอ จะให้ผลการสนับสนุนการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้อีกทางหนึ่ง ตัวอย่างเช่น การรายงานการระบาดของโรคใบไหม้และผลเน่าของลำไย โดยขจรศักดิ์และคณะ (2542, 2543) รายงานว่ามีสาเหตุจาก *Phytophthora capsici* แต่ อมรรัตน์และคณะ (2549) ได้ศึกษารายละเอียดของโรคลำไยดังกล่าว ในปี พ.ศ. 2547 ยืนยันว่า *Phytophthora* sp. สาเหตุของโรคกิ่งไหม้และใบไหม้ของลำไย เป็น *P. mirabilis* ซึ่งมีรายงานว่าเป็นสาเหตุของโรคใบไหม้ของไม้ดอกชนิดหนึ่ง (*Mirabilis jalapa*)

นอกจากนี้ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ได้รวบรวมตัวอย่างเชื้อรา *Phytophthora* สาเหตุโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจเป็นจำนวนมาก ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา แบบคู่ผสม เป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิชาการของเชื้อไว้แล้ว จึงควรทำการศึกษาลายพิมพ์ DNA ของเชื้อราดังกล่าว ซึ่งเป็นข้อมูลทางพันธุกรรม เพื่อให้ได้ข้อมูลของเชื้อรา *Phytophthora* สาเหตุโรคพืช ที่ครบถ้วนสมบูรณ์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคพืช จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศและการแยกเชื้อสาเหตุ

สำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ จากแหล่งปลูกทั่วประเทศ แล้วนำตัวอย่างโรคพืชเหล่านั้นมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ในวันเดียวกัน โดยวิธี tissue transplanting ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มม. ตัวอย่างละ 15-20 ชิ้น เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2^{0}ซ.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่าง เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP อีกครั้ง เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นเชื้อ เลี้ยงบนอาหาร CA (Carrot agar) แล้วแยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละตัวอย่างในหลอดทดลองที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของ รา *Phytophthora* spp. ที่ได้จากการสำรวจใหม่และที่เก็บไว้ใน culture collection

2.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

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

2.2 ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา

นำรา *Phytophthora* ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ CA จำนวน 15 มล. ตัดชิ้นเชื้อที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง CA แช่ในน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ 24-36 ชั่วโมง นำไปไว้ใต้แสงนีออน (white cool) 40 วัตต์ 2 หลอดระยะ 30 ซม.ที่ให้แสง 200 ftc ที่อุณหภูมิห้อง ปล่อยไว้ใต้แสงนาน 48 ชม. เพื่อให้เชื้อสร้าง sporangia ศึกษาและบันทึกลักษณะการแตกแขนงของก้าน สปอร์ (sporangiophores) วัดความกว้าง (length) และความยาว (breadth) ของ sporangia เพื่อหา L : B ratio วัดความยาวของก้าน สปอร์ (pedicel หรือ stalk) ความยาวของ papilla และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ chlamydospore ศึกษาสปอร์ทั้ง 2 ชนิด จำนวนตัวอย่างละ 50 สปอร์

2.3 ศึกษา mating type (แบบคู่ผสม) ของรา

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

3. ศึกษาลายพิมพ์ DNA จากเชื้อที่เก็บรวบรวมไว้แล้ว และเก็บรวบรวมใหม่

ศึกษาเทคนิคสกัดดีเอนเอ เตรียมตัวอย่าง รา *P.parasitica* โดยทำ spore ball เลี้ยงใน PDB เพื่อสกัด ดีเอนเอของเชื้อแต่ละไอโซเลท จัดทำลายพิมพ์ดีเอนเอของเชื้อ

3.1 ด้วยเทคนิค ITS-PCR

3.2 ด้วยเทคนิค AFLP

แล้วรวบรวมข้อมูล วิเคราะห์ความสัมพันธ์ความสัมพันธ์ลักษณะทางพันธุกรรม จัดกลุ่มเชื้อ ทำฐานข้อมูลของเชื้อ เพื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ใหม่ ๆ ที่เก็บรวบรวม ในปีต่อไป

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคพืช จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศและการแยกเชื้อสาเหตุ

ผลการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคใบไหม้ โรครากเน่า ต้นเน่าของพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจแล้วแยกเชื้อสาเหตุ จากแหล่งปลูกทั่วประเทศ และรา *Phytophthora*. spp. มีอยู่ใน culture collection ได้ รา *P. parasitica* จำนวน 25 ไอโซเลท จาก 11 จังหวัด คือ กรุงเทพฯ ปทุมธานี ปราจีนบุรี นครปฐม เชียงใหม่ ลำปาง ชลบุรี ระยอง เพชรบุรี ภูเก็ต กระบี่ บนพืช 9 ชนิด (ตารางที่ 1) ดังนี้

1. สาเหตุโรครากเน่าลองกอง จากกระบี่ 1 ไอโซเลท
2. สาเหตุโรคผลเน่ามะเขือม่วงผลเล็ก จากกรุงเทพฯ 1 ไอโซเลท
3. สาเหตุโรคผลเน่ามะเขือยาว จากเชียงใหม่ 2 ไอโซเลท
4. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่ามะเขือม่วงผลเล็กจากเชียงใหม่ 1 ไอโซเลท
5. สาเหตุโรคโคนใบเน่าสับปะรดจากเพชรบุรี 1 ไอโซเลท ระยอง 2 ไอโซเลท
6. สาเหตุโรคโคนใบเน่ากล้วยไม้จากระยอง นครปฐม เพชรบุรี ปทุมธานี ปราจีนบุรี และเชียงใหม่ จังหวัดละ 1 ไอโซเลท
7. สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว จากกรุงเทพฯ นครปฐม ภูเก็ต ชลบุรี และปราจีนบุรี จังหวัดละ 1 ไอโซเลท ลำปาง 2 ไอโซเลท
8. สาเหตุโรคโคนเน่าแพงพวยจากกรุงเทพฯ 1 ไอโซเลท
9. สาเหตุโรคก้านไหม้ ใบไหม้สะระแหน่ จากกรุงเทพฯ 1 ไอโซเลท เพชรบุรี 1 ไอโซเลท
10. สาเหตุโรครากเน่าส้ม 1 ไอโซเลท

ผลการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคใบไหม้ โรครากเน่า โคนเน่า ผลเน่า ที่มีสาเหตุจาก รา *P. parasitica* จากแหล่งปลูกพืช ในปี พ.ศ.2550-2551 พบ โรคต้นเน่าของกล้วยไม้ Mokara (51 Or Pb R 1 S) และ Vanda (51 Or PB 1 L) ซึ่งตรงกับ Suzui *et al* ได้รายงานการเกิดโรคเน่าดำ (Black rot) ของกล้วยไม้ ในปี ค.ศ.1976 ว่าเกิดจากรา *P. nicotianae parasitica* (Suzui *et al*, 1976) พบโรคใบไหม้หน้าวัว (51 An PB 1 L) ซึ่งตรงกับการรายงานของนิยมรัฐ (2544) รายงานการเกิดโรคเน่าดำ หรือโรคใบแห้งหน้าวัว เกิดจาก *P. parasitica* (นิยมรัฐ, 2544) และโรคโคนเน่าแพงพวย (51 CW BK 1 S) นอกจากนี้ได้ศึกษา รา *P.parasitica* ที่มีอยู่ใน culture collection ได้

รา *P.parasitica* 25 ไอโซเลท บนพืช 9 ชนิด คือ ลองกอง มะเขือม่วงผลเล็ก มะเขือยาว สับปะรด กล้วยไม้ หน้าวัว แพงพวย สะระแหน่ และส้ม ซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ยังไม่พบการเข้าทำลายของราในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ตรงกับการรายงานของ Brasier และ Hansen (1992) ที่รายงานว่ารา *Phytophthora* ส่วนมากทำให้เกิดโรคก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรงกับพืชใบเลี้ยงคู่ (Brasier and Hansen, 1992) การแยกรา *Phytophthora* จากส่วนต่างๆ ของพืชที่เป็นโรค โดยวิธี tissue transplanting นั้น ความยุ่งยากคือต้องแยกเชื้อบริสุทธิ์ในวันเดียวกัน มิฉะนั้นจะเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย (อมรรัตน์และคณะ, 2544) และต้องนำมาแยก รา *Phytophthora* บนอาหารสังเคราะห์พิเศษ PDA + BRNAP 2 ครั้ง ครั้งแรกเพื่อแยกเชื้อสาเหตุโรคจากชิ้นส่วนพืช ครั้งที่สองเพื่อทำให้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วจึงเลี้ยงบนอาหารแข็ง CA (Carrot agar) จากนั้นจึงเก็บแยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธีการต่างๆ ใน culture collection อีกครั้งหนึ่ง การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากโรคโคนเน่า ใบเน่าของกล้วยไม้และหน้าวัว ไม่สามารถแยกได้โดยง่าย เนื่องจากเกษตรกรมีการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคอย่างมาก

ในการจัดทำดรรชนีรายชื่อโรคพืชในประเทศไทยของพัฒนาและคณะ (2537) มีการพบและรายงานโรคพืชในประเทศไทยที่เกิดจาก เชื้อรา *P. parasitica* กว่า 30 ชนิด ได้แก่ พืชไร่ เช่น โรคสมอดำ (Phytophthora boll rot) ของฝ้าย, โรคเน่าคอดิน (Damping-off) ของปอคิวบา, โรคข้อต่อเน่า (Collar rot) ต้นเน่า (Stem rot) และเน่าคอดิน (Damping-off) ของปอแก้ว, โรคแข้งดำ (Black shank) ของยาสูบ, โรคใบไหม้และลำต้นเน่า (Phytophthora blight) ของงา, โรครากเน่า (Root rot) ของหม่อนและโรครากเน่า (Root rot) ของละหุ่ง พืชสวน เช่น โรคยอดเน่า (Heart rot) รากเน่า (root rot) ของสับปะรด, โรครากเน่า (root rot) ใบไหม้ (Leaf blight) ของส้มจุก ส้มจีน, โรครากเน่าของส้มโชกุน ส้มโอขาวน้ำผึ้ง ส้ม Rough lemon, โรคใบร่วง Leaf fall (Leaf blight) ของยางพารา, โรครากเน่า (ระยะกล้า) Root rot (Seedling) ของมะม่วงหิมพานต์, โรคโคนเน่า (Foot rot) ของมะนาว มะนาวไทย, โรคใบไหม้ ผลเน่า ดอกเน่า (Brown rot, Leaf blight) ของมะนาวตาฮิติ, โรครากเน่าโคนเน่าของส้มเกลี้ยง ส้มตรา ส้มเขียวหวาน, โรคลำต้นเน่า (Stem rot) ของสตรอเบอรี่, โรครากเน่าโคนเน่า (Stem rot, Collar rot) ของแพสชั่นฟรุต, โรคผลเน่าและใบไหม้ (Fruit rot, Leaf blight) ของพุทรา, พืชสวนสมุนไพร โรคโคนและรากเน่า (Foot and root rot) ของพริกไทยและพลู พืชผัก เช่นโรคใบไหม้ (Leaf blight) ของสะระแหน่, โรคโคนต้นเน่า (Foot rot) ของกระเจี๊ยบแดง, โรคราน้ำค้าง (Downy mildew) ของผักกาดหัว, โรคผลเน่า (Fruit rot) ของมะเขือยาว, โรคโคนเน่าและรากเน่าของกล้า (Seedling root rot) ของมะกรูด ไม้ดอกและไม้ประดับ เช่น โรคลำต้นเน่า (stem rot) ของว่านหางจระเข้, โรคเน่าดำ (Black rot) ของกล้วยไม้ เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันไม่มีการปลูกพืชไร่หลายชนิด หรือมีการปลูกน้อย ไม่พบการเข้าทำลายของ เชื้อรา *P. parasitica* บนพืชเหล่านั้น เช่น ฝ้าย ปอคิวบา และปอแก้ว ส่วนพืชหลายชนิด เช่น สับปะรด พืช

ตระกูลส้ม พริกไทย สะระแหน่ และมะเขือยาว เชื้อรา *P. parasitica* ยังคงแพร่ระบาดทำความเสียหายตลอดมาจนถึงปัจจุบัน ซึ่งนิยมและคณะ (2546) ได้สำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับและพืชอื่นๆ ในท้องที่จังหวัดกาญจนบุรี สระบุรี ระยอง จันทบุรี และราชบุรี รวม 17 ตัวอย่าง แล้วศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำแนกได้เป็น *P. parasitica* จากหน้าวัว ละหุ่ง และวานิลลา

อมรรัตน์ (2546) รายงานพบการเป็นโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโชกุน อายุ 13 ปี ที่สวนส้ม ตำบลหน้าเขา อำเภอเขาพนม จังหวัดกระบี่ แสดงอาการใบเหลือง เหี่ยวแห้งและร่วง มีลักษณะโคนเน่าแห้ง เมื่อเปิดเปลือกบริเวณโคนต้นและราก พบว่าเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลตัดกับส่วนปกติที่มีสีขาว บางต้นมีเส้นใยสีขาวของเชื้อราบางชนิดขึ้นคลุม บางต้นพบเห็ดขึ้นแล้วยืนต้นตาย และยังได้รายงานการพบการเกิดโรคโคนเน่ารากเน่าของลองกองต้นใหญ่ในสวนเกษตรกร ที่ตำบลเขาใหญ่ อำเภออ่าวลึก จังหวัดกระบี่ แสดงอาการใบเหลือง เหี่ยวแห้งและร่วง กำลังยืนต้นตาย เมื่อเปิดเปลือกบริเวณโคนต้นและราก พบว่าเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลตัดกับส่วนปกติที่มีสีขาวเช่นเดียวกัน รากแขนงและรากฝอยที่เป็นโรคมีสีน้ำตาล รายงานว่าเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าสองกองและส้มโชกุน คือ รา *P.parasitica* และอมรรัตน์ (2548) รายงานการเกิดโรคผลเน่าในมะเขือม่วง พบว่ามีอาการฉ่ำน้ำ หรือเน่าเล็กน้อยบริเวณขั้วผล อาการเน่านี้ขยายออกไปอย่างรวดเร็ว จนทำให้เน่าเกือบทั้งผล มีสาเหตุจากรา *P.parasitica*

ตารางที่ 1 ไอโซเลทของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรคพืช จากพื้นที่เพาะปลูกของประเทศไทย (ปี พ.ศ. 2545-2551)

ที่	พืช	จังหวัด	ไอโซเลท	ส่วนของพืช	พันธุ์พืช	แหล่งปลูก	Matting tape
1	ลองกอง ลูกู LK=Long Kong	กระบี่ (1)	45[1] LK[2] Kr B[3] 1[4] R[5]	ราก	ตันหยงมัส	รากเน่าลองกอง บ้านนายยวนไทย ต.เขาใหญ่ อ.อ่าวลึก	A1
2	มะเขือ Eg = Egg-plant	กรุงเทพฯ (1)	48-Eg-BK-1-F	ผล	มะเขือม่วงผลเล็ก	ผลเน่า เก็บจากด่านพืชส่งออกดอนเมือง	A1
3		เชียงใหม่ (3)	49-Eg-CM 1 F	ผล	มะเขือยาว	นางอำนวย ใจคำ 43 หมู่ 3 ต.ทุ่งข้าวพวง อ.เชียงดาว	-
4			49-Eg-CM 2 S	รากเน่าโคนเน่า	มะเขือม่วงผลเล็ก	บริษัท ยูเนี่ยนเพลส ต.ทุ่งข้าวพวง อ.เชียงดาว	-
5			49-Eg-CM 3 F	ผล	มะเขือยาว	บ้านปางดะ อ.สะเมิง	-
6	สับปะรด Pi = Pineapple	เพชรบุรี (1)	49 Pi Pb R 1 L	โคนใบ เน่า	ปัตตาเวีย	บ้านห้วยทรายใต้ อ.ชะอำ	A2
7		ระยอง (2)	48-Pi-RY 1 L	โคนใบ เน่า	ปัตตาเวีย	แปลงผู้ใหญ่บ้าน ต.มาบยางพร อ.ปลวกแดง	-
8			48-Pi-RY 2 S	แกนก้านโคนต้นเน่า	ปัตตาเวีย	แปลงผู้ใหญ่บ้าน ต.มาบยางพร อ.ปลวกแดง	-
9	กล้วยไม้ Or = Orchid	ระยอง (1)	48-Or-Ra Y 1 L	ใบ		โคนใบเน่า กล้วยไม้	-
10		นครปฐม (1)	49-Or NP 1 L	ใบ	Mokara	นายสุวิทย์ ลิ้มโปเจริญสุข 77/6 ม.1 ต.บางแก้วฟ้า อ.นครชัยศรี	A1
11		เพชรบุรี (1)	51 Or Pb R 1 S	ต้นเน่า	Mokara	รังกล้วยไม้วิทยาลัยเกษตรกรรมเพชรบุรี อ.เมือง	A1

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ที่	พืช	จังหวัด	ไอโซเลท	ส่วนของพืช	พันธุ์พืช	แหล่งปลูก	Matting tape
12	กล้วยไม้ Or = Orchid	ปทุมธานี (1)	47-Or-PT 2 L	ใบ		ใบจุด กล้วยไม้	A2
13		ปราจีนบุรี (1)	51 Or PB 1 L	ต้นเน่า	Vanda	รังกล้วยไม้บริษัท PSP อ.เมือง (นิยมรัฐ)	A2
14		เชียงใหม่ (1)	49-OR CM 3 L	ใบ โคนใบ	รองเท้านารีเมืองกาญจน์	ต้นโต ใบ โคนใบเน่า ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่	-
15	หน้าวัว An = Anthurium	กรุงเทพฯ (1)	46-An-Ba K 1 L	ใบ		อ.มีนบุรี	-
16		นครปฐม (1)	46-An- NaP 1 L	ใบ		อ.พุทธมณฑล	-
17		ภูเก็ต (1)	48-An- PhK 2 L	ใบ		ก้านหน้าวัว ภูเก็ต 2	-
18		ชลบุรี (1)	48-An-Ch B 1 L	ใบ		อ.เมือง	-
19		ลำปาง (2)	49 An Lpa 1 L	ใบ		อาการที่ 3 ต้นทดสอบพันธุ์พี่นิยมรัฐ สถานีทดลองพืชสวนห้างฉัตร อ.ห้างฉัตร	A1
20			49 An Lpa 2 L			อาการที่ 5 ต้นทดสอบพันธุ์พี่นิยมรัฐ สถานีทดลองพืชสวนห้างฉัตร อ.ห้างฉัตร	-
21		ปราจีนบุรี (1)	51 An PB 1 L			บริษัท PSP อ.เมือง ปราจีนบุรี (นิยมรัฐ)	-
22	แพงพวย CW = Creeping Water Primrose	กรุงเทพฯ (1)	51 CW BK 1 S	โคนเน่า	สีม่วง	แปลงทดลองเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน	A1

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ที่	พืช	จังหวัด	ไอโซเลท	ส่วนของพืช	พันธุ์พืช	แหล่งปลูก	Matting tape
23	สะระแหน่ Km = Kitchen Mint	กรุงเทพฯ (1)	48-Km-BaK 1 S	ก้านไหม้ ใบไหม้ เน่าดำ		แหนมเนือง ดอนเมือง	-
24		เพชรบุรี (1)	49 Km Pb R 1 S	ก้านไหม้ ใบไหม้ เน่าดำ		แปลงผัก ร้านอาหารแซบอีหลี (ส้มตำ ไก่ย่าง) อ.ชะอำ เพชรบุรี	-
25	ส้ม Ct = citrus		49 Ct ดร.สัญชัย 1 R	รากเน่า	เขียวหวาน	รากส้ม ดร.สัญชัย	A1

หมายเหตุ

1 ตัวเลขสองตัวแรก = ปี พ.ศ.ที่เก็บและแยกเชื้อสาเหตุโรค
เช่น 47 = เก็บและแยกเชื้อสาเหตุโรคในปี พ.ศ. 2547

2 อักษร 2 ตัวแรก = ชนิดของพืชที่เป็นโรคจาก รา *Phytophthora parasitica* จากพื้นที่เพาะปลูกของประเทศไทย

ตัวย่อ	พืช	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์
LK	ลองกอง ลูกู	Long Kong	*Lansium domesticum* Corr.
Eg	มะเขือ	Egg-plant	*Solanum melongena* Linn
Pi	สับปะรด	Pineapple	*Ananus comosus* Merr.
Or	กล้วยไม้	Orchid	*Orchid* spp.
An	หน้าวัว	Anthurium	Anthurium andraeanum
CW	แพงพวย	Creeping Water Primrose	*Jussiaea repens* Linn.
Km	สะระแหน่	Kitchen Mint	*Mentha cordifolia Opiz.*
Ct	ส้ม	Citus, Tangerine (ส้มเขียวหวาน)	*Citus reticulata*

3	อักษร 2 / 3 ตัวที่สอง	=	อักษรย่อชื่อจังหวัดภาษาอังกฤษที่เก็บไอโซเลทเชื้อ
	BK	=	กรุงเทพฯ (Bangkok)
	PT	=	ปทุมธานี (Pathum Thani)
	PB	=	ปราจีนบุรี (Prajinburi)
	NP	=	นครปฐม (Nakhon Pathom)
	CM	=	เชียงใหม่ (Chiang Mai)
	LPa	=	ลำปาง (Lampang)
	ChB	=	ชลบุรี (Chon Buri)
	RY	=	ระยอง (Rayong)
	Pb R	=	เพชรบุรี (Phetburi)
	PhH	=	ภูเก็ต (Phuket)
	Kr B	=	กระบี่ (Krabi)
4	ตัวเลข	=	ลำดับไอโซเลทของเชื้อที่เก็บได้ในจังหวัดนั้น
5	อักษรตัวหลัง	=	ส่วนของพืชที่แยกเชื้อสาเหตุได้
	S (Stem)	=	ลำต้น
	F (Friut)	=	ผล
	L (Leaf)	=	ใบ
	R (Root)	=	ราก

เช่น 48^{1}- Km^{2}- BaK^{3} 1^{4} S^{5}

คือ เชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรคโคนเน่าสะระแหน่ เก็บจาก กรุงเทพ ฯ ไอโซเลทที่ 1 แยกได้จากลำต้น ปีพ.ศ.2548

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของ รา *Phytophthora* spp. ที่ได้จากการสำรวจใหม่และที่เก็บไว้ใน culture collection

2.1 ศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (ลักษณะโคโลนี) ของเชื้อ

ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ การเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ CA ในตู้บ่มมืดอุณหภูมิ 25^{0}ซ. พบว่าการสร้างเส้นใยบนอาหารแข็ง มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปไม่สม่ำเสมอ เส้นใยไม่ฟูมาก เส้นใยลักษณะใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้นเส้นใย ผิวผนังเส้นใยเรียบ (smoot) ลักษณะโคโลนีเจริญบนอาหาร PDA คล้ายเส้นใยแมงมุม (arachnoid) เชื้อ

เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ บนอาหาร CA เมื่ออายุ 5 วัน แต่บนอาหาร PDA เชื้อเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 7 วัน เชื้อสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA หนาแน่นกว่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

2.2. ศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ของรา *P. parasitica*

ผลการศึกษาลักษณะ รูปร่างและขนาดของ sporangium ของรา *P. parasitica* พบว่าเชื้อสร้าง sporangia น้อย หรือไม่สร้าง sporangia บนผิวอาหารแข็ง CA ต้องตัดชิ้นเชื้อที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง CA แล้วแช่ในน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ 24-36 ชั่วโมง เชื้อจะสร้าง sporangia จำนวนมากในน้ำ มี รูปค่อนข้างกลม รูปแพร์หรือกลม มีปุ่มนูนชัดเจนบนสปอร์ สปอร์ติดแน่นกับเส้นใย สปอร์ผนังหนา มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20-60 ไมครอน

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

ในการศึกษา mating type (แบบคู่ผสม) ของรา *P. parasitica* จากวางเชื้อ unknown และรา *P. palmivora* มาตรฐานที่ทราบ mating type แล้ว คือ mating type A1 (*P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าลำไย) และรา *P. palmivora* มาตรฐาน mating type A2 (*P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าแก้วหน้าม้า) โดยวางชิ้นเชื้อคนละด้านในจานเลี้ยงเชื้อ เพื่อหา mating type ของราทุกไอโซเลท ในครั้งนี้ พบ รา *P. parasitica* จำนวน 7 ไอโซเลท คือ 45 LK Kr B 1 R, 48-Eg-BK-1-F, 49-Or NP 1 L, 51 Or Pb R 1 S, 49 An Lpa 1 L, 49 Ct 1 R. และ 51 แพงพวย BK.เป็น matting type A1 รา *P. parasitica* จำนวน 3 ไอโซเลท คือ 49 Pi Pb R 1 L, 47-Or-PT 2 L และ 51 Or PB 1 L เป็น matting type A2 สปอร์ผนังหนาเกิดจากการผสมทางเพศ (oospore) เป็นราที่จะต้องผสมต่างเพศต่างเส้นใย (heterothallic fungus) เพศเมีย (oogonium) เพศผู้ (antheridium) เพศผู้จะอยู่ใต้เพศเมีย (amphigynous antheridium) ไอโซเลทที่ไม่พบ mating typeจำนวน 15 ไอโซเลท คือ 49-Eg-CM 1 F, 49-Eg-CM 2 S, 49-Eg-CM 3 F, 48-Pi-RY 1 L, 48-Pi-RY 2 S, 48-Or-Ra Y 1 L, 49-OR CM 3 L, 46-An-Ba K 1 L, 46-An- NaP 1 L, 48-An- PhK 2 L, 48-An-Ch B 1 L, 49 An Lpa 2 L, 51 An PB 1 L, 48-Km-BaK 1 S และ 49 Km Pb R 1 S (ตารางที่ 1)

genus *Phytophthora* ส่วนมากมีการปรับตัวในการเป็น parasite สาเหตุของโรคพืชได้อย่างดี ในวงจรชีวิตระยะที่มีการผสมทางเพศเกิด oospores ที่มีผนังหนา และมีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมดีเยี่ยม ประมาณเกือบ 50% ของ species ที่พบทั้งหมดเป็น homothallic พวกนี้เมื่อมันสามารถเข้าทำลายพืชได้แล้วจะมีการสร้าง oospores ในเนื้อเยื่อพืช ส่วนจำนวน species ที่เหลือเป็นพวก heterothallic และ oospores เหล่านี้จะมีชีวิตอยู่ได้นานหลายเดือน บางครั้งอาจนานหลายปีในดิน เป็นส่วนที่ขยายพันธุ์ที่มีอายุยืนยาวกว่าสปอร์ชนิดอื่น ๆ ในสภาพที่อยู่ภายนอกพืชอาศัย มันทำตัวเสมือนเป็นพวกเชื้อโรค obligate (ทวี, 2545) รา *P. parasitica* เป็นพวก

heterothallic ต้องมีการผสมระหว่าง mating types ที่ต่างกัน (A1 และ A2) และสามารถเข้ากันได้ จึงจะมีการสร้าง oospores ในการทดลองครั้งนี้เนื่องจากไม่มีรา *P. parasitica* มาตรฐานที่ทราบ mating type แต่ใน culture collection ของกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช มี รา *P. palmivora* มาตรฐานที่ทราบ mating type แล้ว คือ mating type A1 (*P. palmivora* สาเหตุโรคผลเน่าลำไย) และรา *P. palmivora* มาตรฐาน mating type A2 (*P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าแก้วหน้าม้า) จึงใช้รา *P. palmivora* มาตรฐาน 2 ไอโซเลทดังกล่าวในการศึกษา mating type ของ รา *P. parasitica* ในครั้งนี้

ในการศึกษา mating type ผลที่ได้คือ เซลล์สืบพันธุ์ oogonia, antheridia, oospores ซึ่งบางครั้งอาจใช้ประโยชน์จากลักษณะและรูปร่างของเซลล์สืบพันธุ์ เป็นลักษณะอีกลักษณะหนึ่งที่ใช้จำแนกชนิดของ *Phytophthora* ได้ (Waterhouse, 1963) ตำแหน่งของ antheridia อยู่ตรงส่วนไหนของ oogonia ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า ผิวของ oogonia เรียบ antheridia อยู่ด้านใต้ หรือ ฐานของ oogonia เป็นแบบ amphigynous antheridium ซึ่งเป็นลักษณะประจำของ รา *P. parasitica* (ทวี, 2545) ในการทดสอบครั้งนี้ยังพบ *Phytophthora* ไอโซเลทที่ไม่ผสมกับทั้ง A1 และ A2 อาจเนื่องจากเป็น *Phytophthora* ต่างชนิดกันทำให้ไม่สามารถเข้ากันได้ แต่เนื่องจากการทดสอบครั้งนี้พบ รา *P. parasitica* ทั้ง mating type A1 และ mating type A2 จึงสมควรนำราทั้งสอง mating type มาทดสอบอีกครั้ง เพื่อใช้เป็น mating type มาตรฐานของรา *P. parasitica* ได้

3. **ศึกษาลายพิมพ์ DNA จากเชื้อที่เก็บรวบรวมไว้แล้ว และเก็บรวบรวมใหม่**

3.1 **ด้วยเทคนิค** ITS-PCR

3.2 **ด้วยเทคนิค** AFLP

การทดลองยังไม่เสร็จสิ้นจะรายงานผลในครั้งต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ผลการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคใบไหม้ โรครากเน่า โคนเน่า ผลเน่า จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ในปี พ.ศ.2550-2551 และ ที่มีอยู่ใน culture collection จาก 11 จังหวัด คือ กรุงเทพฯ ปทุมธานี ปราจีนบุรี นครปฐม เชียงใหม่ ลำปาง ชลบุรี ระยอง เพชรบุรี ภูเก็ต กระบี่ ได้รา *P.parasitica* 25 ไอโซเลท บนพืช 9 ชนิด คือ ลองกอง มะเขือม่วงผลเล็ก มะเขือยาว สับปะรด กล้วยไม้ หน้าวัว แพงพวย สะระแหน่ และส้ม ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์เชื้อ

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะโคโลนี ลักษณะรูปร่างและขนาดสปอร์ พบว่าการสร้างเส้นใยบนอาหารแข็ง มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปไม่

สม่ำเสมอ เส้นใยไม่ฟูมาก เส้นใยลักษณะใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้นเส้นใย ผิวผนังเส้นใยเรียบ (smoot) ลักษณะโคโลนีเจริญบนอาหาร PDA คล้ายเส้นใยแมงมุม ลักษณะ รูปร่างและขนาดของ sporangium ของรา *P. parasitica* พบว่าเชื้อสร้าง sporangia น้อย หรือไม่สร้าง sporangia บนผิวอาหารแข็ง CA เชื้อสร้าง sporangia จำนวนมากในน้ำ มี รูปค่อนข้างกลม รูปแพร์หรือกลม มีปุมนูนชัดเจนบนสปอร์ สปอร์ติดแน่นกับเส้นใย สปอร์ผนังหนา มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20-60 ไมครอน

ผลการศึกษา mating type ของรา *P. parasitica* พบว่ารา *P. parasitica* จำนวน 7 ไอโซเลท จากลองกอง มะเขือม่วง กล้วยไม้ หน้าวัว ส้มเขียวหวาน และ แพงพวย เป็น matting type A1 ส่วนรา *P. parasitica* จำนวน 3 ไอโซเลท จาก สับปะรด และกล้วยไม้ เป็น matting type A2

การศึกษาลายพิมพ์ DNA จากเชื้อทุกไอโซเลทด้วยเทคนิค ITS-PCR และเทคนิค AFLP การทดลองยังไม่เสร็จสิ้นจะรายงานในครั้งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ขจรศักดิ์ ภวกุล วิจัย รักวิทยาศาสตร์ มาโนช ทศพล สิริ สุวรรณเขตนิคม. 2542-2543. โรคใบไหม้ของลำไย : ลักษณะอาการ สาเหตุของโรคและการป้องกันกำจัดด้วยสารเคมี. วารสารโรคพืช 14-15 (1-2) : 46-58.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. โรคของหน้าวัว. *ใน* คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 72.

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กทม. 284 หน้า.

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

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

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์. 2548. โรคผลเน่าในมะเขือม่วง. ข่าวอารักขาพืช 1 (6) : 3.

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

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

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ ทวี เก่าศิริ และพัชราภรณ์ ลีลาภิรมย์กุล (2549) โรคราน้ำฝนลำไย. เคหการเกษตร 30 (10) : 90-95.

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

Suzui, T., U. Kueprakone and T. Kamhangridthirong. 1976. *Phytophthora* disease on some economic plants in Thailand. Plant Pathol. Div., of Agr., Thailand. 112 pp.

ศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเชื้อรา *Phytophthora capsici*

Fingerprinting of *Phytophthora capsici*

ศรีสุข พูนผลกุล ศิริพงษ์ คุ้มภัย ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคลำต้นไหม้ของพริกเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora capsici* พบการระบาดในแหล่งปลูกพริกของจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย สกลนคร เพชรบูรณ์และหนองคาย เก็บเชื้อราได้ 16 ไอโซเลท จำแนกสายพันธุ์ (Physiological race) ด้วยพันธุ์พริกทดสอบ 3 พันธุ์ พบว่าเชื้อราจากทุกแหล่งปลูกจำแนกได้เป็นชนิดที่ 3 (ทำให้พริกพันธุ์ Early calwonder และ PB 602 เป็นโรคและพริกพันธุ์ PI 201234 ไม่แสดงอาการของโรค) microsattlelite primer 56 สาย จาก 100 สาย เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อราและสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้

คำนำ

เชื้อรา *Phytophthora capsici* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริก ได้รับการจำแนกสายพันธุ์โดยการใช้พืชอาศัย แต่ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทำให้เกิดโรคและพืชอาศัย(Polach and Webster,1972) เชื้อราสร้าง oospores เมื่อมีการผสมพันธุ์แบบใช้เพศโดยสามารถผสมพันธุ์กับ Strain ทั้งที่เป็น type เดียวกัน หรือต่าง type กันได้ ซึ่งเป็นเหตุที่ทำให้เชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมขึ้นในธรรมชาติ (Chowdappa and Chandramohanan, 1997)เชื้อราสร้าง zoospores เพื่อการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศภายในเวลา 48-96 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 20-23 องศาเซลเซียส โดย zoospores จะแพร่กระจายไปทางน้ำ (Tlapal Bolanos *et al*, 1995) นอกจากนี้เชื้อราสามารถติดไปกับผลพริก ลำต้น ใบ และรากของพืชอาศัย

การศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อรา 84 isolates ด้วยการใช้ isozyme พบว่าแบ่งออกได้ 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นเชื้อราที่แยกได้จากพืชตระกูลมะเขือ พืชตระกูลแตง พริกไทย และโกโก้ กลุ่มที่ 2 เป็นเชื้อราที่แยกได้จากพืชเขตร้อน ได้แก่ พริกไทย มะละกอ มะคาดาเมียและยางพารา และเชื้อราจากรัฐฮาวายในสหรัฐอเมริกา กลุ่มที่ 3 เป็นเชื้อราที่แยกจากโกโก้ของประเทศบราซิล (Oudemans and Coffey, 1991) การศึกษาเชื้อรา *Phytophthora capcisi* ที่แยกได้จากพริกด้วยการใช้เทคนิค RFLP สามารถจัดกลุ่มออกได้ 4 กลุ่ม (Hwang *et al*., 1991)

รหัสโครงการ 09-01-49-02

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อรา *Phytophthora capcisi* ไอโซเลทต่าง ๆ
2. พันธุ์พริกทดสอบ 3 พันธุ์ ได้แก่ PI 201234, Early calwonder และ PB 602
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช และสารเคมีสำหรับงานวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ
4. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง และวัสดุการเกษตร

วิธีการ

รวบรวมต้นพริกที่แสดงอาการลำต้นไหม้จากแหล่งปลูกที่มีการระบาดของโรคและแยกเชื้อรา *Phytophthora capsici* บริสุทธิ์ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ (RNV) ตรวจสอบความสามารถในการทำให้พริกเป็นโรคและ สายพันธุ์ของเชื้อราโดยใช้พันธุ์พริกทดสอบ 9 พันธุ์ ได้แก่ CM 334,PI 201232, CM 331, CNPH 703, PI 201238, PI 201234,, PI 189550, Early calwonder และ PB 602 เพื่อใช้เปรียบเทียบกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สร้างได้ในภายหลัง

เพิ่มปริมาณเส้นใยของเชื้อราด้วยอาหารเหลว V-8 เป็นเวลา 7 วัน จนได้ปริมาณมากพอ กรองเส้นใย ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อหลาย ๆ ครั้ง ผึ่งเส้นใยให้แห้ง นำไปบดให้เป็นผงละเอียด นำผงของเส้นใยไปสกัดดีเอ็นเอด้วยการใช้วิธีสกัดของ Murray ตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยเอทธานอล แอลกอฮอร์ 70% เก็บดีเอ็นเอที่สกัดได้ในสารละลาย TE และนำไปเก็บในตู้ปรับอุณหภูมิ – 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ศึกษาต่อไป

นำดีเอ็นเอที่เก็บรักษาไว้มาวัดความเข้มข้นด้วยเครื่องอ่านความเข้มข้นของดีเอ็นเอ ปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอต้นแบบที่ 25 นาโนกรัม เพื่อใช้ในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (thermal cycler) โดยใช้ primer ชนิด 10 base และโปรแกรมสังเคราะห์ใช้ที่อุณหภูมิของการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ที่ 94 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที 35 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที จำนวน 40 รอบ และ 72 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที เก็บผลผลิตดีเอ็นเอที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

นำผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์ไปตรวจผลด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis ซึ่งมีความเข้มข้นของ agarose ที่1 % ในสารละลาย ethidium bromide ถ่ายภาพด้วยเครื่องถ่ายภาพ นำภาพถ่ายดีเอ็นเอที่ปรากฏไปนับจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ คำนวนข้อมูลแถบดีเอ็นเอด้วยโปรแกรม NYSYS.PC ผลจากการคำนวณได้ข้อมูลของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ต้องการ เปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่สร้างได้กับข้อมูลเบื้องต้นของสายพันธุ์เชื้อรา *Phytophthora capsici* ที่ได้จากการเกิดโรนคบนพันธุ์พริกทดสอบ

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 1 **ตุลาคม** 2550 – 30 **กันยายน** 2552

สถานที่ กลุ่ม วิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และสำนักวิจัยพัฒนk เทคโนโลยีชีวภาพ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างเชื้อรา *Phytophthora capsici* สาเหตุของโรคลำต้นไหม้ จังหวัดเชียงใหม่, เชียงราย, หนองคาย สกลนคร เพชรบูรณ์ ได้ 9, 2, 1, 1 และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับ รวม 16 ไอโซเลท ตรวจสอบความสามารถในการทำให้พริกเป็นโรคพบว่าเชื้อราทุกไอโซเลทที่แยกได้ทำให้พริกพันธุ์จินดาเป็นโรครุนแรงระดับ 4 เลือกเชื้อราตัวแทนของท้องที่แต่ละจังหวัดไปทดสอบบนพันธุ์พริกทดสอบทั้ง 3 พันธุ์ ได้แก่ CM 334,PI 201232, CM 331, CNPH 703, PI 201238, PI 201234,, PI 189550, Early calwonder และ PB 602 พบว่าปฏิกิริยาที่เกิดทำให้จำแนกได้ว่าเชื้อราทุกไอโซเลทเป็นสายพันธุ์ 3 กล่าวคือเชื้อราทำลายพริกสายพันธุ์ Early calwonder และ PB 602 ระดับรุนแรงแต่ไม่ทำลายพริกสายพันธุ์ CM 331 CM 334 และ PI 201234, (ระดับการเกิดโรคเป็น 0) (ตารางที่ 1)

เมื่อใช้ microsattlelite primer (University of British Columbia, Canada, Set 9) จำนวน 100 สายในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอของเชื้อราพบว่า primer 56 สาย เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อรา *Phytophthora capsici* ได้ กราฟแสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Phytophthora capsici* ทั้ง 18 ไอโซเลทแสดงให้เห็นว่า เชื้อรา จากแหล่งปลูก หนองคาย 2 ไอโซเลท และ เชื้อรา จากสกลนคร 2 ไอโซเลท เป็นเชื้อสายพันธุ์เดียวกัน เชียงใหม่ มีความใกล้เคียงกันสูงในแหล่งปลูกสะเมิงและสันทราย อย่างไรก็ตามเชื้อราจากแปลงปลูกจังหวัดเพชรบูรณ์มีความแตกต่างกัน

สรุปผลการทดลอง

โรคลำต้นไหม้ของพริกเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora capsici* พบการระบาดในแหล่งปลูกพริกของจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย สกลนคร เพชรบูรณ์และหนองคาย เก็บเชื้อราได้ 16 ไอโซเลท จำแนกสายพันธุ์ (Physiological race) ด้วยพันธุ์พริกทดสอบ 3 พันธุ์ พบว่าเชื้อราจากทุกแหล่งปลูกจำแนกได้เป็นชนิดที่ 3 (ทำให้พริกพันธุ์ Early calwonder และ PB 602 เป็นโรคและพริกพันธุ์ PI 201234 ไม่แสดงอาการของโรค) microsattlelite primer 56 สาย จาก 100 สาย เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อราและสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้

เอกสารอ้างอิง

ศรีสุข พูนผลกุล 2548. โรคลำต้นไหม้ของพริกที่พบระบาดใหม่ ข่าวอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 ตุลาคม 2548

Bracy R.P., H.A. Hobbs, D.Dufresne, 1996. Phytophthora blight in bell pepper – can it be controlled? Louisiana Agriculture, 39: 18-19.

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

Chowdappa P. and R. Chandramohanan, 1997. Occurrence and distribution of mating types of Phytophthora species causing black pod disease of cocao, Indian Phytopathology, 50: 256-260.

Egea *C.,* M.D.Alcazar and M.E. Candela 1996. Capsidiol: its role in the resistance of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capcisi* . Physiologia Plantarum. 98:737-742.

Hwang, B.K., A.W.A.M.de Cock, G. Bahnweg, H.H.Prell and R. Heitefuss. 1991.Restriction fragment length polymorphisms of mitochondrial DNA among *Phytophthora capcisi* isolates from pepper (*Capsicum annuum*). Syst. Appl. Microbiol. 14:111-116.

Oudemans , P. and M.D.Coffey, 1991. A revised systematics of twelve papillate *Phytophthora* species based on isozyme analysis. Mycol. Res. 95: 1025-1046.

Polach, F.T. and R.K. Webster. 1972. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capcisi* . Phytopathology. 62:20-26.

Tlapal Bolanos, B. , S. Osada Kawasoe, F. Gonzalez Cossio, and C. Mendoza Zamora.1995. Physiological behaviour of 30 isolates of *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopathologia. 13:41-51.

ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาความรุนแรงของเชื้อรา *Phytophthora capsici* ต่อพันธุ์พริกทดสอบเพื่อการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา (Physiological race)

Diff Host	Isolate						
	PPB 1	PCM 14	PCM 17	PSK 16	PSM 1	PCR	PNK 1
PI 201232	0	0.5	0	0	0	0	0
CM 331	0	0	0	0.8	0	0	0
CNPH 703	2	2.8	3.9	3.2	4	3.4	3.2
PI 201238	0	0	0.4	0.8	0.4	0	0.2
PI 201234	0.8	0	0	1	0	0	0
CM 334	0	0	0	0	0	0	0
PI 189550	0.4	1.2	1.2	2	1.6	0.8	1.8
Early calwonder	3	4	2	4	1.7	0.7	3.5
PB 602	1.2	3.4	2.3	4	1.9	0	4

Phytophtora capsici isolates

PCM = Chiangmai isolate PSK = Sakonnakorn isolate

PPB = Petchaboon isolate PNK = Nongkai isolate

PCR = Chiangrai isolate

การประเมินความรุนแรงของโรคระดับต่าง ๆ

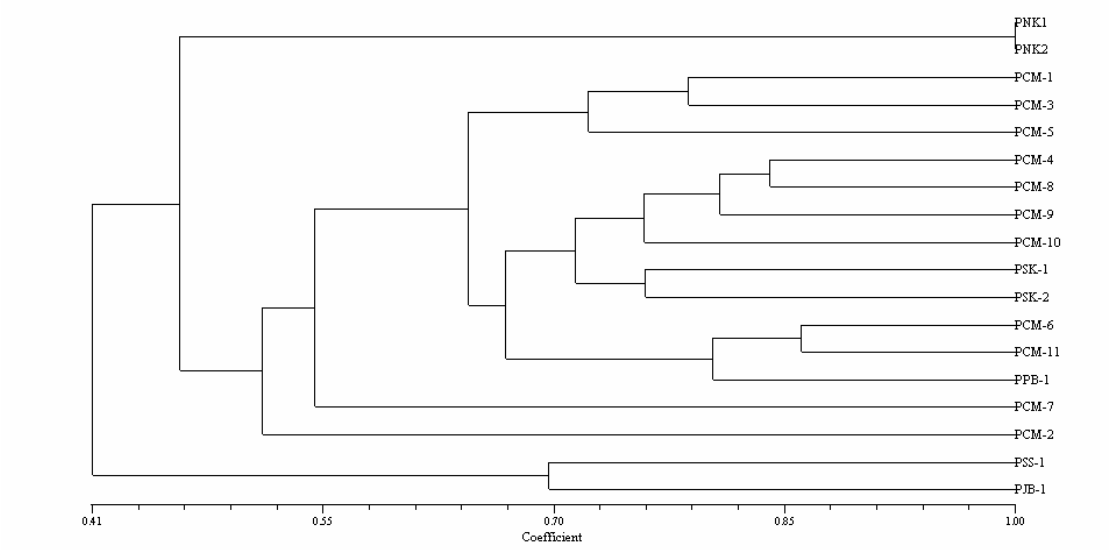
0 = ไม่พบอาการของโรค

1 = อาการลำต้นเน่าดำโคนต้นระดับดินต่ำกว่าใบเลี้ยง

2 = อาการลำต้นเน่าดำโคนต้นระดับดินถึงสูงกว่าใบเลี้ยง

3 = อาการลำต้นเน่าดำโคนต้น ลำต้นส่วนล่าง ส่วนบนและใบจริงพืชเหี่ยวเล็กน้อย

4 = อาการลำต้นเน่าดำทั้งต้น พืชเหี่ยวและยุบตัว



ภาพที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Phytophthora capsici* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริก 18 ไอโซเลท จากแหล่งปลูกพริกในประเทศไทย เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Phytopthora palmivora* สาเหตุโรคโคนเน่าของทุเรียนและส้มเขียวหวาน

Phytophtora capsici isolates

PCM = Chiangmai isolate PSK = Sakonnakorn isolate

PPB = Petchaboon isolate PNK = Nongkai isolate

Phytopthora palmivora isolate

PSS = Samutsakorn (tangarine) PJB = Chantaburi (durian)

การทดสอบความปลอดภัยจากการบริโภค มะละกอดัดแปรพันธุกรรม ของหนูนอร์เวย์(*Rattus norvegicus*)สายพันธุ์ Wistar

Food Safety Test on Transgenic Papaya Consumption of the Norway Rats, *Rattus norvegicus* Wistar Strain

พวงทอง บุญทรง[1)] ปราสาททอง พรหมเกิด[1)] ปิยาณี หนูกาฬ[1)]
วิไล ปราสาทศรี[3)] เมธินี ศรีวัฒนกุล[2)]
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

มะละกอเป็นพืชเศรษฐกิจที่ปลูกกันมากในทุกภาคของประเทศไทย ปัญหาสำคัญของการปลูกมะละกอ คือ โรคจุดวงแหวนมะละกอที่มีสาเหตุจากเชื้อ Papaya Ringspot Virus (PRSV) การป้องกันกำจัดโรคจุดวงแหวนมะละกออย่างยั่งยืน คือ การใช้พันธุ์มะละกอตัดต่อสารพันธุกรรมที่มีความต้านทานโรคไวรัสจุดวงแหวนมะละกอ ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้พัฒนาขึ้น 2 สายพันธุ์คือ แขกนวล R_3 319-1KN-181 และแขกดำ $R_3$300KD-9 การทดสอบนี้เป็นส่วนหนึ่งของการประเมินความปลอดภัยด้านอาหารของมะละกอดัดแปรพันธุกรรม 2 สายพันธุ์ ดังกล่าว เพื่อทราบผลต่อการเจริญเติบโต และระบบสืบพันธุ์ของหนูนอร์เวย์(*Rattus norvegicus*) ใช้หนูนอร์เวย์ปลอดเชื้ออายุ 4 สัปดาห์ ชั่งน้ำหนักหนูก่อนการทดสอบและทุกสัปดาห์ระหว่างการทดสอบ ในมะละกอแต่ละพันธุ์ แบ่งกลุ่มหนูเป็น 5 กลุ่ม(กรรมวิธี) วางแผนการทดลอง แบบCRD กรรมวิธีละ 10ซ้ำ(ตัวผู้5ตัวและตัวเมีย5ตัว)ต่อมะละกอหนึ่งสายพันธุ์ กลุ่มที่1.หนูกินอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนูอย่างเดียว (กลุ่มเปรียบเทียบ) กลุ่มที่ 2.หนูกินอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนูและมะละกอดิบธรรมดา กลุ่มที่ 3. หนูกินอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนูและมะละกอสุกธรรมดา กลุ่มที่ 4.หนูกินอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนูและมะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม กลุ่มที่5หนูกินอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนูและมะละกอสุกดัด

1)สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร Plant Protection Research and Development Office Department ofAgriculture 2) สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ Biotechnology Research andDevelopment Office,Department of Agriculture 3) สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3(งานพืชสวน)จ.ขอนแก่น Office of Agricultural Research and Development Region 3 (Horticulture Section) Khon Khaen,Department of Agriculture

---

รหัสการทดลอง 09-01-49-02-03-02-06-49

แปรพันธุกรรม เมื่อหนูทดลองมีอายุ 12 สัปดาห์ จับหนูผสมพันธุ์ ผลการทดสอบพบว่า **<u>กลุ่มที่บริโภคมะละกอพันธุ์แขกนวล</u> หนูเพศผู้**มีน้ำหนักตัวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง คือหนูในกลุ่มเปรียบเทียบมีน้ำหนักตัวน้อยที่สุด(309.9กรัม) หนูเพศผู้ที่บริโภคมะละกอดิบธรรมดามีน้ำหนักมากที่สุด(377.8กรัม) นอกจากนี้ยังพบว่าหนูที่บริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาทั้งดิบและสุกมีน้ำหนักตัวไม่ต่างจากหนูที่บริโภคมะละกอดิบธรรมดา(344.8-377.8กรัม) ส่วนผลต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูเพศผู้พบว่าในทุกกรรมวิธี เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต(94.0-96.8%) และจำนวนอสุจิในอัณฑะ(25.4-34.9x 10^6ตัว ต่อ กรัม) ไม่แตกต่างกัน ส่วนอสุจิในท่อพักส่วนหาง **(cauda epididymis)** แม้ว่าจะมีความแตกต่างกันแต่หนูเพศผู้ที่บริโภคมะละกอดิบและสุกดัดแปรพันธุกรรมมีจำนวนอสุจิ(694.5และ700.0ตัวตามลำดับ)ไม่ต่างจากหนูที่บริโภคมะละกอดิบธรรมดา(695.3ตัว) **ในกลุ่มหนูเพศเมีย** ที่กินอาหารทุกกรรมวิธีมีน้ำหนักตัวไม่ต่างกัน(213.0-260.4กรัม)ส่วนผลต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูเพศเมียพบว่า อัตราการผสมติด(%fertility)ไม่แตกต่างกัน พบระหว่าง 85.8-96.3% จำนวนลูกต่อครอกไม่แตกต่างกัน คือพบระหว่าง 9.0- 11.0 ตัว ส่วน**<u>กลุ่มที่กินมะละกอพันธุ์แขกดำ</u>** พบว่าการเจริญเติบโตของ**หนูเพศผู้**อายุ12สัปดาห์ที่บริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาทั้งดิบและสุกมีน้ำหนักตัวไม่ต่างกัน คือพบระหว่าง 260.7-272.4กรัม ส่วน**ผลต่อระบบสืบพันธุ์**พบว่า เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต(92.0-97.2%)และจำนวนอสุจิในอัณฑะ(20.9-29.1x10^6ตัวต่อกรัม)ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน ส่วนจำนวนอสุจิในท่อพักส่วนหางของหนูที่บริโภคมะละกอดิบและสุกดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาไม่แตกต่างจากหนูในกลุ่มเปรียบเทียบ(549.5-692.3x10^6ตัวต่อกรัม)

ในหนูเพศเมีย พบว่าการเจริญเติบโตของหนูที่บริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาทั้งดิบและสุกมีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกัน(202.6-214.0กรัม) อัตราการผสมติด(86.1-92.3%)และจำนวนลูกต่อครอก(8.6-11.6ตัว)ในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกัน

ABSTRACT

Papaya ringspot virus (PRSV) has been considered as a serious disease of papaya growing in Thailand since 1975.The transgenic PRSV-resistant papaya was developed through a collaboration of the Department of Agriculture(DOA) and Cornell University since 1995.The excellent lines of Khak Nuan(R3 319-KN-181) and the Khak Dum (R3 300KD-9) have been identified. Rat feeding studies of the transgenic products had been done to investigate the effect of transgenic papaya consumption on growth rates and reproductive system to meet the requirement of the regulatory agencies for Food Safety Assessment. The effect of transgenic papaya 2 varieties, Khak Nuan (R_3 319-1KN-181) and Kak Dum (R3 300KD-9)fed to the laboratory rats , *Rattus norvegicus*

Wistar stain under air condition room temperature at 25^0c, 12 hrs.dark and 12 hrs. light alternately, was carried out by comparing with the response of growth rates and reproductive system of rats fed the non-transgenic papaya of the same varieties and laboratory rat food. The experiment was conducted during January thru July 2008 under the Completely Randomized Design, 5 treatments with 10 replications (5 males and 5 females) for each variety of papaya. Rats were fed by 5 treatments as following: 1. **control group**,rats were fed by laboratory rat food only 2.**green non transgenic papaya** and laboratory rat food 3. **ripe non transgenic papaya** and laboratory rat food 4. **green transgenic papaya** and laboratory rat food 5. **ripe transgenic papaya** and laboratory rat food. Rats were fed for 56 days beginning at 4 weeks of age, followed by 80-day reproduction phase.Growth rates were determined the difference on rat body weights at 12 weeks of age. The difference of males reproductive system were determined on sperm count in testis and cauda epididymis including sperm viability in cauda. In females,the consideration was taken by the number of litter sizes and percentage of fertility. Feed and water were provided *ad libitum*. The results of the study showed **for Khak Nuan variety** : the body weight s of **males** in the treated groups are higher than those in the control group ($P \leq 0.01$);though there is no difference in body weights among rats fed by transgenic papaya and green non transgenic papaya(344.8-377.8gm). Sperm viability in cauda is not different(94.0-96.8**%**). The sperm number in testis (25.4-34.9x 10^6sperm/gm.) is also not different ;however, the sperm number in cauda of transgenic papaya(694.5and700.0sperm respectively) and green non transgenic papaya(695.3 sperm) are highly significant different from the control and ripe non transgenic group. **In females**,the body weights(213.0-260.4gm.), litter sizes(9.0-11.0 rats) and percentage of fertility (85.8-96.3%)are not significantly different..**For Khak Dum variety** :the body weights of **males** in transgenic and non transgenic groups are not significantly different but, both are different from those in control group (260.7-272.4gm.).The sperm number in testis are not significantly different(20.9-29.1x10^6 sperm /gm.). The sperm in cauda is significantly difference between transgenic(549.51x10^6 sperm /gm and 564.11x10^6 sperm /gm) and non transgenic groups(674.4x10^6 sperm /gm and 692.3x10^6 sperm /gm) ;however,both groups are not different from the control (606.0x10^6 sperm /gm.) Sperm viability among treatments are

not different (92.0-97.2%). **In females**, the body weights(202.6-214.0gm.) and percentage of fertily (86.1-92.3%) are not different. The litter sizes are between8.6-11.6rats.

คำนำ

มะละกอ *(Carica papaya* L.) เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปอเมริกา คาดว่ามีการนำมะละกอมาปลูกใน ประเทศไทย หลังปี พ.ศ.2169 ปัจจุบันมีการปลูกและบริโภคทั่วทุกภาคของประเทศ โดยมะละกอดิบใช้ประกอบอาหารหลายชนิดโดยเฉพาะทำ “ส้มตำ” มะละกอสุกเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารคือมีวิตามินเอ วิตามินซี และโปตัสเซี่ยมสูง (Morton,1987) นอกจากนี้ยังมีการแปรรูปมะละกอเป็นรูปผลไม้กระป๋องและผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ส่งไปขายยังต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น อเมริกา ยุโรป และตะวันออกกลาง โดยเฉพาะประเทศจีนมีความต้องการมะละกอสุกและมะละกอแปรรูปจากไทยเพิ่มมากขึ้นทุกปี อย่างไรก็ตาม การส่งออกมะละกอของไทยยังน้อยมาก เพราะผลผลิตกว่า 90% ใช้บริโภคภายในประเทศ (นิรนาม, 2545)

ปัญหาสำคัญของการปลูกมะละกอคือโรคจุดวงแหวนที่มีสาเหตุจากเชื้อ Papaya Ringspot Virus (PRSV) พบระบาดทั่วโลก.Jensen (1949) รายงานการระบาดของโรคนี้ครั้งแรกที่ฮาวายปี พ.ศ.2488 ประเทศไทยมีการระบาดของโรคจุดวงแหวนครั้งแรกในปี 2518 ที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ(ถวิล,2518) ปัจจุบันโรคนี้ระบาดทุกจังหวัดในภูมิภาคนี้ และมีความรุนแรง 100% โรคนี้มีเพลี้ยอ่อนหลายชนิดเป็นพาหะ (วิไล และคณะ,2546) นักวิทยาศาสตร์ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้วิจัยหาวิธีป้องกันกำจัด PRSV จนประสบความสำเร็จในการสร้างมะละกอดัดแปรพันธุกรรมต้านทาน PRSV และได้พัฒนาและคัดเลือกได้มะละกอที่มีความต้านทาน PRSV สูง จำนวน 2 สายพันธุ์ คือพันธุ์ ” Sun Up” และ "Rainbow” ต่อมาได้รับอนุมัติจาก FDA ให้ใช้มะละกอดัดแปรนั้นในการบริโภคได้โดยผ่านการประเมินความปลอดภัยด้านอาหารในด้านความเทียบเท่าทางโภชนาการ ได้แก่ วิตามิน A วิตามิน C และอื่น ๆ มีการศึกษาการแสดงของยีน (gene expression) ต่าง ๆ ที่ใส่เข้าไปในมะละกอดัดแปรพันธุกรรม นอกจากนี้มีการศึกษาปริมาณการผลิตสารพิษตามธรรมชาติ benzyl isothiocyanate (BITC)ซึ่งพบได้ในน้ำยางมะละกอดิบ เนื้อของผล เนื้อเยื่อที่ได้รับบาดแผล เมล็ดและรากมะละกอ ในเนื้อมะละกอขณะผลอ่อนจะมีสาร BITC มากกว่าในเนื้อผลแก่ ส่วนในเมล็ดเมื่ออายุมากขึ้นจะมีสาร BITC สูงขึ้น BITC หรือ benzyl mustard oil มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลือง มีน้ำหนักโมเลกุล 149.22 มีจุดเดือดที่ 243 องศาเซลเซียส ไม่ละลายในน้ำ ละลายได้ดีใน ethyl alcohol เมื่อละลายใน alcoholสามารถดูดแสงที่ช่วงคลื่น247.5นาโนเมตร ได้ดีที่สุด(PollockและStevens,1965;Chan,Jr. และคณะ, 1978;Tang และ Takenaka,1983;Tang,1971)

กรมวิชาการเกษตรได้ประสบความสำเร็จ ในการสร้างมะละกอดัดแปรพันธุกรรม ที่มีศักยภาพต้านทาน PRSV โดยนักวิชาการ 2 คน คือ ดร.นงลักษณ์ ศรินทุ และ ดร.ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล ซึ่งได้เดินทางไปปฏิบัติงานที่มหาวิทยาลัยคอร์แนลในปี 2539 พร้อมกับนำเมล็ดพันธุ์มะละกอสายพันธุ์ไทยและเชื้อ PRSV สายพันธุ์จากจังหวัดขอนแก่นเพื่อสร้างมะละกอดัดแปรพันธุกรรม โดยใช้วิธีการและเทคโนโลยีของ Maureen Fitch และคณะ (1992)และ Gonsalves (1998) จนถึงปี 2540 ก็ประสบความสำเร็จ นำต้นมะละกอดัดแปรพันธุกรรมรุ่น R0 ที่มีศักยภาพต้านทาน PRSV จำนวน 25 ต้น และเนื้อเยื่ออีกจำนวนหนึ่งกลับมาดำเนินงานวิจัยต่อที่สถานีทดลองพืชสวนขอนแก่น(นงลักษณ์และคณะ,2540) เพื่อทำการปลูกและคัดเลือกต้นและสายพันธุ์ที่มีความต้านทานสูงและคุณภาพดีตั้งแต่รุ่นR1,R2 จนถึง R3 ในปี 2546 จึงคัดเลือกได้มะละกอดัดแปรพันธุกรรมที่มีความต้านทานและคุณภาพดีเป็นพันธุ์แขกนวล รุ่น R3 ซึ่งเหมาะสำหรับทำส้มตำ คือ สายพันธุ์ 319-1KN-181 มีความต้านทานโรคไวรัสจุดวงแหวน 97 % และเป็นพันธุ์แขกดำรุ่น R3 ซึ่งเหมาะสำหรับกินสุกและส่งโรงงาน จำนวน 1 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ 300 KD-9 ที่มีความต้านทานโรคไวรัสจุดวงแหวน 100 % (วิไล และคณะ,2545)

เนื่องจากพืชดัดแปรพันธุกรรมของทุกประเทศถูกควบคุมโดยข้อกำหนดของแต่ละประเทศและสากล ที่จะต้องทำการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพและด้านอาหารของสายพันธุ์ที่คัดเลือกทั้งนี้ต้องมีการทดสอบความปลอดภัยทางด้านอาหารภายใต้ข้อกำหนดของคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตรของกรมวิชาการเกษตร และภายใต้คำแนะนำของคณะกรรมการเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพด้านอาหารซึ่งกำหนดตามมาตรฐานสากล (นิรนาม,2547) การทดสอบนี้เป็นส่วนหนึ่งของการประเมินความปลอดภัยด้านอาหารของมะละกอดัดแปรพันธุกรรม 2 สายพันธุ์คือแขกนวล R_3 319-KN-181 และแขกดำ R_3 300KD-9 ของกรมวิชาการเกษตรเพื่อทราบผลต่อการเจริญเติบโตและต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูนอร์เวย์ (*Rattus norvegicus*) ในห้องปฏิบัติการ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ กรงเลี้ยงสัตว์ทดลองสเตนเลสพร้อมขวดน้ำและชั้นวางกรงทดลอง อาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนู มะละกอดิบและสุกธรรมดาพันธุ์แขกนวลและพันธุ์แขกดำ มะละกอดิบและสุกดัดแปรพันธุกรรมพันธุ์แขกนวล R_3 319-KN-181 และพันธุ์แขกดำ R_3 300KD-9 ของกรมวิชาการเกษตร หนูทดลองพันธุ์นอร์เวย์สายพันธุ์Wistar ปลอดเชื้ออายุ 4 สัปดาห์จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล กล้องจุลทรรศน์ แผ่นสไลด์สำหรับนับเม็ดเลือด(ฮีมาไซโตมิเตอร์) แผ่นสไลด์และแผ่นปิดสไลด์ หลอดทดลองแก้วขนาด20มล. น้ำเกลือ0.85% น้ำกลั่น สีอิโอซิน-นิโครซิน ถ้วย

บดเนื้อเยื่อ น้ำยาดมสลบอีเธอร์ ด้ามมีดและใบมีดผ่าตัด ถาดผ่าตัด บีกเกอร์ 50มล.และ200มล. จานรองแก้ว สำลี เป็นต้น

วิธีการ

นำหนูนอร์เวย์ ที่ปลอดเชื้ออายุ 4 สัปดาห์จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส มีแสงสว่าง12 ชั่วโมงและมืด 12 ชั่วโมงสลับกันตลอดการทดลอง โดยชั่งน้ำหนักหนูทุกตัวเมื่อเริ่มการทดลอง **วางแผนการทดลอง แบบ** CRD **มี** 5 **กรรมวิธี** สำหรับมะละกอหนึ่งสายพันธุ์ กรรมวิธีละ10 ซ้ำ คือตัวผู้ 5 ตัว และตัวเมีย 5 ตัว กรรมวิธีที่ 1 หนูกินอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนูตามปกติ เป็นกลุ่มเปรียบเทียบ กรรมวิธีที่ 2 หนูกินมะละกอดิบธรรมดา (Green Non GMOs)และ อาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนู กรรมวิธีที่ 3 หนูกินมะละกอสุกธรรมดา (Ripe Non GMOs) และ อาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนู กรรมวิธีที่ 4 หนูกินมะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม (Green GMOs) และ อาหารเม็ดสำหรับ เลี้ยงหนู กรรมวิธีที่ 5 หนูกินมะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม (Ripe GMOs) และ อาหารเม็ดสำหรับ เลี้ยงหนู แล้วแยกเลี้ยงในกรงทดลองกรงละ 1 ตัว ตามแผนการทดลองของแต่ละกรรมวิธี ให้น้ำและอาหารทุกวัน ด้วยการชั่งน้ำหนักอาหารก่อนให้และอาหารที่หนูกินเหลือของแต่ละวัน สำหรับกรรมวิธีที่ให้กินมะละกอโดยใน 2 สัปดาห์แรกจะให้หนูกินตัวละ 10 กรัม หลังจากนั้นจะเพิ่มเป็นตัวละ 20 กรัมจนหนูอายุ 12 สัปดาห์ วิธีให้อาหารโดยการแยกภาชนะที่ใส่มะละกอกับอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนู แต่ให้พร้อมกันเวลา 15.00 น. จนถึงเวลาเช้า (9.00 น.) วันต่อมา จึงเก็บอาหารที่เหลือออกมาชั่งน้ำหนักทำเช่นนี้ทุกวัน และชั่งน้ำหนักตัวหนูทุกสัปดาห์จนหนูมีอายุ 10 สัปดาห์ จึงจับหนูผสมพันธุ์โดยตรวจ vaginal smear ให้หนูตัวเมียทุกวันเพื่อตรวจสอบระยะเวลาการเป็นสัด เมื่อพบหนูที่เป็นสัด จะนำตัวผู้ในกรรมวิธีเดียวกันมาอยู่ร่วมกันหนึ่งวัน แล้วทำ vaginal smear เพื่อตรวจหาตัวอสุจิ ที่ช่องคลอดตัวเมียในวันรุ่งขึ้น หนูคู่ ใดผสมแล้ว จะแยกตัวผู้ออก ปล่อยให้ตัวเมียตั้งท้องต่อไป

ผลต่อระบบสืบพันธุ์ของหนู

1. **หนูเพศผู้**

1.1. นับจำนวนอสุจิ (sperm count)

นำหนูเพศผู้มาผ่าตัดเอา testis และ cauda epididymis ออกมาชั่งน้ำหนักแล้วตัดแบ่งบางส่วนของ testis หรือ cauda epididymis มาชั่งน้ำหนักแล้วบดด้วย grinder ที่เติมน้ำเกลือ 0.85% ปริมาตร 10 ml แล้วดูดเอาของเหลวที่บดได้มา 10 µl หยดบนฮีมาไซโตมิเตอร์ ตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การคำนวณจำนวนอสุจิ = 50 N x dilution

N = จำนวนอสุจิที่นับได้

1.2 นับจำนวนอสุจิมีชีวิต (sperm viability)

ใช้เข็มแตะน้ำเชื้ออสุจิจาก cauda epididymis มาผสมกับสีอีโอซิน-นิโครซิน ที่หยดบนสไลด์ ทิ้งไว้ 1 นาที จึง smear ด้วยการใช้แผ่นหนึ่งปาดบางๆ ลนไฟจนแห้ง ตรวจนับจำนวนอสุจิมีชีวิตและไม่มีชีวิต จำนวน 100 ตัว โดยอสุจิที่มีชีวิตจะไม่ติดสี ส่วนอสุจิที่ไม่มีชีวิตจะติดสีส้มแดง

$$\text{การคำนวณ \% อสุจิมีชีวิต} = \frac{\text{จำนวนอสุจิที่มีชีวิต} \times 100}{\text{จำนวนอสุจิทั้งหมด}}$$

2. **หนูเพศเมีย**

ศึกษาอัตราการผสมติด (%fertility)

นำหนูเพศเมียที่ตั้งท้องนาน 10-20 วัน มาผ่าดูจำนวนลูกในมดลูกและนับจำนวน คอร์พัสลูเธียม บนรังไข่ ทั้ง 2 ข้าง

$$\text{คำนวณ \% Fertility} = \frac{\text{จำนวนลูกที่นับได้} \times 100}{\text{จำนวน คอร์พัสลูเธียม ที่รังไข่}}$$

การบันทึกข้อมูล

1.น้ำหนักหนูทุกตัวเมื่อเริ่มการทดลอง และทุกสัปดาห์จนหนูมีอายุ 12 สัปดาห์

2.น้ำหนักอาหารเม็ดสำหรับเลี้ยงหนูและมะละกอ ที่หนูกินแต่ละวัน

3.จำนวนลูกหนูต่อครอกและ]จำนวนคอร์พัสลูเธียม ที่รังไข่ของหนู

4.จำนวนอสุจิในอัณฑะ และที่พักส่วนหางของท่อนำเชื้อ

5.จำนวนอสุจิมีชีวิต

เวลาและสถานที่

เวลา เดือน มกราคม 2551ถึง เดือน ตุลาคม 2551

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เกษตรกลางบางเขน จตุจักร กรุงเทพฯ และ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 (งานพืชสวน) จังหวัดขอนแก่น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

<u>มะละกอพันธุ์แขกนวล</u>

1.**การเจริญเติบโตของหนู**

1.1**หนูเพศผู้** น้ำหนักหนูเพศผู้เมื่ออายุ12สัปดาห์ได้แสดงในตารางที่1ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักหนู พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง คือหนูในกลุ่มเปรียบเทียบ มีน้ำหนักตัวน้อยที่สุด (309.9 กรัม) หนูเพศผู้ที่บริโภคมะละกอดิบธรรมดามีน้ำหนักมากที่สุด (377.8 กรัม) นอกจากนี้ยังพบว่าหนูที่บริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาทั้งดิบและสุกมีน้ำหนักตัวไม่ต่างจากหนูที่บริโภคมะละกอดิบธรรมดา(344.8-377.8กรัม)

1.2 **หนูเพศเมีย** น้ำหนักของหนูเพศเมีย เมื่ออายุ12 สัปดาห์ได้แสดง.ในตารางที่4 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักหนู พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติแม้ว่าหนูในกลุ่มเปรียบเทียบมีน้ำหนักน้อยที่สุดคือ213.0กรัมและหนูที่บริโภคมะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรมมีน้ำหนักมากที่สุดคือ260.4 กรัม

2.ผลต่อระบบสืบพันธุ์

2.1 **หนูเพศผู้** พบว่า จำนวนอสุจิในอัณฑะไม่แตกต่างกันในตารางที่2 คือ25.4-34.9ตัว ส่วนอสุจิในท่อพักส่วนหาง(cauda epididymis)แม้ว่าจะมีความแตกต่างกันแต่หนูเพศผู้ที่บริโภคมะละกอดิบและสุกดัดแปรพันธุกรรมมีจำนวนอสุจิ 694.5x10ตัว ต่อกรัมเนื้อเยื่อ และ700.0x10ตัว ต่อกรัมเนื้อเยื่อ ตามลำดับ ไม่ต่างจากหนูที่บริโภคมะละกอดิบธรรมดา (695.3ตัวต่อกรัมเนื้อเยื่อ)

2.2 **หนูเพศเมีย** ผลต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูเพศเมีย(ตารางที่5) พบว่า อัตราการผสมติด (% fertility)ไม่แตกต่างกัน คือระหว่าง85.8-96.3% และจำนวนลูกต่อครอกก็ไม่แตกต่างกัน คือระหว่าง 9.0- 11.0 ตัว ในตารางที่3เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตในทุกกรรมวิธี ไม่แตกต่างกัน (94.0-96.8**%**)

<u>มะละกอพันธุ์แขกดำ</u>

1.การเจริญเติบโตของหนู

1.1 **หนูเพศผู้**น้ำหนักหนูเพศผู้เมื่ออายุ12สัปดาห์ได้แสดงในตารางที่6 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักหนูพบว่าหนูเพศผู้ที่บริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาทั้งดิบและสุกมีน้ำหนักตัว ไม่แตกต่างกันคือพบระหว่าง 260.7-272.4กรัม

1.2 **หนูเพศเมีย**น้ำหนักของหนูเพศเมีย เมื่ออายุ12 สัปดาห์ได้แสดง.ในตารางที่9 พบว่า การเจริญเติบโตของหนูที่บริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาทั้งดิบและสุกมีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกัน (202.6-214.0กรัม)

2.ผลต่อระบบสืบพันธุ์

2.1 **หนูเพศผู้** ผลต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูเพศผู้พบว่าในทุกกรรมวิธีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิตในตารางที่8ไม่แตกต่างกัน(92.0-97.2**%**)และ ในตารางที่7 จำนวนอสุจิในอัณฑะในทุกกรรมวิธี ไม่แตกต่างกัน(20.9-29.1 ตัว) ส่วนอสุจิในท่อพักส่วนหาง (cauda epididymis) ของหนูที่บริโภคมะละกอดิบและสุกดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาไม่แตกต่างกันจากหนูในกลุ่มเปรียบเทียบ (549.5-692.3x 10^6 ตัว ต่อกรัมเนื้อเยื่อ)

2.หนูเพศเมีย ผลต่อระบบสืบพันธุ์ของหนูเพศเมียพบว่า อัตราการผสมติด (86.1-92.3%) และจำนวนลูกต่อครอก (8.6-11.6 ตัว) ในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่10)

Morton (1987) รายงานว่าเนื้อมะละกอสุกหนัก 100 กรัม มีคุณค่าทางโภชนาการดังนี้ Crude protein 0.081-0.34 กรัม Crude fat 0.05-0.96 กรัม ash 0.31-0.66 กรัม Dietary fiber

0.5-1.3 กรัม Carbohydrate 6.17-6.75 กรัม beta-Carotene 4.5-676 ug และ Vitamin C 35.5-71.3 mg ดังนั้นหนูในกลุ่มที่บริโภคมะละกอ จึงมีโอกาสที่จะได้รับสารอาหารเหล่านี้ได้สมบูรณ์มากกว่ากลุ่มเปรียบเทียบ

ในสภาพธรรมชาติหนูส่วนใหญ่ชอบกินเมล็ดธัญญพืช เช่น หนูท้องขาว (*Rattus rattus*) และ หนู Nile (*Arvicantis niloticus*) ชอบข้าวสาลีมากกว่าถั่วลิสง (Katoch,1981 ; Sultiman, 1984) หนูพุกเล็ก (*Bandicota benggalensis*) ชอบข้าวโพดมากกว่าถั่วลิสง (Brugger,1982) แต่หนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*) ชอบทั้งธัญญพืช แมลง ผลไม้ พืชหัวโดยเฉพาะ มันฝรั่งมากที่สุด (Chakraborty and Chakraborty,1990) หนูนอร์เวย์ที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถปรับตัวให้กินอาหารได้หลากหลายชนิดมากกว่าหนูชนิดอื่น เพราะบรรพบุรุษของมันเป็นหนูที่เดินทางไปกับเรือสินค้าต่าง ๆ ทั่วโลก ดังนั้นในการศึกษานี้หนูนอร์เวย์จึงสามารถกินมะละกอทั้งดิบและสุกได้ดีแม้จะไม่คุ้นเคยมาก่อน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1.หนูในกลุ่มที่กินมะละกอพันธุ์แขกนวล

ผลต่อการเจริญเติบโต พบว่า**หนูเพศผู้** มีน้ำหนักตัวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง คือหนูในกลุ่มเปรียบเทียบมีน้ำหนักตัวน้อยที่สุด (309.9 กรัม) หนูเพศผู้ที่บริโภคมะละกอดิบธรรมดามีน้ำหนักมากที่สุด(377.8กรัม) อย่างไรก็ตามหนูที่บริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาทั้งดิบและสุกมีน้ำหนักตัวไม่ต่างจากหนูที่บริโภคมะละกอดิบธรรมดา(344.8-377.กรัม) **ส่วนหนูเพศเมีย**ที่กินอาหารทุกกรรมวิธีมีน้ำหนักตัวไม่ต่างกัน (213.0-260.4กรัม)

ผลต่อระบบสืบพันธุ์ พบว่า**หนูเพศผู้**ในทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต(94.0-96.8%) และจำนวนอสุจิในอัณฑะ (25.4-34.9x 10^6 ตัว ต่อกรัม) ไม่แตกต่างกัน ส่วนอสุจิในท่อพักส่วนหาง **(cauda epididymis)** แม้ว่าจะมีความแตกต่างกันแต่หนูเพศผู้ที่บริโภคมะละกอดิบและสุกดัดแปรพันธุกรรมมีจำนวนอสุจิ (694.5 และ 700.0 ตัว ตามลำดับ) ไม่ต่างจากหนูที่บริโภคมะละกอดิบธรรมดา (695.3ตัว) **ในหนูเพศเมีย** พบว่า อัตราการผสมติด (%fertility)ไม่แตกต่างกัน พบระหว่าง 85.8-96.3% จำนวนลูกต่อครอกไม่แตกต่างกัน คือพบระหว่าง 9.0- 11.0 ตัว

2. หนูในกลุ่มที่กินมะละกอพันธุ์แขกดำ

ผลต่อการเจริญเติบโต พบว่าน้ำหนักตัวของ**หนูเพศผู้**อายุ12สัปดาห์ที่บริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาทั้งดิบและสุกมีน้ำหนักตัวไม่ต่างกัน คือ พบระหว่าง 260.7-272.4 กรัม **ในหนูเพศเมีย** พบว่าน้ำหนักตัวของหนูที่บริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาทั้งดิบและสุกมีไม่แตกต่างกัน (202.6-214.0กรัม)

ผลต่อระบบสืบพันธุ์ พบว่าในหนูเพศผู้มีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีชีวิต (92.0-97.2%) และจำนวนอสุจิในอัณฑะ(20.9-29.1x10^6ตัวต่อกรัม)ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน ส่วนจำนวนอสุจิในท่อพัก

ส่วนหางของหนูที่บริโภคมะละกอดิบและสุกดัดแปรพันธุกรรมและธรรมดาไม่แตกต่างจากหนูในกลุ่มเปรียบเทียบ (549.5-692.3x10^6 ตัวต่อกรัม) อัตราการผสมติด (86.1-92.3%) และจำนวนลูกต่อครอก (8.6-11.6 ตัว) ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน

คำแนะนำ ควรศึกษาต่อไปคือผลการบริโภคมะละกอดัดแปรพันธุกรรมต่อเลือดและเนื้อเยื่อในระบบต่าง ๆเช่นระบบสืบพันธุ์และระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น

คำขอบคุณ

คุณพุฒนา รุ่งระวี และ คุณจันทรา บดีศร นักวิชาการสถิติ กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการเกษตร ศูนย์สารสนเทศการเกษตร ได้ช่วยวิเคราะข้อมูลต่างๆทางสถิติ คุณกรแก้ว เสือสะอาด คุณทัศวรรณ พุ่มกาหลง คุณสมเกียรติ กล้าแข็ง คุณชาติศักดิ์ สังขะวัฒน์ และคุณจิราภรณ์ ทับขุนทด จากกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ช่วยปฏิบัติการทดลองและจัดเก็บข้อมูลการทดลองต่างๆจนสำเร็จลุล่วงด้วยดีทุกประการ

เอกสารอ้างอิง

ถวิล ศรีสมชัย. 2518. การศึกษาโรคใบด่างมะละกอ.หน้า. 228-232.ใน:รายงานประจำปี2518. สำนักงานภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จ.ขอนแก่น.

นิรนาม.2540-45. รายการสถิติการปลูกรวมทุกพืช.กองแผนงาน กรมส่งเสริมการเกษตร

นิรนาม.2547.การวิจัยและพัฒนามะละกอดัดแปรพันธุกรรมในประเทศไทย.ศูยน์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ BIOSAFETY FORUM เรื่อง การวิจัย พัฒนา และทดสอบความปลอดภัยมะละกอดัดแปลงพันธุกรรมในประเทศไทย 23 สิงหาคม 2547 ณ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย จ.ปทุมธานี 4 หน้า

นงลักษณ์ ศรินทุ วิไล ปราสาทศรี ศุจิรัตน์ สงวนรังศิริกุล Paula Tennant และ Dennis Gonsalves.2540.การสร้างพันธุ์มะละกอต้านทานไวรัสโรคจุดวงแหวนโดยวิธีพันวิศวกรรม.การประชุมสัมมนาทางวิชาการ เรื่องมะละกอ.2-4 กรกฎาคม 2540. โรงแรมเจริญธานีปริ๊นเซส จ.ขอนแก่น

วิไล ปราสาทศรี นงลักษณ์ ศรินทุ ศุจิรัตน์ สงวนศิริกุล สุวิทย์ ชัยเกียรติยศ รัชนี ศิริยาน และ Dennis Gonsalves.2545.การทดสอบและการคัดเลือกมะละกอตัดต่อสารพันธุกรรม รุ่น R2 และ R3. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติครั้งที่2 28-30 พฤษภาคม 2545 โรงแรมเจริญธานีปริ๊นเซส จ.ขอนแก่น หน้า 10 (บทคัดย่อ)

วิไล ปราสาทศรี.2546.โรคจุดวงแหวนมะละกอและการป้องกันกำจัด.เอกสารทางวิชาการ สถานีทดลองพืชสวนขอนแก่น ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร 43 หน้า

Brugger,R.L.1982.Preference of *Bandicota bengalensis* for oil. Page 32-35. *In* :Vertebrate Damage Control Research in Agriculture.1982. Annual Report. Denver Wildlife Research Center.U.S.A.

Chakraborty,R.and S. Chakraborty.1990.Food habit and feeding behaviou of the large bandicoot at, *Bandicota indica* (Bechstein).Rodent Newsletter 14:5-6.

Chan, H.t., Jr., R.A. Heu, C.S. Tang,E.N. Okaxaki and S. M. Ishizaki.1978. Composition of papaya seeds. J. Food Sci. 43:255-288.

Fitch,M,.R.Manshardt,d.Gonsaves,J.Slinghtom and J.Sanford.1992.Virus resistant papaya derived from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus.Bio /Technology 10:1466-1472.

Gonsalves.D.1998. Control of papaya ringspot virus in papaya:A case study.Annual Review of Phytopathology 36:415-437.

Jensen.D.D.1949.Papaya virus disease with special reference to papaya ringspot. Phytopathology 39:191-211.

Katoch,K.1981. Study of food preference of *Rattus rattus* . Rodent Newsletter.5(4):27

Morton.J.1987.Papaya.Pages 336-346.*In*:Fruits of warm climates.Miami.Florida.

Pollock,J.R.A. and R. Stevens. 1965. Dictionary of Organic Compound Vol.1: A:Cholp. Eyre & Spottiswoode (Publishers),Ltd., London. 588 p.

Purseglove, J.W. 1974. Tropical Crops Dicotyledons Volumes 1 and 2 Combined. Longman Group Ltd., London. 719 p.

Sultiman,S.M.,S.A.Shumake and W.B.Jackson.1984.Food preference in the Nile rat, *Arvicanter niloticus*. Tropical Pest Management.20(2):151-158.

Tang C.S. 1971. Benzyl isothiocyanate of papaya fruit. Phytochemistry 10:117-120.

Tang C.S and T. Takenaka. 1983. Quantitation of a bioactive metabolite in undisturbed rhizosphere-benzyl isothiocyanate from *Carica papaya* L. J. Chem. Ecol. 9: 1247-1253.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวหนูเพศผู้ (กรัม) เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกนวลนาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก * (กรัม)
อาหารเม็ด	309.9 c
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	377.8 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	362.2 ab
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	355.0 ab
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	344.8 b
CV = 4.7 %	

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.01$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test)

* ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวเพศผู้ (กรัม) ที่ถูกปรับค่าด้วยน้ำหนักก่อนการทดลอง

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยจำนวนอสุจิในอัณฑะ (testis) และท่อพักส่วนหาง (cauda epididymis) (10^6 ตัวต่อกรัมเนื้อเยื่อ) ในหนูเพศผู้หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกนวล นาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	ท่อพักส่วนหาง	อัณฑะ (ตัว)
กลุ่มเปรียบเทียบ	606.0 b	25.4 a
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	695.3 a	26.9 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	532.3 c	31.5 a
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	694.5 a	34.6 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	700.0 a	34.98 a
CV	7.4 %	21.9 %

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.01$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test)

ตารางที่ 3 จำนวนอสุจิที่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์) ในหนูเพศผู้ หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกนวล นาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	อสุจิมีชีวิต (%)
อาหารเม็ด	94.0 a
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	96.4 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	95.4 a
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	96.8 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	95.8 a
CV = 3.4 %	

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.5$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กรัม) ในหนูเพศเมีย อายุ 12 สัปดาห์ หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกนวล นาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก (กรัม)
อาหารเม็ด	213.0 c
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	233.4 b
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	246.8 ab
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	253.0 ab
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	260.4 a
CV = 6.4 %	

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.5$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test)

ตารางที่ 5 เปอร์เซนต์การผสมติด (Fertility) และค่าเฉลี่ยจำนวนลูกต่อครอก (ตัว) ในหนูเพศเมีย หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกนวล นาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	Fertility (%)	ค่าเฉลี่ยจำนวนลูกต่อครอก (ตัว)
อาหารเม็ด	90.3 a	9.2 a
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	86.3 a	9.0 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	85.8 a	10.2 a
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	86.3 a	10.4 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	96.3 a	11.0 a
CV	8.9 %	16.9 %

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.5$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test)

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวหนูเพศผู้ (กรัม) เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกดำนาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก * (กรัม)
อาหารเม็ด	291.8 a
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	264.5 b
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	276.0 ab
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	260.7 b
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	268.7 b
CV = 5.1 %	

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.5$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test)

* ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวเพศผู้ (กรัม) ที่ถูกปรับค่าด้วยน้ำหนักก่อนการทดลอง

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยจำนวนอสุจิในอัณฑะ (testis) และท่อพักส่วนหาง (cauda epididymis) (10^6 ตัวต่อกรัมเนื้อเยื่อ) ในหนูเพศผู้หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกดำ นาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	ท่อพักส่วนหาง	อัณฑะ
อาหารเม็ด	606.0 ab	25.4 ab
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	674.4 a	29.1 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	692.3 a	20.9 b
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	549.5 b	23.2 ab
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	564.1 b	23.9 ab
CV	12.3 %	21.9 %

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.5$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test)

ตารางที่ 8 จำนวนอสุจิที่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์) ในหนูเพศผู้หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกดำ นาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	อสุจิที่มีชีวิต (%)
อาหารเม็ด	94.0 ab
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	97.2 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	93.2 ab
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	95.4 ab
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	92.0 b
CV = 3.5 %	

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.5$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test)

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กรัม) ในหนูเพศเมีย อายุ 12 สัปดาห์ หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกดำ นาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนัก (กรัม)
อาหารเม็ด	213.0 a
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	213.2 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	206.4 a
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	214.0 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	202.6 a
CV = 4.7 %	

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.5$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test)

ตารางที่ 10 เปอร์เซนต์การผสมติด (Fertility) และค่าเฉลี่ยจำนวนลูกต่อครอก (ตัว) ในหนูเพศเมีย หลังการบริโภคมะละกอพันธุ์แขกดำ นาน 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	Fertility (%)	ค่าเฉลี่ยจำนวนลูกต่อครอก (ตัว)
อาหารเม็ด	90.3 a	9.2 b
อาหารเม็ด + มะละกอดิบธรรมดา	87.6 a	10.0 ab
อาหารเม็ด + มะละกอสุกธรรมดา	88.0 a	8.6 b
อาหารเม็ด + มะละกอดิบดัดแปรพันธุกรรม	86.1 a	11.6 a
อาหารเม็ด + มะละกอสุกดัดแปรพันธุกรรม	92.3 a	9.4 b
CV	6.9 %	13.0 %

ตัวอักษรที่แสดงไว้หลังตัวเลขต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติ $P \leq 0.5$ (คำนวณโดยวิธี Duncan' s new multiple range test

การผลิตแอนติซีรัมจากไก่ที่จำเพาะต่อเชื้อ *Streptomyces scabies* สาเหตุโรคแผลสะเก็ดของมันฝรั่ง

Chicken antibody production against *Streptomyces scabies* causal agent of potato common scab production

วงศ์ บุญสืบสกุล[1] ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[1] วิวัฒน์ ภานุอำไพ[2] ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์[3]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช[1]
ศบป.เชียงใหม่ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่[2] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ[3]

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 ผลการตรวจหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดไม่พบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว เตรียมเชื้อปฏิปักษ์ 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จำนวน 5000 มิลลิลิตร คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยอัตรา 10 มิลลิลิตรต่อหัวพันธ์หนึ่งกิโลกรัม แล้วปลูกตามแผนการทดลอง ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในแปลงทดลอง เมื่อมันฝรั่งอายุ 10 วัน ราดเชื้อปฏิปักษ์ 3 ครั้ง ในกรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อปฏิปักษ์หลังต้นมันฝรั่งงอก 7 วัน แต่ละครั้งห่างกัน 10 วัน เก็บข้อมูลการเกิดโรคในทุกกรรมวิธี ครั้งที่1(20วัน) และ 2 (40 วัน) พบว่าแปลงทดลองที่จังหวัดตากการพัฒนาการเป็นโรคไม่ดี กรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นโรค 3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ เป็นโรค 1-3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกิดสภาวะฝนแล้งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืชและการพัฒนาการเกิดโรค ต้นพืชไม่สมบรูณ์ ผลการทดลองที่จังหวัดเชียงใหม่พบว่าการใช้เชื้อแบคที่เรียปฏิปักษ์

รหัสโครงการ 09-01-49-02

DOA-WB4 (*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 พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 2.8 – 5.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญพบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 58 เปอร์เซ็นต์ ขยายผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 ควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกร ระหว่างปี 2549-2550 ในพื้นที่ 3 อำเภอรวม 80 ไร่ ได้แก่ อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ พื้นที่ 5 ไร่ (เกษตรกร 2 ราย), อ. พร้าว จ. เชียงใหม่ พื้นที่ 25 ไร่ (เกษตรกร 6 ราย)และ อำเภอพบพระ จ. ตาก พื้นที่ 50 ไร่ (เกษตรกร 10 ราย) พบว่าการใช้เชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวได้ผลดีเป็นที่พอใจของเกษตรกรโดยลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 65 % ปี2550-2551 ขยายผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 50 ราย พื้นที่ 300 ไร่ ใน 6 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูน และพระเยา พบว่าเกษตรกรพอใจผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 80 %

คำหลัก : เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์, ตัวควบคุมชีวภาพ, เชื้อแบซิลัส, โรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ดิน

คำนำ

Brumfield *et al.*1961 พบว่าแอนตีซีรัมจาก ไก่งวง เป็ดและไก่ สามารถจับเฉพาะกับแอนติเจนที่เป็นตัวกระตุ้นในขบวนผลิตแอนตีซีรัม (primary antigen) เช่นดียวกับ Stolfi *et al.*1971 ที่พบว่าแอนตีซีรัมจากสัตว์ปีกมีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัส Losch *et al.*1986 รายงานว่าใข่ไก่เป็นแหล่งที่อุดมสมบูรณ์ที่สามารถผลิตแอนติบอดี้ Montes Peres *et al.*1994 ได้เปรียบเทียบประสิทธิภาพแอนติซีรัมที่ผลิตจากไก่และกระต่ายต่อฮอร์โมนโปรเกสเตโรนไม่พบความแตกต่างทั้งความไว (sensitivity) และความจำเพาะ(specificity) ต่อแอนติเจนปฐมภูมิที่ใช้กระตุ้นสัตว์ทั้งสองชนิด Van Regenmortel and Burckhard1985 รายงานถึงปริมาณสารภูมิคุ้มกัน (immunogent) ที่เหมาะสมในใข่แดงที่เหมาะต่อการตรวจหาเชื้อไวรัส ในขบวนการอีไลซ่า Behn *et al.* 1996 รายงานว่าพบความแตกต่างของสารภูมิคุ้มกันที่มาจากแอนติเจนที่เป็นโปรตีนต่างชนิด Concetti *et al.*1994 พบว่าความแตกต่างของการสร้างสารภูมิคุ้มกันที่แตกต่างตามชนิดของเซลไขกระดูกที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเซลไขกระดูกได้ Rose *et al.*1974 พบวิธีการแยกสารภูมิคุ้มกันชนิดต่าง ๆ ออกจากกัน Erhard *et al.*1992 พัฒนาระบบวิธีการตรวจจับเฉพาะ (specific enzyme linked immun-sorbent antibody assay systems) ต่อโมโนโคนอลแอนติเจนชนิด G.M. and A ที่ได้จากเซลม้ามของไก่ Hlinak *et al.* 1996 ผลิตแอนตีซีรัมจากไก่ที่มีแนวโน้มสามารถผลิตเป็นวัคซีนสำหรับโรคที่เกิดกับมนุษย์ Montes *et al.*1994 เปรียบเทียบการผลิตสารภูมิคุ้มกันจากกระต่าย

และไก่ที่กระตุ้นด้วยแอนติเจนฮอร์โมนสารภูมิคุ้มกัน(progesterone hormone) พบว่ามีความแตกต่างกันน้อยมาก Marquart and Newman 1970 พบว่าแอนติซีรัมจากไก่สามารถมีความจำเพาะและสามารถตรวจหาเชื้อมายโคพลาสม่าสาเหตุโรคแคะแกรนของข้าวโพดและวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยได้ Peralta *et al*. 1994. รายงานว่าแอนติซีรัมจากไข่แดงไก่ที่ผ่านการกระตุ้นด้วยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคคน *Salmonella enderitidis* และเชื้อโรคอหิวาตกโรค (clolera) มีความจำเพาะต่อกันสูง Akita *et al.*1993 เปรียบเทียบวิธีการคัดแยกสารภูมิคุ้มกันบริสุทธิ์ที่ได้จากการกระตุ้นจากแบคทีเรีย Ecoli พบว่าหลังจากคัดแยกโดยวิธีตกตระกอนในสารแอมโมเนียมซัลเฟรตกับน้ำตาลเข้มข้นมีความแตกต่างกันน้อยมาก

Streptomyces scabies สาเหตุโรคสะเก็ดแผล (common scab) ของมันฝรั่งและพืชหัวอื่น ๆ หลายชนิด ๆ เข้าทำลายหัวมันฝรั่งเกิดอาการสะเก็ดแผลนูนยกสูงจากผิวลักษณะกลมหรือค่อนข้างกลม เป็นแผลเดี่ยวหรืออยู่เป็นกลุ่ม แผลกินลึกถึงเนื้อในทำให้หัวมันฝรั่งเสียหาย ราคาตกหรืออาจขายไม่ได้ เชื้อสาเหตุโรคเป็นแบคทีเรียแกรมบวก อาศัยอยู่ในดิน(soil inhabitant) สร้างสปอร์เพื่อการแพร่กระจายเชื้อ สปอร์สีเทา ผิวเรียบเกาะเรียงเดี่ยวเป็นสายเกลียว (spiral chain) สามารถดำรงชีวิตในเศษซากพืชอาศัย แพร่กระจายไปกับน้ำหรือดินที่มีการเคลื่นย้ายรวมทั้งละอองดินที่ถูกพัดพาโดยพายุ การเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โคโลนีมีลักษณะคล้ายแผ่นหนังสีขาว ผิวย่นขนาด 3-10 มม หรือมากกว่าขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เลี้ยงและอายุของเชื้อ (Loria et al. 1997) Manabe et al. 2006 รายงานพบอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะที่ใช้สำหรับแยกเชื้อนี้จากดิน แผลที่รากหัวมันฝรั่ง และซากพืช ปัจจุบันพบว่าเชื้อนี้แพร่กระจายไปทั่วโลก (Lambert and Loria, 1989) สำหรับประเทศไทยพบโรคนี้ติดมากับหัวมันฝรั่งนำเข้า แต่ไม่มีรายงานว่าพบโรคหรือเชื้อ *S. scabies* ในประเทศไทย

การทดลองนี้จะแยกเชื้อ *Streptomyces scabies* จากหัวมันฝรั่งนำเข้าจากต่างประเทศด้วยอาหารเฉพาะตามที่มีรายงานมาก่อน จากนั้นนำเชื้อมาจำแนกชนิดโดยทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาและชีววิทยาเปรียบเทียบกับเชื้อ *Streptomyces scabies* ที่รักษาไว้ในสาระบบการเก็บรักษาเชื้อของ กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช หลังจากจำแนกเชื้อเสร็จแล้วว่าเป็น *S. scabies* นำเชื้อมาเตรียมเป็นแอนติเจนฉีดเข้าใต้ผิวหนังของไก่พันธุ์ไข่ ตามขั้นตอนของ Shimizu *et al.* 1988, 1994 เก็บเกี่ยวและทดสอบคุณสมบัติของสารภูมิคุ้มกันที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *S. scabies* นำมาตรวจหาเชื้อนี้จากมันฝรั่งนำเข้าและที่ผลิตได้ในประเทศ เพื่อเป็นข้อมูลทางกักกันพืชของเชื้อนี้สำหรับประเทศไทย ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางโรคพืชวิทยาและจุลชีววิทยา

วิธีการ

วิธีการดำเนินการวิจัย แบ่งเป็นขั้นตอน ดังนี้

1. การเก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่งนำเข้าและที่ผลิตได้ในประเทศเลือกหัวที่มีอาการสะเก็ดแผล
2. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับการแยกเชื้อ แยกเชื้อสาเหตุโรค
3. ทดสอบการเป็นเดชื้อสาเหตุโรคและจำแนกชนิดเชื้อและที่เก็บรักษาเชื้อที่กลุ่มงานบักเครีวิทยา
4. ผลิตแอนติเซรัมจากไก่ด้วยแอนติเจนเชื้อ *S. scabies* (เลี้ยงไก่, เตรียมเชื้อบริสุทธิ์, กระตุ้นการผลิตโดยฉีดเชื้อเข้าไก่, ทดสอบค่าไตเตอร์จากไข่ไก่, แยกสารภูมิคุ้มกัน IgY บริสุทธิ์, ทดสอบความจำเพาะโดยวิธี Indirect ELISA)
5. พัฒนาเป็นชุดสำเร็จตรวจหาเชื้อ *S. scabies*
6. สำรวจและตรวจหาเชื้อสาเหตุโรคสะเก็ดแผลที่พบในมันฝรั่งที่ผลิตในประเทศและนำเข้าด้วยชุดสำเร็จที่ผลิตได้ เขียนรายงาน สรุปวิเคราะห์ผลการวิจัย เผยแพร่

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับงานวิจัยที่ดำเนินการในต่างประเทศที่ผ่านมา

2. ได้ตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก ต่างประเทศที่แสดงอาการโรคแผลสะเก็ดและตัวอย่างหัวมันฝรั่งที่แสดงแผล สะเก็ดจากเกษตรกรที่ปลูกมันฝรั่งในประเทศ จำนวน 47 ตัวอย่าง

3. ตรวจเอกสารงานวิจัยทั้งโครงการ เตรียมอุปกรณ์เครื่องมือและบุคลากรไปเก็บตัวอย่างจากโรงเก็บหัวพันธุ์มัฝรั่งภาคเอกชนผู้นำเข้าและเกษตรกรผู้ผลิตมันฝรั่ง ได้ตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจากต่างประเทศที่แสดงอาการโรคแผลสะเก็ดและจากเกษตรกรที่ปลูกมันฝรั่งในประเทศ 44 ตัวอย่าง ได้เชื้อแบคทีเรียที่แยกจากอาการแผลสะเก็ดด้วยอาหารกึ่งจำเพาะในห้องปฏิบัติการได้เชื้อ 42 ไอโซเลท ทดสอบการเป็นเชื้อสาเหตุโรคจากเชื้อที่แยกได้พบว่าเชื้อที่ทำให้เกิดอาการโรคแผลสะเก็ด 19 ไอโซเลท

4. สำรวจและเก็บตัวอย่างจากผู้นำเข้า 2 ราย สหกรณ์ผู้ปลูกมันฝรั่ง 1 ราย ได้ตัวอย่างหัวพันธุ์มันฝรั่งที่นำเข้าจาก ต่างประเทศที่แสดงอาการโรคแผลสะเก็ด 23 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างหัวมันฝรั่งจากแปลงเกษตรกรที่ปลูกมันฝรั่งในประเทศ 19 ราย ได้ 32 ตัวอย่าง รวม 55 ตัวอย่าง แยกได้เชื้อ

แบคทีเรียจากอาการแผลสะเก็ดด้วยอาหารกึ่งจำเพาะNPPC 44ไอโซเลท เป็นมันฝรั่งนำเข้า 19 ไอโซเลท มันฝรั่งในประเทศ 25 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบการเป็นเชื้อสาเหตุโรคพบว่า 22 ไอโซเลท ทำลายหัวมันฝรั่งเป็น แผลสะเก็ด แยกเชื้อกลับ (reisolation)ได้เชื้อ 19 ไอโซเลท เก็บรักษาเชื้อที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคแผลสะเก็ดในรูปถาวร กึ่งถาวรและชั่วคราว เพื่อใช้ในการทดลองอื่น ๆ ต่อไป

5.จากการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีและการสร้างสปอร์จากเชื้อ 5ไอโซเลท พบว่าเชื้อทั้งหมดมีปฏิกิริยาเป็นชนิดแกรมบวก โคโลนีสีเทาเกาะกันแน่นคล้ายเส้นใยเชื้อราแต่ขนายเล็กกว่า สร้างเม็ดสีสีน้ำตาลในอาหาร ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าสปอร์เรียงต่อกันเป็นเกลียวอยู่เหนือโคโลนีและสามารถสร้างกรด ใน sucrose glucose lactose mannital inositol xylose cellulose จากคุณสมบัติดังกล่าวสามารถสรุปตาม Loria *et al*. (1997) ได้ว่าเป็นเชื้อ *S. scabies*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

(อยู่ในระหว่างดำเนินการทดลอง)

--

เอกสารอ้างอิง

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, วนิดา ฐิตะฐานและสุเนตรา ภาวิจิตร 2540. การผลิตแอนติเซรัมที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2540 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 17 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณ์และวนิดา ฐิตะฐาน 2543. การพัฒนาชุดตรวจเชื้อ*Ralstonia solanacearum* ในขบวนการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2543 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 15 หน้า.

Akita, E.M. and Nakai, S. 1993. Comparison of four purification methods for the production of immunoglobulins from eggs laid by hens immunized with enteroxigenic E. coli strain. J. Immunology. 160:207-214.

Behn, I., Hommel, U., Oertel, Hauschildt, S. 1996. Kinetics of IgY formation after immunisation of Hens with different protein antigen. Altex 13 Supplement 96:18-21.

Brumfield H.P., Benson, H. and Pomeroy, B.S. 1961. Procedure for Modified complement fixation test with Turkey, Duck and Chicken serums antibody. Avian Dis. 5:270-282

Concetti, A, Ripani, E. Barboni, L., Torregiani, E., Gariboldi, P. and Venanz, F.M. 1994. Immunorecognition of ring skeleton of taxanes by chicken yolk antibodies. Bilogical Chemistry375(6):419-423

Erhard, M.H., Quistorp, I.V., Schranner, I. , Jungling, A., Kaspers, B.,Schmid, P. And Kuhlmann, R. 1992. Development of specificenzyme linked immun-sorbent antibody assay systems for the detection of chicken immuno-globulin G.M. and A.using monoclonal antibodies. Poultry Sci. 71:302-310

Hlinak, A., Schrodl, W., Witt, S.and Schade, R. 1996. Production of Egg York antibodies against Human cell associated antigens. Altex 13 Supplement 96:76-79.

Kowalczyk, K., Daiss, J., Halpen, J. and Roth, T.F. 1985. Quantification of materal-fetal IgG transport in the chicken. J. Immunology 54:755-762

Losch, U., Schranner, I., Wanke, R. and Jurgens, L. 1986. The chicken egg, an antibody source. J. Vet Medicine.98:609-619

Marquart, W.W. and Newman, J.A. 1970. A direct complement-fixation test for detection of mycoplasma antibodies in chicken serum. Avian Dis. 15:139-149

Peralta, R.C., Yokoyama, H., Ikemori, Y., Kuroki, M. and Kodama, Y. 1994. Passive immunization against *Salmonella enderitidis* with specificity by hen egg-yolk antibodies. J. Med. Microbiology. 41(1):29-35

Montes Peres, R.C., Murcia Meija, C. and Zarco Quintero, L. 1994. Production of antibodies against progesterone hormone from the egg yolk of hens and from rabbit blood serum to be used comparing. Veterinaria-Mexico 25 (2):117-125

Rose, M.E., Orlan, E. and Butterss, N. 1974 Immunoglobulin classes in the hens egg on its segregation in yolk and white. Europe J. Immunology 4:521-523

Schade, R., Henklein, P., Hlinak, A., de Vente, J. And Steinbusch, H. 1996. Specificity of Chicken (IgY) versus rabbit (IgG) antibodies raised against cholecystokin octopeptide. Altex 13 Supplement 96;80-85

Shimizu, M., Fitzsimmons, R.C. and Nakai, S.1988. Anti-Ecoli immunoglobulin-Y isolated from egg yolk of immunized chicken as a potential as a potential food ingredient. J. Food Sci. 53;1360-1366.

Shimizu, M., Nagashima, H., Hashimoto, K. and Suzuki, T. 1994. Egg yolk antibody (IgY) stability in aqueous solution with high sugar concentrations. J. Food Sci. 59(4):763

Stolfi, R.L., Fugmann, R.A., Jensen, J.J. and Sigel, M.M. 1971. A C1 fixation method for the measurement of chicken anti-viral antibody. Immunology 20:299-306

Van Regenmortel and Burckhard, J. 1985.Quantitative microcomplement fixation test using chicken anti-viral antibody extracted from egg yolk. J.Virol. Meth. 11:217-223.

การตรวจสอบคลอสเตอโรไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวของสับปะรด โดยใช้กรดนิวคลีอิคตัวตรวจ

Detection of *Closterovirus* causing pineapple wilt disease by nucleic acid probe

เยาวภา ตันติวานิช วันเพ็ญ ศรีทองชัย ดารุณี ปุญญพิทักษ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคเหี่ยวสับปะรด (Pineapple wilt disease หรือ Mealybug wilt of pineapple) ในประเทศไทยถูกรายงานว่าพบระบาดในแหล่งปลูกสับปะรดจังหวัดชลบุรี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 ได้ทดลองตรวจสอบตัวอย่างสับปะรดเป็นโรคเหี่ยวจากเชื้อไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus* (PMWaVs) ด้วยวิธี RT-PCR ที่ปรับปรุงมาจากกรรมวิธีของ Sether และ Hu (2002) ที่ใช้ชุดไพรเมอร์ 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ได้แก่ 5' ACAGGAAGGACAACACTCAC 3' กับ 5' CGCACAAACTTCA AGCAATC 3' ใช้ตรวจจำแนก PMWaV-1 และชุดที่ 2 ใช้ตรวจจำแนก PMWaV-2 ได้แก่ 5' CATACGAACTAGACTCATACG 3' กับ 5' CCATCCACCAATTTTACTAC 3' สกัดอาร์เอ็นเอโดยใช้ชุด MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit (Epicentre® Biotechnologies)ได้อาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพดี เมื่อนำมาสังเคราะห์ cDNA และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR ที่เหมาะสมที่ 94 องศาเซลเซียส 10 นาที 1 รอบ และบ่มปฏิกิริยาจำนวน 35 รอบ ของ 3 อุณหภูมิ สลับกันที่ denaturing temperature 94 องศาเซลเซียส 1 นาที 30 วินาที annealing temperature 55 องศาเซลเซียส 1 นาที 30 วินาที และ extension temperature 72 องศาเซลเซียส 1 นาที 30 วินาที ต่อด้วย 72 องศาเซลเซียส 10 นาที 1 รอบ ได้ดีเอ็นเอ ขนาด 589 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นส่วนของ HSP 70 homologus genes ของเชื้อไวรัส PMWaV-1 และไม่พบชิ้นดีเอ็นเอ ขนาด 609 นิวคลีโอไทด์ ของเชื้อไวรัส PMWaV-2 จากนั้นโคลนดีเอ็นเอที่ได้เข้ากับพลาสมิดพาหะ แบบ cloning vector คือ pGEM-T easy (Promega) นั้น แต่ไม่สามารถเชื่อมต่อพลาสมิดพาหะเข้ากับ cDNA ของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวของสับปะรดได้

รหัสการทดลอง 09-01-49-02-03-04-11-51

คำนำ

สับปะรดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถปลูกและเก็บผลผลิตได้ตลอดปี เพื่อใช้บริโภคสดภายในประเทศและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ มีมูลค่าส่งออกประมาณปีละ 13,000-15,000 ล้านบาท โดยประเทศไทยครองความเป็นผู้นำในการผลิตและส่งออกสับปะรดเป็นอันดับหนึ่งของโลก เป็นเวลานานกว่า 10 ปี จนถึงปัจจุบัน โดยมีตลาดผู้นำเข้าที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป ญี่ปุ่น และสาธารณรัฐประชาชนจีน

"โรคพืช" จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญของการปลูกสับปะรด เพราะทำให้ผลผลิตและคุณภาพสับปะรดเสียหายอย่างรุนแรง จนบางครั้งไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ โรคที่พบระบาดในแหล่งปลูกสับปะรดของไทยมีทั้งที่เกิดจากเชื้อรา ได้แก่ โรคยอดเน่าและรากเน่า โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ โรคผลแกน ส่วนเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวสับปะรด (Pineapple wilt disease หรือ Mealybug wilt of pineapple) ที่กำลังเป็นปัญหาสำคัญต่อการปลูกสับปะรดในปัจจุบัน ถูกพบระบาดเป็นครั้งแรกในรัฐฮาวาย สหรัฐอเมริกา เมื่อต้นปี พ.ศ. 2443 และปัจจุบันโรคนี้แพร่ระบาดทั่วไปในประเทศที่มีการปลูกสับปะรดเป็นการค้า เช่น ประเทศออสเตรเลีย ไทยและคิวบา สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่าพบการระบาดของโรคในแหล่งปลูกสับปะรดจังหวัดชลบุรี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 และทำความเสียหายให้แก่ผลผลิตสับปะรดอย่างมาก ต่อมาในปี พ.ศ. 2546 โรคนี้ระบาดรุนแรงในแปลงปลูกสับปะรดของภาคตะวันตก บริเวณจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และเพชรบุรี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกที่สำคัญ อันดับ 1 และ 3 ของประเทศ คือ มีพื้นที่ปลูก 492,058 และ 56,192 ไร่ ตามลำดับ จากพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ 962,693 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2546; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2547) นอกจากนี้เริ่มพบการเข้าทำลายของโรคนี้ในจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสับปะรดที่สำคัญเพื่อส่งโรงงานแปรรูปของภาคตะวันออก พันธุ์ที่พบว่ามีการระบาดของโรค คือ พันธุ์ปัตตาเวีย หรือรู้จักแพร่หลายในนามสับปะรดศรีราชา เป็นพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 70 ของผลผลิตรวมของสับปะรด (วันเพ็ญ, 2546)

โรคเหี่ยวของสับปะรด เกิดจากไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus* (PMWaVs ได้แก่ PMWaV-1 และ PMWaV-2) ซึ่งมีอนุภาคแบบท่อนยาวคด (flexuous rod) ขนาดประมาณ 1,200X12 นาโนเมตร มีกรดนิวคลีอิคเป็นแบบอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (single-stranded RNA, ssRNA) น้ำหนักโมเลกุล $8.35x10^6$ ดาลตัน จัดอยู่ในสกุล *Closterovirus* วงศ์ *Closteroviridae* ลักษณะอาการของโรค สับปะรดสามารถแสดงอาการของโรคได้ตั้งแต่อายุประมาณ 6 เดือนหลังปลูก จนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต อาการเริ่มต้น ใบจะเริ่มแสดงอาการอ่อนนิ่ม เนื่องจากเชื้อไวรัสกระจายอยู่หนาแน่นเฉพาะภายในเซลล์ท่ออาหารของพืช ใบมีสีเขียวอ่อนหรือสีเหลือง ปลายใบแห้งตายเป็นสีน้ำตาลหรือสีแดงลามเข้าสู่โคนใบ (die back) ใบลู่ลงและแผ่แบนไม่ตั้งขึ้นเหมือนใบปกติ ต่อมาพบว่าใบมีลักษณะแห้งคล้ายอาการขาดน้ำ ใบแผ่แบบ ขอบใบ

ม้วนลง และเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ระยะสุดท้ายใบจะแห้งเหี่ยวทั้งกอ และแห้งตายในที่สุด สับปะรดที่เป็นโรคพบว่ารากมีขนาดสั้นและแตกแขนงน้อยมาก ระบบรากฝอยน้อย และรากส่วนใหญ่เน่าแห้งตาย ทำให้สามารถถอนต้นสับปะรดขึ้นมาได้ง่าย ซึ่งตรงข้ามกับต้นปกติที่มีรากจำนวนมากยึดเกาะดินแน่น ผลมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้ (Dilokkunanant *et al*., 1996) ในธรรมชาติสับปะรดเป็นพืชอาศัยที่สำคัญและอ่อนแอต่อโรค และโรคนี้สามารถถ่ายทอดโดยมีเพลี้ยแป้ง 2 ชนิด คือ pink pineapple mealybug (*Dysmicoccus brevipes* Cockerell) และ gray pineapple mealybug (*D. neobrevipes* Beardsley) (German *et al*, 1992) และมีมดเป็นตัวแพร่กระจายเพลี้ยแป้ง

Fernandez และคณะ (1998) ตรวจพบอนุภาคของไวรัสเป็นท่อนยาว คด ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เช่นเดียวกับที่มีรายงานในฮาวายและออสเตรเลีย และได้ผลิต monoclonal antibodies เพื่อใช้ตรวจสอบเชื้อไวรัส

เจริญศักดิ์และคณะ (2537) ได้ตรวจสอบเชื้อ PMWaV โดยวิธี Immuno-scanning Electron Microscope ด้วย As PMWaV ที่ได้รับจากประเทศออสเตรเลีย พบว่า As PMWaV สามารถจับเคลือบอนุภาคไวรัสมีปฏิกิริยาทางเซรุ่มวิทยาได้ดี มีแนวโน้มว่าเป็น PMWaV

ในช่วงปี 1993-1996 ได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจสอบจำแนกเชื้อ PMWaV-1 และ PMWaV-2 ด้วยวิธี RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับไวรัสแต่ละชนิด (Beardsley, 1993; Hu *et al*., 1996) และในฮาวายมีรายงานว่าสับปะรดจะแสดงอาการเหี่ยว เมื่อได้รับเชื้อไวรัส PMWaV-2 และไม่แสดงอาการของโรคถ้าได้รับเชื้อ PMWaV-1 เพียงชนิดเดียว แต่ถ้าได้รับเชื้อทั้งสองชนิดสับปะรดจะแสดงอาการเหี่ยวอย่างรุนแรง (Sether and Hu, 2002) สำหรับในประเทศไทยมีการศึกษาวิธีการถ่ายทอดโรคโดยใช้เพลี้ยแป้งซึ่งเป็นแมลงพาหะของโรค พืชแสดงอาการหลังการถ่ายทอดโรคแล้ว 4-5 เดือน จึงช้าเกินไป หากใช้วิธีทางเซรุ่มวิทยา ได้แก่ วิธี Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) โดยใช้โพลีคลอนอลแอนติซีรัมจากประเทศออสเตรเลีย ซึ่งผลของปฏิกิริยาบางครั้งไม่ชัดเจน เพราะปริมาณของคลอสเตอโรไวรัสในพืชมีน้อย ทำให้ยากต่อการวินิจฉัย

การตรวจด้วยกรดนิวคลีอิค โดยวิธี hybridization เป็นวิธีที่ตรวจสอบไวรัสในระดับยีนหรือกรดนิวคลีอิค สามารถตรวจไวรัสในเนื้อเยื่อพืชได้ แม้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย โดยอาศัยหลักการจับคู่กันของกรดนิวคลีอิค ซึ่งเป็นตัวตรวจกับกรดนิวคลีอิคของไวรัส (Matthews, 1992) การใช้กรดนิวคลีอิคตัวตรวจที่เหมาะสมมีความเป็นไปได้ที่จะจำแนกได้ถึงระดับสายพันธุ์ ข้อดีของวิธีการนี้เมื่อเทียบกับวิธีการทางซีรัมวิทยา คือ

1. โคลนของตัวตรวจดีเอ็นเอ สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานและสามารถนำมาเพิ่มปริมาณเพื่อใช้งานได้ตลอดเวลา

2. สามารถรวมตัวตรวจดีเอ็นเอสำหรับตรวจไวรัสหลายชนิดเพื่อตรวจวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคได้ในคราวเดียวกัน
3. ตัวตรวจซึ่งเป็นกรดนิวคลีอิค สามารถตรวจวินิจฉัยไวรัสในระดับกรดนิวคลีอิค ขณะที่แอนติซีรัมตรวจได้ในระดับโปรตีนหรือโดเมนของโปรตีน ซึ่งอาจแสดงความเป็นแอนติเจนต่างกัน เมื่ออยู่ในน้ำคั้นพืชหรือไวรัสบริสุทธิ์หรือในเนื้อเยื่อพืชหรือในแมลงพาหะ อาจเป็นผลทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อแอนติซีรัมต่างกัน

การตรวจด้วยแอนติซีรัม ไม่สามารถแยกไวรัสต่างสายพันธุ์ที่มีความสามารถทำให้เกิดโรคหรือการถ่ายทอดด้วยแมลงพาหะต่างกัน เนื่องจากมีโปรตีนโครงสร้างที่เหมือนกัน (Ronco และคณะ, 1989)

Cho และคณะ (1989) พบว่า เทคนิค dot blot hybridization ให้ผลดีในการตรวจวินิจฉัย TSWV ในพริกซึ่งมีปริมาณไวรัสต่ำและการตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิค ELISA มักเกิดปัญหาการเกิดปฏิกิริยากับพืชปกติ Rice และคณะ (1990) ใช้เทคนิค nucleic acid hybridization ตรวจหาอาร์เอ็นเอของ TSWV ที่สกัดจากยาสูบ มะเขือเทศและพริกได้ที่ 16 80 และ 400 นาโนกรัม Huguenot และคณะ (1990) เปรียบเทียบประสิทธิภาพเทคนิค ELISA และ dot immunobinding assay (DIBA) โดยใช้ monoclonal antibody กับเทคนิค dot blot hybridization โดยใช้ตัวตรวจอาร์เอ็นเอ ตรวจวินิจฉัย TSWV ในพืช พบว่าให้ผลในการตรวจวินิจฉัยดีเท่ากัน

สำหรับวิธี RT-PCR นั้นสามารถสังเคราะห์และเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของยีนที่ต้องการจากอาร์เอ็นเอต้นแบบ ทำให้มีการพัฒนาวิธีการดังกล่าว เพื่อตรวจสอบไวรัสพืชที่มีกรดนิวคลีอิคเป็นอาร์เอ็นเอ ทั้งในเนื้อเยื่อและแมลงพาหะ การตรวจสอบไวรัสด้วยวิธีนี้มีประสิทธิภาพสูง สามารถตรวจไวรัสที่มีปริมาณน้อยได้ดีกว่าวิธี ELISA ถึง 10,000 เท่า ในไวรัสบางชนิด เช่น potato leaf roll virus (PLRV) (Van den Heuvel และ Peters, 1989) Rowhani และคณะ (1995) พัฒนาเทคนิค RT-PCR เพื่อตรวจสอบไวรัสของไม้เนื้อแข็ง เช่น cherry leaf roll virus (CLRV) grapevine fanleaf virus (GFLV) apple mosaic virus (ApMV) เป็นต้น สามารถตรวจพบไวรัสได้ในระดับเฟมโตกรัมและมีความไวกว่าวิธี ELISA 10-100 เท่า สำหรับทอสโพไวรัสนั้น Fonseaca และคณะ (1995) ใช้เทคนิค RT-PCR ในการตรวจสอบ TSWV ในถั่ว lentil (*Lens culinaris*) นอกจากจะใช้ตรวจวินิจฉัยเชื้อสาเหตุโรคแล้ว เทคนิค RT-PCR ยังสามารถนำมาใช้โคลนยีนของไวรัส ซึ่งได้มีการศึกษาโดย Satyanarayana และคณะ (1996) ในการโคลนยีนบน S-RNA ของ PBNV เพื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโน

เพื่อให้ได้วิธีการตรวจสอบเชื้อไวรัสโรคเหี่ยวของสับปะรด ให้มีความชัดเจน ถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว เพื่อใช้ในการคัดเลือกหน่อพันธุ์สับปะรดให้ปลอดโรคก่อนนำไปขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือปลูกในแปลงและการป้องกันกำจัดโรค จึงมีความจำเป็น

ในการศึกษาและพัฒนาการตรวจด้วยกรดนิวคลีอิค สำหรับตรวจเชื้อไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างสับปะรดที่แสดงอาการโรคเหี่ยวและสับปะรดปกติ
2. สารเคมีที่ใช้สำหรับการสกัดอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัสสาเหตุโรค
3. สารเคมีที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์
4. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) เครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดเล็ก
5. เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (DNA thermal cycler)
6. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
7. สารเคมีที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์
8. สารเคมีที่ใช้ในการโคลนยีน
9. สารเคมีที่ใช้ในการทำดีเอ็นเอตัวตรวจ

วิธีการ

1. **การสกัดแยกอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัสจากใบสับปะรด** โดยใช้ ชุดสกัดอาร์เอ็นเอ ชื่อ MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit (Epicentre® Biotechnologies)

นำตัวอย่างใบสับปะรดที่ตรวจพบเชื้อไวรัสด้วย ELISA มาสกัดอาร์เอ็นโดยบดใบสับปะรด 5 มิลลิกรัม ด้วยไนโตรเจนเหลวและเติม Tissue and Cell Lysis Solution 300 ไมโครลิตร และ Proteinase K 1 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และอุ่นที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที โดยเขย่าหลอดทุกๆ 5 นาที จากนั้นนำไปวางในน้ำแข็งทันที เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงเติม MPC Protein Precipitation Reagent ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปหมุนเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนของน้ำใสมาใส่หลอดใหม่ เติม isopropanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร พลิกหลอดไปมา 40 ครั้ง และนำไปหมุนเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส และล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 75% ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร หมุนเหวี่ยงอีกครั้ง ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส ผึ่งตะกอนให้แห้ง จากนั้นจึงละลายตะกอนอาร์เอ็นเอ ด้วย TE

buffer ปริมาตร 35 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อไป

2. การสังเคราะห์ cDNA จากอาร์เอ็นของเชื้อไวรัสโรคเหี่ยวสับปะรด

การสังเคราะห์ cDNA จากอาร์เอ็นของเชื้อไวรัสโรคเหี่ยวสับปะรดนั้นใช้ไพรเมอร์ที่เหมาะสมและจำเพาะเจาะจงกับลำดับเบสของส่วนของ HSP 70 homologus genes ของเชื้อไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2 (Sether และ Hu, 2002) คือ

PMWaV-1 5’ ACAGGAAGGACAACACTCAC 3’ (เบส 118-137)
5’ CGCACAAACTTCAAGCAATC 3’ (เบส 707-726)
PMWaV-2 5’ CATACGAACTAGACTCATACG 3’ (เบส 226-246)
5’ CCATCCACCAATTTTACTAC 3’ (เบส 835-854)

การสังเคราะห์ cDNA ดังนี้

ส่วนผสมสำหรับปฏิกิริยา RT-PCR ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย น้ำกลั่น 6 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ R (100 ρmole) 1 ไมโครลิตร อาร์เอ็นเอต้นแบบ 5 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที นำไปแช่น้ำแข็งทันที นาน 5 นาที แล้วนำมาเติมส่วนผสมสำหรับปฏิกิริยา PCR คือ 5xRT PCR buffer 4 ไมโครลิตร 0.001M deoxynucleotice triphosphate 1 ไมโครลิตร DTT 2 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วจึงเติม สารละลาย MMLV ปริมาตร 1 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 50 นาที

ส่วนผสมสำหรับปฏิกิริยา PCR ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 10xPCR buffer 2 ไมโครลิตร 50mM $MgCl_2$ 1 ไมโครลิตร ไพรเมอร์ R และ F ความเข้มข้น 100 ρmole อย่างละ 0.5 ไมโครลิตร Ampli *Taq* DNA polymerase 0.5 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 12.5 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดได้จากปฏิกิริยา RT-PCR 3 ไมโครลิตร สังเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยเครื่อง DNA Thermal cycler อุณหภูมิให้เหมาะสมในการสังเคราะห์เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ดังนี้

อุณหภูมิ	94 องศาเซลเซียส	5 นาที	1 รอบ
อุณหภูมิ	94 องศาเซลเซียส	1 นาที 30 วินาที	35 รอบ
	55 องศาเซลเซียส	1 นาที 30 วินาที	
	72 องศาเซลเซียส	1 นาที 30 วินาที	
	72 องศาเซลเซียส	10 นาที	1 รอบ

3. การโคลนยีนของเชื้อไวรัสโรคเหี่ยวสับปะรด

นำดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้จาก ข้อ 2 ไปวิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอที่ได้ใน 0.8 % agarose gel และตัดเจลที่มีแถบดีเอ็นเอขนาดที่ต้องการมาแยกให้เป็นดีเอ็นเอบริสุทธิ์แยกดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์โดยใช้ QIAquick Gel Extraction Kit (Promega) โดยตัดชิ้นเจลบริเวณที่มีแถบดีเอ็นเอขนาดที่ต้องการใส่ในหลอดทดสอบขนาด 1.5 ml ชั่งน้ำหนักเจล แล้วเติม QX1 buffer ในอัตราส่วน 3 เท่าของน้ำหนักเจล นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที หรือจนเจลหลอมละลาย จากนั้นเติม isopropanol 1 เท่าโดยปริมาตร และผสมให้เข้ากัน ใส่สารละลายดีเอ็นเอลงใน QIA quick spin column เพื่อให้ ดีเอ็นเอจับกับ column หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เติม QX1 buffer ปริมาตร 0.5 ml ลงใน column และหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ล้าง column ด้วย PE buffer ปริมาตร 750 μl หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที QIA qiuck spin column วางบนหลอดทดสอบขนาด 1.5 ml ชะ DNA ออกจาก column ด้วยการเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 50 μl หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จะได้สารละลายดีเอ็นเอผ่านลงมาจาก column สู่หลอดทดสอบปริมาตร 50 μl

โคลนดีเอ็นเอที่ได้เข้ากับพลาสมิดพาหะ โดยใช้พลาสมิดพาหะแบบ cloning vector ได้แก่ พลาสมิด pGEM-T easy (Promega) ทำปฏิกิริยาเชื่อมต่อ (ligation) กับดีเอ็นเอจากไวรัสดังนี้

ใช้พลาสมิดพาหะ pGEM-T easy ขนาด 3000 คู่เบส ทำการโคลนยีนตามวิธีที่ระบุไว้ในคู่มือ โดยใช้ปริมาณดีเอ็นเอและพลาสมิดในอัตราส่วน 3 : 1 ผสมปฏิกิริยาเชื่อมต่อ ดังนี้ พลาสมิด pGEM-T easy ปริมาตร 1 μl (50 mg), T_4 DNA ligase 10xbuffer (300mM tris-HCl pH 7.8, 100mM $MgCl_2$, 100mM DTT, 10mM ATP) ปริมาตร 1 μl ดีเอ็นเอ ปริมาตร 1 μl (150 mg) น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 7 μl รวม 10 μl บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 12-16 ชั่วโมง

นำดีเอ็นเอสายผสมที่ได้จากการเชื่อมต่อเข้ากับพลาสมิดทั้ง 2 ชนิด ไปโยกย้าย (transform) เข้าสู่แบคทีเรียเจ้าบ้าน *E.coli* สายพันธุ์ JM 109 ด้วยวิธี heat shock transformation (Fritsch, 1989) ดังนี้

นำพสาสมิดดีเอ็นเอ สายผสมจากปฏิกิริยา ligation ปริมาตร 5 μl ผสมกับ competent cell ปริมาตร 100 μl แช่น้ำแข็ง 30 นาที เพื่อให้ดีเอ็นเอสายผสมเกาะกับ competent cell นำส่วนผสมดังกล่าวมาแช่น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที (heat shock) แล้วรีบนำส่วนผสมมาแช่น้ำแข็งทันทีนาน 5 นาที จากนั้นเติมอาหารเหลว 2xYT (Maniatis และคณะ, 1982) ปริมาตร 1 ml แล้วนำมาเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

จึงตกตะกอนเซลล์ด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ละลายตะกอนด้วยอาหารเหลว 2xYT ปริมาตร 100 μl นำมาเลี้ยงในอาหารแข็ง 2xYT ที่ผสม ampicillin 100 μg/ml, 2% X-gal ใน dimethylformamide 40 μl และ 100mM IPTG 20 μl และนำไปเลี้ยงบนอาหารคัดเลือก 2xYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 μg/ml, X-gal 20 mg/ml, IPTG 20 mg/ml คัดเลือกโคโลนีสีขาวของแบคทีเรียที่มีดีเอ็นเอสายผสม (transformant) มาแยกพลาสมิดสายผสมออกจากเซลล์ โดยใช้วิธี alkaline lysis method (Maniatis และคณะ, 1982) ดังนี้

นำโคโลนีแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ 1 โคโลนีมาเลี้ยงในอาหารเหลว 2xYT ปริมาตร 3 ml ที่ผสม ampicillin 100 μl/ml เขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง นำเชื้อที่เลี้ยงไว้มาใส่หลอดทดสอบขนาด 1.5 ml แยกเซลล์จากอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ละลายตะกอนเซลล์ด้วยสารละลายชนิดที่ 1 (50mM glucose, 25mM tris-HCl pH 8.0, 10mM EDTA pH 8.0) ปริมาตร 100 μl จากนั้นเติมสารละลายชนิดที่ 2 (0.2N NaOH, 1% SDS) ปริมาตร 200 μl ผสมให้เข้ากันโดยพลิกหลอดเบาๆ แล้วแช่น้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลายชนิดที่ 3 (5mM potassium acetate) ปริมาตร 150 μl ผสมให้เข้ากันโดยการใช้ vortex ประมาณ 3 วินาที และแช่น้ำแข็ง 10 นาที จากนั้นนำไปตกตะกอนเพื่อแยกเซลล์ และดีเอ็นเอขนาดใหญ่ที่เสียสภาพออกจากสารละลายพลาสมิด โดยหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายพลาสมิดที่ได้มาเติม absolute ethanol ในอัตราส่วน 2.5 เท่าของปริมาตรสารละลาย ผสมให้เข้ากัน แล้วแช่ไว้ที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตกตะกอนพลาสมิดโดยหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำตะกอนพลาสมิดให้แห้ง แล้วละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 100 μl เติมเอนไซม์ RNAse A ความเข้มข้น 0.5 mg/ml ปริมาตร 3 μl เพื่อกำจัดอาร์เอ็นเอที่ปะปนอยู่ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เตรียมพลาสมิดให้บริสุทธิ์โดยการสกัดด้วยสารผสม phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1) ผสมสารในหลอดด้วย vortex นาน 1 นาที แล้วหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ดูดส่วนน้ำใสใส่หลอดใหม่ ทำทั้งหมด 3 ครั้ง โดยในครั้งที่ 3 ไม่ต้องเติม phenol จากนั้นตกตะกอน พลาสมิดด้วย 3M sodium acetate pH 5.2 ปริมาตร 1 ใน 10 เท่าของปริมาตรสารละลายดีเอ็นเอและ absolute ethanol ปริมาตร 2.5 เท่า แช่ที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ล้างตะกอนด้วย 70% ethanol ทำตกตะกอนพลาสมิดให้แห้งด้วยสูญญากาศแล้วละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 30 μl ตรวจสอบขนาดของดีเอ็น

เอที่สอดแทรกในพลาสมิด ด้วยเทคนิค อะกาโรส เจล อิเล็คโตรโฟรีซีส คัดเลือกโคโลนีที่มีพลาสมิดสายผสมสอดแทรกอยู่

4. การเตรียมดีเอ็นเอตัวตรวจ

การเตรียมดีเอ็นเอตัวตรวจ เทคนิคที่ใช้ในการติดฉลากดีเอ็นเอตัวตรวจ คือ primer extension method แบบ random hexanucleotide primer synthesis โดยใช้ Dig DNA labeling and detection kit (Boehringer) เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ มีความเข้มข้น 600 นาโนกรัม (ng) ปริมาตร 10 μl ใส่ในหลอดทดสอบขนาด 1.5 ml และนำดีเอ็นเอไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วย้ายลงมาแช่ในน้ำแข็งทันทีเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม hexanucleotide (vial 5) 2 μl dNTP labeling mixture (vial 6) 2 μl น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 μl ผสมให้เข้ากัน เติม klenow enzyme 1 μl ผสมให้เข้ากัน แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมงจากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม 0.2M EDTA pH 8.0 ปริมาตร 2 μl ตกตะกอนดีเอ็นเอตัวตรวจโดยเติม 4M LiCl 2 μl และ absolute ethanol 75 μl ผสมสารให้เข้ากัน เก็บหลอดปฏิกิริยาไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หมุนเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ล้างตะกอนดีเอ็นเอตัวตรวจด้วย 70% ethanol 100 μl หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ทำตะกอนให้แห้งในสูญญากาศ ละลายตะกอนด้วย TE buffer 50 μl ได้ดีเอ็นเอตัวตรวจที่ติดฉลากแล้ว ตรวจสอบความเข้มข้นและความไวของ cDNA ที่ติดฉลากแล้วด้วยเทคนิค nucleic acid hybridization

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2550 - กันยายน 2551

สถานที่ ที่ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการสกัดแยกอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัสจากใบสับปะรด

จากการใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอ ชื่อ MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit นั้นสามารถสกัดอาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพดีและสามารถนำไปใช้ในการทำ RT-PCR ได้

2. ผลการสังเคราะห์ cDNA จากอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัสโรคหี่ยวสับปะรด

การสังเคราะห์ cDNA โดยปรับวิธีการของ Sether และคณะ (2001) นั้นเกิดแถบดีเอ็นเอขนาด 589 นิวคลีโอไทด์ ของเชื้อไวรัส PMWaV-1 เท่านั้น ซึ่งไพรเมอร์คู่นี้ออกแบบจากส่วนของ HSP 70 homologus genes ไม่พบดีเอ็นเอของ PMWaV-2 ซึ่งแสดงว่าตัวอย่างสับปะรดที่นำมาตรวจสอบนั้นมีเพียง เชื้อไวรัส PMWaV-1 เพียงชนิดเดียว

3. ผลการโคลนยีนของเชื้อไวรัสโรคเหี่ยวสับปะรด

จากการโคลนดีเอ็นเอที่ได้เข้ากับพลาสมิดพาหะ แบบ cloning vector คือ พลาสมิด pGEM-T easy (Promega) นั้น ไม่สามารถเชื่อมต่อพลาสมิดพาหะเข้ากับ cDNA ของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวของสับปะรดได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองที่ไม่สามารถโคลนยีนของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวของสับปะรดได้นั้น อาจเป็นเพราะพลาสมิดพาหะที่ใช้ในการทดลองไม่เหมาะสมกับ cDNA ของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวของสับปะรด จะต้องมีการศึกษาหาพลาสมิดพาหะที่เหมาะสมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. ยุทธศาสตร์สับปะรด 2547- 2551. 51หน้า.

เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ เอ็จ สโรบล วิจารณ์ วิชชุกิจ และจิรเดช แจ่มสว่าง. 2537. รายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 3 โครงการพัฒนาพันธุ์และเพิ่มผลผลิตสับปะรด เสนอ บริษัทอาหารสยามจำกัด (มหาชน) 76 หน้า

วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2546. โรคเหี่ยว : ภัยคุกคามต่อการปลูกสับปะรดของไทย. วารสารโรคพืช (17) 1-2 : 48-53.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2546. สถิติการเกษตรของประเทศไทยปีเพาะปลูก 2544/2545. เอกสารสถิติการเกษตร เลขที่ 3/2545 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 51 หน้า.

Beardsley, J.W. 1993. The Pineapple Mealybug Complex; Taxonomy, Distribution and Host Relationships. *Acta Hort.* (ISHS) 334:383-386.

Cho, J.J.; R.T.C. Mau.; T.L. German.; R.W. Wartmann.; S. Yudin.; D. Gonsalves. And Re Provvidenti. 1989. A. multidisciplinary approach to management of tomato spotted wilt virus in Hawaii. Plant Dis. 73:375-383.

Dilokkunanant, U.; S. Kladpan; R. Prateepasen and U. Suwanwong. 1996. Pineapple Wilt Disease in Thailand. *Thai. J. Agric*. 29: 337-348.

Fernandez, E.; R. Saavedra Avila; M.C. Vilar; E.T. Gomez Aguila Nordelo and Frenes. 1998. Partial Purification of a Closterovirus-like Particle Associated with Pineapple Mealybug wilt and its use to Produce Monoclonal Antibodies. The Third International Pineapple Symposium. Pattaya, Thailand. 87 p.

German, T.L.; D.E. Ullman and U.B. Gunashinghe. 1992. Mealybug Wilt of Pineapple. Chapter 7 *In* Advance in Disease Vector Besearch vol. 9. Pages 241-258 ed. by K.F. Harris. Springer-Verlag New York.

Hu, J.S.; D.M. Sether and D.E. Ullman. 1996. Detection of Pineapple Closterovirus in Pineapple Plants and Mealybugs using Monoclonal Antibodies. *Plant Pathology* . 45: 829-836.

Huguenot. C.; G. Vanden Dobblelsteen.; P. de Haan.; C.A.M. Wagenakers.; G.A. Drost.; A.D.M.E. Osterhaus. And D. Peters. 1990. Detection of tomato spotted wilt virus using monoclonal antibodies and riboprobes. Arch Virol. 110:47-62.

Karasev, A.V.; O.V. Nikolaeva; E.V. Koonin and D.J. Gumpf. 1994. Screening of The Closterovirus Genome by Degenerate Primer-mediated Polymerase Chain Reaction. *J. Gen. Virology* 75: 1415-1422.

Matthew, R.E.F. 1992. Fundamentals of Plant Virology. Academic Press, San Diego. 403 p.

Melissa, M.J.; A.V. Karasev; D.M. Sether and J.S. Hu. 2001. Nucleotide Sequence, Genome Organization and Phylogenetic Analysis of Pineapple Mealybug Wilt-associated Virus-2. *J. Gen. Virology* 82: 1-7.

Rice, D.J.; T.L. German.; R.F.L. Mau and F.M. Fujimoto. 1990. Dot blot detection of tomato spotted wilt virus RNA in plant and thripe tissues by cDNA clones. Plant Dis. 74:274-276.

Ronco, A.E.; E. Dal Bo.; P.D. Ghiringhelli.; C. Medrano.; V. Romanowski.; A.N. Sarachen and O. Grau. 1989. Cloned cDNA probes for the detection of tomato spotted wilt virus. Phytopathol. 79:1309-1313.

Sether, D.M. and J.S Hu. 2002. Closterovirus Infection and Mealybug Exposure are Necessary for the Development of Mealybug Wilt of Pineapple Disease. *Phytopathology*. 92: 928-935.

Sether, D.M.; A. V. Karasev.; C. Okumura.; C. Arakawa.; F. Zee.; M. M. Kislan.; J. L. Busto and J.S Hu. 2001. Differentiation, Distribution, and Elimination of Two Different Pineapple Mealybug Wilt Associated Viruses found in Pineapple. Plant Dis. 85 : 856-864.

วิธีการตรวจสอบราสาเหตุโรค Black spot ของส้ม : *Guignardia citricarpa* โดยเทคนิค PCR

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ชนินทร ดวงสอาด
ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

รวบรวมข้อมูลและทำโปสเตอร์เสนอผลงานภาคโปสเตอร์ เรื่อง "โรคจุดดำของส้มโอสาเหตุเกิดจากรา *Guignardia citricarpa*" ในการประชุมอารักขาแห่งชาติครั้งที่ 8 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน จังหวัดพิษณุโลกและได้รับรางวัลผลงานวิจัยภาคแผ่นภาพ ดีเด่น ซึ่งงานวิจัยนี้เป็นงานพื้นฐานของการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการจำแนกสาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในประเทศไทย

แยกราจากลักษณะอาการของโรคจุดดำของส้มโอที่เก็บจากอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ได้รา *Phyllosticta citricarpa* 12 isolate *P. mangiferae* 5 isolate และ *Phyllosticta* spp. แยกราจากใบจุดมะม่วง ใบจุดมะปราง ใบจุดทับทิม และใบจุดกล้วยไม้ ได้รา genus Phyllosticta จำนวน 14 isolate เก็บไว้ใน culture collection เพื่อนำมาศึกษาต่อไป

รหัสโครงการ 09-01-49-02

คำนำ

ราสกุล *Guignardia* Viala & Ravaz อยู่ใน Class Ascomycetes, Order Sphaeropsidales, Family Mycosphaerellaceae มีรา *Phyllosticta* Pers เป็น Anamorphic state อยู่ใน Class Coelomycetes ส่วนใหญ่ราสกุลนี้เจริญอยู่บนใบพืชทำให้เกิดโรคใบจุด โดยราสร้าง pycnidia บนใบพืช *Guignardia citricarpa* สาเหตุโรค Black spot ของพืชตระกูลส้ม เป็นเชื้อสำคัญในการกักกันพืช ของประเทศในเขตยุโรป และอเมริกา ซึ่งห้ามนำเข้าผลไม้ที่มีอาการของโรค Black spot โดยเด็ดขาด (Baayen และคณะ, 2002) ปัญหาอีกประการหนึ่งของการตรวจพืชกักกันเพื่อการนำเข้าและส่งออก ลักษณะของแผลมีลักษณะหลายชนิด เช่น hard spot lesions แผลบุ๋มลงไป ไม่ลึก เป็นจุดเล็ก ๆ ตรงกลางมีสีเทาถึงสีแทน ขอบแผลมีสีน้ำตาลดำ ขนาดแผลมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-10 มิลลิเมตร มักแสดงอาการเมื่อผลส้มใกล้เปลี่ยนสีเป็นสีส้มหรือเหลือง ปกติมักพบ pycnidia เล็ก ๆ บนแผล ภายในสร้าง conia ของรา *Phyllosticta citricarpa* เป็น anamorph stage (Sutton and Waterson, 1966; Van der Aa, 1973) ซึ่งสามารถมองเห็น pycnidia ด้วยตาเปล่าและสามารถตรวจสอบได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ลักษณะแผล hard spot lesions ที่รุนแรงมากแผลจากจุดเล็ก ๆ จะมารวมตัวกัน ขยายใหญ่ขึ้น และมักพบ pycnidia บนแผลมากมาย อาการอีกชนิดหนึ่งคือ freckle spot หรือเรียกว่า false melanose แผลจุด เล็ก ขนาดแผลมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-3 มิลลิเมตร แผลบุ๋มลงไป ไม่ลึก เป็นจุดเล็ก ๆ ตรงกลางมีสีเทา แทน น้ำตาลแดง บริเวณรอบแผลลักษณะนี้ก็มักพบแผล hard spot lesions กระจายอยู่ แต่อย่างไรก็ตามอาการทั้งสองนี้ไม่แตกต่างกันมาก ในปัจจุบันประเทศ EU ตรวจสอบราสาเหตุโรค black spot โดยการนำแผลที่ไม่พบการสร้าง pycnidia ของเชื้อไปบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน เชื้อจะสร้าง pycnidia ขึ้นมา หลังจากนั้นต้องนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ เพื่อศึกษาลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อและลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อจำแนกความแตกต่างของรา *G. citricarpa* (pathogenic) และ *G. mangiferae* (non pathogenic) เชื้อทั้งสองมีลักษณะทางสัณฐานคล้ายกันมากจึงมักทำให้การจัดจำแนกชนิดผิด (Glienke-Blanco และคณะ, 2002; Baayen และคณะ, 2002) เชื้อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อช้า โดยใช้เวลา 14 วัน จึงจะสร้าง mature pycnidia ดังนั้นวิธีนี้ จึงไม่สะดวกในการตรวจพืชนำเข้า และส่งออกด้วยวิธีนี้ ในปัจจุบันมีการพัฒนาการตรวจสอบเชื้อสาเหตุโรค black spot โดยใช้การใช้เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาอณูชีววิทยา (molecule biology) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพและความไวสูง การศึกษาครั้งนี้เพื่อพัฒนา วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการตรวจสอบและวินิจฉัยโรค black spot ของส้มโอให้มีความถูกต้อง รวดเร็วและแม่นยำ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรค black spot ของส้มโอ และราที่แยกได้จากพืช

2. จุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ *Guignardia citricarpa, G. mangiferae, Guignardia* อื่น ๆ และ *Phyllosticta* และ reference culture ของ *Alternaria alternate, Diaporthe citri, Colletotrichum* sp. และ *Penicillium* sp. เป็นต้น

3. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Broth (PDB), Cherry Decoction Agar, Malt Extract Agar, Corn Meal Agar, Oat Meal Agar

4. สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ Tris-HCl , EDTA, NaCl, SDS, sodium acetate, chloroform : isoamylalcohol, ethanol, PCR buffer, $MgCl_2$, dNTP, Taq DNA polymerase, ไนโตรเจนเหลว และ Agarose

5. เอ็นไซม์ที่ใช้ในการตัดสาย และเชื่อมสายดีเอ็นเอ

6.วัสดุเครื่องแก้วต่างๆ เช่น จานเพาะเลี้ยง,บิกเกอร์, กระบอกตวง, flask, slide และ coverslip เป็นต้น

7. วัสดุวิทยาศาสตร์ เช่น โกร่งบดสาร, หลอด centrifuge, หลอด PCR, QIAquick Gel Extraction Kit

8. ครุภัณฑ์วิทยาศาสตร์ที่ใช้มีดังนี้ เครื่องเพิ่มปริมาณ DNA, เครื่อง centrifuge, เครื่อง electrophoresis, UV transilluminator, เครื่องวัดสารละลาย DNA, vortex mixer, ตู้เขี่ยเชื้อ, กล้องจุลทรรศน์, Refrigerated incubator shaker, ตู้เย็น 4°C และ ตู้เย็น -20°C

วิธีการ

1. รวบรวมรา *Guignardia citricarpa, G. mangiferae, Guignardia* อื่น ๆ และ *Phyllosticta* และ reference culture ของ *Alternaria alternate, Diaporthe citri, Colletotrichum* sp. และ *Penicillium* sp.

2. การเตรียมพืช:

นำส่วนของผลส้มโอที่แสดงอาการ black spot ลักษณะแผลหลายแบบทั้งที่สร้าง pycnidia และไม่สร้าง pycnidia แบบ typical, atypical hard spot lesions, false melanose, post harvest red spot, freckle spot และ virulent spot ที่เก็บมาจากแหล่งต่าง ๆ ทำการตรวจสอบลักษณะแผลภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนจากราชนิด

อื่น เช่น *Colletotrichum* sp. ตัดส่วนของพืชเป็นชิ้นเล็ก ๆ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไปหรือเตรียมสดไว้ใช้เลย

3.วิธีการเลี้ยงเชื้อ:

แยกราจากชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคโดยทำความสะอาดฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกด้วยแอทธานอล 70% ตัดออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ แบ่งออกเป็น 4 ส่วนและวางบนอาหาร Cherry Decoction Agar (Gam *et al*., 1988) บ่มเชื้อไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

4. สกัด DNA

5. การกำหนดความจำเพาะของ primers:

7. การทำ PCR

8. ตรวจผลด้วย gel electrophoresis

ผลผลิต PCR ที่ได้นำมาตรวจด้วย gel electrophoresis บน 1.0% agarose gel ใน 0.5 X TBE buffer ย้อมสีด้วย ethidium bromide ตรวจดูผลและถ่ายภาพภายใต้แสง

9. สรุปผลการทดลอง และ เขียนรายงาน

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด
ตุลาคม 2550 – กันยายน 2552

สถานที่ แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

รวบรวมข้อมูลและทำโปสเตอร์เสนอผลงานภาคโปสเตอร์ เรื่อง "โรคจุดดำของส้มโอสาเหตุเกิดจากรา *Guignardia citricarpa*" ในการประชุมอารักขาแห่งชาติครั้งที่ 8 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน จังหวัดพิษณุโลกและได้รับรางวัลผลงานวิจัยภาคแผ่นภาพ ดีเด่น ซึ่งงานวิจัยนี้เป็นงานพื้นฐานของการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการจำแนกสาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในประเทศไทย

แยกราจากลักษณะอาการของโรคจุดดำของส้มโอที่เก็บจากอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ได้รา *Phyllosticta citricarpa* 12 isolate *P. mangiferae* 5 isolate และ *Phyllosticta* spp. แยกราจากใบจุดมะม่วง ใบจุดมะปราง ใบจุดทับทิม และใบจุดกล้วยไม้ ได้รา genus Phyllosticta จำนวน 14 isolate เก็บไว้ใน culture collection เพื่อนำมาศึกษาต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

รวบรวมข้อมูลและทำโปสเตอร์เสนอผลงานภาคโปสเตอร์ เรื่อง "โรคจุดดำของส้มโอสาเหตุเกิดจากรา *Guignardia citricarpa*" ในการประชุมอารักขาแห่งชาติครั้งที่ 8 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน จังหวัดพิษณุโลกและได้รับรางวัลผลงานวิจัยภาคแผ่นภาพ ดีเด่น แยกราจากลักษณะอาการของโรคจุดดำของส้มโอที่เก็บจากอำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ได้รา *Phyllosticta citricarpa* 12 isolate *P. mangiferae* 5 isolate และ *Phyllosticta* spp. แยกราจากใบจุดมะม่วง ใบจุดมะปราง ใบจุดทับทิม และใบจุดกล้วยไม้ ได้รา genus Phyllosticta จำนวน 14 isolate เก็บไว้ใน culture collection เพื่อนำมาศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Baayen, R. ,P., Bonants, P. J. M., Verkley, G., Carroll, G. C., Van der Aa, H. A., Weerdt, M., van Brouweeershaven, I. R., Schutte, G. C., Maccheroni, W.,Jr., Glienke de Blanco, C., and Azevedo, J. L. 2002. Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, identified as a cosmopolitant endophyte bof woody plants, G. *mangifera* (*Phyllosticta* capitalensis). Phytopathology 92:264-477

Bonants, P.J.M., G.C. Carroll, M. de Weerdt, I R van Brouwershaven and R.P. Baayen. 2003. Development and validation of a fast PCR-based detection method for pathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*/ European Journal of Plant Pathology, 109: 503-513.

Everett, K.R., J. Ress-George. 2006a. Reclassification of an isolate of *Guignardia citricarpa* from New Zealand as *Guignardia mangiferae* by sequence analysis. Plant Pathology 55: 194-199.

Everett, K.R., J. Ress-George. 2006b. Species-specific PCR primers for *Guignardia citricarpa* and *Guignardia mangiferae*. New Zealand Plant Protection 59: 141-145.

Glienke-Blanco, C., Carlos Ivan Aguilar-Vidoso, Maria LÚcia Carneiro Vieira, Paulo Augusto Vianna Barroso and João LÚcio Azevedo. 2002. Genetic variability in the endophytic fungus *Guignardia citricarpa* isolated from citrus plants. Genetics and Molecular Biology, 25 (2): 251-255.

Gonzlez, M. S. and Rondn. 2005. First Report of *Guignardia psidii*, an Ascigerous State of *Phyllosticta psidiicola*, Causing Fruit Rot on Guava in Venezuela. Plant Dis. 89:773

Kiely, T.B. 1949. Black spot of citrus in New South Wales coastal orchards. Agricultural Gazette of New South Wales 60: 17-20.

Kotzé, J., M., 2000. Black spot. Pages 23-25 in : Compendium of Citrus Diseases 2nd ed. L.W.Timmer, S. M. Garnsey, and J. H. Graham, eds. The American Phytopathological Society, St. Paul,MN.

Meyer, G. M., Sanders, R. Jacobs, and L. Korsten. 2006. A One-Day Sensitive Method to Detect and Distinguish Between the Citrus Black Spot Pathogen *Guignardia citricarpa* and *Guignardia mangiferae*. Plant Dis. 90:97-101.

Punithalingam, E and Holliday, P. 1975. *Guignardia musae*. No. 467 *In:* CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, UK.

Sivanesan, A and P. Holliday. 1981. *Guignardia bidwelli*. No. 710 *In*: CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, U.K.

Sutton, B.C and J.M Waterson. 1966. *Guignardia citricarpa*. No. 85 *In*: CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. Commonwealth Mycological Institue. Ferry Lane, Kew, Surrey, UK.

Van der Aa HA. 1973. Studies in *Phyllosticta*. Studies in Mycology 5, 110pp.

ศึกษาการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Controlling Phytophthora Root Rot and Stem Rot of Durian by Antagonistic Microorganism

นลินี ศิวากรณ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนนับเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการปลูกทุเรียนมากในจังหวัดจันทบุรี โดยพบสวนทุเรียนเกิดโรครากเน่าและโคนเน่าระบาดรุนแรงบริเวณโคนต้นเหนือดินและกระจายเป็นหย่อมๆ บนลำต้นส่วนที่อยู่สูงจากดินถึงยอด ลักษณะอาการเป็นรอยช้ำฉ่ำน้ำ เมื่อลอกผิวเปลือกจะพบแผลฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเป็นทางตามรอยเนื้อไม้ ต้นที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตน้อย ใบร่วงและยืนแห้งต้นตายได้ จากการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนพบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* Butler(1919) เชื้อรานี้สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารPDA เส้นใยสีขาว ไม่มีผนังกั้น sporangium มีลักษณะรูปลูกแพร์ หรือรูปไข่ ขนาด 20.24-35.42 x 45.54-70.84 µm (29.18 X 52.62 µm) โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของ sporangium(a long-breadth ratio) เป็น 1.80 ภายใน sporangium มี zoospore จำนวนมากและจะถูกปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน (papilla) เชื้อสร้าง chlamydospore รูปร่างกลม มีผนังหนาขนาด 45.54 – 60.72 µm (50.43 µm) เชื้อที่แยกได้ทำให้ใบทุเรียนที่ทำแผลวางเชื้อเป็นโรคโดยมีอาการช้ำฉ่ำน้ำภายใน 4 วัน จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ จำนวน 51 ไอโซเลท พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. palmivora* ซึ่งแยกได้จากแปลงปลูกทุเรียน ในจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ไอโซเลท 5908, 5912 , 5907 และ 5913 สร้างวงใสกว้างขนาด 10.3, 10.1, 9.9 และ 8.8 มม. ตามลำดับ ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จากแปลงปลูกส้มโอ ได้แก่ ไอโซเลท 5807-2, 5805 และ 5806 สร้างวงใสกว้างขนาด 9.1, 8.7 และ 8.4 มม. ตามลำดับ

รหัสโครงการ 01-09-49-02

คำนำ

ทุเรียน (Durian) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Durio zibethinus* Murr อยู่ในวงศ์ (Family) Bombacaceae เชื่อว่าทุเรียนมีถิ่นกำเนิดแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ทุเรียนในประเทศไทยเข้าใจว่าคงนำพันธุ์มาจากมาเลเซียเข้ามาปลูกในสมัยกรุงศรีอยุธยาและในระยะแรกคือทุเรียนพันธุ์พื้นเมือง(มนัส.2545) ในปัจจุบันทุเรียนจัดเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ จนได้รับการยกย่องให้เป็น" ราชาแห่งผลไม้" (นายดำ,2535) พันธุ์ที่ชาวสวนนิยมปลูกมากที่สุดคือหมอนทอง (53.98 %) ชะนี(37.30 %) ก้านยาว(5.75%) กระดุม(2.97 %) (นิรนาม, 2535) ในปี 2550 ไทยส่งออกทุเรียนปริมาณ 170,998 เมตริกตัน มูลค่า 3,064.875 ล้านบาท โดยส่งออกเป็นทุเรียนสด แช่แข็งและแปรรูป (อบแห้งและกวน) (นิรนาม,2550)

โรครากเน่าและโคนเน่าเป็นโรคที่มีมานานมากกว่า 30 ปีและสร้างความเสียหายตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันมากกว่า 40,000 ไร่ (นิรนาม,2537) การป้องกันกำจัดมีหลายวิธี ถึงแม้จะใช้ต้นตอต้านทานโรคร่วมกับการใช้สารเคมี การระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนก็ยังคงเกิดขึ้นอยู่เป็นประจำ ซึ่งการใช้สารเคมีสามารถควบคุมโรคได้ในระยะสั้นๆ เท่านั้น การควบคุมโดยชีววิธีเป็นอีกทางเลือกหนึ่งซึ่งจะนำมาใช้ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า ซึ่งในปัจจุบันมีการจำหน่ายเชื้อราไตรโคเดอร์มาช่วยลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า แต่การระบาดของโรคก็ยังคงมีอยู่และยังเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการปลูกทุเรียน ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่น ๆ ที่เฉพาะเจาะจงซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน เพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ให้เกษตรกรมีทางเลือกและวิธีการที่ดีในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน, ต้นทุเรียนและดินปลูก
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ RNV, PDA, PSA, น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ แอลกอฮอล์
3. กล้องจุลทัศน์ และวัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1 การแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน

1.1. สำรวจหาแหล่งปลูกทุเรียนที่มีการระบาดของโรครากเน่าและโคนเน่า

1.2. ทำการแยกเชื้อจากต้นทุเรียนที่เป็นโรคในแปลงปลูก โดยใช้มีดขูดลอกผิวเปลือกภายนอกบริเวณที่เป็นโรคทิ้ง

1.3 ใช้มีดที่สะอาดลอกบริเวณเนื้อเยื่อภายในที่เป็นโรคและตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 2 - 3 มม. และนำไปวางบนอาหารเฉพาะ RNV

1.4 จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-4 วัน สังเกตุดูเส้นใยของเชื้อราสาเหตุเจริญเติบโตขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RNV

1.5 นำเส้นใยของเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ในข้อ1.4 มาเลี้ยงขยายบนจานอาหาร PDA

2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุที่แยกได้

2.1 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา

1. ใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อลอกเอาเส้นใยของเชื้อราสาเหตุซึ่งเลี้ยงขยายบนจานอาหารในข้อ1.5 นำมาแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อที่ใส่ในจานอาหาร

2. นำจานอาหารที่มีเชื้อราสาเหตุในข้อ1 เข้าตู้เย็นที่อุณหภูมิ 18^{0}ซ. เป็นเวลา 1 ชม.

3. จากนั้นนำเส้นใยของเชื้อสาเหตุมาเขี่ยเชื้อลงบนแผ่นสไลด์เพื่อตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโดยตรวจและวัดขนาดของ sporangium, chlamydospore จำนวน 50 สปอร์ และหาค่าเฉลี่ย

2.2 ศึกษาความสามารถของเชื้อที่แยกได้ในการทำให้เกิดโรค

1. ตัดชำใบทุเรียนแล้วใช้สำลีพันก้านใบด้วยวิธี detached leaf จากนั้นนำมาวางในกล่องพลาสติกใสที่มีกระดาษฟางที่เปียกวางให้ความชื้น

2. นำ cork borer มาเจาะทำแผลบนใบทุเรียนโดยทำแผลระหว่างเส้นกลางใบทั้งสองข้างๆ ละ 1 จุด

3. นำ cork borer มาเจาะบนเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ที่เลี้ยงบนจานอาหารในข้อ 1.5 แล้วนำไปวางบนใบทุเรียนที่จุดแผลเตรียมไว้ในข้อ 2 ข้างละ 1 ชิ้น

4. ส่วน control นำอาหารที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อมาเจาะวางบนใบทุเรียนโดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2 และ 3

5. ตรวจผลการทำให้เกิดโรคบนแผลที่ปลูกเชื้อราสาเหตุและ control

3. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

3.1 โดยวิธีบด

1. นำใบทุเรียนและส้มโอมาล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 1 กรัมบดกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มล.

2. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

3. .ใช้เข็มเขี่ยหัวกลม (loop) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแตะในน้ำใบทุเรียนและส้มโอบดในข้อ1 แล้วนำมาลากบนจานอาหาร PDA ที่เลี้ยงเชื้อราสาเหตุในข้อ 2 โดยลากไปรอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุ จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน

4. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการสร้างบริเวณยับยั้งรอบเชื้อเก็บใส่หลอดอาหาร PSA

5. นำเชื้อที่คัดเลือกแล้วในข้อ 4 มาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี cross streak เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว (single colony) และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหาร PSA เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2 โดยวิธีตัดชิ้นใบ

1. นำตัวอย่าใบทุเรียนมาตัดให้มีขนาด 3-5 มม. และนำมาล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

2. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

3. นำใบทุเรียนในข้อ1 มาวางบนขอบจานอาหารที่เลี้ยงเชื้อราสาเหตุในข้อ 2 จานละ 4 จุด รอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุและบ่มไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน

4. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการสร้างบริเวณยับยั้งรอบเชื้อเก็บใส่หลอดอาหาร PSA

5. นำเชื้อที่คัดเลือกแล้วในข้อ 4 มาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี cross streak เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว (single colony) และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหาร PSA เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

3.3 การแยกเชื้อจากดิน

1. นำตัวอย่างดินมา 1 กรัมใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มล.แล้วนำมาปั่นด้วยเครื่อง vortex mixer

2. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

3. .ใช้เข็มเขี่ยหัวกลม (loop) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแตะในสารละลายของดินในข้อ1 แล้วนำมาลากบนจานอาหาร PDA ที่เลี้ยงเชื้อราสาเหตุในข้อ 2 โดยลากไปรอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุ จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน

4. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการสร้างบริเวณยับยั้งรอบเชื้อเก็บใส่หลอดอาหาร PSA

5. นำเชื้อที่คัดเลือกแล้วในข้อ 4 มาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยวิธี cross streak เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว (single colony)และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหาร PSA เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

4. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า

4.1 เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าที่แยกได้บนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

4.2 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในหลอดอาหาร PSA เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาใส่น้ำ 9 มล. และขูดเชื้อออกจากอาหาร แล้วนำมาปั่นให้เข้ากันด้วย vortex mixer

4.3 นำกระดาษทดสอบ (paper disc) ที่นึ่งฆ่าเชื้อมาวางที่ขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมในข้อ 4.1 โดยวางให้ห่างจากขอบจานอาหารทั้ง 4 ด้านด้านละ 1.5 ซม.

4.4 ดูดสารละลายเชื้อในข้อ 4.2 ด้วย micro pipette จำนวน 1 ไมโครลิตร มาหยดบนกระดาษทดสอบที่วางบนจานอาหารแต่ละจุดในข้อ 4.3

4.5 ในกรรมวิธีเปรียบเทียบจะดูดน้ำนึ่งฆ่าเชื้อและดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 4.4

4.6 นำจานอาหารในข้อ 4.4 และ4.5 มาบ่มที่อุณหภูมิห้องจนเส้นใยของเชื้อราสาเหตุในกรรมวิธีเปรียบเทียบเจริญเติบโตเต็มจานอาหาร

4.7 ทำการตรวจวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุ เส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และบริเวณยับยั้ง

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2550 – กันยายน 2551

สถานีทดลองพืชสวนจันทบุรีและแหล่งปลูกทุเรียนของเกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี

ห้องปฏิบัติงานกลุ่มเทคโนโลยีการจัดการโรคพืช สอพ. กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1 การแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน จากการสำรวจแหล่งปลูกทุเรียนในจันทบุรี พบโรครากเน่าและโคนเน่าระบาดรุนแรง โดยแสดงอาการให้เห็นได้อย่างเด่นชัดตั้งแต่บริเวณโคนต้นเหนือดินและกระจายเป็นหย่อมๆ บนลำต้นส่วนที่อยู่สูงจากดินถึงยอด โดยพบมีรอยช้ำฉ่ำน้ำ เมื่อลอกผิวเปลือกจะพบแผลฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเป็นทางตามรอยเนื้อไม้ ต้นที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตน้อย ใบร่วงและยืนแห้งต้นตายได้

2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุที่แยกได้

2.1 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา จากการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนพบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา*Phytophthora palmivora* Butler(1919) เชื้อรานี้สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารPDA โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารใช้เวลา 7 วัน สร้างเส้นใยสีขาว ไม่มีผนังกั้น sporangium มีลักษณะรูปลูกแพร์ หรือรูปไข่ ขนาด 20.24-35.42 x 45.54-70.84 µm (29.18 X 52.62 µm) โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของ sporangium(a long-breadth ratio) เป็น 1.80 ภายใน sporangium มี zoospore จำนวนมากและจะถูกปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน (papilla) zoospore จะว่ายน้ำเพื่อหาพืชอาศัยและเจริญเติบโตสร้างเส้นใยเข้าทำลายพืชต่อไป เชื้อสร้าง chlamydospore รูปร่างกลม มีผนังหนาขนาด 45.54 – 60.72 µm (50.43 µm)

2.2 ศึกษาความสามารถของเชื้อที่แยกได้ในการทำให้เกิดโรค เชื้อที่แยกได้ทำให้ใบทุเรียนที่ทำแผลวางเชื้อเป็นโรคโดยมีอาการช้ำฉ่ำน้ำภายใน 4 วัน ส่วน control ไม่เป็นโรคใบยังคงปกติ

3. **การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์** จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากแหล่งปลูกทุเรียนในจังหวัดจันทบุรี ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีการสร้างวงใสขึ้นล้อมรอบเชื้อ *P. palmivora* และเชื้อที่ขึ้นปะปนบนอาหารโดยแยกได้จากทุเรียนจำนวน 27 ไอโซเลท และแยกได้จากส้มโอจำนวน 24 ไอโซเลท

4. **ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า** พบว่า จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ จำนวน 51 ไอโซเลท พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. palmivora* ซึ่งแยกได้จากแปลงปลูกทุเรียน ในจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ไอโซเลท 5908, 5912 , 5907 และ 5913 สร้างวงใสกว้างขนาด 10.3, 10.1, 9.9 และ 8.8 มม. ตามลำดับ ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จากแปลงปลูกส้มโอ ได้แก่ ไอโซเลท 5807-2, 5805 และ 5806 สร้างวงใสกว้างขนาด 9.1, 8.7 และ 8.4 มม. ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในไอโซเลทต่าง ๆ ที่แสดงปฏิกิริยายับยั้งต่อเชื้อราสาเหตุ *P. palmivora* (ตารางที่ 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

โรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนนับเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการปลูกทุเรียนมากในจังหวัดจันทบุรี โดยพบสวนทุเรียนเกิดโรครากเน่าและโคนเน่าระบาดรุนแรงบริเวณโคนต้นเหนือดินและกระจายเป็นหย่อมๆ บนลำต้นส่วนที่อยู่สูงจากดินถึงยอด โดยพบมีรอยช้ำฉ่ำน้ำ เมื่อลอกผิวเปลือกจะพบแผลฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเป็นทางตามรอยเนื้อไม้ ต้นที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตน้อย ใบร่วงและยืนแห้งต้นตายได้ จากการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนพบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* Butler(1919) เชื้อรานี้สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารPDA โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารใช้เวลา 7 วัน สร้างเส้นใยสีขาว ไม่มีผนังกั้น sporangium มีลักษณะรูปลูกแพร์หรือรูปไข่ ขนาด 20.24-35.42 x 45.54-70.84 µm (29.18 X 52.62 µm) โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของ sporangium(a long-breadth ratio) เป็น 1.80 ภายใน sporangium มี zoospore จำนวนมากและจะถูกปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน (papilla) เชื้อสร้าง chlamydospore รูปร่างกลม มีผนังหนาขนาด 45.54 – 60.72 µm (50.43 µm) เชื้อที่แยกได้ทำให้ใบทุเรียนที่ทำแผลวางเชื้อเป็นโรคโดยมีอาการช้ำฉ่ำน้ำภายใน 4 วัน จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ จำนวน 51 ไอโซเลท พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. palmivora* ซึ่งแยกได้จากแปลง

ปลูกทุเรียน ในจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ไอโซเลท 5908, 5912 , 5907 และ 5913 สร้างวงใสกว้างขนาด 10.3, 10.1, 9.9 และ 8.8 มม. ตามลำดับ ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จากแปลงปลูกส้มโอ ได้แก่ ไอโซเลท 5807-2, 5805 และ 5806 สร้างวงใสกว้างขนาด 9.1, 8.7 และ 8.4 มม. ตามลำดับ

ตารางที่1 ปฏิกิริยาของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน

ไอโซเลท	แหล่งปลูก/พืช	ปฏิกิริยาการยับยั้ง (%)	บริเวณวงใส (มม.)
5901	จันทบุรี/ทุเรียน	41.63	1.3
5902	จันทบุรี/ทุเรียน	8.57	0
5903	จันทบุรี/ทุเรียน	65.54	7.3
5904	จันทบุรี/ทุเรียน	64.54	7.4
5905	จันทบุรี/ทุเรียน	5.98	0
5906	จันทบุรี/ทุเรียน	66.73	7.3
5907	จันทบุรี/ทุเรียน	64.74	9.9
5908	จันทบุรี/ทุเรียน	65.14	10.3
5909	จันทบุรี/ทุเรียน	4.58	0
5910	จันทบุรี/ทุเรียน	63.15	5.8
5911	จันทบุรี/ทุเรียน	26.69	0
5912	จันทบุรี/ทุเรียน	63.75	10.1
5913	จันทบุรี/ทุเรียน	64.34	8.8
5919	จันทบุรี/ทุเรียน	54.98	6.5
5920	จันทบุรี/ทุเรียน	54.98	6.7
5921	จันทบุรี/ทุเรียน	40.04	0
5922	จันทบุรี/ทุเรียน	55.58	6.1
5923	จันทบุรี/ทุเรียน	51.99	7.1
5926	จันทบุรี/ทุเรียน	52.99	5.9
5927	จันทบุรี/ทุเรียน	53.59	5.0
5928	จันทบุรี/ทุเรียน	46.22	4.6
5930	จันทบุรี/ทุเรียน	54.98	0
5932	จันทบุรี/ทุเรียน	51.59	7.0
5933	จันทบุรี/ทุเรียน	25.90	0
5934	จันทบุรี/ทุเรียน	56.77	7.5
5935	จันทบุรี/ทุเรียน	39.44	0

ไอโซเลท	แหล่งปลูก/พืช	ปฏิกิริยาการยับยั้ง (%)	บริเวณวงใส (มม.)
5936	จันทบุรี/ทุเรียน	36.65	0
5803	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	54.78	7.1
5804	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	67.53	7.0
5805	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.14	8.7
5806	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.93	8.4
5807-1	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.73	7.9
5807-2	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	67.53	9.1
5808-1	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.14	7.7
5808-2	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.14	7.5
5808-3	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.14	7.3
5809-1	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	68.13	6.8
5813	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	17.73	0
5814	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	42.23	0
5815	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	0.60	0
5816	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	1.79	0
5817	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	10.76	0
5818	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	16.73	0
5819	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	5.18	0
5820	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	1.79	0
5821	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	3.78	0
5822	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	58.96	0
5823	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	7.17	0
5824	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	54.58	6.7
5825	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	53.39	5.1
5826	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	55.18	4.8

เอกสารอ้างอิง

มนัส ดาเกลี้ยง. 2545. พันธุ์ทุเรียนเมืองลับแล. คณะ เกษตรศาสตร์และสิ่งแวดล้อม สถาบันราชภัฏอุตรดิตถ์. 17 หน้า

นายดำ ฉิ่งสุวรรณโรจน์. 2535. การผลิตผลไม้นอกฤดูกาลและการบำรุงรักษา.สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย.128 หน้า.

นิรนาม. 2535. การผลิตผลไม้นอกฤดูกาลและการบำรุงรักษา.สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย. 128 หน้า.

นิรนาม. 2537. ทุเรียน. หน้า 38-39 *ใน*:กลุ่มไม้ผล.รายงานประจำปี 2537 สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

นิรนาม. 2550. การส่งออกสินค้าเกษตรไทย ตอนที่2. หน้า19. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศปี2550. ศูนย์สาระสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.

การจัดการวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวานในสภาพไร่

Weed Management in Sweet Sorghum Production in Upland Condition

คมสัน นครศรี จรัญญา ปิ่นสุภา
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การใช้สารกำจัดวัชพืชหลังวัชพืชงอกในการปลูกข้าวฟ่างหวาน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบการใช้สาร atrazine, butachlor, thiobencarb, oxyfluorfen, pendimethalin, quinclorac, dimethenamid, propanil, quinclorac+2,4-D, quinclorac+oxyfluorfen, quinclorac+pendimethalin และ 2,4-D+pendimethalin อัตรา 360, 300, 560, 30, 108, 320, 30+160, 30+80, 30+270 และ 160+270 กรัม ai/ไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับวิธีกำจัดวัชพืชด้วยมือ และวิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการทดลองที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จ. กาญจนบุรี ระหว่างเดือน เมษายน – ตุลาคม 2551 พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ใช้หลังวัชพืช 7 วัน ได้แก่ atrazine, butachlor, thiobencarb, pendimethalin, dimethrnamid และที่ใช้หลังวัชพืชงอกแล้ว 12 วัน ได้แก่ quinclorac, propanil, quinclorac+2,4-D, quinclorac+pendimethalin และ 2,4-D+pendimethalin เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวานเพียงเล็กน้อย การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมวัชพืชได้ในระดับปานกลางถึงดี วิธีการใช้สาร atrazine, oxyfluorfen และ propanil มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยกว่า การใช้สาร atrazine ข้าวฟ่างหวานมีความสูงมากที่สุด กรรมวิธีการทดลองให้จำนวนต้น ค่าความหวาน น้ำหนัก 100 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดต่อไร่ไม่แตกต่างกัน ส่วนการใช้สาร atrazine, propanil, dimethenamid, butachlor, pendimethalin และ การกำจัดวัชพืชด้วยมือให้น้ำหนักต้นมากที่สุด คือ 4,503.4, 3,978.3, 3,969.4, 3,889.3, 3,684.6 และ 3,604.5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

คำนำ

ข้าวฟ่างมีแหล่งปลูกในจังหวัดลพบุรี นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ สระบุรี สระแก้ว กาญจนบุรี ชัยนาท สุพรรณบุรี นครราชสีมา และ จันทบุรี เกษตรกรส่วนใหญ่ปลูกข้าวฟ่างช่วงปลายฤดูฝนหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แล้ว การปลูกข้าวฟ่าง ในปัจจุบันได้นำเอาผลผลิตเมล็ดมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ทดแทนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (นิรนาม,2546) จากสภาวการณ์ปัจจุบันที่

รหัสโครงการ 10-01-49-01

ราคาน้ำมันเริ่มสูงขึ้นรัฐบาลได้มีนโยบายหาพลังงานอื่นมาทดแทน เช่น พลังงานจากชีวมวล (Biomass) ซึ่งได้แก่ ปาล์มน้ำมัน มันสำปะหลัง อ้อย และ ข้าว เพื่อนำมาผลิตเอธิลแอลกอฮอล์ อย่างไรก็ตาม 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 ที่สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีในการปลูกข้าวฟ่างหวานในการจัดทำคู่มือคำแนะนำ สำหรับเกษตรกร 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) atrazine	อัตรา 360 กรัมai/ไร่
2) butachlorn	อัตรา 300 กรัมai/ไร่
3) thiobencarb	อัตรา 560 กรัมai/ไร่
4) oxyfluorfen	อัตรา 80 กรัมai/ไร่
5) pendimethalin	อัตรา 300 กรัมai/ไร่

6) quinclorac อัตรา 30 กรัมai/ไร่
7) dimethenamid อัตรา 108 กรัมai/ไร่
8) propanil อัตรา 320 กรัมai/ไร่
9) quinclorac+2,4-D อัตรา 30+160 กรัมai/ไร่
10) quinclorac+oxyfluorfen อัตรา 30+80 กรัมai/ไร่
11) quinclorac+pendimethalin อัตรา 30+270 กรัมai/ไร่
12) 2,4-D+pendimethalin อัตรา 160+270 กรัมai/ไร่
13) กำจัดวัชพืชด้วยมือ
14) วิธีไม่กำจัดวัชพืช

การปฏิบัติการทดลองโดยใช้แปลงขนาด 3x6 เมตร ระยะระหว่างแถว 50 ซม. ระหว่างหลุม 25 ซม. ปลูก 3-5 เมล็ดต่อหลุม หลังข้าวฟ่างงอกแล้ว 7 วัน จึงพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช atrazine, butaclor, thiobencarb, oxyfluorfen และ pendimethalin ตามอัตราที่กำหนด และพ่นสาร quinclorac, propanil, quinclorac+2,4-D, quinclorac+oxyfluorfen, quinclorac+pendimethalin และ 2,4-D+pendimethalin ตามอัตราที่กำหนด หลังจากข้าวฟ่างหวานงอกแล้ว 12 วัน หลังจากเมล็ดงอกแล้ว 15 วัน ถอนให้เหลือหลุมละ 2 ต้น และกำจัดวัชพืชด้วยมือ หลังปลูก 30 วัน หลังปลูก 2 สัปดาห์ ถอนต้นข้าวฟ่างหวานเหลือ 2 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กก./ไร่ หลังปลูก 30 วัน ใช้สารป้องกันโรคและแมลงตามความจำเป็น บันทึกข้อมูลความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช หลังพ่นสาร 15 วัน เก็บตัวอย่างวัชพืช หลังปลูก 45 วัน การเจริญเติบโตด้านความสูง และผลผลิตข้าวฟ่างหวาน

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองในระหว่างเดือน เมษายน – ตุลาคม 2551 ที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จ. กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชหลังพ่น 15 วัน พบว่า สาร atrazine ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน ส่วนสารกำจัดวัชพืชที่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวานเพียงเล็กน้อย ได้แก่ สาร butachlor, thiobencarb, pendimethalin, quinclorac, dimethrnamid, propanil, quinclorac+2,4-D, quinclorac+pendimethalin และ 2,4-D+pendimethalin ซึ่งมีระดับคะแนนอยู่ระหว่าง 1.3-3 ขณะสารกำจัดวัชพืช oxyfluorfen และ quinclorac+oxyfluorfen เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวานในระดับปานกลาง มีคะแนนที่ประเมินด้วยสายตาอยู่ระหว่าง 5.7-6 (ตารางที่ 1) ส่วนประประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสามารถควบคุม

วัชพืชได้ในระดับปานกลางถึงดี โดยสารกำจัดวัชพืช atrazine, oxyfluorfen, propanil, quinclorac+oxyfluorfen และ quinclorac+pendimethalin ควบคุมวัชพืชได้ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 7.3-9.5 ส่วนสารกำจัดวัชพืชที่เหลือควบคุมวัชพืชได้ปานกลางมีคะแนนอยู่ระหว่าง 5.0-6.7 (ตารางที่ 1)

การสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืชที่ระยะ 45 วัน หลังปลูก พบว่า กรรมวิธีการใช้สาร atrazine, oxyfluorfen และ propanil มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยกว่า โดยมีน้ำหนักแห้ง 36.0, 40.0 และ 42.0 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช ที่มีน้ำหนักแห้ง 157.3 กรัมต่อตารางเมตร เนื่องจากสารทั้ง 3 ชนิด คือ atrazine, oxyfluorfen และ propanil สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีมีน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) วัชพืชที่พบได้แก่ หญ้านกสีชมพู(*Echinochloa colona* (L.) Link) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gard & Hubb.) หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* Linn.) ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pestigridis* Linn.)

การเจริญเติบโตด้านความสูงของข้าวฟ่างหวานที่ระยะเก็บเกี่ยว พบว่า การใช้สาร atrazine ข้าวฟ่างหวานมีความสูงมากที่สุด คือ 281.7 เซนติเมตร แต่ก็ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชวิธีอื่นยกเว้นกรรมวิธีการใช้สาร oxyfluorfen และ quinclorac+oxyfluorfen ที่มีความสูงของต้นข้าวฟ่างหวานน้อยกว่า คือ 221.7 และ 233.0 เซนติเมตร ตามลำดับ อาจเป็นเพราะความเป็นพิษของสาร oxyfluorfen ต่อข้าวฟ่างหวาน (ตารางที่ 1) จึงมีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าวฟ่างหวาน ส่วนกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชข้าวฟ่างหวานมีความสูง 232.3 เซนติเมตร สำหรับจำนวนต้นข้าวฟ่างหวานที่ระยะเก็บเกี่ยว พบว่า กรรมวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีมีจำนวนต้นข้าวฟ่างหวานไม่แตกต่างกัน โดยวิธีการกำจัดวัชพืชมีจำนวนต้นข้าวฟ่างหวานอยู่ระหว่าง 7,921 – 16,188 ต้นต่อไร่ ขณะวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีจำนวนต้นข้าวฟ่างหวาน 7,654 ต้นต่อไร่ (ตารางที่ 2)

สำหรับเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้น พบว่า กรรมวิธีการทดลองมีเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 1.59 – 1.97 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) ส่วนน้ำหนักลำต้นภายหลังตัดช่อดอกและใบออกแล้ว พบว่า ทุกกรรมวิธีการทดลองมีน้ำหนักต้นข้าวฟ่างหวานไม่แตกต่างกัน โดยการใช้สาร oxyfluorfen, quinclorac+oxyfluorfen และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักลำต้นน้อย คือ 2,696.7, 2,411.9 และ 2,376.3 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่เหลือมีน้ำหนักลำต้นเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 2,999.3 – 4,503.4 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งการใช้สาร atrazine, propanil, dimethenamid, butachlor, pendimethalin และ การกำจัดวัชพืชด้วยมือ มีน้ำหนักต้น 4,503.4, 3,978.3, 3,969.4, 3,889.3, 3,684.6 และ 3,604.5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ขณะข้าวฟ่างหวานพันธุ์ เรย์ ริโอ้ และ สุพรรณบุรี 1 มีน้ำหนักต้นสดโดยเฉลี่ย 4.7, 4.7 และ 3.8 ตันต่อไร่ ตามลำดับ (กนกทิพย์, 2547)

การวัดค่าความหวาน (^{0}Brix) ของข้าวฟ่างหวาน พบว่า กรรมวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีให้ค่าความหวานไม่แตกต่างกัน มีค่าอยู่ระหว่าง 14.7 – 19.7 ขณะค่าความหวานของข้าวฟ่างหวานพันธุ์ เรย์ ริโอ้ และ สุพรรณบุรี 1 มีค่าความหวานเฉลี่ย 19.6, 18.3 และ 15.0 ตามลำดับ (กนกทิพย์, 2547) น้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ดของข้าวฟ่างหวาน พบว่า กรรมวิธีการกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีให้น้ำหนัก 100 เมล็ดไม่แตกต่างกัน ซึ่งอยู่ระหว่าง 1.50 – 2.33 กรัม โดยกรรมวิธีการใช้สาร butachlor ให้น้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุด คือ 2.33 กรัม ขณะวิธีไม่กำจัดวัชพืช เมล็ด 100 เมล็ด มีน้ำหนัก 1.33 กรัม ขณะน้ำหนัก 100 เมล็ดของข้าวฟ่างหวานพันธุ์ เรย์ ริโอ้ และ สุพรรณบุรี 1 มีเฉลี่ย 2.13, 1.97 และ 2.99 ตามลำดับ (กนกทิพย์, 2547) สำหรับน้ำหนักเมล็ดต่อไร่ พบว่า กรรมวิธีการทดลองไม่ทำให้น้ำหนักเมล็ดต่อไร่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่า กรรมวิธีที่ใช้สาร oxyfluorfen, quinclorac+oxyfluorfen และ วิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักเมล็ดน้อย คือ 58.3, 56.8 และ 62.4 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อข้าวฟ่างหวาน (ตารางที่ 1) และมีวัชพืชมาก (ตารางที่ 2) นอกจากนั้นยังพบอีกว่า ช่วงที่เมล็ดข้าวฟ่างหวานเริ่มแก่จนถึงช่วงเวลาเก็บเกี่ยวจะมีนกเข้ามากินเมล็ดข้าวฟ่างหวานบนช่อดอก จึงอาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ได้ผลผลิตเมล็ดข้าวฟ่างหวานน้อย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้สารกำจัดวัชพืชหลังวัชพืชงอกในการปลูกข้าวฟ่างหวาน พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ใช้หลังวัชพืช 7 วัน ได้แก่ atrazine, butachlor, thiobencarb, pendimethalin, dimethrnamid และที่ใช้หลังวัชพืชงอกแล้ว 12 วัน ได้แก่ quinclorac, propanil, quinclorac+2,4-D, quinclorac+pendimethalin และ 2,4-D+pendimethalin เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวานเพียงเล็กน้อย การใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมวัชพืชได้ในระดับปานกลางถึงดี วิธีการใช้สาร atrazine, oxyfluorfen และ propanil มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยกว่า การใช้สาร atrazine ข้าวฟ่างหวานมีความสูงมากที่สุด กรรมวิธีการทดลองให้จำนวนต้น ค่าความหวาน น้ำหนัก 100 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดต่อไร่ไม่แตกต่างกัน ส่วนการใช้สาร atrazine, propanil, dimethenamid, butachlor, pendimethalin และ การกำจัดวัชพืชด้วยมือให้น้ำหนักต้นมากที่สุด คือ 4,503.4, 3,978.3, 3,969.4, 3,889.3, 3,684.6 และ 3,604.5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2547. ปลูกข้าวฟ่างหวานเพื่อตัดต้นผลิตเอธานอล. ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี กรมวิชาการเกษตร. 6 หน้า

นิรนาม. 2538. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช ปี 2538. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 144 หน้า.

นิรนาม. 2546. ข้าวฟ่าง. หน้า 239-245. *ใน* : สรุปรายงานผลงานวิจัยพืชไร่ 2546. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร.

ประสิทธิ์ ใจศิลป์. 2547. เอกสารคำแนะนำการปลูกข้าวฟ่างหวานเพื่อผลิตเอทานอล. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 3 หน้า. 29 พ.ย. 2547 (http://agserver.kku.ac.th/project/data-p,)

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช หลังพ่น 15 วัน

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	คะแนนความเป็นพิษต่อพืชปลูก[1/]	คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช[2/]
atrazine	360	0.0	9.2
butachlor	300	1.3	6.3
thiobencarb	560	3.0	5.0
oxyfluorfen	80	9.0	9.5
pendimethalin	300	3.0	6.0
quinclorac	30	2.3	5.3
dimethenamid	108	2.0	6.3
propanil	320	1.3	8.0
quinclorac+2,4-D	30+160	1.3	6.7
quinclorac+oxyfluorfen	30+80	5.7	7.7
quinclorac+pendimethalin	30+270	2.7	7.3
2,4-D+pendimethalin	160+270	2.0	6.0
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	-	-
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	-	-

1/ คะแนนความเป็นพิษต่อพืชปลูก

0 = ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก
1 – 3= เป็นพิษต่อพืชปลูกเล็กน้อย
4 – 6 = เป็นพิษต่อพืชปลูกปานกลาง
7 – 9 = เป็นพิษต่อพืชปลูกรุนแรง
10 = พืชปลูกตายหมด

2/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้
1 – 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย
4 – 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง
7 – 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี
10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 น้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 45 วันหลังปลูก ความสูงข้าวฟ่างหวาน และจำนวนต้นขณะเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	น้ำหนักแห้งวัชพืช[2/] (กรัม/ตร.ม.)	ความสูงต้นข้าวฟ่างหวาน (ซม.)	จำนวนต้นข้าวฟ่างหวาน (ต้น/ไร่)
atrazine	360	36.0a[1/]	281.7a	16,188a
butachlor	300	95.3ab	257.3abc	16,020a
thiobencarb	560	106.0ab	247.3abc	12,549a
oxyfluorfen	80	40.0a	221.7c	9,612a
pendimethalin	300	58.0ab	261.0abc	16,020a
quinclorac	30	131.3ab	260.0abc	12,638a
dimethenamid	108	65.3ab	263.0abc	15,845a
propanil	320	42.0a	269.3ab	14,685a
quinclorac+2,4-D	30+160	142.0b	260.7abc	10,130a
quinclorac+oxyfluorfen	30+80	127.3ab	233.0bc	7,921a
quinclorac+pendimethalin	30+270	73.3ab	245.0abc	15,397a
2,4-D+pendimethalin	160+270	123.3ab	249.7abc	10,638a
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	78.7ab	250.3abc	15,931a
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	157.3b	232.3bc	7,654a
CV (%)		55.6	9.1	42.5

1/ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดย DMRT

2/ วัชพืชที่พบ ได้แก่

1. หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link)
2. หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gard & Hubb.)
3. หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* Linn.)
4. ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pestigridis* Linn.)

ตารางที่ 3 เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นขณะเก็บเกี่ยว และน้ำหนักต้นข้าวฟ่างหวาน

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (ซม.)	น้ำหนักต้น (กก./ไร่)
atrazine	360	1.72a[1/]	4,503.4a
butachlor	300	1.89a	3,889.3a
thiobencarb	560	1.97a	3,471.0a
oxyfluorfen	80	1.59a	2,696.7a
pendimethalin	300	1.93a	3,684.6a
quinclorac	30	1.65a	3,186.2a
dimethenamid	108	1.96a	3,969.4a
propanil	320	1.81a	3,978.3a
quinclorac+2,4-D	30+160	1.59a	3,355.3a
quinclorac+oxyfluorfen	30+80	1.89a	2,411.9a
quinclorac+pendimethalin	30+270	1.78a	2,999.3a
2,4-D+pendimethalin	160+270	1.81a	2,999.3a
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	1.65a	3,604.5a
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	1.91a	2,376.3a
CV (%)		19.5	34.3

1/ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดย DMRT

ตารางที่ 4 ค่าความหวาน(^{0}Brix) น้ำหนัก 100 เมล็ด และผลผลิตเมล็ดข้าวฟ่างหวาน

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	ค่าความหวาน (^{0}Brix)	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)	น้ำหนักเมล็ด (กก./ไร่)
atrazine	360	15.7a[1/]	2.00ab	257.2a
butachlor	300	17.0a	2.33a	178.3a
thiobencarb	560	14.7a	1.67ab	251.3a
oxyfluorfen	80	16.0a	1.50ab	58.3a
pendimethalin	300	16.3a	1.67ab	181.1a
quinclorac	30	19.7a	2.00ab	290.4a
dimethenamid	108	17.3a	1.67ab	295.6a
propanil	320	16.0a	2.11ab	237.2a
quinclorac+2,4-D	30+160	17.3a	1.67ab	194.7a
quinclorac+oxyfluorfen	30+80	16.0a	1.83ab	56.8a
quinclorac+pendimethalin	30+270	17.7a	2.00ab	222.8a
2,4-D+pendimethalin	160+270	16.7a	1.67ab	212.5a
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	15.7a	1.83ab	251.1a
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	16.0a	1.33b	62.4a
CV (%)		16.8	28.2	70.5

1/ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดย DMRT

การจัดการวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวานในสภาพนา

Weed Management in Sweet Sorghum Production in Paddyfield Condition

คมสัน นครศรี จรัญญา ปิ่นสุภา
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การใช้สารกำจัดวัชพืชหลังวัชพืชงอกในการปลูกข้าวฟ่างหวาน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบการใช้สาร butachlor, thiobencarb, quinclorac, oxyfluorfen, pendimethalin, 2,4-D, quinclorac+2,4-D, quinclorac+oxyfluorfen, quinclorac+pendimethalin และ 2,4-D+pendimethalin อัตรา 240, 560, 20,120, 192, 240, 20+240, 20+160, 30+270 และ 160+270 กรัม ai/ไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับวิธีกำจัดวัชพืชด้วยมือ และวิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการทดลองที่ ศูนย์วิจัยพืชไร่พิษณุโลก จ. พิษณุโลก ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2550 – เมษายน 2551 พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ใช้หลังวัชพืช 8 วัน ได้แก่ butachlor และ thiobencarb ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน และที่ใช้หลังวัชพืชงอกแล้ว 12 วัน ได้แก่ quinclorac, pendimethalin, 2,4-D, quinclorac+2,4-D, quinclorac+pendimethalin และ 2,4-D+pendimethalin เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวานเพียงเล็กน้อย การใช้สารกำจัดวัชพืช butachlor และ thiobencarb สามารถควบคุมวัชพืชได้ในระดับปานกลางส่วน การใช้สาร oxyfluorfen และ quinclorac+oxyfluorfen ควบคุมวัชพืชได้ดี และ มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยกว่า การใช้สาร thiobencarb ข้าวฟ่างหวานมีความสูงมากที่สุด เช่นเดียวกับเส้นผ่าศูนย์กลาง และน้ำหนักต้น ส่วนกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยมือมีจำนวนต้นข้าวฟ่างหวาน น้ำหนัก 100 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดต่อไร่มากที่สุด และกรรมวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีมีค่าความหวานไม่แตกต่างกัน

คำนำ

ข้าวฟ่างมีแหล่งปลูกในจังหวัดลพบุรี นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ สระบุรี สระแก้ว กาญจนบุรี ชัยนาท สุพรรณบุรี นครราชสีมา และ จันทบุรี เกษตรกรส่วนใหญ่ปลูกข้าวฟ่างช่วงปลายฤดูฝนหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แล้ว การปลูกข้าวฟ่าง ในปัจจุบันได้นำเอาผลผลิตเมล็ดมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ทดแทนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (นิรนาม,2546) จากสภาวการณ์ปัจจุบันที่

รหัสโครงการ 10-01-49-01

ราคาน้ำมันเริ่มสูงขึ้นรัฐบาลได้มีนโยบายหาพลังงานอื่นมาทดแทน เช่น พลังงานจากชีวมวล (Biomass) ซึ่งได้แก่ ปาล์มน้ำมัน มันสำปะหลัง อ้อย และ ข้าว เพื่อนำมาผลิตเอธิลแอลกอฮอล์ อย่างไรก็ตาม 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 ในสภาพการปลูกข้าวฟ่างหวานหลังการเก็บเกี่ยวข้าว การใช้สารกำจัดวัชพืชบางชนิดในข้าวฟ่างหวานอาจจะผลต่อการข้าวในฤดูการทำนาตามมา เช่น สาร atrazine (วิทยา,2536) และ alachlor (ธีระพล ,2541) เพื่อให้การใช้สารกำจัดวัชพืชในการปลูกข้าวฟ่างหวานหลังการเก็บเกี่ยวข้าวไม่มีผลกระทบต่อการปลูกข้าวตาม จึงควรศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชชนิดต่างๆ ที่สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีในการปลูกข้าวฟ่างหวานในการจัดทำคู่มือคำแนะนำ สำหรับเกษตรกร หรือผู้สนใจต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์การทดลองประกอบด้วย

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน พันธุ์ เรย์
2. สารกำจัดวัชพืช butachlor,thiobencarb, quinclorac, oxyfluorfen, pendimethalin และ 2,4-D
3. สารป้องกันโรคและแมลง
4. ปุ๋ยสูตร 15-15-15
5. ถุงกระดาษและป้าย

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ ประกอบด้วยกรรมวิธี 12 กรรมวิธี คือ

1. putachlor	อัตรา	240	กรัมai/ไร่
2. thiobencarb	อัตรา	560	กรัมai/ไร่

3. quinclorac	อัตรา	20	กรัมai/ไร่
4. oxyfluorfen	อัตรา	64	กรัมai/ไร่
5. pendimethalin	อัตรา	240	กรัมai/ไร่
6. 2,4-D	อัตรา	240	กรัมai/ไร่
7. quinclorac+2,4-D	อัตรา	20+240	กรัมai/ไร่
8. quinclorac+oxyfluorfen	อัตรา	20+240	กรัมai/ไร่
9. quinclorac+pendimethalin	อัตรา	20+240	กรัมai/ไร่
10. 2,4-D+pendimethalin	อัตรา	240+240	กรัมai/ไร่
11.กำจัดวัชพืชด้วยมือ			
12.ไม่กำจัดวัชพืช			

การปฏิบัติการทดลองใช้แปลงขนาด 3X5 เมตร หลังการเตรียมดินเสร็จแล้วทำการปลูกใช้ระยะระหว่างแถว 50 ซม. ระหว่างหลุม 20 ซม. ใช้เมล็ดหลุมละ 2-3 เมล็ด จึงพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช butaclor และ thiobencarb หลังข้าวฟ่างงอกแล้ว 8 วัน ตามอัตราที่กำหนด และพ่นสาร quinclorac, oxyfluorfen, pendimethalin, 2,4-D, quinclorac+2,4-D, quinclorac+oxyfluorfen, quinclorac+pendimethalin ตามอัตราที่กำหนด หลังจากข้าวฟ่างหวานงอกแล้ว 12 วัน หลังจากเมล็ดงอกแล้ว 15 วัน ถอนให้เหลือหลุมละ 2 ต้น และกำจัดวัชพืชด้วยมือ หลังปลูก 30 วัน บันทึกความเป็นพิษและประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช เก็บตัวอย่างวัชพืช การเจริญเติบโตด้านความสูง และ ผลผลิตของข้าวฟ่างหวาน

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองในระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2550 – เมษายน 2551 ที่ ศูนย์วิจัยพืชไร่พิษณุโลก จ. พิษณุโลก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชหลังพ่น 15 วัน พบว่า สาร butachlor และ thiobencarb ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน ส่วนสารกำจัดวัชพืชที่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวานเพียงเล็กน้อย ได้แก่ สาร quinclorac, pendimethalin, 2,4-D, quinclorac+2,4-D, และ quinclorac+pendimethalin ซึ่งมีระดับคะแนนอยู่ระหว่าง 1.0-2.8 ขณะสารกำจัดวัชพืช oxyfluorfen และ quinclorac+oxyfluorfen เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวานในระดับปานกลาง มีคะแนนที่ประเมินด้วยสายตาอยู่ระหว่าง 6.5 (ตารางที่ 1) ส่วนประประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช quinclorac, pendimethalin, 2,4-D, quinclorac+2,4-D, quinclorac+pendimethalin และ2,4-D+pendimethalin ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย มีคะแนนอยู่ระหว่าง 2.8-3.5 ส่วนสารกำจัดวัชพืชที่ควบคุมวัชพืชได้ปานกลางมีคะแนนอยู่ระหว่าง 4.0-6.3 ขณะการใช้สาร oxyfluorfen และ quinclorac+oxyfluorfen ควบคุมวัชพืชได้ดี มีคะแนนอยู่ระหว่าง 7.8-8.0 (ตารางที่ 1)

การสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืชที่ระยะ 45 วัน หลังปลูก พบว่า กรรมวิธีการใช้สาร การกำจัดวัชพืชด้วยมือ มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยกว่าแต่ ไม่แตกต่างกับการใช้สารกำจัดวัชพืช quinclorac+oxyfluorfen, oxyfluorfen และ thiobencarb โดยมีน้ำหนักแห้ง 12.6, 18.5, 24.8 และ 58.8 กรัมต่อตารางเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช ที่มีน้ำหนักแห้ง 185.9 กรัมต่อตารางเมตร(ตารางที่ 2 เนื่องจากสารทั้ง 3 ชนิด คือ quinclorac+oxyfluorfen, oxyfluorfen และ thiobencarb สามารถควบคุมวัชพืชได้ดี(ตารางที่ 1) วัชพืชที่พบได้แก่ หญ้านกสีชมพู(*Echinochloa colona* (L.) Link . หญ้าตีนนก(*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.)Gard &Hubb.) ข้าว (*Oryza sativa* L.) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* Linn.)

การเจริญเติบโตด้านความสูงของข้าวฟ่างหวานที่ระยะเก็บเกี่ยว พบว่า การใช้สาร thiobencarbe ข้าวฟ่างหวานมีความสูงมากที่สุด คือ 159.3 เซนติเมตร แต่ก็ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีการใช้สาร butachlor, 2,4-D, quinclorac+2,4-D และ การกำจัดวัชพืชด้วยมือ ซึ่งมีความสูง 135.3, 138.7, 139.8 และ 140.5 เซนติเมตร ตามลำดับ ขณะวิธีไม่กำจัดวัชพืช ข้าวฟ่างหวานมีความสูง 129.8 เซนติเมตร(ตารางที่ 2) สำหรับจำนวนต้นข้าวฟ่างหวานที่ระยะเก็บเกี่ยว พบว่า กรรมวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีมีจำนวนต้นข้าวฟ่างหวานไม่แตกต่างกัน ยกเว้นกรรมวิธีการใช้สาร oxyfluorfen และ quinclorac+oxyfluorfen โดยมีจำนวนต้นข้าวฟ่างหวานอยู่ระหว่าง 13,840 – 16,880 ต้นต่อไร่ ส่วนสาร oxyfluorfen และ quinclorac+oxyfluorfen มีจำนวนต้นข้าวฟ่างหวานอยู่ระหว่าง 10,400 - 12,240 ต้นต่อไร่ ขณะวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีจำนวนต้นข้าวฟ่างหวาน 15,200a ต้นต่อไร่ (ตารางที่2)

สำหรับเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้น พบว่า กรรมวิธีการทดลองมีเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.92–1.02 เซนติเมตร ขณะวิธีการใช้สาร thiobencarb มีเส้นผ่ากลางลำต้น 1.17 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) ส่วนน้ำหนักลำต้นภายและใบ พบว่า การใช้สาร thiobencarb มีน้ำหนักต้นและใบมากกว่า คือ 1,973 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ไม่แตกต่างกับ การกำจัดวัชพืชด้วยมือ quinclorac+2,4-D และ 2,4-D มีน้ำหนักต้นและใบ 1,432, 1,400 และ 1,295 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่เหลือมีน้ำหนักลำต้นและใบอยู่ระหว่าง 608 – 1,236 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนน้ำหนักต้นคล้อยตามกับน้ำหนักต้นและใบ ซึ่งมีน้ำหนักต้นโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง

516 – 1,732 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะข้าวฟ่างหวานพันธุ์ เรย์ ริโอ้ และ สุพรรณบุรี 1 มีน้ำหนักต้นสด โดยเฉลี่ย 4.7, 4.7 และ 3.8 ตันต่อไร่ ตามลำดับ (กนกทิพย์, 2547)

การวัดค่าความหวาน (^{0}Brix) ของข้าวฟ่างหวาน พบว่า กรรมวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีให้ค่าความหวานไม่แตกต่างกัน มีค่าอยู่ระหว่าง 11.5 – 13.5 ขณะค่าความหวานของข้าวฟ่างหวานพันธุ์ เรย์ ริโอ้ และ สุพรรณบุรี 1 มีค่าความหวานเฉลี่ย 19.6, 18.3 และ 15.0 ตามลำดับ (กนกทิพย์, 2547) น้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ดของข้าวฟ่างหวาน พบว่า กรรมวิธีการกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีให้น้ำหนัก 100 เมล็ดไม่แตกต่างกัน ซึ่งอยู่ระหว่าง 2.20 – 2.38 กรัม ยกเว้นกรรมวิธีการใช้สาร quinclorac+pendimethalin และการกำจัดวัชพืชด้วยมือ ซึ่งมีหนัก 100 เมล็ด 2.08 และ 2.43 กรัม ตามลำดับ ขณะน้ำหนัก 100 เมล็ดของข้าวฟ่างหวานพันธุ์ เรย์ ริโอ้ และ สุพรรณบุรี 1 มีเฉลี่ย 2.13, 1.97 และ 2.99 ตามลำดับ (กนกทิพย์, 2547) สำหรับน้ำหนักเมล็ดต่อไร่ พบว่า กรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยมือมีน้ำหนักมล็ดต่อไร่มากที่สุด คือ 204 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ไม่แตกต่างกับการใช้สาร thiobencarb และ butachlor ซึ่งมีน้ำหนักเล็ด 193.4 และ 161.6 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักเมล็ด 84.0 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้สารกำจัดวัชพืชหลังวัชพืชงอกในการปลูกข้าวฟ่างหวาน พบว่า สารกำจัดวัชพืชที่ใช้หลังวัชพืช 8 วัน ได้แก่ butachlor และ thiobencarb ไม่เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวาน และที่ใช้หลังวัชพืชงอกแล้ว 12 วัน ได้แก่ quinclorac, pendimethalin, 2,4-D, quinclorac+2,4-D, quinclorac+pendimethalin และ 2,4-D+pendimethalin เป็นพิษต่อข้าวฟ่างหวานเพียงเล็กน้อย การใช้สารกำจัดวัชพืช butachlor และ thiobencarb สามารถควบคุมวัชพืชได้ในระดับปานกลาง ส่วน การใช้สาร oxyfluorfen และ quinclorac+oxyfluorfen ควบคุมวัชพืชได้ดี และ มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยกว่า การใช้สาร thiobencarb ข้าวฟ่างหวานมีความสูงมากที่สุด เช่นเดียวกับเส้นผ่าศูนย์กลาง และน้ำหนักต้น ส่วนกรรมวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยมือมีจำนวนต้นข้าวฟ่างหวาน น้ำหนัก 100 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดต่อไร่มากที่สุด และกรรมวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีมีค่าความหวานไม่แตกต่างกัน

เอกสารอ้างอิง

กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2547. ปลูกข้าวฟ่างหวานเพื่อตัดต้นผลิตเอธานอล. ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี กรมวิชาการเกษตร. 6 หน้า

ธีระพล อุ่นจิตต์วรรธนะ. 2541. ผลกระทบของการใช้สารกำจัดวัชพืช (ต่อพืชอาหาร). ข่าวสารวัตถุมีพิษ 25(2): 62-63.

นิรนาม. 2538. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช ปี 2538. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 144 หน้า.

นิรนาม. 2546. ข้าวฟ่าง. หน้า 239-245. *ใน* : สรุปรายงานผลงานวิจัยพืชไร่ 2546. สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร.

ประสิทธิ์ ใจศิลป์. 2547. เอกสารคำแนะนำการปลูกข้าวฟ่างหวานเพื่อผลิตเอทานอล. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 3 หน้า. 29 พ.ย. 2547 (http://agserver.kku.ac.th/project/data-p,)

วิทยา มาสร้างสรรค์. การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในนา: เทคนิคการปลูกข้าวโพด. เอกสารประกอบการบรรยายแก่นักวิชาการและเจ้าพนักงานการเกษตร ระหว่างวันที่ 20-23 ธันวาคม 2536 ณ โรงแรมภูพญา อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา.15 หน้า (โรเนียว)

ตารางที่ 1 ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช หลังพ่น 15 วัน

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	คะแนนความเป็นพิษต่อพืชปลูก[1/]	คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช[2/]
butachlor	240	0.0	4.0
thiobencarb	560	0.0	6.3
quinclorac	20	2.0	2.8
oxyfluorfen	120	6.5	7.8
pendimethalin	192	1.0	3.5
2,4-D	240	2.0	4.0
quinclorac+2,4-D	20+240	2.3	3.3
quinclorac+oxyfluorfen	20+160	6.5	8.0
quinclorac+pendimethalin	20+192	1.5	3.3
2,4-D+pendimethalin	240+192	2.8	3.5
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	-	-
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	-	-

1/ คะแนนความเป็นพิษต่อพืชปลูก

0 = ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก
1 – 3= เป็นพิษต่อพืชปลูกเล็กน้อย
4 – 6 = เป็นพิษต่อพืชปลูกปานกลาง
7 – 9 = เป็นพิษต่อพืชปลูกรุนแรง
10 = พืชปลูกตายหมด

2/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้
1 – 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย
4 – 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง
7 – 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี
10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 น้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 45 วันหลังปลูก ความสูงข้าวฟ่างหวาน และจำนวนต้นขณะเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	น้ำหนักแห้งวัชพืช[2/] (กรัม/ตร.ม.)	ความสูงต้นข้าวฟ่างหวาน (ซม.)	จำนวนต้นข้าวฟ่างหวาน (ต้น/ไร่)
butachlor	240	122.2de[1/]	135.3abc	14,640ab
thiobencarb	560	58.8abc	159.3a	15,200ab
quinclorac	20	172.9ef	112.9bc	13,840ab
oxyfluorfen	120	24.8ab	118.3bc	10,400c
pendimethalin	192	133.2edf	130.0bc	13,560ab
2,4-D	240	121.1de	138.7abc	15,680ab
quinclorac+2,4-D	20+240	99.0cd	139.8ab	14,480ab
quinclorac+oxyfluorfen	20+160	18.5a	125.6bc	12,240bc
quinclorac+pendimethalin	20+192	113.4cde	130.4bc	14,160ab
2,4-D+pendimethalin	240+192	80.6bcd	109.7c	14,320ab
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	12.6a	140.5ab	16,880a
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	185.9f	129.8bc	15,200ab
CV (%)		40.3	13.4	14.6

1/ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดย DMRT

2/ วัชพืชที่พบ ได้แก่

1. หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link)
2. หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.)
3. หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* (L.) Gard & Hubb.)
4. ข้าว (*Oryza sativa* L.)
5. ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* Linn.)

ตารางที่ 3 เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักต้นและใบ และน้ำหนักต้นข้าวฟ่างหวาน

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (ซม.)	น้ำหนักต้นและใบ (กก./ไร่)	น้ำหนักต้น (กก./ไร่)
butachlor	240	1.01ab[1/]	1,236bc	1,076bcd
thiobencarb	560	1.17a	1,973a	1,732a
quinclorac	20	0.92b	712bc	608bcd
oxyfluorfen	120	0.96b	608c	516d
pendimethalin	192	0.94b	948bc	812bcd
2,4-D	240	1.01ab	1,293abc	1,132abcd
quinclorac+2,4-D	20+240	1.02ab	1,400ab	1,220abc
quinclorac+oxyfluorfen	20+160	0.97b	864bc	772bcd
quinclorac+pendimethalin	20+192	1.00ab	1,080bc	920bcd
2,4-D+pendimethalin	240+192	0.85b	644c	540cd
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	1.02ab	1,432ab	1,260ab
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	0.98b	700bc	592bcd
CV (%)		12.2	41.7	44.1

1/ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดย DMRT

ตารางที่ 4 ค่าความหวาน(^{0}Brix) น้ำหนัก 100 เมล็ด และผลผลิตเมล็ดข้าวฟ่างหวาน

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	ค่าความหวาน (^{0}Brix)	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)	น้ำหนักเมล็ด (กก./ไร่)
butachlor	240	12.5a[1/]	2.22ab	161.6abc
thiobencarb	560	11.8a	2.35ab	193.4ab
quinclorac	20	12.8a	2.30ab	77.6cd
oxyfluorfen	120	11.8a	2.20ab	64.4d
pendimethalin	192	12.5a	2.35ab	112.8bcd
2,4-D	240	12.5a	2.20ab	114.8bcd
quinclorac+2,4-D	20+240	13.5a	2.30ab	115.4bcd
quinclorac+oxyfluorfen	20+160	12.8a	2.20ab	103.2cd
quinclorac+pendimethalin	20+192	12.0a	2.08b	102.4cd
2,4-D+pendimethalin	240+192	11.5a	2.38ab	88.4cd
กำจัดวัชพืชด้วยมือ	-	11.5a	2.43a	204.0a
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	12.0a	2.30ab	84.0cd
CV (%)		13.2	8.9	42.6

1/ ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดย DMRT

ศึกษาการชุบหน่อพันธุ์สับปะรดด้วยสารฆ่าแมลงเพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง [1/]

Study on Dipping Pre-planting with Some Insecticides for Controlling Mealy Bug, *Dysmicoccus* spp. on Pineapple

สุเทพ สหายา **เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธ์**
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา **สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

บทคัดย่อ

การศึกษาการชุบหน่อพันธุ์สับปะรดด้วยสารฆ่าแมลง มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีแนะนำเกษตรกรในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งพาหะนำโรคเหี่ยวสับปะรดทั้งชนิดและอัตราสารที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งซึ่งอาจติดมากับหน่อพันธุ์สับปะรด นอกจากนี้ยังเป็นการป้องกันไม่ให้เพลี้ยแป้งระบาดหลังปลูก ซึ่งเป็นงานที่ยังไม่เคยมีการวิจัยมาก่อน ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – ธันวาคม 2550 วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ มี 5 กรรมวิธี คือวิธีการชุบหรือจุ่มหน่อพันธุ์ก่อนปลูกด้วยชนิดและอัตราสารฆ่าแมลงดังนี้ 1) dinotefuran 10 % WP อัตรา 50 กรัม / น้ำ 20 ลิตร 2) thiamethoxam 25 % WG อัตรา 4 กรัม / น้ำ 20 ลิตร 3) diazinon 60%EC อัตรา 100 มิลลิลิตร / น้ำ 20 ลิตร 4) imidacloprid 70%WG อัตรา 4 กรัม / น้ำ 20 ลิตร 5) ไม่ใช้สารฆ่าแมลง (จุ่มน้ำเปล่า) ผลการทดลองสรุปได้ว่าวิธีการที่เหมาะสมในการจัดการเพลี้ยแป้งเพื่อลดปัญหาโรคเหี่ยวในสับปะรดคือ การชุบหน่อพันธุ์ด้วยสารฆ่าแมลงชนิดใดชนิดหนึ่ง ได้แก่ dinotefuran, thiamethoxam และ imidacloprid อัตรา 50 , 4 และ 4 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ โดยจุ่มนาน 5 นาทีก่อนปลูก สามารถกำจัดเพลี้ยแป้งที่ติดมากับหน่อพันธุ์และป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งหลังปลูกสับปะรดประมาณ 35 วัน

คำค้น : สับปะรด การจัดการเพลี้ยแป้ง

Keyword : pineapple, mealybug ,*Dysmicoccus* spp.

คำนำ

สับปะรดเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ในปี 2544 ไทยส่งออกสับปะรดและผลิตภัณฑ์สับปะรดจำนวน 51,594 ตัน มูลค่า 1,291 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร , 2545) พันธุ์ที่ปลูกในปัจจุบันได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย พันธุ์นางแล(เชียงราย) พันธุ์สวี(ชุมพร) พันธุ์

รหัสการทดลอง [1/] 01-08-49-02-01-02-51

ภูเก็ต พันธุ์ปัตตานี พันธุ์อินทรชิตขาว-แดง(ฉะเชิงเทรา) พันธุ์ตราดสีทอง(สิงคโปร์) พันธุ์ลักกะตา พันธุ์สิงคโปร์ปัตตาเวีย(คล้ายกับพันธุ์สวีและภูเก็ต) และมีพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศได้แก่ พันธุ์บราซิล พันธุ์Tainan และพันธุ์ White jewel จากไต้หวันและฮาวาย แหล่งเพาะปลูกสับปะรดที่สำคัญ ประจวบคีรีขันธ์ ระยอง เพชรบุรี ราชบุรี ชลบุรี กาญจนบุรี และชุมพร ผลผลิตออกมากช่วงเดือนมีนาคม-มิถุนายน พฤศจิกายน-มกราคม พันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกมากได้แก่ ปัตตาเวีย และตราดสีทอง ผลผลิตสับปะรดสดภายในประเทศร้อยละ 70-80 จะส่งเข้าโรงงานแปรรูป ที่เหลือใช้บริโภคสดภายในประเทศร้อยละ 20-30 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550)

ปัญหาของการปลูกสับปะรดในปัจจุบัน คือปัญหาโรคเหี่ยวสับปะรด (pine apple mealybug wilt associated virus; PMWaV) ภาษาชาวบ้านเรียกกันว่า **โรคเอ๋อ** การแพร่กระจายของโรคเกิดจากการนำหน่อหรือจุกจากต้นที่เป็นโรคไปปลูก ซึ่งมีเพลี้ยแป้งเป็นพาหะนำโรค และมดเป็นตัวแพร่กระจายเพลี้ยแป้ง จากรายงานในเอกสารวิชาการเรื่องศัตรูสับปะรด รายงานว่าเพลี้ยแป้งที่พบในประเทศไทยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dysmicococus brevipes* (Cockerell) เดิมชื่อ *Pseudococcocus brevipes* (Cockerell) ตัวเต็มวัยมีสีชมพู (กรมวิชาการเกษตร, 2545 และ 2546) ที่ฮาวายมีรายงานว่าพบเพลี้ยแป้ง 2 ชนิด คือ *D. brevipes* ซึ่งตัวเต็มวัยมีสีชมพู มีพฤติกรรมชอบอยู่อาศัยบริเวณส่วนล่างของพืชอาศัย เช่น ราก หรือบริเวณส่วนโคนของกิ่ง และ อีกชนิดหนึ่งคือ *D. neobrevipes* Beardsley ซึ่งตัวเต็มวัยมีสีเทามีพฤติกรรมชอบอาศัยอยู่ส่วนบนของพืชอาศัย เช่น ใบ ลำต้น ดอก และผล (Beardsley, 1959) จากการสำรวจสับปะรดในเขตจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ และกาญจนบุรี ตั้งแต่ปี 2548 – 2550 พบเพลี้ยแป้งระบาดมากทั้งสีชมพูและสีเทา ที่ อ.หัวหิน จ. ประจวบคีรีขันธ์ โดยพบชนิดสีชมพูที่อยู่บริเวณราก ตามซอกกาบใบ ตรงส่วนขั้วของดอก และขั้วผล ส่วนชนิดสีเทาพบบริเวณใบ และผล

ชำนาญ และคณะ (2540 และ2541) รายงานว่าวิธีการป้องกันกำจัดมดให้ได้ผลคือการใช้เหยื่อพิษ hydramethylnon 0.73 %GR อัตรา 273 กรัม/ไร่ แต่ในปัจจุบันมีการนำเข้าโดยตรงเฉพาะบริษัทผู้ผลิตสับปะรดรายใหญ่เท่านั้น ไม่มีการวางจำหน่ายตามท้องตลาด ทำให้เกษตรกรรายย่อยไม่สามารถนำมาใช้ได้ การวิจัยเกี่ยวกับเพลี้ยแป้งในสับปะรดในประเทศไทยมีน้อยมาก แต่ในต่างประเทศ เช่น ในสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย บราซิล ฟิลิปปินส์ และไต้หวัน มีการวิจัยการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งทั้งในรูปแบบการผสมน้ำพ่นทางใบ และการจุ่มหรือชุบหน่อพันธุ์สับปะรด และแนะนำสารป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งหลายชนิด เช่น diazinon และthiamethoxam ดังนั้นจึงนำสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ทั้งสารเคมี เชื้อรากำจัดแมลง น้ำมันปิโตรเลียม มาทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในสับปะรด ทั้งรูปแบบการพ่นทางใบ และชุบหน่อพันธุ์ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนในประเทศไทย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบชนิดและอัตราสารที่เหมาะสมในการ

ป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งที่ติดมากับหน่อหรือจุกสับปะรด และป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งหลังการปลูกระยะแรก

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สารฆ่าแมลง dinotefuran(Starkle 10%WP), imidacloprid (Provado 70%WG), thiamethoxam (Actara 25%WG)และ diazinon(Basudin 60%EC)
2. เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำ
3. กระถางขนาด 12 นิ้ว และดินผสมสำหรับปลูกพืช
4. ป้ายแสดงกรรมวิธีทดลองตาชั่งละเอียดแบบตัวเลขทศนิยม 2 ตำแหน่ง
5. กระบอกตวงสารขนาด 100 มิลลิลิตร และถังน้ำพลาสติกขนาด 20 ลิตร
6. กระดาษบันทึกผลการทดลอง

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ได้แก่ชนิดและอัตราสารฆ่าแมลงต่อน้ำ 20 ลิตร ดังนี้

1. thiamethoxam 25 %WG อัตรา 4 กรัม
2. imidacloprid 70 %WG อัตรา 4 กรัม
3. dinotefuran 10 %WP อัตรา 50 กรัม
4. diazinon 60%EC อัตรา 100 มิลลิลิตร (กรรมวิธีเปรียบเทียบ)
5. ชุบด้วยน้ำเปล่า

สำรวจและเก็บรวบรวมเพลี้ยแป้งในแปลงสับปะรดของเกษตรกร พื้นที่ จ.ประจวบคีรีขันธ์ และ จ. เพชรบุรี เลี้ยงขยายพันธุ์เพลี้ยแป้งบนต้นสับปะรด จนได้ปริมาณเพลี้ยแป้งมากพอในการทดลอง ชุบหน่อพันธุ์สับปะรดตามกรรมวิธีที่กำหนดนาน 5 นาที ก่อนปลูกลงกระถาง ๆ ละ 1 ต้น (2 กระถาง/ซ้ำ) หลังปลูกทำการระบาดเทียมโดยปล่อยเพลี้ยแป้งในระยะตัวอ่อน (crawler) ลงบนสับปะรด ต้นละ 50 ตัว

ตรวจนับปริมาณเพลี้ยแป้งที่พบบนต้นสับปะรด นับบริเวณโคนต้นและซอกกาบใบ เริ่มตรวจนับหลังปลูก 7 วัน และนับต่อไปทุก 7 วัน จนถึงอายุ 42 วัน ทำการระบาดเทียมโดยปล่อยตัวอ่อนเพลี้ยแป้งเพิ่มจำนวน 50 ตัว/ต้นหลังการตรวจนับทุกครั้ง

วิเคราะห์ผลทางสถิติจำนวนเพลี้ยแป้งในแต่ละครั้งที่ตรวจนับด้วยโปรแกรม IRRISTAT วิเคราะห์ความแปรปรวนหลังพ่นสารด้วยวิธี analysis of variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT บันทึกผลกระทบของสารทดลองที่มีต่อสับปะรด (phytotoxicity)

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – ธันวาคม 2550 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองครั้งที่ 1 (ตารางที่ 1)

หลังปลูกสับปะรด 7 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.25 – 2.00 ตัว/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 17.50 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 14 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.25 – 1.00 ตัว/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 22.75 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 21 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.25 – 0.50 ตัว/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 28.25 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 28 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.50 – 2.25 ตัว/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 32.75 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 35 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 2.50 – 7.25 ตัว/ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 62.50 ตัว/ต้น เปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ชุบหน่อพันธุ์ พบว่ากรรมวิธีชุบหน่อพันธุ์ด้วยสาร thiamethoxam, imidacloprid และ dinotefuran พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 2.50 – 3.00 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีการชุบสาร diazinon ที่พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 7.25 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 42 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 2.50 – 17.75 ตัว/ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 79.00 ตัว/ต้น เปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ชุบหน่อพันธุ์ พบว่ากรรมวิธีชุบหน่อพันธุ์ด้วยสาร thiamethoxam, และimidacloprid พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่เฉลี่ย 3.50 และ 4.00 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการชุบสาร dinotefuran และ diazinon ที่พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 6.25 และ 17.75ตัว/ต้น

ตารางที่ 1 จำนวนเพลี้ยแป้งสับปะรดจากการทดลองชุบสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ก่อนปลูก (การทดลองครั้งที่ 1 ระหว่างเดือนตุลาคม – ธันวาคม 2549)

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (ก. หรือ มล./น้ำ 20 ลิตร	จำนวนตัวอ่อนเพลี้ยแป้ง (ตัว/ต้น)						
		ก่อนทดลอง	หลังการชุบสาร(วัน)					
			7	14	21	28	35	42
1. thiamethoxam	4	50	1.75 a	0.25 a	0.25 a	1.25 a	2.50 a	3.50 a
2. imidacloprid	4	50	1.50 a	0.75 a	0.25 a	0.50 a	3.00 a	4.00 a
3. dinotefuran	50	50	2.00 a	1.00 a	0.25 a	2.25 a	3.00 a	6.25 b
4. diazinon	100	50	0.25 a	0.25 a	0.50 a	2.00 a	7.25 b	17.75 c
5. ไม่ใช้สาร (ชุบน้ำเปล่า)	-	50	17.50 b	22.75 b	28.25	32.75 b	62..50 c	79.00 d
CV (%)		-	38.20	59.30	52.10	52.40	12.40	37.90

1/ ค่าเฉลี่ย(จาก ซ้ำ) ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิเคราะห์โดยวิธี DMRT

การทดลองครั้งที่ 2 (ตารางที่ 2)

หลังปลูกสับปะรด 7 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.25 – 2.25 ตัว/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 16.00 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 14 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.00 – 1.25 ตัว/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 24.25 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 21 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.25 – 1.50 ตัว/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 26.00 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 28 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.00 – 1.25 ตัว/ต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 27.75 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 35 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.50 – 6.75 ตัว/ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 48.50 ตัว/ต้น เปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ชุบหน่อพันธุ์ พบว่ากรรมวิธีชุบหน่อพันธุ์ด้วยสาร thiamethoxam, imidacloprid และ dinotefuran พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 0.50 – 2.25 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีการชุบสาร diazinon ที่พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 6.75 ตัว/ต้น

หลังปลูกสับปะรด 42 วัน กรรมวิธีที่มีการชุบหน่อพันธุ์พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่ระหว่าง 2.75 – 12.75 ตัว/ต้น ซึ่งน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่ใช้สารที่พบเฉลี่ย 92.00 ตัว/ต้น เปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ชุบหน่อพันธุ์ พบว่ากรรมวิธีชุบหน่อพันธุ์ด้วยสาร thiamethoxam, และimidacloprid พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งอยู่เฉลี่ย 2.75 และ 3.50 ตัว/ต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการชุบสาร dinotefuran และ diazinon ที่พบตัวอ่อนเพลี้ยแป้งเฉลี่ย 8.25 และ 12.75ตัว/ต้น

ตารางที่ 2 จำนวนเพลี้ยแป้งสับปะรดจากการทดลองชุบสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ก่อนปลูก (การทดลองครั้งที่ 2 ระหว่างเดือนตุลาคม – ธันวาคม 2550)

กรรมวิธี	อัตราการใช้ (ก. หรือ มล./น้ำ 20 ลิตร	จำนวนตัวอ่อนเพลี้ยแป้ง (ตัว/ต้น)						
		ก่อนทดลอง	หลังการชุบสาร(วัน)					
			7	14	21	28	35	42
1. thiamethoxam	4	50	0.25 a	0.00 a	1.00 a	0.00 a	1.75 a	2.75 a
2. imidacloprid	4	50	0.25 a	1.25 a	0.25 a	0.50 a	0.50 a	3.50 a
3. dinotefuran	50	50	1.00 a	0.50 a	1.50 a	0.25 a	2.25 a	8.25 b
4. diazinon	100	50	2.25 a	0.50 a	0.50 a	1.25 a	6.75 b	12.75 c
5. ไม่ใช้สาร (ชุบน้ำเปล่า)	-	50	16.00 b	24.25 b	26.00 b	27.75 b	48.50 c	92.00 d
CV (%)		-	56.10	39.30	33.80	36.90	34.80	27.50

ตารางที่ 3 ต้นทุนการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งโดยวิธีการชุบหรือจุ่มหน่อพันธุ์

สารฆ่าแมลง	อัตราการใช้ (ก. หรือ มล./น้ำ 20 ลิตร)	ราคาสารสำเร็จรูป [1/] (บาท/ลิตร หรือ/ กก.)	ต้นทุน	
			บาท /น้ำ20 ล.	บาท /ไร่
thiamethoxam 25%WG	4	5,000	20	80
imidacloprid 10%SL	4	5,000	20	80
dinotefuran 10%WP	50	1,850	92.5	370
diazinon 60%EC	100	200	20	80

1/ ราคาสารฆ่าแมลงเมื่อธันวาคม 2550

จากการทดลองชุบหน่อพันธุ์สับปะรดก่อนปลูกด้วยสารฆ่าแมลง จะเห็นได้ว่าสารกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (นิรนาม, 2544; Anonymous, 2005a; Yamamoto,1996) ได้แก่ thiamethoxam, imidacloprid และ dinotefuran มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งในสับปะรดได้นานมากกว่า 1 เดือน โดยที่หลังชุบสาร 35 วัน สารทั้งสามชนิดดังกล่าวข้างต้นยัง

สามารถควบคุมปริมาณการระบาดของเพลี้ยแป้งได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสาร diazinon และมีปริมาณไม่เกิน 3 ตัว/ต้น แต่ที่ 42 วันทั้งสามกรรมวิธีมีแนวโน้มพบเพลี้ยแป้งรอดชีวิตเพิ่มขึ้น ส่วน diazinon ซึ่งเป็นสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตมีประสิทธิภาพนานประมาณ 1 เดือน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนพบว่า thiamethoxam, imidacloprid และ diazinon ต้นทุนเท่ากันคือ 80 บาท/ไร่ ส่วน dinotefuran ต้นทุนสูงกว่า (ตารางที่ 3) Sulaiman (1989) รายงานว่าการจุ่มหน่อพันธุ์สับปะรดก่อนปลูกด้วยสาร prothiofos หรือ profenofos สามารถลดประชากรของเพลี้ยแป้งได้น้อยกว่าการไม่ใช้สารและวิธีของเกษตรกรที่พ่นด้วยสาร diazinon หรือ malathion Anonymous(2002) กล่าวว่าการปลูกสับปะรดที่มลรัฐฮาวายในแหล่งที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวสับปะรดแนะนำให้ใช้สาร hydramethylnon เพื่อกำจัดมดในอัตรา 1.7 กก/เฮ็กตาร์ 2 ครั้งพร้อมปลูก และหลังปลูก และพ่นสาร diazinon 1 – 2 ครั้งหลังปลูก นอกจากนี้การชุบหน่อพันธุ์ด้วยสาร diazinon จะช่วยกำจัดเพลี้ยหอยและเพลี้ยแป้งที่ติดมากับหน่อพันธุ์ จะเห็นได้ว่าการแก้ปัญหาโรคเหี่ยวสับปะรด จำเป็นต้องใช้วิธีผสมผสานตั้งแต่การใช้หน่อพันธุ์ปลอดโรค ร่วมกับวิธีการอื่นๆ เช่น วิธีจุ่มหน่อพันธุ์ด้วยสารฆ่าแมลงก่อนปลูกจะช่วยลดเพลี้ยแป้งพาหะโรคเหี่ยวสับปะรด การกำจัดวัชพืชที่เป็นแหล่งอาศัยเพลี้ยแป้ง การกำจัดมดพาหะเพลี้ยแป้ง และการพ่นสารกรณีพบการระบาดของเพลี้ยแป้ง จะทำให้ช่วยลดความรุนแรงและการแพร่กระจายของโรคเหี่ยวสับปะรดได้

สรุปผลการทดลอง

การทดลองการชุบหรือจุ่มหน่อพันธุ์สับปะรดก่อนปลูกด้วยสารฆ่าแมลงพบว่าการชุบสาร thiamethoxam ,imidacloprid และ dinotefuran อัตรา 4 , 4 และ 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ สามารถกำจัดเพลี้ยแป้งที่ติดมากับหน่อพันธุ์และป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยแป้งหลังปลูกสับปะรดประมาณ 35 วัน ส่วนสาร diazinon มีประสิทธิภาพนานประมาณ 28 วัน

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2545. เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับสับปะรด. เอกสารวิชาการกรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 30 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร. 2546. ศัตรูสับปะรด. เอกสารวิชาการกรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 44 หน้า.

ชำนาญ พิทักษ์ อนุวัฒน์ จันทรสุวรรณ และอรนุชกองกาญจนะ. 2540. การป้องกันกำจัดมดในไร่สับปะรด. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูข้าวโพดและพืชไร่อื่นๆ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร , กรุงเทพฯ. 21 หน้า

ชำนาญ พิทักษ์ . 2541. มดในไร่สับปะรด. น.ส.พ.กสิกร.21:435 – 436.

นิรนาม . 2544 . แอคทารา : สารกำจัดแมลงที่วิจัยมาสำหรับทุกพันธุ์พืช . บริษัท ซินเจนทา คอร์ปโปรเทคชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ . 52 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร . 2545. ข่าวเศรษฐกิจการเกษตร . 48(545): 26 – 27.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร . 2550. สับปะรดและผลิตภัณฑ์สับปะรด. (ระบบออนไลน์) http://www.dft.moc.go.th/level4Frame.asp?sPage=the_files/$$16/level4/%CA%D1%BA%BB%D0%C3%B4%E1%C5%D0%BC%C5%D4%B5%C0%D1%B3%B1%EC+%BB%D5+2550(%C1%A4.-%B5%A4.).doc&level4=1438.(13 เม.ย.2551)

Anonymous. 2002. Crop Profile for Pineapples in Hawaii (ระบบออนไลน์) http://www.ipmcenters.org/cropprofiles/docs/hipineapples.html . (18 เม.ย.2551)

Anonymous. 2005a. Confidor®. Technical information, Bayer. 38 Pages.

Anonymous. 2005b. Dinotefuran : A Novel Systemic Insecticide . Mitsui Chemicals, Inc. 15 Pages.

Beardsley,J.W. 1959. On the Taxonomy of Pineapple Mealybugs in Hawaii, with a Distribution of a Previously Unnamed Species (Homoptera: Pseudococcidae). Proc. Hawaiian Entomol. Soc. 17(1) : 29 – 37.

Sulaiman, S.F.M. 1989. Effect of Pesticidal Pre – treatments of Pineapple Plants on the Incidence of Mealybug Wilt Disease, pp. 273 – 288. In Subhadrabandhu, S. and P. Chairidchai (eds.) . Proceedings of The Third International Pineapple Symposium. 17 – 20 November 1989, Pattaya, Thailand.

Yamamoto , I . 1996 . Neonicotinoids : Mode of Action and Selectivity . Agrochemicals Japan . NO . 68 : 14 – 15 .

สำรวจ รวบรวมและจำแนกราไมคอร์ไรซากล้วยไม้

Survey, Collection and Identification of the Orchid Mycorrhiza

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ราไมคอร์ไรซาเป็นราที่เจริญอยู่ร่วมกับรากกล้วยไม้ ช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ เพื่อให้ทราบชนิดของราไมคอร์ไรซาที่อยู่ร่วมกับรากกล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ ในประเทศไทย กลุ่มงานวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จึงได้รวบรวม แยก และจำแนกราไมคอร์ไรซาจากกล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ 8 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีฝาหอย รองเท้านารีเหลืองกระบี่ รองเท้านารีเหลืองปราจีน เอื้องช้าง ว่านน้ำทอง อั้วพวงมณี เอื้องข้าวเหนียวลิง และ เอื้องดินใบหมาก จากจังหวัดเชียงใหม่ อุบลราชธานี กาญจนบุรี กระบี่ และกรุงเทพ ฯ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – เดือนกันยายน 2551 โดยทำการแยกราจากเส้นใยที่เจริญอยู่ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้ ผลการดำเนินงานได้ราทั้งหมด 30 สายพันธุ์ ซึ่งสามารถจำแนกชนิดราเป็นราสกุล *Rhizoctonia* 3 ชนิด เป็น Binucleate *Rhizoctonia* ได้แก่ *Rhizoctonia globularis, R. goodyerae-repentis* และ *R. repens* เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ใน liquid paraffin และบน slant PDA ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-01-49-2.2

คำนำ

ราสกุล *Rhizoctonia* เป็นราไมคอร์ไรซาชนิดหนึ่งที่เจริญอยู่ร่วมกับรากกล้วยไม้โดยมีความสัมพันธ์แบบเกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน (symbiosis) โดยราสร้างเส้นใยเข้าไปในรากกล้วยไม้ เจริญอยู่ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ สร้างโครงสร้างภายในเซลล์เรียกว่า peloton ราชนิดนี้ไม่ได้เข้าทำลายรากพืช แต่จะให้ธาตุอาหารแก่พืช เช่นธาตุคาร์บอน ซึ่งเป็นแหล่งให้พลังงานที่สำคัญกับพืชและช่วยส่งเสริมให้เมล็ดกล้วยไม้งอก (Hadley, 1982; Harley and Smith, 1983) ในทางตรงกันข้ามราสกุลนี้เป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิดได้แก่ โรคใบติดของทุเรียนสาเหตุเกิดจาก *Rhizoctonia solani* โรคกาบใบแห้งของข้าว สาเหตุเกิดจาก *R. solani* เป็นต้น (Sneh *et al*., 1991) แต่สำหรับความสัมพันธ์กับพืชตระกูลกล้วยไม้แล้ว ราชนิดนี้มีความสัมพันธ์แบบเกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกันระหว่างกล้วยไม้กับรา ในด้านช้วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมาก มีอาหารสะสมในเมล็ดน้อยมากทำให้ไม่มีอาหารไปเลี้ยงในขณะที่กล้วยไม้งอก ดังนั้นเมล็ดกล้วยไม้บางชนิดจึงงอกยากหรือไม่งอกเลย แต่อย่างไรก็ตามในสภาพธรรมชาติพบว่ามีราไมคอร์ไรซาเจริญอยู่ในรากกล้วยไม้แบบ เกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน และส่วนใหญ่เป็นราในสกุล *Rhizoctonia* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์กับการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ ช่วยให้เมล็ดกล้วยไม้สามารถงอกได้ โดยให้ธาตุอาหารและกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้า (Clements, 1988)

งานวิจัยเรื่องความสัมพันธ์ของราไมคอร์ไรซากับรากกล้วยไม้เริ่มมีการศึกษาตั้งแต่ปี 1899 โดย Bernard เป็นบุคคลแรกที่ศึกษาไมคอร์ไรซากล้วยไม้ พบความสัมพันธ์ที่เฉพาะเจาะจงของรากับกล้วยไม้โดยราช่วยกระตุ้นการเจริญและการงอกของเมล็ด Bernard ได้ดำเนินการทดลองโดยแยกราจากรากกล้วยไม้ *Cattleya* และพบว่ารานี้ช่วยกระตุ้นการเจริญของกล้วยไม้ *Cattleya* แต่เมื่อนำราชนิดนั้นมาเลี้ยงร่วมกับกล้วยไม้ *Phalaenopsis* และ *Odontoglossum* ปรากฏว่าราไม่ได้ช่วยกระตุ้นการเจริญของต้นกล้าทั้งสองชนิดนี้แต่ทำให้กล้วยไม้ดังกล่าวตาย จากการทดลอง Bernardสรุปว่าราไมคอร์ไรซาที่เจริญร่วมกับรากกล้วยไม้ มีความเฉพาะเจาะจงต่อกล้วยไม้แต่ละชนิด(Bernard, 1909) ต่อมา Hadley (1970) ศึกษาการเพาะเมล็ดแบบเกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน ระหว่างรา *Rhizoctonia* ที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ต่าง ๆ รวม 32 สายพันธ์ พบว่าราเหล่านั้นไม่มีความเฉพาะเจาะจงต่อกล้วยไม้ จากนั้นก็มีการศึกษาถึงความเฉพาะเจาะจงของราและรากกล้วยไม้กันมาก และพอสรุปว่ากล้วยไม้บางชนิดก็มีความเฉพาะเจาะจงกับราบางชนิดเช่นกัน

ในต่างประเทศได้มีการศึกษาราไมคอร์ไรซากล้วยไม้กันมาก ได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย สหราชอาณาจักร เดนมาร์ก แคนาดา สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น ไต้หวัน สิงคโปร์ อินเดีย และประเทศ

ไทย โดยเฉพาะในประเทศออสเตรเลีย ที่ Kings Park Botanic Garden ได้ผลิตไมคอร์ไรซากับเมล็ดกล้วยไม้ขายเป็นการค้า เน้นทางด้านการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้

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

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

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

จากการตรวจเอกสารการศึกษาราไมคอร์ไรซากล้วยไม้ในประเทศไทยนั้นพบว่ามีการจำแนกราไมคอร์ไรซาในระดับ genus เท่านั้น ยังไม่มีการศึกษาการจำแนกชนิดถึงระดับ species เนื่องจากราในสกุล *Rhizoctonia* เป็นราที่ไม่สร้างสปอร์ ทำให้การจำแนกชนิดของราค่อนข้างยาก การชักนำให้ราสร้างระยะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศจะช่วยในการจำแนกชนิดราในกลุ่มนี้ได้ดีแต่การชักนำให้ราสร้างระยะนี้ก็ค่อนข้างยากเช่นกัน ดังนั้นจึงมีความสำคัญที่ควรจะทำการศึกษาโดยเฉพาะการศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์ราไมคอร์ไรซาของกล้วยไม้ โดยการรวบรวม

และจำแนกชนิดราในระดับ species เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้แบบเกื้อกูลซึ่งกันและกัน (symbiotic germination) โดยเฉพาะเมล็ดกล้วยไม้ที่งอกยาก เมล็ดกล้วยไม้ที่กำลังสูญพันธุ์ ซึ่งจะเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กล้วยไม้ และยังเป็นประโยชน์ต่อกลุ่มผู้เลี้ยงกล้วยไม้เพื่อการค้าต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างราก ได้แก่ พลั่ว กรรไกรตัดแต่งกิ่ง และภาชนะเก็บราก

2. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายคลอร็อกซ์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75% สารปฏิชีวนะ streptomycin และ tetracyclin สีย้อม : safranin – O และ KOH
สารเคมีที่ใช้ในการเก็บรักษา : paraffin oil

3. อาหารวุ้นสังเคราะห์ NDY (1/6), corn meal agar (CMA), water agar (WA), V8 juice agar และ potato dextrose agar (PDA)

4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ ขวดเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ กระจกนาฬิกา เป็นต้น

5. อุปกรณ์ในการแยกเชื้อ ได้แก่ เข็มเขี่ยปลายแหลม ฟอร์เซ็บปลายแหลม ใบมีดผ่าตัด กระดาษกรอง (Whatman #2)

8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น

9. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้

เก็บรากกล้วยไม้ดินที่ปลูกในกระถาง และปลูกในดิน จากแหล่งต่าง ๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ โดยตัดรากห่อกระดาษ ใส่ถุงพลาสติค และบันทึกรายละเอียดชนิดกล้วยไม้ แหล่งที่เก็บ และวันที่เก็บ เก็บบรรจุรากกล้วยไม้ห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำการแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกราจากเส้นใยที่เจริญอยู่ในชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้

แยกราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ โดยทำความสะอาดรากกล้วยไม้ ตัดชิ้นส่วนราก เป็นท่อนยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วแช่ชิ้นส่วนรากในสารละลายคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และนำชิ้นส่วนรากมาตัดเป็นชิ้นบาง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo ในตู้ปลอดเชื้อ ใช้เข็มปลายแหลมเล็กและปากคีบปลายแหลมที่ฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเส้นใยราที่เจริญอยู่รวมกันในชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้ มาวางบนอาหารวุ้นสังเคราะห์สูตร NDY (1/6) ผสมสารปฏิชีวนะ steptomycin และ tetracycline บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 3-10 วัน เมื่อราเจริญขึ้นมา ใช้เข็มปลายแหลมตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และเก็บรักษาสายพันธุ์ราไมคอร์ไรซาไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

3. การจำแนกราไมคอร์ไรซา

นำราไมคอร์ไรซาที่แยกได้จากข้อ 2 มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ เพื่อการจัดจำแนกชนิดของรา

3.1 ลักษณะของราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของโคโลนีด้านบนและด้านล่างอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งการสร้างเม็ด sclerotium

3.2 ศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo และ light microscope โดยการ mount สไลด์ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อหรือ Shear's solution ศึกษาลักษณะและวัดขนาดของเส้นใย ลักษณะเส้นใยตั้งฉาก ลักษณะรูปร่างและขนาดของ monilioid cell ของราที่เจริญบนอาหาร และ การสร้าง sclerotiumถ่ายภาพราจากกล้องจุลทรรศน์แบบ compound เปรียบเทียบลักษณะของราดังกล่าวกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดรา (Moore, 1987; Sneh *et al.,* 1991; Roberts, 1999)

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

3.4 การชักนำให้ราสร้างระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศ โดยเลี้ยงราบนอาหาร OPDMA (potato extract 15 g, marmite yeast extract 40 g, dextrose 7.5 g, agar 20 g, distilled water 1,000 ml, pH 5.3), ODMA (marmite 25 g, dextrose 12.5 g, distilled water 1,000 ml, pH 5.2) และ

ใน V8 juice agar (10% V8 juice, CaCO3 2g, agar 18 g, water 900 ml) เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และย้ายเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร tap water agar (agar 15 g, tap water 1,000 ml) บ่มเชื้อไว้ในสภาพที่มีแสง

เวลาและสถานที่

สถานที่ แปลงเกษตรกร และแหล่งธรรมชาติ

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ระยะเวลา 3 ปี เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2549

สิ้นสุด เดือนกันยายน 2551

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้

จากสำรวจและเก็บรวบรวมกล้วยไม้จากจังหวัดเชียงใหม่ อุบลราชธานี กาญจนบุรี กระบี่ และกรุงเทพ ฯ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – เดือนกันยายน 2551 จากกล้วยไม้ 8 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีฝาหอย (*Paphiopedilum bellatulum*) จำนวน 2 ตัวอย่าง รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (*P. exul*) จำนวน 2 ตัวอย่าง รองเท้านารีเหลืองปราจีน (*P. concolor*) จำนวน 2 ตัวอย่าง เอื้องช้าง (*Cymbidium tracyanum*) จำนวน 2ตัวอย่าง ว่านน้ำทอง *(Ludisia discolor*) จำนวน 3 ตัวอย่าง อ้ัวพวงมณี (*Calanthe rubens*) จำนวน 1 ตัวอย่าง เอื้องข้าวเหนียวลิง (*C. rosea*) จำนวน 2 ตัวอย่าง และ เอื้องดินใบหมาก (*Spathoglottis plicata*) จำนวน 4 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

2. การแยกราจากเส้นใยที่เจริญอยู่ในชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้

ผลจากการแยกราจากรากกล้วยไม้ 8 ชนิด โดยแยกราจากเส้นใยที่เจริญอยู่ในชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้ ได้ราทั้งหมด 30 สายพันธุ์ ดังนี้

รองเท้านารีฝาหอย จากจังหวัดกระบี่ แยกได้รา 4 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว เจริญใต้อาหาร มีบางส่วนเจริญเหนือวุ้นอาหาร เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน (concentric zonation)

รองเท้านารีเหลืองกระบี่ จากจังหวัดกระบี่ แยกได้รา 4 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว ใต้อาหาร มีบางส่วนเจริญเหนือวุ้นอาหาร เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน

รองเท้านารีเหลืองปราจีน จากจังหวัดกาญจนบุรี แยกได้รา 3 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว ใต้อาหาร มีบางส่วนเจริญเหนือวุ้นอาหาร เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน

เอื้องช้าง จากจังหวัดเชียงใหม่ และอุบลราชธานี แยกได้รา 4 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว ใต้อาหาร มีบางส่วนเจริญเหนือวุ้นอาหาร เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน

ว่านน้ำทอง จากจังหวัดเชียงใหม่ และกรุงเทพ ฯ แยกได้รา 3 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีน้ำตาล เส้นใยฟู เจริญเหนืออาหาร เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน

อั้วพวงมณี จากกรุงเทพ ฯ แยกได้รา 1 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว เส้นใยเจริญใต้อาหารและ เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน

เอื้องข้าวเหนียวลิง จากจังหวัดเชียงใหม่ แยกได้รา 4 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว ใต้อาหาร มีบางส่วนเจริญเหนือวุ้นอาหาร เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน

เอื้องดินใบหมาก จากกรุงเทพ ฯ และเชียงใหม่ แยกได้รา 7 สายพันธุ์ โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว เจริญใต้อาหาร มีบางส่วนเจริญเหนือวุ้นอาหาร เกิดเป็นวงเรียงซ้อนกัน

3. การจำแ นกราไมคอร์ไรซา

จากการจำแนกราไมคอร์ไรซาจากตัวอย่างรากกล้วยไม้ ที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ (ภาพที่ 1A) แยกเชื้อได้ 30 สายพันธุ์ จำแนกชนิดของราโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ลักษณะของโคโลนี ลักษณะและขนาดของเส้นใย ลักษณะ รูปร่าง และขนาดของ monilioid cell ของราที่เจริญบนอาหาร การสร้าง sclerotium และจำนวนนิวเคลียสต่อเซลล์ จากการศึกษาได้รา *Rhizoctonia* จำนวน 30 สายพันธุ์ จำแนกชนิดได้รา *Rhizoctonia globularis, R. goodyerae-repentis* และ *R. repens* (ตารางที่ 2)

รายละเอียดของรามีดังนี้

Rhizoctonia globularis H.K. Saksena & Vaartaja, Can.J.Bot. 38: 939, 1960

สายพันธุ์: RZO 0009

Class Agonomycetes, Order Agonomycetales

Teleomorph : *Endoperplexa enodulosa* (Hauerslev) P. Roberts

พืชอาศัย : รากของเอื้องดินใบหมาก เชียงใหม่ (RZO 0009)

ราสร้างเส้นใยเจริญอยู่ในชั้นคอร์แท็กซ์รากกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก

โคโลนี บนอาหาร PDA มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซ็นติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ โคโลนี สีขาว ถึงขาวอมชมพู เส้นใยเจริญอยู่ใต้อาหาร และเส้นใยเจริญขึ้นมาเหนืออาหารบริเวณตรงกลางโคโลนีเกิดเป็นวงเรียงซ้องกัน บนอาหาร potato dextrose agar เส้นใยเจริญใต้อาหาร และรวมตัวกันอย่างหลวม ๆ เกิดเป็น sclerotia

เส้นใยมีขนาด 2.5-3.5 ไมครอน ไม่มีสี มีผนังกั้นเซลล์ นิวเคลียสเป็น binucleate (ภาพที่ 4D) เส้นใยตั้งฉาก แต่ส่วนใหญ่เอียงเป็นมุม 45 องศาเซลเซียส มากกว่าเส้นใยตั้งฉาก

Monilioid cells ไม่มีสี รูปร่างกลมถึงค่อนข้างกลม ขนาด 8.0- x 10.5 ไมครอน แตกกิ่งก้านสั้น ๆ หรือไม่แตกกิ่งก้านเลย เรียงต่อกันประมาณ 3-8 เซลล์ บางครั้ง monilioid cells รวมตัวกันเป็นกลุ่ม ต่อมาพัฒนาเป็น sclerotium เจริญอยู่ใต้วุ้นอาหารเรียกว่า microsclerotium

การศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถชักนำราให้สร้างสปอร์ระยะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศได้ ซึ่งการชักนำให้ราสร้างสปอร์ระยะนี้ยากมาก ส่วนใหญ่มักพบในสภาพธรรมชาติ รา *Endoperplexa enodulosa* เป็นระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศของราชนิดนี้

ราชนิดนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับรา *R. repens* ที่บรรยายลักษณะของราโดย Curtis (1939) และ Burgeff (1959) ซึ่งลักษณะของโคโลนีของรา *R. globularis* ที่มีเส้นใยเจริญขึ้นมาเหนืออาหารบริเวณตรงกลางโคโลนีเกิดเป็นวงเรียงซ้องกันชัดเจนกว่า *R. repens* และมีขนาดของ monilioid cells ที่เล็กกว่า ทำให้สามารถแยกชนิดได้อย่างชัดเจน (Saksena and Vaartaja, 1960)

Rhizoctonia repens N. Bernard, Ann. Sci. Nat, IX (9) ; 31 (1909)

สายพันธุ์: RZO 0001, RZO 0002, RZO 0003, RZO 0004, RZO 0005, RZO 0006, RZO 0007, RZO 0016, RZO 0014, RZO 0015, RZO 0025, RZO 0026, RZO 0018, RZO 0019, RZO 0020, RZO 0012, RZO 0013, RZO 0029, RZO 0030, RZO 0021, RZO 0022, RZO 0023, RZO 0009, RZO 0010, RZO 0011, RZO 0024

Class Agonomycetes, Order Agonomycetales

Teleomorph : *Tulasnella deliquescens* (Juel) Juel

พืชอาศัย : รากของเอื้องข้าวเหนียวลิง เชียงใหม่ (RZO 0001, RZO 0002, RZO 0003, RZO) ; รากของ เอื้องช้าง เชียงใหม่ (RZO 0005, RZO 0006, RZO 0007) ; อุบลราชธานี (RZO 0016); รากของรองเท้านารีฝาหอย กระบี่ (RZO 0014, RZO 0015, RZO 0025, RZO 0026) ; รองเท้านารีเหลืองปราจีน กาญจนบุรี (RZO 0018, RZO 0019, RZO 0020) ; รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (RZO 0012, RZO 0013, RZO 0029, RZO 0030) ; อั้วพวงมณี กรุงเทพ ฯ (RZO 0027) ; เอื้องดินใบหมาก กรุงเทพ ฯ (RZO 0021, RZO 0022, RZO 0023) ; เชียงใหม่ (RZO 0010, RZO 0011, RZO 0024)

ราสร้างเส้นใยเจริญอยู่ในชั้นคอร์แท็กซ์รากกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก

โคโลนี บนอาหาร PDA มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซ็นติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ โคโลนี สีขาว ถึง ครีม เส้นใยเจริญอยู่ใต้อาหาร เกิดเป็นวงเรียงซ้องกัน บนอาหาร Corn meal agar โคโลนี สีขาวถึงครีม เส้นใยเจริญใต้อาหาร และรวมตัวกันอย่างหลวม ๆ เกิดเป็น sclerotia

เส้นใยไม่มีสี ขนาด 2.5-4.0 ไมครอน มีผนังกั้นเซลล์ นิวเคลียสเป็น binucleate เส้นใยตั้งฉาก Monilioid cells ไม่มีสี รูปร่างกลมถึงรี ขนาด 6.5-10.8 x 7.5-14.2ไมครอน เรียงต่อกันเป็นลูกโซ่สั้น ๆ แตกกิ่งก้านสั้น ๆ หรือไม่แตกกิ่งก้านเลย บางครั้ง monilioid cells รวมตัวกันเป็นกลุ่ม ต่อมาพัฒนาเป็น sclerotium เจริญอยู่ใต้วุ้นอาหารเรียกว่า microsclerotium การศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถชักนำราให้สร้างสปอร์ระยะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศได้

รา *Tulasnella deliquescens* เป็นระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศของราชนิดนี้

รา *R. repens* เป็นราที่พบแพร่หลายในรากกล้วยไม้หลายชนิด ซึ่ง Bernard (1909) เป็นบุคคลแรกที่แยกราชนิดนี้มาจากรากกล้วยไม้แคทลียา (*Laelio-Cattleya canhamiana)* ซึ่งมีลักษณะของโคโลนี ขนาดของเส้นใย และลักษณะต่าง ๆ ใกล้เคียงกับการศึกษาครั้งนี้

ต่อมา Curtis (1939) และ Burgeff (1959) ทำการศึกษาแยกราไมคอร์ไรซาจากกล้วยไม้หลายชนิดใน Wisconsin และจำแนกชนิดเป็นรา *R. repens* มีลักษณะของเส้นใยเจริญอยู่ใต้อาหาร และมีขนาดของ monilioid cells ใกล้เคียงกับลักษณะของ Bernard บรรยายไว้

Currarh *et al* (1987) พบรา *R. repens* .ในรากของกล้วยไม้ *Platanthera obtusata* ในเมืองอัลเบอร์ต้า ประเทศแคนาดา

ในประเทศอินเดีย Senthikumar และ Krishnamurthy (1998) ได้ศึกษาลักษณะทางเซลล์วิทยาของรา *R. repens* ที่แยกได้จากรากของกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก ซึ่งตรงกับการศึกษาครั้งนี้ที่แยกราชนิดนี้ได้ในเอื้องดินใบหมากเช่นเดียวกัน

Rhizoctonia goodyerae - repentis Costantin & Dufour, Mycotaxon 29: 94. 1987

สายพันธุ์: RZO 0008, RZO 0017, RZO 0028

Class Agonomycetes, Order Agonomycetales

Teleomorph: *Ceratobasidium cornigerum* (Bourd.) Rogers

พืชอาศัย: รากของว่านน้ำทอง (*Lusidia discolor)* กรุงเทพ ฯ (RZO 0028), เชียงใหม่ (RZO 0017, RZO 0008)

ราเจริญเข้าไปในรากพืชและสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า pelotons ในชั้นคอร์เท็กซ์

โคโลนี เจริญอย่างเร็วบนอาหาร PDA และโคโลนีมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซ็นติเมตร เมื่ออายุ 4 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โคโลนีมีสีขาว ถึง ครีม เมื่ออ่อนและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมส้มเมื่อแก่ เกิด concentric zonation บนอาหาร เส้นใยที่เจริญอยู่เหนืออาหารไม่มีสีและเปลี่ยนเป็นสีแทน หลังอายุ 14 วัน มักพบเส้นใยหรือ moniliod cells รวมตัวกันเป็นกลุ่ม ต่อมาพัฒนาเป็น sclerotium เจริญอยู่ใต้วุ้นอาหารเรียกว่า microsclerotium

เส้นใยกว้าง 4.0 – 5.3 ไมครอน มีผนังกั้นเซลล์ เส้นใยตั้งฉาก monilioid cells รูปร่างคล้ายถังเบียร์ ถึงรูปรี ขนาด 15.4–(20.6)–26.4 x 6.9–(10.6)–11.3 ไมครอน นิวเคลียสมี 2 นิวเคลียส ต่อ 1 เซลล์ (binucleate)

การศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถชักนำราให้สร้างสปอร์ระยะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศได้ รา *Ceratobasidium corginerum* เป็นระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศของราชนิดนี้

R. goodyerae – repentis เป็นราไมคอร์ไรซาที่พบในกล้วยไม้ดินหลายชนิด (Alexander and Hadley, 1985; Currah *et al*., 1990; Zelmer and Currah, 1997) และยังพบในกล้วยไม้เกาะอาศัยด้วย Richardson *et al.* (1993) รายงานแยกได้ราชนิดนี้จากกล้วยไม้เกาะอาศัย *Campylocentrum micranthum* ในประเทศคอสตาริก้า

Warcup and Talbot (1971) ศึกษาการชักนำรา *R. goodyerae – repentis* ให้สร้างระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศ โดยแยกราจากรากกล้วยไม้เกาะอาศัย 2 ชนิด ได้แก่ *Pomatocalpa macphersonii* และ *Robiquetia wassellii* จากรัฐควีนแลนส์ตอนเหนือ ประเทศออสเตรเลีย จำแนกชนิดได้รา *R. goodyerae-repentis* และสามารถชักนำราให้สร้างระยะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ คือ รา *C. corginerum*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการรวบรวมและจำแนกราไมคอร์ไรซาจากรากกล้วยไม้ปกติ จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีฝาหอย รองเท้านารีเหลืองกระบี่ รองเท้านารีเหลืองปราจีน เอื้องช้า ว่านน้ำทอง อั้วพวงมณี เอื้องข้าวเหนียวลิง และ เอื้องดินใบหมาก จากจังหวัดเชียงใหม่ อุบลราชธานี กาญจนบุรี กระบี่ และกรุงเทพ ฯ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – เดือนกันยายน 2551 และทำการแยกราไมคอร์ไรซาจากเส้นใยของราที่เจริญอยู่ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ของรากกล้วยไม้ ได้ราทั้งหมด 30 สายพันธุ์ ซึ่งสามารถจำแนกชนิดราเป็นราสกุล *Rhizoctonia* 3 ชนิด เป็น Binucleate *Rhizoctonia* ได้แก่ *Rhizoctonia globularis, R. goodyerae-repentis* และ *R. repens* เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ใน liquid paraffin และบน slant PDA ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 15 องศาเซลเซียส

นักวิจัยสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ร่วมกับราไมคอร์ไรซาแบบเกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกัน ในได้ชนิดราไมคอร์ไรซาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาเทคนิคการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ร่วมกับราไมคอร์ไรซาแบบเกื้อกูลเอื้อประโยชน์ซึ่งกันและกันในการทดลองต่อไป โดยเฉพาะกล้วยไม้พันธุ์ที่ขยายพันธุ์ยาก และพันธุ์ที่ใกล้สูญพันธุ์หรือนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์

เอกสารอ้างอิง

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

Alexander, C. and G. Hadley. 1985. Carbon movement between host and endophyte during the development of the orchid *Goodyera repens* Br. New Phytol. 101 : 657-656.

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

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

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

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

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

Burgeff, H. 1959. Mycorrhiza of orchids, (pp. 361-395) *In* C.L. Withner, eds. The Orchids : A Scientific Survey. The Ronald Press Company, New York.

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

Currah, R.S., L.Sigler and S. Hambleton. 1987. New records and new taxa of fungi from mycorrhizae of terrestrial orchids of Alberta. Can. J. Bot. 65 : 2473-2482.

Currah, R.S., A Smreciu and S.Hambleton. 1990. Mycorrhizae and mycorrhizal fungi of boreal species of *Platanthera* and *Coeloglossum* (Orchidaceae). Can. J. Bot. 68 : 1171-1181.

Curtis, J.T. 1939. The relation of specificity of orchid mycorrhizal fungi to the problem of symbiosis. Am. J. Bot. 26 : 390.

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

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

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

Manoch, L., P. Athipunyakom and M. Tanticharoen. 2000. *Rhizoctonia* – like fungi associated terrestrial orchid in Thailand, (pp. 63) *In* The 3rd International Symposium on *Rhizoctonia* (ISR 2000), National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan (ROC), 17-20 August.

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

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

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

Narmatha, L.S., T.K. Tan and C.S. Loh. 2000. Symbiotic abilities of mycorrhizae isolated from terrestrially grown and epiphytic orchids, (pp. 56) *In* The 3rd International Symposium on *Rhizoctonia* (ISR 2000), national Chung Hsing University, Taichung, Taiwan (ROC), 17-20 August 2000.

Richardson, K.A., R.S. Currah and S. Hampleton. 1993. Basidiomycetous endophytes from roots of Neotropical epiphytic Orchidaceae. Lindleyana 8: 127-137.

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

Senthikimar, S. and K.V. Krishnamurthy. 1998a. A cytochemical atudy on the mycorrhizae of *Spathoglottis plicata*. Biologia Plantarum 41(1) : 111-119.

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

Warcup, J.H. and P.H.B. Talbot. 1971. Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids II. New Phytol. 70 : 35-40.

Zelmer, C.D., and R.S. Currah. 1997. Symbiotic germination of *Spiranthes lacera* (Orchidaceae) with a naturally occuring endophyte. Lindleyana 12 (3) : 142-148.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1: สำรวจและเก็บตัวอย่างรากกล้วยไม้ที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทยระหว่างเดือนกันยายน 2549 – เดือนตุลาคม 2551

ลำดับ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อกล้วยไม้	จำนวนตัวอย่าง	แหล่งเก็บ
1	*Calanthe rosea*	เอื้องข้าวเหนียวลิง	2	เชียงใหม่
2	*Calanthe rubens*	อั้วพวงมณี	1	กรุงเทพ ฯ
3	*Cymbidium tracyanum*	เอื้องช้าง	1	เชียงใหม่
4	*Cymbidium tracyanum*	เอื้องช้าง	1	อุบลราชธานี
5	*Ludisia discolor*	ว่านน้ำทอง	1	กรุงเทพ ฯ
6	*Ludisia discolor*	ว่านน้ำทอง	2	เชียงใหม่
7	*Paphiopedilum bellatulum*	รองเท้านารีฝาหอย	2	กระบี่
8	*Paphiopedilum concolor*	รองเท้านารีเหลืองปราจีน	2	กาญจนบุรี
9	*Paphiopedilum exul*	รองเท้านารีเหลืองกระบี่	2	กระบี่
10	*Spathoglottis plicata*	เอื้องดินใบหมาก	2	กรุงเทพ ฯ
11	*Spathoglottis plicata*	เอื้องดินใบหมาก	2	เชียงใหม่

ตารางที่ 2 : ราไมคอร์ไรซากล้วยไม้ที่แยกได้จากรากกล้วยไม้ชนิดต่าง ๆ จากแหล่งต่าง ๆของประเทศไทยระหว่างเดือนกันยายน 2549 – เดือนตุลาคม 2551

ชื่อกล้วยไม้	แหล่งเก็บ	สายพันธุ์	ราไมคอร์ไรซากล้วยไม้
รองเท้านารีเหลืองกระบี่	อ. เหนือคลอง จ. กระบี่	RZO 0012	*Rhizoctonia repens*
	อ. เมือง จ.กระบี่	RZO 0013	
	อ. เขาพนม จ. กระบี่	RZO 0029	
	อ. อ่าวลึก จ. กระบี่	RZO 0030	
รองเท้านารีเหลืองปราจีน	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี	RZO 0018	*Rhizoctonia repens*
	อ. ไทรโยค จ. กาญจนบุรี	RZO 0019	
	อ. เมือง จ. กาญจนบุรี	RZO 0020	
รองเท้านารีฝาหอย	อ. เมือง จ.กระบี่	RZO 0014	*Rhizoctonia repens*
	อ. เขาพนม จ. กระบี่	RZO 0015	
	อ. อ่าวลึก จ. กระบี่	RZO 0025	
	อ. เหนือคลอง จ. กระบี่	RZO 0026	
ว่านน้ำทอง	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ ฯ	RZO 0028	*Rhizoctonia goodyerae-repens*
	สวนพฤกษศาสตร์สิริกิติ์ จ. เชียงใหม่	RZO 0017	
	อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	RZO 0008	
อั้วพวงมณี	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ ฯ	RZO 0027	*Rhizoctonia repens*
เอื้องช้าง	อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่	RZO 0005	*Rhizoctonia repens*
	อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	RZO 0006	
	สวนพฤกษศาสตร์สิริกิติ์ จ. เชียงใหม่	RZO 0007	
	อุบลราชธานี	RZO 0016	
เอื้องข้าวเหนียวลิง	อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่	RZO 0001	*Rhizoctonia repens*
	อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	RZO 0002	
	สวนพฤกษศาสตร์สิริกิติ์ จ. เชียงใหม่	RZO 0003	
	อ. พร้าว จ. เชียงใหม่	RZO 0004	
เอื้องดินใบหมาก	เขตบางซื่อ กรุงเทพ ฯ	RZO 0021	*Rhizoctonia repens*
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ ฯ	RZO 0022	
	วงศ์สว่าง กรุงเทพ ฯ	RZO 0023	
	อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่	RZO 0010	
	อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่	RZO 0011	
	เอ. พร้าว จ. เชียงใหม่	RZO 0024	
เอื้องดินใบหมาก	สวนพฤกษศาสตร์สิริกิติ์ จ. เชียงใหม่	RZO 0009	*Rhizoctonia globularis*

สำรวจและรวบรวมวัชพืชในมันฝรั่ง

Survey and Collection of Weed Species in Potato

จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ เบญจมาภรณ์ ลิ้มประเสริฐ มัตติกา ทองรส
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชในมันฝรั่ง ได้ดำเนินงานในแหล่งปลูกมันฝรั่งตามจังหวัดต่าง ๆ ในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ จังหวัดลำปาง ลำพูน เชียงใหม่ เชียงราย สกลนคร มหาสารคาม และ มุกดาหาร ช่วงเวลาดำเนินงานคือ ตุลาคม 2550 ถึงกันยายน 2552 ทำการสำรวจชนิด และปริมาณวัชพืชโดยใช้แปลงสุ่ม (Sampling plot ขนาด 0.5 x 0.5 เมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous., 1982) วัชพืชที่พบทั้งหมด 54 ชนิด สามารถแบ่งได้ 3 ประเภทคือ วัชพืชใบกว้าง วัชพืชใบแคบ และกก โดยพบวัชพืชใบกว้าง 38 ชนิด ได้แก่ กะเม็ง ครอบฟันสี เงี่ยงปลา เซ่งใบมน ตดหมูตดหมา ต้อยติ่ง ตำแย ตำลึง ตีนตุ๊กแก ถั่วลิสงนา เทียนนา โทงเทง น้ำนมราชสีห์ บานไม่รู้โรยป่า ปอกระเจา ปอเทือง ปอสีดา ผักขม ผักขมหิน ผักคราดหัวแหวน ผักแครด ผักเบี้ยหิน ผักเบี้ยใหญ่ ผักปลาบไร่ ผักปลาบนา ผักเสี้ยน พรหมพระอินทร์ ลูกใต้ใบ สะอึก สาบเสือ โสนดอน สร้อยนกเขา หญ้ากาบหอย หญ้ายาง หญ้าละออง หูปลาช่อน อุตพิษ วัชพืชใบแคบมี 12 ชนิด ได้แก่ หญ้าไข่เห่า หญ้าดอกขาว หญ้าแดง หญ้าตอแหล หญ้าตีนกา หญ้าตีนติด หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าปากควาย หญ้าแพรก หญ้ารังนก หญ้าหางนกยูงใหญ่ และ กก 3 ชนิด ได้แก่ กกขนาก กกสามเหลี่ยม และหญ้าแห้วหมู

คำค้น Potato, Weed Unrestricted Sampling Method, Sampling Plot, Relative Density, Relative Frequency. Sum Domirant Ratio และ มันฝรั่ง

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) หรือมีชื่อเรียกว่า มันอลู ตามคำเรียกของชาวอินเดีย มันฝรั่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศเปรู ทวีปอเมริกาใต้ และเริ่มนำเข้ามาปลูกในประเทศไอร์แลนด์ เพื่อเป็นอาหารในต้นศตวรรษ ที่ 18 จึงนิยมเรียกมันฝรั่งว่า ไอริสโพเตโต้ ส่วนในประเทศไทยคาดว่า ชาวจีนฮ่อ นำเข้ามาปลูกที่ภาคเหนือของประเทศ

แหล่งปลูกมันฝรั่งที่เหมาะสม และให้ผลผลิตมันฝรั่งสูงนั้น จำเป็นต้องมีอุณหภูมิค่อนข้างเย็นระหว่าง 15 – 18 องศาเซลเซียส คือปลูกในช่วงเดือนพฤศจิกายน ไปจนถึงเดือนมกราคมของปีถัดไป นอกจากนี้มันฝรั่งยังต้องการความยาวแสง หรือช่วงเวลากลางวัน 12 – 13 ชั่วโมง และลักษณะดินเป็นดินร่วนปนทราย แต่อย่างไรก็ตามมันฝรั่งปลูกได้ทั้งในและนอกฤดู การปลูกในฤดูเริ่มตั้งแต่ เดือนพฤศจิกายน และเก็บเกี่ยวในเดือน มีนาคม แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ที่ อำเภอแม่แตง สันทราย ไชยปราการ และฝาง การปลูกนอกฤดูมักปลูกตามไหล่เขา เช่นที่อำเภอเชียงดาว การปลูกนอกฤดูแบ่งออกเป็น 2 รุ่น คือ รุ่นแรกปลูกเดือนเมษายน และเก็บเกี่ยวในเดือน สิงหาคม ส่วนรุ่นที่ 2 ปลูกในเดือน กรกฎาคม และเก็บเกี่ยวในเดือน ตุลาคม พันธุ์มันฝรั่งที่ปลูกในประเทศไทยนั้น ปัจจุบันนิยมปลูก 2 พันธุ์คือ พันธุ์ สปุนต้า และ พันธุ์ แคนนิแบค (http://siweb.dss.go.th/qa/search-description.asp?QA-ID=196)

การปลูกมันฝรั่งนั้นจะปลูกโดยยกร่อง อาจยกร่องด้วยเครื่องจักรขนาดเล็ก แบบล้อเดี่ยว (ถ้าพื้นที่ปลูกขนาดเล็กจะใช้จอบก็ได้) ความลึกของร่อง 10 เซนติเมตร กว้าง 25 – 30 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างต้น 18- 22 เซนติเมตร การดูแลเกี่ยวกับวัชพืชนั้น หลังจากให้น้ำครั้งแรก 2 – 3 วันให้พ่นยาคุม ยาฆ่าหญ้า และฆ่า แมลง และพ่นยาป้องกันเชื้อรา และหยุดพ่นสารทุกชนิด ไม่น้อยกว่า 7 วันก่อนเก็บเกี่ยว โดยปกติอายุเก็บเกี่ยวของมันฝรั่ง 90 – 100 วัน (htt://www.oae.go.th//zone/zone1/columnnis.htm)

การศึกษาในครั้งเพื่อสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชในแหล่งปลูกมันฝรั่งของประเทศไทย ซึ่งจะได้ข้อมูลเพื่อประกอบงานวิจัยเกี่ยวกับวัชพืช รวมถึงการจัดทำฐานข้อมูลเกี่ยวกับวัชพืชต่อไป

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

- แปลงสุ่ม (Sample plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร
- เลนส์ขยาย
- วัสดุ และอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก เฟรมอัดตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์/กระดาษฟาง กระดาษลูกฟูก และเชือกมัดเฟรม

- อุปกรณ์ในการบันทึกข้อมูล เช่นกระดาษ หรือ แบบฟอร์มในการบันทึกข้อมูล และกล้องบันทึกภาพ

วิธีการ

1. การค้นคว้าจากเอกสาร

ค้นคว้าเอกสารวิชาการต่าง ๆ เกี่ยวกับหน่อไม้ฝรั่ง แหล่งปลูกมันฝรั่ง การแพร่กระจายของวัชพืช และการตลาด

2. การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชจากแปลงปลูกมันฝรั่ง

แผนการสำรวจวัชพืชในมันฝรั่ง ได้แบ่งเขตการสำรวจตามจังหวัดต่าง ๆ คือ จังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี กาฬสินธุ์ และ ประจวบคีรีขันธ์

วิธีสุ่มตัวอย่างวัชพืชในการสำรวจนั้น ใช้แปลงสุ่ม (Sample Plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted Sampling Method (Anonymous, 1982) ทำการสุ่ม 4 จุดต่อหนึ่งแปลง บันทึกจำนวน ชนิด นับปริมาณวัชพืชแต่ละชนิด และหาชื่อวัชพืช บันทึกภาพ เก็บตัวอย่างวัชพืชที่สมบูรณ์ คือมีส่วนของราก ต้น ใบ และดอก อัดไว้ในแผงไม้ เพื่อนำมาตากแห้งและเก็บรักษาไว้ที่ห้องเก็บตัวอย่างพรรณไม้ เพื่อใช้ในการศึกษา และเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลต่อไป ส่วนการวิเคราะห์ลักษณะเชิงปริมาณ (Quantitative characteristic) ของวัชพืชที่สำรวจพบในแปลง เพื่อจัดลำดับวัชพืชเด่น(Dominant species) และวัชพืชรอง (Co-dominant species) นั้นได้อาศัยค่าของ Sum Dominant Ratio ซึ่งคำนวณได้จากค่า Relative Density และค่า Relative Frequency จากสมการดังต่อไปนี้

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

$$\text{Relative Frequency (RF)} = \frac{\text{Frequency Value for a Species x 100}}{\text{Total Frequency Value for all Species}}$$

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

การจำแนกชนิดวัชพืช (Classification) และการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ (Identification) นั้นได้อาศัยความชำนาญและประสบการณ์ของนักวิชาการและเอกสารวิชาการดังต่อไปนี้

1. เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.

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

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

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

ระยะเวลา

ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยวัชพืช จังหวัดกรุงเทพฯ นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี กาฬสินธุ์ และประจวบคีรีขันธ์

ผลการทดลองและวิจารณ์

อยู่ในระหว่างการดำเนินงานการรวบรวมข้อมูลจากการสำรวจในรอบปีที่ผ่านมา

เอกสารอ้างอิง

1. เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.

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

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

http:// siweb.dss.go.th/qa/search-description.asp?QA-ID=196

htt://www.oae.go.th//zone/zone1/columnnis.htm

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

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

สำรวจและรวบรวมวัชพืชในมันสำปะหลัง

Survey and Collection of Weed Species in Cassava

จันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ เบญจมาภรณ์ ลิ้มประเสริฐ มัตติกา ทองรส
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชในมันสำปะหลัง ได้ดำเนินงานในแหล่งปลูกมันสำปะหลังตามจังหวัดต่าง ๆ ในภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางและภาคเหนือ คือ ทำการสำรวจชนิด และปริมาณวัชพืชโดยใช้แปลงสุ่ม (Sampling plot ขนาด 0.5 x 0.5 เมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted sampling method (Anonymous., 1982) วัชพืชที่พบทั้งหมด 77 ชนิด สามารถแบ่งได้ 3 ประเภทคือ วัชพืชใบกว้าง วัชพืชใบแคบ และกก โดยพบวัชพืชใบกว้าง 53ชนิด ได้แก่ กระดุมขน กระดุมใบใหญ่ กระดุมใบเล็ก กระต่ายจาม กะเม็ง กินกุ้งน้อย ขยุ้มตีนหมา โคกกระสุน เงี่ยง เงี่ยงปลา เซ่งใบยาว ตดหมูตดหมา ตำแย ต้อยติ่ง ตีนตุ๊กแก ถั่วผี ถั่วลิสงนา เทียนนา น้ำนมราชสีห์ ปอกระเจา ปอวัชพืช ผักขม ผักขมหนาม ผักขมหิน ผักแครด ครอบฟันสี เงี่ยงปลา เซ่งใบมน ผักเบี้ยใหญ่ ผักปลาบนา ผักปลาบไร่ ผักเสี้ยน ผักเสี้ยนผี พันงูเขียว แมงลักคา ไมยราบ ไมยราบเลื้อย ลูกใต้ใบ สร้อยนกเขา สะอึก สาบแร้งสาบกา สาบเสือ โสนดอน หญ้ากาบหอย หญ้ากำมะหยี่ หญ้าท่าพระ หญ้าไม้กวาด หญ้าไม้กวาดใหญ่ หญ้ายาง หญ้าละออง หญ้าสาบ ผักปลาบ *Galingsoga ciliata* *Galingsoga parvifora* หญ้าลิ้นงู วัชพืชใบแคบมี 19 ชนิด ได้แก่ หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าขจรจบดอกเหลือง หญ้าโขย่ง หญ้าคา หญ้าไข่เหา หญ้าเจ้าชู้ หญ้าชันกาด หญ้าดอกแดง หญ้าดอกขาวหญ้าตีนกา หญ้าตีนติด หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู หญ้าปากควาย หญ้าแพรก หญ้ามาเลเซีย หญ้ารังนก หญ้านก และ หญ้าหวาย และ กก 6 ชนิด ได้แก่ กกดอกตุ้ม กกทราย กกสามเหลี่ยม หนวดปลาดุก หญ้าหนวดแมว และหญ้าแห้วหมู

รหัสโครงการ 09 02 49 01

คำค้น Cassava, Weed Unrestricted Sampling Method, Sampling Plot, Relative Density, Relative Frequency. Sum Dominant Ratio และ มันสำปะหลัง

คำนำ

มันสำปะหลัง ชื่อทั่วไปภาษาอังกฤษเรียกว่า Cassava หรือ Tapioca มีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Manihot esculenta* จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae ลำต้นมีลักษณะคล้ายข้อเนื่องจากก้านใบที่แก่ร่วงหล่นไป ก้านใบยาว แผ่นใบหยักเว้าเป็นแฉกมี 3 – 9 แฉก ดอกตัวผู้ และดอกตัวเมียอยู่ในช่อเดียวกัน ดอกตัวผู้มีขนาดเล็กอยู่ที่ส่วนปลายของช่อดอก ส่วนดอกตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าอยู่ส่วนโคนของช่อดอก ดอกตัวเมียจะบานก่อนดอกตัวผู้ประมาณ 1 สัปดาห์ ดังนั้นการผสมเกสรจึงเป็นการผสมข้ามต้น (http:/www.oae.go.th/AgroMag/WeeklyNews/listWeeklyMenu.php)

หลังจากปลูกมันสำปะหลังแล้วประมาณ 2 เดือน รากกจะเริ่มสะสมแป้งและมีขนาดใหญ่ขึ้นตามอายุเรียกว่าหัว ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ดี มันสำปะหลังที่มีอายุมากกว่า 1 ปี บางพันธุ์อาจให้หัวน้ำหนักหลายสิบกิโลกรัม ส่วนต่างๆของมันสำปะหลังมีกรดไฮโดรไซยานิก (HCN) ซึ่งเป็นสารที่เป็นพิษต่อมนุษย์ และสัตว์ ใบและเปลือก มีสารนี้มากกว่าเนื้อสด และพันธุ์ต่างๆมีปริมาณสารนี้แตกต่างกัน ดังนั้นมันสำปะหลังที่ใช้บริโภคควรใช้พันธุ์ 5 นาที เพราะมีกรดไฮโดรไซยานิกต่ำกว่า และก่อนจะบริโภคควรนำมันสำปะหลังมาปอกเปลือก หมัก เคี่ยว ย่าง ปิ้ง หรือ ต้ม กรดไฮโดรไซยานิกจะลดน้อยลงจนถึงปริมาณที่ร่างกายคนเราสามารถเปลี่ยนกรดไฮโดรไซยานิกเป็นสารอื่นที่ไม่เป็นอันตราย (http:/www.matichon.co.tk/prahachat_detail.php?_tag=02inv08240950 &day=2007-09-24sionid=0203)

มันสำปะหลังเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นประเทศที่ผลิตมันสำปะหลังมาก จึงเป็นประเทศที่อยู่ในบริเวณเส้นศูนย์สูตรระหว่างเส้นรุ้งที่ 20 องศาเหนือและใต้ ประเทศที่ปลูกมากได้แก่ บราซิล อินโดเนเซีย ไนจีเรีย ไทย และอินเดีย สำหรับประเทศไทยผลิตมันสำปะหลังได้มากเป็นอันดับ 5 ของโลก และสามารถปลูกได้ทั่วประเทศ แต่แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ที่ภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด ชลบุรี ระยอง ปราจีนบุรี นครราชสีมา และชัยภูมิ (http:/www.matichon.co.tk/prahachat_detail.php?_tag=02inv08240950& day= 2007 -09-24sionid=0203)

ในประเทศไทยมีการใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารน้อยมาก ส่วนใหญ่ใช้แปรรูปทำแป้ง และแปรรูปเป็นอาหารสัตว์ในรูปมันเส้นและมันอัดเม็ด สำหรับแป้งมันสำปะหลังนั้นมีการผลิตได้ประมาณปีละ 400,000 ตัน ส่งออกประมาณ 200,000 ตัน บริโภคภายในประเทศประมาณ 150,000 - 200,000 ตัน สำหรับมันอัดเม็ด/มันเส้นนั้น มีสัดส่วน 70 % ของผลิตภัณฑ์ โดยมีมูลค่าส่งออกประมาณ 40 % ตลาดที่สำคัญได้แก่สหภาพยุโรปและจีน (http://www.doa.go.th/pl_data/CASS/1stat/st02.html)

ด้านอารักขาพืชมีรายงานชนิดวัชพืชที่พบในแปลงปลูกมันสำปะหลังทั้งหมด 13 ชนิด ได้แก่ หญ้าขจรจบดอกเล็ก หญ้าขจรจบดอกใหญ่ หญ้าตีนติด หญ้าตีนกา หญ้าตีนนก หญ้า

ปากควาย หญ้านกสีชมพู หญ้าแพรก หญ้ายาง ผักโขมหิน ผักเบี้ยหิน เถาจิงโจ้ และหญ้าแห้วหมู รวมถึงกรรมวิธีในการจัดการวัชพืช (นิรนาม,2547) แต่ยังไม่ปรากฏรายงานการสำรวจวัชพืชในแหล่งปลูกมันสำปะหลังของประเทศไทย ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้เพื่อสำรวจปริมาณ และชนิดวัชพืช ในแหล่งปลูกมันสำปะหลังของประเทศไทย ซึ่งจะเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับวัชพืชและการจัดทำฐานข้อมูลทางด้านวัชพืชต่อไป

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. การค้นคว้าจากเอกสาร

ค้นคว้าเอกสารวิชาการต่าง ๆ แหล่งปลูกสำปะหลัง การแพร่กระจายของวัชพืช และการตลาด

2. การสำรวจและรวบรวมชนิดวัชพืชจากแปลงปลูกสำปะหลัง

แผนการสำรวจวัชพืชในสำปะหลัง

ได้แบ่งเขตการสำรวจตามภาคต่าง ๆ คือ ภาคตะวันออก ที่จังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด ปราจีนบุรี และสระแก้ว ภาคตะวันออกเฉียงที่จังหวัดนครราสีมา มหาสารคาม ขอนแก่น อุดร กาฬสินธุ์ สกลนคร นครพนม มุกดาหาร ร้อยเอ็ด อำนาจเจริญ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ บุรีรัมย์ และ สุรินทร์ ภาคกลางได้แก่ จังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ลพบุรี สิงห์บุรี ชัยนาท สุพรรณ อุทัย นครสวรรค์ กำแพงเพชร และพิษณุโลก ภาคเหนือได้แก่ จังหวัดตาก สุโขทัย อุตรดิตถ์ แพร่ น่าน ลำปาง เชียงใหม่ และเชียงราย

วิธีสุ่มตัวอย่างวัชพืชในการสำรวจนั้น ใช้แปลงสุ่ม (Sample Plot) ขนาด 0.5 x 0.5 ตารางเมตร วางแปลงสุ่มโดยวิธี Unrestricted Sampling Method (Anonymous, 1982) ทำการสุ่ม 4 จุดต่อหนึ่งแปลง บันทึกจำนวน ชนิด นับปริมาณวัชพืชแต่ละชนิด และหาชื่อวัชพืช บันทึกภาพ เก็บตัวอย่างวัชพืชที่สมบูรณ์ คือมีส่วนของราก ต้น ใบ และดอก อัดไว้ในแผงไม้ เพื่อนำมาตากแห้งและ

เก็บรักษาไว้ที่ห้องเก็บตัวอย่างพรรณไม้ เพื่อใช้ในการศึกษา และเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลต่อไป ส่วนการวิเคราะห์ลักษณะเชิงปริมาณ (Quantitative characteristic) ของวัชพืชที่สำรวจพบในแปลงเพื่อจัดลำดับวัชพืชเด่น(Dominant species) และวัชพืชรอง (Co-dominant species) นั้นได้อาศัยค่าของ Sum Dominant Ratio ซึ่งคำนวณได้จากค่า Relative Density และค่า Relative Frequency จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{Relative Density (RD)} = \frac{\text{Density for a Species} \times 100}{\text{Total Density for all Species}}$$

$$\text{Relative Frequency (RF)} = \frac{\text{Frequency Value for a Species} \times 100}{\text{Total Frequency Value for all Species}}$$

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

การจำแนกชนิดวัชพืช (Classification) และการระบุชื่อวิทยาศาสตร์ (Identification) นั้นได้อาศัยความชำนาญและประสบการณ์ของนักวิชาการและเอกสารวิชาการดังต่อไปนี้

1. เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.

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

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

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

ระยะเวลา

ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มวิจัยวัชพืช จังหวัดกรุงเทพฯ พื้นที่ปลูกมันสำปะหลังในภาคตะวันออก ตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และ ภาคเหนือ

ผลการทดลองและวิจารณ์

อยู่ในระหว่างการสำรวจวัชพืชในแปลงมันสำปะหลังเพิ่มเติม และการรวบรวมข้อมูลจากการสำรวจในรอบปีที่ผ่านมา

เอกสารอ้างอิง

1. เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. (ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม พ.ศ. 2544) ฟันนี่พับลิชชิ่ง. กรุงเทพมหานคร. 810 หน้า.
2. นิรนาม. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด.133 หน้า.
3. Anonymous. 1982. Weed Surveying Techniques. Paper in ASEN PLANTI Advance Course On Weed Identification. 6-25 June 1982. ASEAN PLANT Quarantine Centre and Training Institute. Malaysia. 20 pp
4. Anonymous. 1997. Weeds in the Tropics. Sanbi Printing Co.Ltd. Tokyo. Japan. 304 pp.
5. Noda. K. M. Teerawatsakul. C. Prakongvongs and L. Chaiwiratnukul. 1994. Major Weeds in Thailand. Mass Medias Co.Ltd. Bangkok. Thailand. 164 pp.
6. R. Tavatchai and J.F. Maxwell. 1994. Weeds of Soybean Fields in Thailand. Multiple Cropping Center. Faculty of Agriculture. Chiang Mai University. Chiang Mai Thailand.
7. http:/www.oae.go.th/AgroMag/WeeklyNews/listWeeklyMenu.php
8. http:/www.matichon.co.tk/prahachat_detail.php?_tag=02inv08240950 &day=2007-09-24sionid=0203

สำรวจและรวบรวมวัชพืชในพืชผัก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง

Survey of weeds in vegetable plots in Northeast and Central Thailand

ศิริพร ซึงสนธิพร มัตติกา ทองรส
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

วัชพืชเป็นพืชที่ยังหากประโยชน์ไม่ได้ ไม่มีคุณค่า หรือขึ้นในที่ที่ไม่ต้องการให้ขึ้น ซึ่งปัญหาวัชพืช มักจะเกิดตั้งแต่เมื่อคิดปลูกพืช หรือกล่าวได้ว่าเป็นศัตรูพืชที่เกิดขึ้นตังแต่ยังไม่ได้ทำการปลูกพืช ความเสียหายที่เกิดจากวัชพืชส่วนหนึ่งสะท้อนให้เห็นได้จากมูลค่าและปริมาณการนำเข้าสารกำจัดวัชพืช ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 50 หรือครึ่งหนึ่ง ของการนำเข้าสารเคมีการเกษตรทั้งหมดรวมกัน ซึ่งมูลค่าการนำเข้าสารกำจัดวัชพืชอย่างเดียวในแต่ละปีมีมากกว่า 5,000 ล้านบาท ปัญหาที่เกิดจากวัชพืชมักเกิดในช่วงเตรียมดิน จนถึงเมื่อพืชเจริญเติบโตจนพ้นระยะวิกฤตของการแข่งขันเท่านั้น เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวจึงไม่ได้คำนึงถึงปัญหาวัชพืช วัชพืชที่หลงเหลืออยู่จึงสามารถสร้างเมล็ดและร่วงลงดิน พร้อมที่จะงอกเมื่อมีสภาพเหมาะสมต่อไป

อย่างไรก็ตามการใช้สารกำจัดวัชพืชอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานหลายฤดูกาล และลักษณะการใช้ที่ดิน ทำให้ชนิดวัชพืชเปลี่ยนแปลงไป และการชักนำพืชจากแหล่งอื่น เหล่านี้ล้วนเป็นปัจจัยทำให้ชนิดพืชพรรณและวัชพืชในแหล่งนั้นเปลี่ยนไป การศึกษาความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่การเกษตรเหล่านี้ ยังขาดข้อมูลที่เป็นปัจจุบัน เนื่องจากนักอนุกรมวิธานด้านพืช มักศึกษาเกี่ยวกับพืชท้องถิ่น ศึกษาเฉพาะในพื้นที่ที่ไม่ถูกรบกวน หรือสภาพนิเวศไม่เปลี่ยนแปลง พื้นที่การเกษตรจึงเป็นสิ่งที่ไม่ได้มีการสำรวจอย่างจริงจัง

ดังนั้นการสำรวจวัชพืชในพืชผักภาคตะวันออกและภาคกลาง จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ดังกล่าว เพื่อให้ได้ข้อมูลชนิดพืชที่ขึ้นเป็นวัชพืชที่ถูกต้องและปัจจุบันมากที่สุด เพื่อประโยชน์ในการจัดทำฐานข้อมูลวัชพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชและวัชพืชต่อไปใน

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-01-13-03-51

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ ที่จำเป็นในการสำรวจ ได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กล้องถ่ายภาพ กรรไกร เสียม แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษอัด และอุปกรณ์อื่นที่จำเป็น

การกำหนดพื้นที่ เนื่องจากการแบ่งพื้นที่ภาคนั้นมีการแบ่งแตกต่างกันถึง 4 แบบ คือ การแบ่งตามการกระจายของพืชพรรณ (Floristic regions) ซึ่งแบ่งประเทศไทยเป็น 6 ภาค ในขณะที่ราชบัณฑิตยสถาน แบ่งภาคต่างๆ ตามสภาพภูมิศาสตร์ไว้ในอักขรานุกรมภูมิศาสตร์ไทย ออกเป็น 5 ภาค เช่นเดียวกันการแบ่งตามสภาพภูมิอากาศ แต่ในทางการปกครองได้แบ่งเป็น 4 ภาคเท่านั้น ซึ่งจังหวัดที่อยู่ในแต่ละภาคแตกต่างกัน (ตารางผนวกที่ 1)

ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลครอบคลุมพื้นที่มากที่สุด จึงกำหนดพื้นที่ในการสำรวจภาคตะวันออกตามจังหวัดที่แบ่งโดยกรมการปกครอง และรวมจังหวัดเพชรบูรณ์ ที่แบ่งตามการกระจายพืชพรรณไว้ด้วย จังหวัดที่กำหนดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจึงมีจำนวน 20 จังหวัด ได้แก่ เพชรบูรณ์ เลย หนองบัวลำภู อุดรธานี หนองคาย สกลนคร นครพนม มุกดาหาร กาฬสินธุ์ มหาสารคาม ขอนแก่น บุรีรัมย์ ยโสธร ร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ สุรินทร์ อำนาจเจริญ อุบลราชธานี ชัยภูมิ นครราชสีมา

ส่วนในภาคกลาง ทำการสำรวจ 26 จังหวัด ได้แก่ ชัยนาท สิงห์บุรี ลพบุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง พระนครศรีอยุธยา สระบุรี นครปฐม ปทุมธานี นครนายก นนทบุรี กรุงเทพมหานคร สมุทรปราการ สมุทรสงคราม สมุทรสาคร ฉะเชิงเทรา ชลบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี จันทบุรี ตราด ปราจีนบุรี ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ระยอง สระแก้ว

การสำรวจ ทำการสำรวจแปลงผักที่สามารถเข้าถึงด้วยรถยนต์ หรือใกล้ทางรถยนต์สามารถเดินเข้าถึงได้ ทำการสำรวจโดยการเดินรอบพื้นที่แปลง และแนวตั้งฉากกับแปลงอย่างน้อย 3 แนว จดบันทึกวัชพืชทุกชนิดที่พบ และเนื่องจากวัชพืช เป็นศัตรูพืชที่ไม่สามารถเคลื่อนย้ายได้ ไม่ได้ขึ้นสม่ำเสมอทั้งแปลง แต่จะขึ้นเฉพาะที่มีเมล็ดพันธุ์ตกอยู่เท่านั้น จึงต้องตรวจสอบตำแหน่งที่มีวัชพืชขึ้นอยู่ด้วย

การจัดทำตัวอย่างแห้ง เก็บตัวอย่างพืช ที่มีใบและดอกครบ ขนาดยาวประมาณ 30 – 45 เซนติเมตร เพื่อทำตัวอย่างแห้ง อย่างน้อย 5 ชิ้นต่อหนึ่งชนิด นำมาอบในตู้อบที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำตัวอย่างที่ได้ชุบน้ำยากันเชื้อรา ทิ้งไว้ให้แห้ง นำมาติดบนกระดาษติดตัวอย่างพืช พร้อมติดป้ายระบุชื่อพืช สถานที่ วันที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

การตรวจสอบชนิดวัชพืช

- การตรวจสอบกับเอกสารต่างๆ ที่เกี่ยวกับชนิดพืชและวัชพืช ของประเทศไทยและประเทศต่างๆ เช่น Flora of Thailand, Weeds in the Tropics, Common weeds of Vietnam, Weeds of rice in Indonesia, Chinese colored weed illustrated book เป็นต้น

และเอกสารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง รวมถึงฐานข้อมูลที่สามารถเข้าถึงได้โดยระบบเครือข่าย เช่น Plants Database, United States Department of Agriculture (USDA) African plants (Aluka : international, collaborative initiative building an online digital library of scholarly resources from and about Africa), Global Invasive Species Database (GISD) ที่จัดทำโดย Invasive Species Specialist Group (ISSG) ภายใต้ Species Survival Commission ซึ่งเป็นหน่วยงานของ IUCN-World Conservation Union. และอื่นๆ ที่เป็นหน่วยงานของรัฐบาลหรือองค์การระหว่างประเทศที่เชื่อถือได้

- เทียบตัวอย่างพืชที่มีในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กลุ่มวิจัยเพื่อการคุ้มครองพันธุ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร และหอพรรณไม้ สำนักหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช

- การตรวจสอบกับผู้ทรงคุณวุฒิด้านอนุกรมวิธานพืช โดยการส่งตัวอย่างพืชแห้ง หรือสด พร้อมรูปถ่าย ไปตรวจสอบกับผู้ทรงคุณวุฒิด้านอนุกรมวิธานในหน่วยงานภาครัฐ เช่น กรมวิชาการเกษตร กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น USDA, Akita University ประเทศญี่ปุ่น เป็นต้น

เวลาดำเนินการ เริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2553

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตั้งแต่ตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2551 หรือระยะเวลา 1 ปี ทำการสำรวจแปลงผักทั้งสิ้น 85 แปลง ในพื้นที่ตะวันออกเฉียงเหนือ 33 แปลง และภาคกลาง 55 แปลง พืชผักที่สำรวจทั้งสิ้น 41 ชนิด ได้แก่ กระเจี๊ยบ กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี กวางตุ้งใบ กะเพรา หน่อไม้ฝรั่ง กุ่ยช่าย คื่นไช่ แตงกวา แตงไทยอ่อน ถั่วแขก ถั่วฝักยาว ถั่วพู น้ำเต้า บวบงู บวบหอม ผักกวางตุ้ง ผักกาดขาว ผักกาดเขียวปลี ผักกาดหอม ผักกาดหัว ผักคะน้า ผักชี - กู่ช่าย ตั้งโอ๋ ผักชีลาว ผักบุ้ง ผักบุ้งแกง ผักเสี้ยน ผักหวาน พริกขี้หนู ฟัก มะเขือเจ้าพระยา มะเขือม่วง มะเขือยาว มะระจีน มันแกว สะระแหน่ หอมแบ่ง หัวใช้เท้า โหระพา (ตารางที่ 1) พบวัชพืชทั้งสิ้น 163 ชนิด ใน 123 สกุล ของ 45 วงศ์ ได้แก่ Acanthacea (2 สกุล (23 ชนิด) Aizoacea (1 สกุล 1 ชนิด) Amaranthacea (5 สกุล 9 ชนิด) Aracea (1 สกุล 1 ชนิด) Asteracea (17 สกุล 19 ชนิด) Boraginacea (1 สกุล 1 ชนิด) Brassicacea (1 สกุล 1 ชนิด) Capparacea (1 สกุล 3 ชนิด) Caryophyllacea (1 สกุล 1 ชนิด) Columelliacea (1 สกุล 1 ชนิด) Commelinacea (1 สกุล 2 ชนิด) Convolvulacea (3 สกุล 7 ชนิด) Cucurbitacea (3 สกุล 3 ชนิด) Cyperacea (2 สกุล 9 ชนิด)

Dennstaedtiacea (1 สกุล 1 ชนิด) Euphorbiacea (4 สกุล 8 ชนิด) Labiatea (1 สกุล 3 ชนิด) Lamiacea (1 สกุล 1 ชนิด) Leguminosae-Caesalpinioideae 1 สกุล 1 ชนิด) Leguminosae-Mimosoidea (2 สกุล 3 ชนิด) Leguminosae-Papilionoidea (7 สกุล 10 ชนิด) Lythracea (1 สกุล 1 ชนิด) Malvacea (5 สกุล 5 ชนิด) Menyanthacea (1 สกุล 1 ชนิด) Molluginacea (2 สกุล 2 ชนิด) Nyctaginacea (1 สกุล 3 ชนิด) Onagracea (1 สกุล 1 ชนิด) Oxalidacea (1 สกุล 1 ชนิด) Parkeriacea (1 สกุล 1 ชนิด) Passifloracea (1 สกุล 1 ชนิด) Pieracea (1 สกุล 1 ชนิด) Poacea (20 สกุล 28 ชนิด) Polygonacea (1 สกุล 1 ชนิด) Portulacacea (2 สกุล 3 ชนิด) Rubiacea (7 สกุล 10 ชนิด) Sapindacea (1 สกุล 1 ชนิด) Scrophulariacea (3 สกุล 3 ชนิด) Solancea (2 สกุล 2 ชนิด) Sphenocleacea (1 สกุล 1 ชนิด) Sterculacea (1 สกุล 1 ชนิด) Tillacea (1 สกุล 2 ชนิด) Ulmacea (1 สกุล 1 ชนิด) Utricacea (2 สกุล 2 ชนิด) Verbenacea (3 สกุล 3 ชนิด) รายละเอียดชนิดวัชพืชและความถี่จากจำนวน 88 แปลงที่สำรวจ แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 พื้นที่และพืชผักที่สำรวจในช่วงปีงบประมาณ 2551 (ตุลาคม 2551-30 กันยายน 2552)

พื้นที่สำรวจ	แปลงพืชผักที่สำรวจ
ต.ขุนศรี อ.ไทรน้อย จ.นนทบุรี	กระเจี๊ยบ กะเพรา ผักกาดหอม ผักบุ้งแกง ผักบุ้งจีน ผักกาดหัว ผักคะน้า ผักชี + ตั้งโอ๋ แมงลัก ลูกคะน้า โหระพา
ต.บางหลวง อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี	กวางตุ้งใบ ผักกาดหอม ผักบุ้ง ฟัก- แฟง
ต.หนองแค อ.พระพุทธบาท จ.สระบุรี	ข้าวโพด + ถั่วเขียว ผักปลอดสารพิษ (คะน้า มะเขือเปราะ กะเพราแดง พริก ตะไคร้ แมงลัก) มันแกว
ต.ชะแล อ.สังขละบุรี จ.กาญจนบุรี	ถั่วฝักยาว บวบหอม
ต.หินดาด อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี	แตงไทยอ่อน มะเขือยาว มะระจีน
ต.ไทรโยค อ.ไทรโยค จ.กาญจนบุรี	คะน้า + มะละกอ ผักคะน้า

พื้นที่สำรวจ	แปลงพืชผักที่สำรวจ
ต. ท่าล้อ และ ต.วังศาลา อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	ผักกาดเขียวปลี โหระพา คะน้า
ต.ท่ายาง อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี	กะหล่ำดอก
ต.ทุ่งหลวง อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี	กระเจี๊ยบเขียว ถั่วฝักยาว บวบงู มะเขือเจ้าพระยา มะระจีน
ต.สวนผึ้ง อ.สวนผึ้ง จ. ราชบุรี	แตงกวา ถั่วแขก
ต.จระเข้เผือก อ.ด่านมะขามเตี้ย จ.กาญจนบุรี	กวางตุ้ง - ต้นอ่อน กะหล่ำปลี + หน่อไม้ฝรั่ง กู่ช่าย คื่นฉ่าย ถั่วแขก ถั่วพู ผักกาดขาว - หน่อไม้ฝรั่ง ผักคะน้า ผักชี - กู่ช่าย พริกขี้หนู สะระแหน่ หอมแบ่ง
ต.บัววัฒนา อ.หนองไผ่ จ.เพชรบูรณ์	กะหล่ำปลี
ต.วังบาล อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์	กะหล่ำปลี
ต.พิบูล อ.พิบูลมังสาหาร จ.อุบลราชธานี	ถั่วฝักยาว น้ำเต้า บวบหอม ผักบุ้ง ผักหวาน พริกขี้หนู มะเขือม่วง แมงลัก โหระพา
อ.เขมราฐ จ.อุบลราชธานี	ถั่วฝักยาว พริกขี้หนู
ต.โพธิ์ไทร อ.ดอนตาล จ.อุบลราชธานี	แตงกวาง
ต.พระกลางทุ่ง อ.ธาตุพนม จ.นครพนม	ผักกวางตุ้ง ผักกาดเขียว ผักกาดหอม ผักคะน้า ผักชีลาว ผักชีหอม ผักบุ้งจีน ผักเสี้ยน
ต.บางไทรน้อย อ.หว้านใหญ่ จ.มุกดาหาร	ผักกวางตุ้ง ผักกาดเขียว ผักบุ้ง หอมแบ่ง โหระพา

ตารางที่ 2 ชนิด และความถี่ ของวัชพืชที่พบในแปลงผัก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง เรียงตามความถี่ที่พบจากมากไปหาน้อย

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
Eleusine indica (L.) Gaertn.	Poaceae	หญ้าตีนกา, เยอคุม, หญ้าปากควาย, หญ้าตีนนก, หญ้าปากคอก, หญ้าผากควาย	4.4
Amaranthus viridis L.	Amaranthaceae	ผักขมหัด, ผักหม, ผักขม, ผักโขม	3.9
Echinochloa colona (L.) Link	Poaceae	หญ้าข้าวนก, หญ้ากับแก, หญ้านกเขา, หญ้าปล้องนก, หญ้าปล้อง, หญ้านกสีชมพู, หญ้าต้นแก	3.6
Eclipta prostrata (L.) L.	Asteraceae	กะเม็ง, กะเม็งตัวเมีย, คัดเม็ง, บังกีเช้า, หญ้าสับ, ฮ่อมเกี่ยว	3.2
Portulaca oleracea L.	Aizoaceae	ผักเบี้ยใหญ่, ผักตาโค้ง, ผักเบี้ยดอกเหลือง, ผักอีหลู	2.9
Euphorbia hirta L.	Euphorbiaceae	น้ำนมราชสีห์, นมราชสีห์, ผักโขมแดง, หญ้าน้ำหมึก, หญ้าหลังอึ่ง	2.8
Ludwigia hyssopifolia (G.Don) Exell	Onagraceae	เทียนนา, ผักกาดรอ	2.6
Ageratum conyzoides	Asteraceae	สาบแร้งสาบกา, ตับเสือเล็ก, เทียมแม่ฮาง, หญ้าสาบ, แฮ้ง, หญ้าสาบแร้ง	2.5
Phyllanthus amarus Schumach ex Thonn.	Euphorbiaceae	ลูกใต้ใบ, มะขามป้อมดิน, หญ้าใต้ใบขาว	2.4
Cyperus rotundus L.	Cyperaceae	หญ้าแห้วหมู, หญ้าขนหมู, หญ้ามะนิ่งหมู	1.9
Digitaria	Poaceae	หญ้าตอแหล	1.8
Leptochloa chinensis (L.) Nees	Poaceae	หญ้าดอกขาว, หญ้าเม็ดงา, หญ้ายอนหู, หญ้ายางคง	1.7
Praxelis clematide (Griseb.) R.M.King & H.Rob	Asteraceae	หญ้าสาบ	1.7
Brachiaria reptans (L.)	Poaceae	หญ้าต้นติด, หญ้าผักไก, หญ้าตีนติด	1.6

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
C.A.Gardner & C.E.Hubb.			
Cyperus iria L.	Cyperaceae	หญ้ารังกาขาว, กกหัวแดง, หญ้าหัวแดง, หญ้ากกทราย, หญ้ากกเล็ก, ฮังกาขาว	1.6
Euphorbia heterophylla L.	Euphorbiaceae	หญ้ายาง, ใบต่างดอก, ลูกเขยตายแม่ยายทำศพ	1.6
Chromolaena odoratum (L.) R.M.King & H.Rob.	Asteraceae	สาบเสือ, ยี่สุ่นเถื่อน, ชิโพกวย, ไช้ปู่กอ, เซโพกวย, บ่อโส่, เพาะจีแค, บ้านร้าง, ผักคราด, เบญจมาศ, ฝรั่งรุกที่, ฝรั่งเหาะ, มนทน, มุงกระต่าย, รำเคย, หญ้าค่าพั้ง, หญ้าดงร้าง, หญ้าพระศิริไอยสวรรค์, หญ้าดอกขาว, หญ้าฝรั่งเศส, หมาหลง, หญ้าเมืองวาย, หญ้าเมืองฮ้าง	1.5
Cleome rutidosperma DC.	Capparaceae	ผักเสี้ยนขน, ผักเสี้ยนผี	1.5
Trianthema portulacastrum L.	Aizoaceae	ผักเบี้ยหิน, ผักโขมหิน	1.4
Tridax procumbens L.	Asteraceae	ตีนตุ๊กแก	1.4
Conyza sumatrensis (Retz.) Walker	Asteraceae	จ้อล่อ	1.4
Vernonia cinerea (L.) Less.	Asteraceae	หมอน้อย, ก้านธูป, เซียวซัวเฮา, ถั่วแฮะดิน, ฝรั่งโคก, เสือสามขา, หญ้าดอกขาว, หญ้าละออง, หญ้าสามวัน	1.4
Aeschynomene americana L.	Leguminosae-Papilionoideae	โสนเขา, โสนดอน, โสนบก	1.2
Mimosa diplotricha C.Wright ex Sauvalle	Leguminosae-Mimosoideae	ไมยราบขาว, ไมยราบหนาม, ไมยราบเลื้อย	1.2
Physalis minima L.	Solanaceae	หญ้าต้อมต้อก, เตงหลั่งเช้า, โทงเทง, ปุงปิง, หญ้าถงแถง	1.2

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
Commelina bengalensis L.	Commelinaceae	ฝักปลาบ	1.1
Lindernia sp.	Scrophulariaceae		1.1
Synedrella nodiflora (L.) Gaertn.	Asteraceae	ผักแครด, สับกา, หญ้าขี้หมา	1.1
Amaranthus spinosus L.	Amaranthaceae	ผักขมหนาม, แม่ล้อดู่, หมั่งลั้งดู่, ปะตึ, กะเหม่อลอมี, ผักโหมหนาม, ผักโขมหนาม	1.0
Chloris barbata Sw.	Poaceae	หญ้ารังนก	1.0
Coccinia grandis (L.) Voigt	Cucurbitaceae	ผักตำลึง, แคเด๊าะ, ผักแคบ	1.0
Cyperus difformis L.	Cyperaceae	กกขนาก กกกระหนาก	1.0
Amaranthus lividus L.	Amaranthaceae	ผักขม, กะเหม่อลอเดอ, ผักโหม, ผักโหมเกลี้ยง	0.9
Cynodon dactylon (L.) Pers.	Poaceae	หญ้าแพรก, หนอเก่เด, หญ้าแผด	0.9
Dactyloctenium aegyptium (L.) P.Beauv.	Poaceae	หญ้าปากควาย, หญ้าปากกล้วย	0.9
Leptochloa panicea (Retz.) Ohwi	Poaceae	หญ้าตอแหล	0.9
Mimosa pudica L.	Leguminosae-Mimosoideae	หญ้าปันยอด, กระทืบยอด, หนามหญ้าราบ, กะหงับ, ก้านของ, นาหมื่อม้ะ, ไมยราบ, ระงับ, หงับพระพาย, หญ้าจิยอบ	0.9
Mollugo pentaphylla L.	Molluginaceae	หญ้าไข่เหา, สร้อยนกเขา, หญ้าตีนนก, หญ้านกเขา	0.9
Scoparia dulcis L.	Scrophulariaceae	กระต่ายจามใหญ่, กัญชาป่า, มะไฟเดือนห้า, ขัดมอนเทศ, ขัดมอนเล็ก, หนวดแมว, ข้างไลดุ , ตานซาน, เทียนนา, ปีกแมงวัน, หญ้าจ้าดตู๊ด, หญ้าหัวแมงฮุน, หญ้าพ่ำสามวัน, หูปลาช่อนตัวผู้	0.9
Spilanthes acmella (L.) Murr.	Asteraceae	คราดหัวแหวน ตัวเล็ก	0.9
Corchorus aestuans L.	Tiliaceae	กระเจานา, ขัดมอญตัวผู้, ปอวัชพืช	0.8

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
Euphorbia thymifolia L.	Euphorbiaceae	น้ำนมราชสีห์เล็ก	0.8
Hedyotis diffusa Willd.	Rubiaceae	โหมแจ่วนา	0.8
Heliotropium indicum L.	Boraginacea	หญ้างวงช้าง, กุนอกาโม, ผักแพวขาว, หญ้างวงช้างน้อย	0.8
Mavastrum coromandelianum (L.) Garcke	Malvaceae		0.8
Echinochloa crus-galli (L.) Pal	Poaceae	หญ้าปล้องละมาน, หญ้าข้าวนก, หญ้าข้าวนกสีชมพู, หญ้าลิเก	0.7
Fimbristylis miliacea (L.) Vahl	Cyperaceae	หญ้ารัดเขียด, หญ้าหนวดปลาดุก, หนวดแมว	0.7
Phaseolus lathyroides L.	Leguminosae-Papilionoideae	ถั่วผี	0.7
Ruellia tuberosa L.	Acanthaceae	ต้อยติ่ง, อังกาบฝรั่ง	0.7
Cleome viscosa L.	Capparaceae	ผักเสี้ยนผี, ผักส้มเสี้ยนผี	0.6
Digitaria sp.	Poaceae	ใหญ่	0.6
Fimbristylis sp.	Cyperaceae		0.6
Hyptis suaveolens (L.) Poit.	Labiatea	แมงลักคา, การา, แมงลักป่า	0.6
Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit	Leguminosae-Mimosoideae	กระถิน, กระถินไทย, กระถินบ้าน, กระถินยักษ์, กะเส็ดโคก, กะเส็ดบก, ตอเบา, สะตอเทศ, สะตอเบา, ผักก้านถิน, ผักหนองบก	0.6
Alternanthera sessilis (L.) DC.	Amaranthaceae	ผักเป็ดไทย, ผักเป็ด, ผักเป็ดขาว, เปรี้ยวแดง	0.5
Boerhavia erecta L.	Nyctaginaceae	ผักขมหิน, หญ้าหนวดแมว, ผักโขมหิน	0.5
Crassocephalum crepidioides (Benth.)	Asteraceae	ผักกาดช้าง, ขี้งัว, ผักกาดขมุ, ผักเพ็ดช้าง, ผักกาดง่อง, ผักเป็ดน้ำ, หญ้าคออ่อน,	0.5

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
S.Moore		ผักเผ็ดแม้ว, หญ้าต้นงอง, ผักขี้โว, ผักห่าน, หญ้าดอกขาว, หญ้าดอกคำ, ลำพาสี	
Cyperus brevifolius (Rottb.) Hassk	Cyperaceae	กกตุ้มหู	0.5
Digitaria ciliaris (Retz.) Koel.	Poaceae	หญ้าปล้องข้าวนก, หญ้าตีนนก	0.5
Hedyotis corymbosa (L.) Lam.	Rubiaceae	หญ้าลิ้นงู	0.5
Imperata cylindrica (L.) P.Beauv.	Poaceae	หญ้าคา, เก้อฮี, ลาลาง, ลาแล	0.5
Ipomoea aquatica Forssk.	Convolvulaceae	ผักบุ้ง, กำจร, ผักทอดยาว, โหนเตาะ	0.5
Passiflora foetida L.	Passifloraceae	กะทกรก, รก, กระโปรงทอง, เครือขนตาช้าง, ตำลึงฝรั่ง, เถาเงาะ, เถาสิงโต, ผักขี้หิด, ผักแคบฝรั่ง, เยี่ยววัว, ละพุบาบี, หญ้าถลกบาต, หญ้ารกช้าง, ตำลึงทอง	0.5
Sida acuta Burm.f.	Malvaceae	หญ้าขัดใบยาว, นาคุ้ยหมี่, เน่าะคุ้ยเหม่, เน่าะเค้ะ, หน่อคื้ยแหม่, ยุงกวาด, ยุงปัด, หญ้าขัดมอน, หญ้าข้อ	0.5
Typhonium trilobatum (L.) Schott	Araceae	อุตพิด, มะโหรา	0.5
Acrachne racemosa (Heyne ex Roth) Ohwi	Poaceae	หญ้าตีนกา, หญ้ายอนหู, หญ้าตีนมือตุ๊ดตู่, หญ้าตีนมือกัก	0.4
Ammannia baccifera L.	Lythraceae	มะไฟนกคุ่ม, มะไฟนา, สะเดานา, หญ้ารักนา,แก้วรักนา	0.4
Bidens pilosa L.var *minor*	Asteraceae	ปืนนกไส้ กี่นกไส้ หญ้าก้นจ้ำขาว ก้นจ้ำ	0.4
Boerhavia sp.	Nyctaginaceae	โขมหินเลื้อย	0.4
Brachiaria mutica (Forssk.) Stapf	Poaceae	หญ้าขน	0.4
Cleome gynandra L.	Capparaceae	ผักเสี้ยน ผักส้มเสี้ยน ผักเสี้ยนขาว	0.4

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
Commelina diffusa Burm.f.	Commelinaceae	ผักปลาบ ผักปลาบขอบใบเรียว	0.4
Gymnopetalum integrifolium (Roxb.) Kurz	Cucurbitaceae	ขี้กาแดง, ขี้กาขาว, แตงโมป่า, มะกาดิน, ขี้กาดิน, แตงผี	0.4
Ipomoea maxima (L.f.)G.Don ex Sweet	Convolvulaceae	สะอึก	0.4
Portulaca quadrifida L.	Aizoaceae	ผักเบี้ยหนู, บานเที่ยง, ผักเบี้ยเล็ก	0.4
Spermacoce laevis Roxb.	Rubiaceae	หญ้าเขมร หญ้าเขมรเล็ก กระดุมใบใหญ่ กระดุมใบเล็ก	0.4
Spermacoce latifolia Aubl.	Rubiaceae	กระดุมใบใหญ่, หญ้าเขมรใหญ่	0.4
Acalypha indica L.	Euphorbiaceae	ตำแยแมว, ตำแยตัวผู้, หานแมว	0.3
Achyranthes aspera L.	Amaranthaceae	พันงู, ควยงู, หญ้าตีนงูขาว, หญ้าพันงูขาว	0.3
Aeschynomene aspera L.	Leguminosae-Papilionoideae	โสนคางคก, โสนหางไก่ใหญ่	0.3
Amaranthus hybridus L.	Amaranthaceae	ผักขมดอกเขียว	0.3
Axonopus compressus (Sw.) Beacv.	Poaceae	หญ้าปากควาย, หญ้ามาเลเซีย	0.3
Bidens pilosa var *pilosa*	Asteraceae	ปืนนกไส้ กี่นกไส้ หญ้าก้นจ้ำขาว ก้นจ้ำ	0.3
Blumea mollis (D.Don) Merr.	Asteraceae	ละอองเพชร หนาดใหญ่	0.3
Borreria lavicaulis (Miq .) Ridl.	Rubiaceae	หญ้าลูกข้าว	0.3
Borreria setidens (Miq.) Bold.	Rubiaceae		0.3
Columellia trifolia Merr.	Columelliaceae	เถาคันแดง, กิ่งปาน	0.3
Dentella repnes (L.) J.R. & G.Forst	Rubiaceae	ตุ๊กกไข่	0.3
Digera muricata L.	Amaranthaceae	หญ้าอีหนาว	0.3
Eragrostis sp.	Poaceae		0.3

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
Galinsoga parviflora Cav.	Asteraceae	ทหารกล้า	0.3
Glinus oppositifolius (L.) A.DC.	Molluginaceae	ผักขวง, สะเดาดิน, ผักขี้ขวง	0.3
Hyptis brevipes Poit.	Labiatea	ฉัตรพระอินทร์	0.3
Momordica charantia L.	Cucurbitaceae	มะระ, ผักเหย, ผักไห, มะร้อยรู, มะห่อย, มะไห่, สุพะซู	0.3
Oryza sativa L.	Poaceae	ข้าว	0.3
Pteridium aquilinum (L.) Kuhn	Dennstaedtiaceae	กูดเขา	0.3
Abutilon hirtum (Lam.) Sweet	Malvaceae	ครอบจักรวาล, ครอบ, สารข้าวเปลือก, ครอบศรี, ตบตาบ, มะก่องข้าว, แอบข้าว	0.2
Alternanthera paronichyoides St.Hil.	Amaranthaceae	ผักเป็ด	0.2
Basilicum polystachyon (L.) Moench	Lamiaceae	~กะเพรา	0.2
Brachiaria ruziziensis R.Germsin & C.M.Evrard	Poaceae	หญ้ารูซี่	0.2
Cardiospermum halicacabum L.	Sapindaceae	โคกกระออม	0.2
Cyperus compactus Retz.	Cyperaceae	หญ้าใบคม	0.2
Gomphrena celosioides Mart.	Amaranthaceae	บานไม่รู้โรยป่า	0.2
Hyptis capitata Jacq.	Labiatea	ฉัตรพระอินทร์	0.2
Indigofera wightii Grah. ex Wight & Arn.	Leguminosae-Papilionoideae	ครามใบเล็ก	0.2
Merrenmia hederacea (Burm.f.) Hafl.f.	Convolvulaceae	เถาสะอึก ฉะอึก มะอึก	0.2

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
Mikania micrantha H.B.K.	Asteraceae	ขี้ไก่ย่าน	0.2
Operculina turpethum (L.) Silva Manso	Convolvulaceae	จิงจ้อเหลี่ยม จิ้งจ้อแดง	0.2
Oxalis corniculata L.	Oxalidaceae	ผักแว่น สังส้ม ส้มดิน หญ้าตานทราย ส้มสังกา ส้มสามตา ส้มกบ	0.2
Paspalum conjugatum Berg	Poaceae	หญ้านมหนอน หญ้าเห็บ	0.2
Pennisetum polystachyon (L.) Schult.	Poaceae	หญ้าขจรจบ, หญ้าขจรจบดอกเล็ก, หญ้าคอมมูนิสต์, หญ้าพม่า	0.2
Polygonum nepalense Meissn.	Polyconaceae		0.2
Polytrias indica	Poaceae	หญ้านวลจันทร์	0.2
Richardia brasiliensis Gomes	Rubiaceae	หญ้าท่าพระ, น้ำนม	0.2
Senna tora (L.) Roxb.	Leguminosae-Caesalpinioideae	ชุมเห็ดไทย, กิเกีย, หน่อปะหน่าเหน่อ, ชุมเห็ดควาย, ชุดเห็ดเล็ก, พรมดาน, ลับมือน้อย, หญ้าลึกลืน, ผักเค็ด	0.2
Sphenoclea zeylanica Gaertn.	Sphenocleaceae	ผักปอด, ผักกุ่มป่า, ผักปุ่มป่า, ผักปุ่มปลา, ผักปอดนา	0.2
Stachytarpheta indica (L.) Vahl	Verbenaceae	พันงูเขียว, เจ๊กจับกบ, เดือยงู, พระอินทร์โปรย, สารพัดพิษ, สี่บาท, ลังถึ่งดุ้ก, หญ้าหนวดเสือ, หญ้าหางงู	0.2
Abelmoschus moschatus Medik.	Malvaceae	ชะมดต้น, ฝ้ายผี, เทียนชะมด, ปอฝ้าย	0.1
Asystasia gangetica L.	Acanthaceae	บาหยา ย่าหยา บุษบาฮาวาย ผักกูดเน่า	0.1
Bidens pilosa L. var. *radiata* Sch.Biq.	Asteraceae	ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ เซียงรายเดซี่	0.1
Boerhavia diffusa L.	Nyctaginaceae	ผักขมหิน นังกู่แซ ผักปังแป ผักเบี้ยหิน	0.1

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
Cajanus cajan (L.) Millsp.	Leguminosae-Papilionoideae	ผักขมฟ้า ผักปั๋งดิน ผักโขมหิน ผักปังดิน ถั่วแระ ถั่วแม่ตาย ถั่วแรด มะแฮะ มะแฮะต้น	0.1
Capsicum frutescens L.	Solanaceae	พริก	0.1
Cenchrus echinatus L.	Poaceae	หญ้าสอนกระจับ หญ้าขี้ครอก	0.1
Centrosema pubescens Benth.	Leguminosae-Papilionoideae	อัญชันป่า	0.1
Ceratopteris thalictroides (L.) Brongn.	Parkeriaceae	ผักกูดน้ำ	0.1
Chloris pycnothrix Trin.	Poaceae		0.1
Chrozophora rottleri (Geiseler) A.Juss. ex Spreng.	Euphorbiaceae	มะพร้าวห้าว หญ้ารักนา ถั่วนา พญามุติต้น	0.1
Corchorus olitorius L.	Tiliaceae	ปอกระเจา	0.1
Cyperus cyperoides (L.) Kuntze	Cyperaceae	หญ้ารังกา, กกหางกระรอก, กกสามเหลี่ยม	0.1
Cyperus distans L.f.	Cyperaceae	ดอกฝอยสีน้ำตาล	0.1
Cyperus pilosus Vahl	Cyperaceae	กกช่อดอกขน	0.1
Emilia sonchifolia (L.) DC.	Asteraceae	หูปลาช่อน	0.1
Euphorbia bifida Hook. & Arn.	Euphorbiaceae	มูกเบี้ย มูกน้อย ยาแก้ฮากเหลือง	0.1
Euphorbia serpens	Euphorbiaceae	หญ้ายางใบเล็ก	0.1
Gnaphalium affine D.Don	Asteraceae	หนาดดอกเหลือง	0.1
Ipomoea obscura (L.) Ker Gawl.	Convolvulaceae	โตงวะ สะอึก	0.1
Ipomoea purpurea (L.) Roth.	Convolvulaceae	ดอกผักบุ้ง	0.1
Ipomoea trilobata L.	Convolvulaceae	หญ้าดอกขน	0.1

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
Ischaemum barbatum Retz.	Poaceae	หญ้าหวาย, หญ้ายอนหู, หญ้าหางค่าง, หญ้าแดง, หญ้าหวายแดง, หญ้ากระดูกไก่, หญ้าก้านธูป	0.1
Ischaemum rugosum Salisb.	Poaceae	หญ้าแดง	0.1
Lablab purpureus (L.) Sweet	Fabaceae	ถั่วแปบ ถั่วแปะยี	0.1
Lantana camara L.	Verbenaceae	ผกากรอง, ก้ามกุ้ง, เบญจมาศป่า, ขะจาย, ตาปู, ขี้กา, คำขี้ไก่, ดอกไม้จีน, เบ็งละมาศ, สาบแร้ง, ไม้จีน, ยี่สุ่น, สามสิบ, หญ้าสาบแร้ง	0.1
Laportea interrupta (L.) Chew	Urticaceae	ตำแย	0.1
Malachra capitata (L.) L.	Malvaceae		0.1
Melochia corchorifolia L.	Sterculiaceae	เซ่งใบมน	0.1
Mitracarpus villosus (Cham. & Schltr.) A.DC.	Rubiaceae	หญ้าจุกขาว	0.1
Nymphoides indicum (L.) Kuntze	Menyanthaceae	ตับเต่าใหญ่, บัวบา, บา, ผักเต่าใหญ่, อีบา, ผักเต่า, ผักนองม้า, อีแปะภู	0.1
Paederia linearis Hook.f.	Rubiaceae	ตดหมูตดหมา	0.1
Peperomia pellucida Korth.	Pieraceae	ผักกระสัง	0.1
Phaseolus atropurpureus Moc. et Sesse ex DC..	Leguminosae-Papilionoideae	ถั่วผีเลื้อย	0.1
Phyla nodiflora (L.) Greene	Verbenaceae	หญ้าเกล็ดปลา	0.1
Pilea microphylla (L.) Liebm.	Urticacea	ขมหินใบน้อย	0.1
Rorippa indica (L.) Hiern	Brassicaceae	ผักกาดน้ำดอกเหลือง	0.1
Rottboellia exaltata L.f.	Poaceae	หญ้าโปร่งคาย, หญ้ากอ, หญ้าโขย่ง	0.1
Sesbania javanica Miq.	Leguminosae-Papilionoideae	โสนกินดอก, ผักฮองแฮง, สีปรีหลา, โสนหิน	0.1
Sesbania sp.	Leguminosae-	โสนดอกเล็ก	0.1

ชนิด	วงศ์	ชื่อไทย	ความถี่ (%)
	Papilionoideae		
Setaria sp.	Poaceae		0.1
Sphaeranthus africanus L.	Asteraceae	หญ้าค้อนกลอง, การบรู, ผักคราดหัวแหวน, ระงับ, สาบแร้ง, สุแบ	0.1
Stellaria aquatica (L.) Scop.	Caryophyllaceae		0.1
Talinum sp.	Portulacaceae	โสมรากดำ	0.1
Torenia fournieri Lind ex E.Fourn.	Scrophulariaceae	แววมยุรา เกล็ดหอย แววมยุเรศ สามสี หญ้าลิ้นเงือก หญ้าลำโพง	0.1
Trema orientalis (L.) Blume	Ulmaceae	พังแหร	0.1

วัชพืชที่ขึ้นระบาดในพืชผักนั้นมีความแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ และขึ้นกับระยะเวลาที่ทำการสำรวจ และยังรวบถึงการจัดการของเกษตรกรแต่ละแห่งด้วย หรือแม้แต่ในพื้นที่เดียวกัน วัชพืชทีก็มิได้ขึ้นสม่ำเสมอกันตลอดทั้งแปลง คือบางจุดอาจมีวัชพืชขึ้นหนาแน่นจนเกือบคลุมผัก แต่ในอีกบริเวณหนึ่งอาจไม่พบวัชพืชเลย ทังนี้เนื่องจากมีการถอนออกด้วยมือแล้ว ซึ่งในพืชผักหลายชนิดมักทำก่อนที่พืชจะมีอายุครบ 1 เดือน ดังนั้นหากสำรวจช่วงหลังจากที่พืชอายุครบหนึ่งเดือนแล้ว ก็อาจจะพบวัชพืชน้อยทั้งชนิดและปริมาณ แต่ในพืชบางชนิด เช่น กะหล่ำดอก หากพืชอายุเกิน 40 วัน แล้วจะไม่ทำการกำจัดวัชพืชเด็ดขาด เพราะจะทำให้กระทบต่อการสร้างดอก จึงพบวัชพืชมากทั้งชนิดและปริมาณ นอกจากนี้วิธีการปลูกพืชก็มีผลเช่นกัน เช่นการปลูกผักในพื้นที่ปทุมธานีและนครปฐม ที่มีการปลูกผักเป็นร่อง มีการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทคลุม จึงพบวัชพืชน้อยทังชนิดและปริมาณ แต่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การปลูกพืชผักในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ บางแห่งเป็นการปลูกหลังการเก็บเกี่ยวข้าว จึงพบวัชพืชมากทั้งชนิดและปริมาณ และหลายชนิดเป็นวัชพืชในนาด้วย

การที่พบข้าวเป็นวัชพืชในแปลงพืชผักด้วยนั้น เนื่องจากในบางท้องที่เกษตรกรใช้ฟางข้าวปิดคลุมพื้นที่แปลงเพื่อ ซึ่งบางครั้งมีเมล็ดข้าวติดมาด้วย เมื่อได้รับความชื้นมากพอ จึงงอกขึ้นมา และในบางท้องที่เป็นการปลูกผักหลังจากเก็บเกี่ยวข้าว จึงมีเมล็ดข้าวร่วงหล่นอยู่ในแปลงจำนวนมาก

สำหรับผักเสี้ยน (*C. gynandra*) ในการสำรวจนี้ เป็นทั้งวัชพืชและพืชปลูก โดยพบในจังหวัดนครพนม ซึ่งปลูกเป็นแปลง เช่นเดียวกับผักทั่วไป และตัดยอดอ่อนเพื่อจำหน่าย แต่ในท้องที่อื่น พบเป็นวัชพืช

จากการสำรวจในครั้งนี้พบวัชพืชหลายชนิดที่ไม่พบรายงานว่าเป็นวัชพืชในพืชผักมาก่อน เช่น หญ้าอีหนาว (*D. muricata* L.) หญ้าสาบ (*P. clematide* (Griseb.) R.M.King & H.Rob) พังแหร (*Trema orientalis* (L.) Blume) เป็นต้น

เอกสารอ้างอิงสำหรับการตรวจสอบชนิดพืช

Radanachaless, T. and J.F. Maxwell. 1994. Weeds of Soybean fields in Thailand. Multiple Cropping Center., Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. 408p.

Barnes, D.E. and L.G. Chan. 1990. Common Weeds of Malaysia and their Control. Ancom Berhad persiaran Selangor, Malaysia. 349p.

Koo, S.J., Kwon Y.W. and D.V. Chin. 2005. Common Weeds in Vietnam 2nd ed. Vietnam. 488p.

Harada, J., Paisooksantivatana, Y. and Zungsontiporn Z. Project Manual no.3 Weeds in the Highlands of Northern Thailand: illustrated by color. National Weed Science Research Institute Project. Japan International Cooperation Agency and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives. Thailand. Mass Medias. 1987. 126p.

Harada, J., Shibayama, H., and Morita, H. *Weeds in the Tropics.* Association for International Cooperation of Agriculture & Forestry, Japan. Sanbi Printing. 1996. 304p.

Zhang, Z.P. & Hirota, S. 2000. Chinese Colored Weed Illustrated Book. Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, P.R.China, and the Japan Association For Advancement of Phyto-Regulators. 424p.

Van Welzen. P.C. and K. chayamarit. 2007. Flora fo Thailand. Vol.4 part 1. Euphorbiaceae Zgenera A-F).

Van Welzen. P.C. and K. chayamarit. 2007. Flora fo Thailand. Vol.4 part 2. Euphorbiaceae Zgenera G-Z).

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 การแบ่งภาคและจังหวัดในแต่ละภาค ของประเทศไทย

การกระจายพรรณพืช[1]	ราชบัณฑิต-ภูมิศาสตร์[2]	อุตุนิยมวิทยา[3]	กรมการปกครอง[4]
เหนือ (15)	(9)	(15)	(17)
แม่ฮ่องสอน	แม่ฮ่องสอน	แม่ฮ่องสอน	แม่ฮ่องสอน
เชียงใหม่	เชียงใหม่	เชียงใหม่	เชียงใหม่
เชียงราย	เชียงราย	เชียงราย	เชียงราย
พะเยา	พะเยา	พะเยา	พะเยา
น่าน	น่าน	น่าน	น่าน
ลำปาง	ลำปาง	ลำปาง	ลำปาง
ลำพูน	ลำพูน	ลำพูน	ลำพูน
แพร่	แพร่	แพร่	แพร่
อุตรดิตถ์	อุตรดิตถ์	อุตรดิตถ์	อุตรดิตถ์
ตาก		ตาก	ตาก
สุโขทัย		สุโขทัย	สุโขทัย
พิษณุโลก		พิษณุโลก	พิษณุโลก
กำแพงแพชร		กำแพงเพชร	กำแพงเพชร
พิจิตร		พิจิตร	พิจิตร
นครสวรรค์		เพชรบูรณ์	นครสวรรค์
			อุทัยธานี
			เพชรบูรณ์
ตะวันออกเฉียงเหนือ (11)	(19)	(19)	(19)
เพชรบูรณ์			
เลย	เลย	เลย	เลย
หนองบัวลำภู	หนองบัวลำภู	หนองบัวลำภู	หนองบัวลำภู
อุดรธานี	อุดรธานี	อุดรธานี	อุดรธานี
หนองคาย	หนองคาย	หนองคาย	หนองคาย
สกลนคร	สกลนคร	สกลนคร	สกลนคร
นครพนม	นครพนม	นครพนม	นครพนม
มุกดาหาร	มุกดาหาร	มุกดาหาร	มุกดาหาร
กาฬสินธุ์	กาฬสินธุ์	กาฬสินธุ์	กาฬสินธุ์
มหาสารคาม	มหาสารคาม	มหาสารคาม	มหาสารคาม

การกระจายพรรณพืช[1]	**ราชบัณฑิต-ภูมิศาสตร์**[2]	**อุตุนิยมวิทยา**[3]	**กรมการปกครอง**[4]
ขอนแก่น	ขอนแก่น	ขอนแก่น	ขอนแก่น
	บุรีรัมย์	บุรีรัมย์	บุรีรัมย์
	ยโสธร	ยโสธร	ยโสธร
	ร้อยเอ็ด	ร้อยเอ็ด	ร้อยเอ็ด
	ศรีสะเกษ	ศรีสะเกษ	ศรีสะเกษ
	สุรินทร์	สุรินทร์	สุรินทร์
	อำนาจเจริญ	อำนาจเจริญ	อำนาจเจริญ
	อุบลราชธานี	อุบลราชธานี	อุบลราชธานี
	ชัยภูมิ	ชัยภูมิ	ชัยภูมิ
	นครราชสีมา	นครราชสีมา	นครราชสีมา
กลาง (15)	(22)	(18)	(26)
ชัยนาท	ชัยนาท	ชัยนาท	ชัยนาท
สิงห์บุรี	สิงห์บุรี	สิงห์บุรี	สิงห์บุรี
ลพบุรี	ลพบุรี	ลพบุรี	ลพบุรี
สุพรรณบุรี	สุพรรณบุรี	สุพรรณบุรี	สุพรรณบุรี
อ่างทอง	อ่างทอง	อ่างทอง	อ่างทอง
พระนครศรีอยุธยา	พระนครศรีอยุธยา	พระนครศรีอยุธยา	พระนครศรีอยุธยา
สระบุรี	สระบุรี	สระบุรี	สระบุรี
นครปฐม	นครปฐม	นครปฐม	นครปฐม
ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปทุมธานี	ปทุมธานี
นครนายก	นครนายก		นครนายก
นนทบุรี	นนทบุรี	นนทบุรี	นนทบุรี
กรุงเทพมหานคร	กรุงเทพมหานคร	กรุงเทพมหานคร	กรุงเทพมหานคร
สมุทรปราการ	สมุทรปราการ	สมุทรปราการ	สมุทรปราการ
สมุทรสงคราม	สมุทรสงคราม	สมุทรสงคราม	สมุทรสงคราม
สมุทรสาคร	สมุทรสาคร	สมุทรสาคร	สมุทรสาคร
	นครสวรรค์	นครสวรรค์	ฉะเชิงเทรา
	อุทัยธานี	อุทัยธานี	ชลบุรี
	กำแพงเพชร	กาญจนบุรี	กาญจนบุรี
	พิจิตร	ราชบุรี	ราชบุรี
	พิษณุโลก		จันทบุรี
	เพชรบูรณ์		ตราด

การกระจายพรรณพืช[1]	**ราชบัณฑิต-ภูมิศาสตร์**[2]	**อุตุนิยมวิทยา**[3]	**กรมการปกครอง**[4]
	สุโขทัย		ปราจีนบุรี
			ประจวบคีรีขันธ์
			เพชรบุรี
			ระยอง
			สระแก้ว
ใต้ (คาบสมุทร) (14)	(14)	(ฝั่งตะวันออก) (10)	(14)
ชุมพร	ชุมพร	ชุมพร	ชุมพร
สุราษฎร์ธานี	สุราษฎร์ธานี	สุราษฎร์ธานี	สุราษฎร์ธานี
นครศรีธรรมราช	นครศรีธรรมราช	นครศรีธรรมราช	นครศรีธรรมราช
พัทลุง	พัทลุง	พัทลุง	พัทลุง
สงขลา	สงขลา	สงขลา	สงขลา
ปัตตานี	ปัตตานี	ปัตตานี	ปัตตานี
ยะลา	ยะลา	ยะลา	ยะลา
นราธิวาส	นราธิวาส	นราธิวาส	นราธิวาส
		เพชรบุรี	
		ประจวบคีรีขันธ์	
		(ฝั่งตะวันตก) (6)	
ระนอง	ระนอง	ระนอง	ระนอง
พังงา	พังงา	พังงา	พังงา
ภูเก็ต	ภูเก็ต	ภูเก็ต	ภูเก็ต
กระบี่	กระบี่	กระบี่	กระบี่
ตรัง	ตรัง	ตรัง	ตรัง
สตูล	สตูล	สตูล	สตูล
ตะวันออก (8)	(7)	(8)	
ชัยภูมิ	จันทบุรี	จันทบุรี	
นครราชสีมา	ฉะเชิงเทรา	ฉะเชิงเทรา	
บุรีรัมย์	ชลบุรี	ชลบุรี	
สุรินทร์	ตราด	ตราด	
ร้อยเอ็ด	ปราจีนบุรี	ปราจีนบุรี	
ยโสธร	ระยอง	ระยอง	
อำนาจเจริญ	สระแก้ว	สระแก้ว	
อุบลราชธานี		นครนายก	

การกระจายพรรณพืช[1]	ราชบัณฑิต-ภูมิศาสตร์[2]	อุตุนิยมวิทยา[3]	กรมการปกครอง[4]
ภาคตะวันตกเฉียงใต้ (5)			
อุทัยธานี			
กาญจนบุรี			
ราชบุรี			
เพชรบุรี			
ประจวบคีรีขันธ์			
ตะวันออกเฉียงใต้ (7)			
สระแก้ว			
ปราจีนบุรี			
ฉะเชิงเทรา			
ชลบุรี			
ระยอง			
จันทบุรี			
ตราด			

[1] จากแผนที่พรรณไม้, Flora of Thailand

[2] จากอักขรานุกรมภูมิศาสตร์ไทย ของราชบัณฑิตยสถาน

[3] จากแผนที่อากาศของกรมอุตุนิยมวิทยา

[4] จากกรมการปกครอง กระทรวงมหาดไทย

สำรวจ รวบรวมและจำแนกราเขม่าดำ

Survey, Collection and Identification of Smut Fungi

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจ รวบรวมราเขม่าดำ ได้ราเขม่าดำทั้งหมดจำนวน 145 ตัวอย่าง จากจังหวัดต่าง ๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2551 จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกชนิดได้ราเขม่าดำได้ 13 genera 66 species และ unidentified species 1 ชนิด ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และจากการสำรวจรวบรวมราเขม่าดำครั้งนี้พบราเขม่าดำชนิดใหม่ที่จำนวนทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ *Macalpinomyces siamensis* บน *Coelorachis striata* พบที่อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ *Sporisorium clandestinum* บน *Aristida setacea* ที่อำเภอนาคู จังหวัดกาฬสินธุ์ *S. likhitekarajae* บน *Ischemum* sp. ที่อำเภอศรีสงคราม จังหวัดนครพนม *S. pseudosorghi* บน *Pseudosorghum pseudosorghi* ที่เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคอนสาน จังหวัดชัยภูมิ *S. trispicatae* บน *Eulalia trispicata* ที่เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ *Tilletia chiangmaiensis* บน *Arundinella bengalensis* ที่อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ *T. isachneicola* บน *Isachne globosa* ที่อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา *T. filisora* บน *Pennisetum setosum* พบ 3 แหล่ง ได้แก่ เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคอนสาน จังหวัดชัยภูมิ อำเภอนครไทย และ อำเภอ วังทอง จังหวัดพิษณุโลก, *T. lageniformis* บน *Hyparrhenia rufa* พบ 2 แหล่ง ได้แก่ เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง และ อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ *T. setariae-parviforae* บน *Setaria parviflora* ที่อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร *T. thailandica* บน *Eragrostis amabilis* ที่อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย และ *Yelsemia droserae* บน *Drosera burmanni* เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ที่อำเภอโนนคูณ จังหวัดอุบลราชธานี ตัวอย่างแห้งของราเขม่าดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-23-51

คำนำ

ราเขม่าดำ (Smut fungi) จัดอยู่ใน Order Ustilaginales Class Basidiomycetes ทำให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิด แพร่กระจายอยู่ทั่ว ราเขม่าดำมักเข้าทำลายรังไข่ของเมล็ดธัญญพืชและหญ้า รวมทั้งเข้าทำลายผล แต่ก็มีราเขม่าดำหลายชนิดที่ทำลายใบ ลำต้น และส่วนของดอก (Agrios, 2005)

ราเขม่าดำ หรือ smut fungi เป็นราสาเหตุโรคพืชที่เป็น basidiomycetous microfungi สร้าง teliospores พบโดยทั่วไปมีอยู่ประมาณ 77 genera 1,450 species ประมาณ 53% ทำลายพืชตระกูลหญ้าและธัญญพืช และอีก 14% ทำลายพืชตระกูล Cyperaceae มีพืชอาศัยประมาณ 4,100 ชนิด ราเขม่าดำส่วนใหญ่มีพืชอาศัยจำเพาะ พืชที่ถูกทำลายมีลักษณะแคระแกร็นและเกิดความเสียหายของเมล็ดพืช ราสร้างสปอร์เป็นกลุ่มผงสีดำใน sorus บนส่วนของพืชที่เป็นโรค เช่นที่รังไข่ เกสรตัวผู้ ช่อดอก ลำต้น ใบ และเมล็ด ราเขม่าดำบางชนิดเช่น *Entorrhiza* สร้าง gall บนรากพืช (McKenzie and Vánky, 2001)

โรคเขม่าดำ (smut disease) ทำความเสียหายแก่ธัญญพืชชนิดต่าง ๆ มาก พบได้ทั่วไป เข้าทำลายเมล็ด มีผงสปอร์สีดำอยู่ภายในเมล็ด ทำให้ผลผลิตและคุณภาพลดลง เชื้อราสาเหตุโรคที่พบทั่วไป ลักษณะสำคัญคือการรวมกันของ compatible spores หรือเส้นใย ราสร้าง teliospores ได้แก่ genera *Ustilago* ทำให้กิดโรคราเขม่าดำของข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ และอื่น ๆ *Tilletia* หลาย species ทำให้เกิดโรค bunt หรือ stinking smut ของข้าวสาลี *Sphacelotheca* หลาย species ทำให้เกิดโรคเขม่าดำของข้าวฟ่าง (loose smut of sorghum) *Neovossia* และ *Entyloma* เชื้อราเข้าทำลายเมล็ดตั้งแต่ในช่วงรังไข่ แล้วเจริญพร้อมกับการเกิดของเมล็ด ทำให้ทั้งผลและเมล็ดและผลเป็นโรค บางชนิดทำลายใบ ลำต้น และช่อดอก บางชนิดเข้าทำลายเมล็ดตั้งแต่ยังไม่โผล่จากดิน หรือระยะต้นกล้าแล้วเมื่อต้นพืชเจริญ ก็ทำลายช่อดอกด้วย แต่บางชนิดทำลายพืชเฉพาะแห่ง เช่น ที่ใบ ลำต้น ทำให้เซลล์ที่มีเชื้ออยู่เต็มไปด้วยผงสปอร์ มีการบวมโตเนื่องจากเซลล์ขยายใหญ่ขึ้นเพราะผงสปอร์ พืชอาจตายและแคระแกรนได้

ราเขม่าดำจัดเป็นราที่มีความสำคัญเช่นเดียวกับราสนิม หรือ rust fungi พืชอาศัยของราเขม่าดำ ได้แก่ Angiosperm โดยเฉพาะพืชใน family Cyperaceae และ Gramineae และสามารถเข้าทำลายพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้หลายชนิดเช่น อ้อย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง เป็นต้น Basidiospore ของราเขม่าดำ เมื่องอกให้กำเนิด primary mycelium ซึ่งเป็น monokaryotic ระยะที่เป็น primary mycelium นี้สั้นมาก ชีพจักรส่วนใหญ่ของราจึงมีเส้นใยเป็น secondary mycelium (N+N) ซึ่งเจริญอยู่ในเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของ meristem แม้ว่าราเขม่าดำจะพบเป็น parasite บนส่วนของพืชที่มีชีวิต แต่ก็มีหลาย species ที่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ โดยการเป็น

saprobe ในดิน และบางพวกอาจนำมาเลี้ยงและเจริญจนครบชีพจักรได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (วิจัย, 2546)

สำหรับในประเทศไทยนั้นมีการศึกษาราเขม่าดำบนข้าวโพด (Panichsukpatana and Boon-long, 2002) อ้อย (Ouvanich , 2002) เดือย Titatarn *et al.,* 1983) ยังไม่ค่อยมีการศึกษาราเขม่าดำบนพืชอาศัยอื่น ๆ เช่นพืชตระกูลหญ้า ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้เป็นการสำรวจและจำแนกชนิดราเขม่าดำบนพืชตระกูล Cyperacaea ในประเทศไทยทำให้ทราบชนิดของราและพบว่ายังมีราเขม่าดำอีกหลายชนิดมากที่ยังไม่มีรายงานในประเทศไทยและบางชนิดยังไม่มีรายงานในประเทศอื่นด้วย การศึกษาการจำแนกชนิดราเขม่าดำนั้นมีประโยชน์โดยได้ข้อมูลใหม่เกี่ยวกับรากับพืชอาศัยและการแพร่กระจายราเขม่าดำ รวมทั้งเป็นการพัฒนานักอนุกรมวิธานด้านราในการจำแนกชนิดของเชื้อ

ดังนั้นการสำรวจ ศึกษาการรวบรวม และจำแนกชนิดของราเขม่าดำนี้จึงมีความสำคัญเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์พืช เช่น อ้อย เพื่อต้านทานโรคเขม่าดำ และเนื่องจากราเขม่าดำในแต่ละพืช หรือพืชเดียวกัน จะมีความหลากหลายของเชื้อ เพราะฉะนั้นการจำแนกชนิดเชื้อราเขม่าดำนั้นมีประโยชน์เพื่อเป็นฐานข้อมูล การเก็บตัวอย่างแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์พืช เพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบในการตรวจเมล็ดพันธุ์พืชนำเข้า ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในงานกักกันพืช ตลอดจนเป็นพื้นฐานในการศึกษาจำแนกอนุกรมวิธานราดำของพืชต่าง ๆ ในประเทศไทยเพื่อสร้างนักอนุกรมวิธานทางด้านราสาเหตุโรคพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคราเขม่าดำจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย
2. สารเคมี ได้แก่ Shear's solution, lactophenol, lactic acid, 3-5% KOH, Methylene blue in lactophenol
3. ตะเกียง เข็มเขี่ย มีดโกนคม สไลด์และแผ่นปิดสไลด์
4. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ
5. อุปกรณ์วาดภาพจากกล้องจลทรรศน์ (camera lucida)
6. กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด SEM (Scanning Electron Microscope) JEOL JSM-5600 LV

วิธีการ

1. สำรวจรวบรวมราเขม่าดำจากแหล่งต่าง ๆ

สำรวจเก็บตัวอย่างโรคราเขม่าดำจากส่วนของรังไข่ เกสรตัวผู้ ช่อดอก ลำต้น ใบ ราก และเมล็ด จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 – เดือนกันยายน 2551 บันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างแห้งเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

2. การศึกษาราเขม่าดำ

2.1 ศึกษาราเขม่าดำโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช (Direct observation)

ศึกษาลักษณะของราเขม่าดำบนส่วนต่าง ๆ ของพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo บันทึกลักษณะต่าง ๆ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยส่วนของรา ได้แก่ สปอร์ หรือส่วนขยายพันธุ์ของรา มาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วย cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (Scanning electron microscope) Vánky (2002)

2.2 การจำแนกราเขม่าดำ

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์ และถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ (Benson, H.J., 1998) และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน นำลักษณะของราดังกล่าวเปรียบเทียบกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดราเขม่าดำ ที่ใช้กันทั่วไปได้แก่ Vánky (2002)

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น – สิ้นสุด**

ตุลาคม 2548 – **กันยายน** 2553

สถานที่ - แหล่งพืชธรรมชาติ

- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจรวบรวมราเขม่าดำจากแหล่งต่าง ๆ

สำรวจ รวบรวมราเขม่าดำจากภาคต่าง ๆ ในประเทศไทยทั้งหมด 33 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกระบี่ กาญจนบุรี กาฬสินธุ์ กรุงเทพ ฯ ขอนแก่น จันทบุรี ชัยภูมิ ชลบุรี เชียงใหม่ เชียงราย ชุมพร นครพนม นครสวรรค์ บุรีรัมย์ ประจวบคีรีขันธ์ พะเยา พังงา พิษณุโลก เพชรบุรี แพร่ ภูเก็ต เลย ศรีสะเกษ สกลนคร สระแก้ว สระบุรี สมุทรสงคราม สุรินทร์ สุราษฎร์ธานี หนองคาย อุดรธานี อุตรดิตถ์ และอุบลราชธานี ได้ราเขม่าดำจำนวนทั้งหมด 145 ตัวอย่าง ตัวอย่างแห้งราเขม่าดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

2. การศึกษาราเขม่าดำ

ผลการศึกษาจากตัวอย่างราเขม่าดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound และศึกษาลักษณะผิวของสปอร์โดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด จัดจำแนกราเขม่าดำได้ 13 genera 66 species และ unidentified species 1 ชนิด ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย ส่วนใหญ่ราเขม่าดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และจากการสำรวจรวบรวมราเขม่าดำครั้งนี้พบราเขม่าดำชนิดใหม่ที่จำนวนทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ *Macalpinomyces siamensis* บน *Coelorachis striata* พบที่อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ *Sporisorium clandestinum* บน *Aristida setacea* ที่อำเภอนาคู จังหวัดกาฬสินธุ์ *S. likhitekarajae* บน *Ischemum* sp. ที่อำเภอศรีสงคราม จังหวัดนครพนม *S. pseudosorghi* บน *Pseudosorghum pseudosorghi* ที่เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคอนสาน จังหวัดชัยภูมิ *S. trispicatae* บน *Eulalia trispicata* ที่เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ *Tilletia chiangmaiensis* บน *Arundinella bengalensis* ที่อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ *T. isachneicola* บน *Isachne globosa* ที่อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา *T. filisora* บน *Pennisetum setosum* พบ 3 แหล่ง ได้แก่ เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคอนสาน จังหวัดชัยภูมิ อำเภอนครไทย และอำเภอ วังทอง จังหวัดพิษณุโลก, *T. lageniformis* บน *Hyparrhenia rufa* พบ 2 แหล่ง ได้แก่ เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง และ อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ *T. setariae-parviforae* บน *Setaria parviflora* ที่อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร *T. thailandica* บน *Eragrostis amabilis* ที่อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย และ *Yelsemia droserae* บน *Drosera burmanni* เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ ที่อำเภอโนนคูณ จังหวัดอุบลราชธานี ตัวอย่างแห้งของราเขม่าดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ราเขม่าดำที่พบมีดังนี้

Cintractia axicola (Berk.) Cornu, Ann. Sci Nat. Bot., Sér. 6, 15: 279, 1883

พบบน *Fimbristylis dichotoma* อำเภอนครไทย จังหวัดพิษณุโลก บ้านวังเย็น จังหวัดเลย อำเภอแม่จัน และ อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเมือง อำเภอเหนือคลอง และอำเภอปลายพระยา จังหวัดกระบี่ อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร และ อำเภอละหานทราย จังหวัดบุรีรัมย์ อำเภอบ้านตาขุน จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ตารางที่ 1)

Sori อยู่บนฐานของก้านดอก และในดอก รูปร่าง subglobose ถึง ovoid มีขนาดประมาณ 1-1.5 x 1-5 มิลลิเมตร เริ่มแรก Sori ถูกปกคลุมด้วยผนังเนื้อเยื่อขาว เทา ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล กลุ่มสปอร์สีดำจะอยู่ภายในเนื้อเยื่อ สปอร์เซลล์เดียว รูปร่าง globose, ovoid, subpolyangular มีขนาด 8-15 x 10-17 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังหนา 1 ไมครอน

รา *Cintractia axicola* ที่พบในประเทศไทยนี้เป็นชนิดเดียวกับที่ Lee (1950) และVánky (2002) รายงานไว้ ราชนิดนี้มีพืชอาศัยหลายชนิดในตระกูล Cyperaceae พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไปโดยเฉพาะในเขตร้อนชื้นและกึ่งเขตร้อน

Cintractia limitata G.P.Clinton, Proc. Boston Soc. Nat. Hist. 31:399, 1904.

พบบน *Cyperus corymbosus*: ที่อำเภอโกสุมพิสัย จังหวัดขอนแก่น และพบบน *Cyperus mitis*: อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม และอำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (ตารางที่ 1)

พบบน *Cyperus* ที่จังหวัดเพชรบุรี

Sori เกิดอยู่บนฐานของก้านดอก และในดอก รูปร่าง subglobose ถึง ovoid มีขนาดประมาณ 1-1.5 x 1-5 มิลลิเมตร เริ่มแรก Sori ถูกปกคลุมด้วยผนังเนื้อเยื่อขาว เทา ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล กลุ่มสปอร์สีดำจะอยู่ภายในเนื้อเยื่อ สปอร์ เซลล์เดียว รูปร่าง globose, ovoid, subpolyangular มีขนาด 8-15 x 10-17 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังหนา 1 ไมครอน

รา *Cintractia limitata* ที่พบในประเทศไทยนี้เป็นชนิดเดียวกับที่ Lee (1950) รายงานไว้ พบบน *C. compressus* ที่ประเทศจีนและไต้หวัน และมีรายงานพบราชนิดนี้บนพืชตระกูล Cyperaceae หลายชนิด พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป โดยเฉพาะในเขตร้อนชื้นและกึ่งเขตร้อน

Cintractia mitchellii Vánky, Mycotaxon 62:159, 1997

พบบน *Fimbristylis acuminata*: อำเภอวารอนชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี พบบน *F. tetragona*: ที่อำเภอท่าตูม จังหวัดสุรินทร์ และอำเภอพังโคน จังหวัดสกลนคร และพบบน *F. parviflora* ที่อำเภอศรีสงคราม จังหวัดนครพนม (ตารางที่ 1)

Sori เกิดรวมกันอยู่รอบ spikelets เริ่มต้นเกิดอยู่ที่ส่วนฐาน ปกคลุมด้วยผนังสปอร์สีขาว ภายในมีกลุ่มของสปอร์อัดกันแน่นเป็นผงสีดำ กลุ่มของสปอร์มีขนาด 1-2 x 1-3.5 มิลลิเมตร สปอร์ค่อนข้างแบน รูปร่าง broadly elliptic ถึง slightly irregular มีขนาด 9.5-13 x 11-15 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังสปอร์มีลักษณะเป็นปุ่มและร่างแห

รา *Cintractia mitchellii* พบครั้งแรกที่เมือง Perth ประเทศออสเตรเลีย โดย Andrew A. Mitchell พบบน *Fimbristylis schultzii* (Vánky, 1997)

Conidiosporomyces ayresii (Berk.) Vánky, in Vánky & Bauer, Mycotaxon 43: 429 (1992)

พบบน *Panicum maximum* ที่จังหวัดเพชรบุรี เขื่อนปราณบุรี อำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ อำเภอทองผาภูมิ และ อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย และที่อำเภอเขาพนม จังหวัดกระบี่ พบบน *Panicum* ที่อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย พบบน *Megathyrsus maximus* ที่อำเภอทับสะแก และอำเภอบางสะพานน้อย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ในรังไข่ของ รูปร่าง ovoid หรือ มีขนาด 1.5-3 x 2.5-5(-10) มิลลิเมตร สีเทาน้ำตาลอมเขียว สปอร์รูปร่าง globose, subglobose ถึง broadly ellipsoidal มีขนาด 12-16 x 13-17 ไมครอน สีเหลืองอมน้ำตาล ถึงสีน้ำตาลดำ ผนังเรียบและverrucose มีหนามยาว 1-2 ไมครอน

Sterile cells รูปร่าง globose, subglobose, ellipsoidal สีค่อนข้างใส ถึงเหลืองอ่อน มีขนาด 13.5-20 x 14.5-21.5 ไมครอน ผนังบาง ขนาด 1.5-2 ไมครอน

Dermatosorus eleocharides Sawada ex L. Ling, Mycologia 41: 268 (1949)

พบบน *Eleocharis dulcis* ที่จังหวัดภูเก็ต (ตารางที่ 1)

Sori เกิดกระจัดกระจายอยู่ในรังไข่ ทำให้รังไข่บวม รูปร่างค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 2-2.5 มิลลิเมตร เริ่มแรกมี peridium สีดำ หนา ปกคลุม เป็นส่วนประกอบของผนังรังไข่และชั้นของเส้นใย ซึ่งต่อมาจะแตกออก ภายในประกอบด้วยกลุ่มของ spore balls อัดรวมกันเป็นก้อนขนาดใหญ่ สีดำ และมี columella อยู่ตรงส่วนกลางของ sorus

Spores รูปร่างกลม ถึงรูปไข่ มีเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 6.5-12 ไมครอน สีน้ำตาลแกมแดง loosely united ผนังสานกันเป็นร่างแห หนา 1.5-2 ไมครอน

Dermatosorus schoenoplecti Vánky & R.G. Shivas, Fungal Diversity 14: 244 (2003)

พบบน Schoenoplectus juncoides อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1) และพบราชนิดนี้ทางเหนือของรัฐควีนสแลนด์ ประเทศออสเตรเลีย และประเทศแคมารูน

Sori เกิดอยู่ในเมล็ด ราเข้าทำลายในช่อดอก ทำให้ช่อดอกบวม มีขนาด 1.5-2.5 x 3-4 มิลลิเมตร ภายในมี spore balls อัดกันแน่นอยู่ในกาบช่อย่อย และมีเยื่อหุ้มผนังบางสีเทา

Spore balls รูปร่างและขนาดหลากหลาย รูปร่างไม่แน่นอน รูปยาว หรือคล้ายกระสวย มีขนาด 30-100 x 40-200(-250) ไมครอน สีน้ำตาลเข้ม ทึบแสง spore balls ประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์จำนวนมากอัดกันอยู่และล้อมรอบด้วย sterile cell ต่อกันเป็นร่างแห มีสีเข้ม sterile cell มีขนาดใกล้เคียงกับสปอร์

Spores รูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ รูปรี ขนาด 8-10.5 x 9-12 ไมครอน สีเหลืองอ่อนอมน้ำตาล ผนังเรียบ ผิวสปอร์ต่อกันเป็นร่างแหละเอียด ความหนาร่วมร่างแหที่ยื่นออกมาประมาณ 1 ไมครอน

Entyloma bidentis Henn., in Engler, Die Pflanzenwelt Ost-Afrikas, C: 49 (1895)

พบบน *Biden pilosa* เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ อำเภอสอง จังหวัดแพร่ (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่บนใบ เริ่มแรกมีสีขาวหม่น ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองถึงสีน้ำตาล แบนราบ จุดกลมถึงจุดเหลี่ยม เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 1-5 มิลลิเมตร หรือขนาดใหญ่เมื่อแผลเล็กมารวมกัน.

Spores เกิดฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อของใบ รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปรี ถึงรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 9-14 x 10-16 ไมครอน สีค่อนข้างใส ถึง สีเหลืองอ่อนอมน้ำตาล ภายในสปอร์มีเม็ดเล็ก ๆ อยู่ ผนังสปอร์เรียบ หนา -1.5(-2.5) ไมครอน

Eriocaulago jagdishwarri (J.N. Mishara) Vánky, Mycol. Balcan. 2: 114 (2005)

พบบน *Eriocaulon* ที่อำเภอศรีสงคราม จังหวัดนครพนม

Sori เกิดอยู่ในแคปซูล รูปไข่ทรงคว่ำ ลักษณะเป็น loabed สีดำ มีเส้รผ่านศูนย์กลางยาว 0.2-0.3 x 0.3-0.5 มิลลิเมตร mm ภายในมีกลุ่มของสปอร์อัดกันเป็นก้อนถึงลักษณะเป็นผงแป้ง สีดำ

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปไข่ รูปทรงรีตรงกลางกว้าง รูปทรงยาว ถึงรูปร่างไม่แน่นอน มีขนาด 10-13 x 11-16 ไมครอน สีน้ำตาลแกมแดงเข้ม ผนังหนา 0.5-1(-2) ไมครอน ผนังสปอร์ขรุขระ ผิวสปอร์มีลักษณะเป็นคลื่น

Franzpetrakia microstegii Thirum. & Pavgi, *in* Pavgi & Thirumalachar, *Sydowia*, 1: 2 (1957)

Sori เกิดอยู่บนใบ เริ่มแรกมีสีขาวหม่น ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองถึงสีน้ำตาล แบนราบ จุดกลมถึงจุดเหลี่ยม เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 1-5 มิลลิเมตร หรือขนาดใหญ่เมื่อแผลเล็กมารวมกัน.

Spores เกิดฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อของใบ รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปรี ถึงรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 9-14 x 10-16 ไมครอน สีค่อนข้างใส ถึง สีเหลืองอ่อนอมน้ำตาล ภายในสปอร์มีเม็ดเล็ก ๆ อยู่ ผนังสปอร์เรียบ หนา -1.5(-2.5) ไมครอน เรียบ

Macalpinomyces arundinellae-setosae R.G.Shivas & Vánky, *Mycol. Balcan*. 2: 101 (2005)

พบบน *Arundinella setosa* อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ในรังไข่ บางอัน ในช่อดอก รูปร่างทรงกระบอก ขนาด 0.5 x 5-13 มิลลิเมตร ยื่นออกมาจากกาบช่อย่อย มีเยื่อหุ้มสีเหลืองหม่นอมน้ำตาล ต่อมาจะแตกออก ภายในมีกลุ่มของสปอร์และ sterile cells อัดกันอยู่ สีน้ำตาลเข้ม

Spores รูปร่างค่อนข้างกลม ถึงรูปร่างหลายเหลี่ยม ไม่แน่นอน ขนาด 5-7.5 x 5-8.5 ไมครอน สีน้ำตาล ผนังเรียบ หนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผิวสปอร์มีตุ่มนูนขึ้นมา เล็ก ๆ ถึงลักษณะเป็นหนาม

ราชนิดนี้พบครั้งแรกและมีรายงานพบเฉพาะทางเหนือของรัฐควีนสแลนด์ ประเทศออสเตรเลียเท่านั้น (Shivas & Vánky, 2005).

Macalpinomyces bothriochloae (L.Ling) Vánky, *Fungal Diversity* 15: 225 (2004)

พบบน *Bothriochloa bladhii* อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ และพบบน *Bothriochloa pertusa* อำเภอเชียงแสน และอำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก รังไข่ขยายตัว รูปร่างกลมถึงรูปรี ปลายสีเหลืองแหลม สั้น the remnant of the caryopsis บางส่วนหรือทั้งหมดอยู่ใน floral envelopes ขนาด 1-1.5 × 2-2.5 มิลลิเมตร มีเยื่อหุ้มสีน้ำตาล ค่อนข้างหนา เมื่อแตกออกพบกลุ่มของสปอร์รวมกลุ่มกันเป็นก้อนถึงเป็นลักษณะผงแป้งเกาะติดกับกลุ่มของ sterile cells.

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลมถึงรูปรี ขนาด 10.5-14.5 × 11.5-16.5 ไมครอน สีน้ำตาลแกมแดงเข้ม ผนังเรียบ สปอร์มีหนามยื่นออกมาสูง 1-1.5 ไมครอน ที่ฐานกว้างประมาณ 0.5-0.8 ไมครอน ผิวสปอร์มีลักษณะคล้ายฟัน

Sterile cells อยู่เป็นกลุ่ม เซลล์เดียวมีรูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปไข่ หรือรีตรงกลางกว้าง ขนาด 6.5-13.5 x 7-15 ไมครอน สีค่อนข้างใส ในตัวอย่างเก่ามักแตกออก ผนังเรียบ หนาประมาณ 0.5 ไมครอน

Macalpinomyces bursus (Berk.) Vánky, Mycotaxon 81: 427 (2002)

พบบน *Themeda villosa* ที่อำเภอเวียงเชียงรุ้ง จังหวัดเชียงราย และพบว่า หญ้าชนิดนี้เป็นพืชอาศัยชนิดใหม่ของรา *M. bursus* ที่พบในประเทศไทย

Malcalpinomyces ewartii (McAlpine) Vánky & R.G. Shivas, Mycotaxon 80: 346 (2001)

พบบน *Sorghum nitidum* ที่อำเภอชุน จังหวัดพะเยา

Macalpinomyces siamensis R.G.Shivas, Vánky & P. Athipunyakom sp. nov., *Mycol. Balcan*. 3: 108 (2006)

พบบน *Coelorachis striata* อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก รูปร่างทรงกระบอกยาว ขนาด 1-2 × 10-20 มิลลิเมตร โค้งหรือบิด เยื่อหุ้มหนา ปกคลุมไปด้วยขนแข็ง เริ่มแรกมีสีเขียวต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อแก่จะแตกออกตามแนวยาว ภายในมีกลุ่มสปอร์สีน้ำตาลเข้ม สปอร์และ sterile cells กึ่งรวมตัวกันลักษณะเป็นผงแป้ง

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปรีตรงกลางกว้าง ขนาด 6.5-9 × 7-9.5 ไมครอน สีน้ำตาลเข้มอมเขียว ผนังเรียบ หนา 0.5-1 ไมครอน ที่ผิวมีหนามยื่นออกมา หนาแน่นปานกลาง หนามสูงประมาณ 0.5 ไมครอน กว้าง 0.3-0.4 ไมครอน ผิวสปอร์มีลักษณะคล้ายฟัน

Sterile cells รวมตัวกันเป็นกลุ่ม เกาะกันอย่างหลวม ๆ เซลล์เดียวมีรูปร่างกลม ค่อนข้างกลม หรือรูปรีตรงกลางกว้าง ขนาด 6.5-14.5 × 6.5- 17 ไมครอน สีค่อนข้างใส ผนังเรียบ หนา 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ

Microbotryum tenuisporum (Cif.) Vánky, *Mycotaxon* 67: 50 (1998)

พบบน *Polygonum* aff. *barbatum* L.: บริเวณสะพานแม่น้ำแม่กลอง อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี

Sori เกิดอยู่ในดอก ทำให้ดอกบวม สีน้ำตาลอ่อน กลุ่มสปอร์ลักษณะเป็นผงฝุ่นอยู่ในส่วนห่อหุ้มดอกไม้ อดอกของช่อดอกทุกดอกถูกทำลาย

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปไข่ มักไม่พบรูปร่างยาวเรียว ขนาด 7-10.5 x 7-12(-13) ไมครอน สีน้ำตาลอมเขียว ม่วงอ่อน ๆ ผนังหนา 1.5 ไมครอน ผิวสปอร์มีลักษณะป็นร่างแหตาข่าย 3-5(-6) ตาข่ายต่อเส้นผ่านศูนย์กลางสปอร์ สูง 0.8-1.2 ไมครอน เมื่อมองผ่านกล้อง SEM

ผิวเกือบเรียบถึงตุ่มนูนขึ้นมา

Moesziomyces bullatus (J.Schröt.) Vánky, *Bot. Not.* 130: 133 (1977)

พบบน *Leersia lexandra* ที่อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอเวียงเชียงรุ้ง จังหวัดเชียงราย และพบบน *Polytrias amaura* โรงแรมกรีนเวิลด์ อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี (ตารางที่ 1) รา *Moesziomyces bullatus* พบมากบนหญ้า *Echinochloa*, *Leersia*, *Paspalum*, *Pennisetum* และ *Uranthoecium*. ราเขม่าดำชนิดนี้พบบนหญ้า *Polytrias* ซึ่งเป็นพืชอาศัยชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย (ตารางที่ 1

Sori เกิดกระจายอยู่ในรังไข่ รูปร่างกลมถึงรูปไข่ ยาวประมาณ 2-4(-5) มิลลิเมตร เยื่อหุ้มผนังเรียบ เริ่มแรกมีสีเขียวต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล sorus ทั้งหมดอาจจะร่วงออกจากพืชอาศัยหรือเยื่อหุ้มหลุดออกไปและภายในมีกลุ่มของ spore balls สีน้ำตาลดำ อัดกันเป็นแท่ง ไม่มี columellaเส้นใยเจริญอยู่ระหว่างเซลล์

Spore balls มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปไข่ รูปยาวเรียว ถึงรูปร่างไม่แน่นอน เส้นผ่านศูนย์กลางยาว (35-)50-240 x (40-)60-320 ไมครอน สีน้ำตาลดำ ทึบแสง ประกอบด้วยสปอร์จำนวนสปอร์หลายร้อยสปอร์รวมกันกับ sterile cells

Spores รูปร่างกลม รูปไข่ ถึงรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งพบรูปร่างหลายเหลี่ยม สีค่อนข้างใส ถึงสีเหลืองแกมน้ำตาล -เส้นผ่านศูนย์กลางยาว 6.5-9(-10) x 7-12(-13) ไมครอน ผนังหนา 0.5-0.7 ไมครอน ผนังเรียบ

Sterile cells สลายไปเมื่อแก่ ผนังบาง (0.1-0.2 ไมครอน มองผ่านกล้อง TEM)

Pilocintractia adrianae Vánky, Mycotaxon 95: 54 (2006)

พบบน *Fimbristylis miliacea* ที่จังหวัดแพร่ (ตารางที่ 1)

Pilocintractia fimbristylidicola (Pavgi & Mundk.) Vánky, Mycol. Balcan. 1: 173 (2004)

พบบน *Fimbristylis bisumbellata* ที่จังหวัดประจวบคีรีขันท์ (ตารางที่ 1)

Sporisorium amaurae Vánky & C. Vánky, Mycotaxon 62: 136 (1997)

พบบน *Polytrias amaura* ที่อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ จังหวัดชุมพร อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย และอำเภอเมือง จังหวัดชุมพร

Sori เกิดในทุกช่อดอกย่อยของช่อดอก ราเข้าทำลายทั้งหมด รูปร่างไข่หรือรูปทรงกระบอก ขนาด 1-1.5 x 1.5-4(-5) มิลลิเมตร เยื่อหุ้มเริ่มแรกมีสีน้ำตาลอมเหลือง ต่อมาเยื่อหุ้มหลุดออกไป ภายในมีกลุ่มของสปอร์ลักษณะเป็นผงแป้ง สีน้ำตาลเข้ม เกาะรวมตัวกันกับกลุ่มของ sterile cells และ columella อยู่ตรงกลาง อยู่เดี่ยว หรือแตกแขนงเล็กน้อย

Spores เมื่อแก่สปอร์เดี่ยว รูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ ถึงรูปร่างค่อนข้างไม่แน่นอน ขนาด 7-9.5 x 8-10.5 ไมครอน สีน้ำตาลอมเหลืองอ่อน ผนังหนาประมาณ 0.8 ไมครอน ผิวสปอร์มีตุ่มยื่นออกมา เมื่อมองผ่านกล้อง SEM ผิวสปอร์ขรุขระ ลักษณะระหว่างปุ่มขนาดเล็ก ๆ และมีจุดหนาแน่น

Sterile cells รูปร่างและขนาดไม่แน่นอน รูปร่างค่อนข้างกลม หรือรูปร่างไม่แน่นอน ด้านข้างแบน sterile cell มีขนาด 6.5-12 x 6.5-17 ไมครอน สีค่อนข้างใส ผนังหนา 0.5-0.8 ไมครอน ผนังเรียบ

Sporisorium andropogonis-aciculati (Petch) Vánky, *Mycotaxon* 18: 328 (1983)

พบบน *Chrysopogon aciculatus* อำเภอท่าตูม จังหวัดสุรินทร์ (ตารางที่ 1)

Sori ราเข้าทำลายช่อดอกทั้งหมด รูปร่างทรงกระบอกยาว มีขนาด1-2 x 20-40(-50) มิลลิเมตร ส่วนใหญ่จะอยู่ในกาบใบก้านบนสุด เยื่อหุ้มเริ่มแรกมีสีน้ำตาลอ่อน และจะแตกออกจากทางด้านยอด ภายในมีกลุ่มของ spore balls ลักษณะเป็นเม็ด-ผงแป้ง สีน้ำตาลเข้ม และ columellae รูปร่างคล้ายเส้นด้ายยาวมาก

Spore balls รูปร่างค่อนข้างกลม รูปรีตรงกลางกว้าง ถึงรูปร่างค่อนข้างไม่แน่นอน ขนาด 20-50 x 20-60 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ถึงสีทึบแสง ประกอบด้วยจำนวนสปอร์มากกว่าสิบ หรือหลายร้อย ซึ่งจะแยกออกจากกันโดยความดัน

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปทรงรีตรงกลางกว้าง ถึงรูปร่างค่อนข้างไม่แน่นอน มีขนาด 4-5 x 5-6.5 ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลือง ด้านข้างสีจะอ่อนกว่า ผนังไม่เรียบ หนา 0.5-1 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบถึงมีจุดเล็ก เมื่อมองผ่านกล้อง SEM ผิวสปอร์ขรุขระมีตุ่มเล็ก ๆ กระจายอยู่ทั่วไป

Sterile cells ไม่พบ

Sporisorium anthistiriae (Cobb) Vánky, *in* Vánky & Guo, *Acta Mycol. Sinica*, Suppl. 1: 230 (1986) [1987]

พบบน *Themeda triandra* อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร พบบน *Themada australis* ที่อำเภอเวียงเชียงรุ้งและอำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sori เกิดกระจายอยู่ในรังไข่ รูปร่างทรงกระบอก โค้งเล็กน้อย ขนาด 1.5-2 x 10-30 มิลลิเมตร เยื่อหุ้มเริ่มแรกมีสีเหลืองหม่น ต่อมาจะแตกออกตามแนวยาว ภายในมีกลุ่มของ spore balls ลักษณะเป็นเม็ด-ผงแป้ง สีดำ มี columellae รูปร่างคล้ายเส้นด้ายจำนวนมาก

Spore balls รูปร่างและขนาดไม่แน่นอน รูปไข่ ถึงรูปเรียวยาวหรือรูปร่างไม่แน่นอน ยาว 30-170 ไมครอน สีแดง ถึงสีน้ำตาลเข้ม ประกอบด้วยจำนวนสปอร์ 12 ถึง >100 สปอร์

Spores มี 2 ส่วน สปอร์ด้านนอกรูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปไข่ ถึงรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 8-12 x 9-14 ไมครอน สีน้ำตาลแดงเข้ม ผนังเรียบ หนา 1-1.5 **ผิวสปอร์ขรุขระ หยาบปานกลาง มีตุ่มแหลมยื่น** สปอร์ด้านในรูปร่างหลายเหลี่ยม สีน้ำตาลอมเหลือง ผนังบาง (ประมาณ 0.5 ไมครอน) ผนังเรียบ

Sporisorium arthraxonis (Pat.) L.Guo, *Mycosystema* 2: 221 (1989)

พบบน *Arthraxon hispidus* **อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่** (ตารางที่ 1) **ราชนิดนี้พบครั้งแรกและมีรายงานพบเฉพาะที่ประเทศเวียดนามเท่านั้น**

Sori เกิดอยู่ในช่อดอกย่อยภายในกาบช่อย่อย ยาว 1-2(-4) มิลลิเมตร เยื่อหุ้มผนังเริ่มแรกมีสีขาวหม่นถึงสีน้ำตาล เมื่อแตกออกภายในมีกลุ่มของสปอร์สีน้ำตาลดำ ลักษณะเป็นผงแป้ง เกาะกันอยู่กับกลุ่มของ sterile cells

Spores สปอร์เดี่ยวเมื่อแก่ รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปไข่ ถึงรูปรีตรงกลางกว้าง ขนาด 10-13 x 11-14(-15) ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังเรียบ หนา 1-1.5 ไมครอน

Sterile cells เกิดอยู่เป็นกลุ่มขนาดเล็ก รูปร่างไม่แน่นอน หรือเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ ไม่มีสีถึงสีเหลืองซีด เซลล์เดียว

Sporisorium bernstii Vánky, Mycotaxon 85: 37 (2003)

พบบน *Schizachyrium sanguineum* ที่เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่

รายงานนี้เป็นรายงานครั้งที่สองที่พบราชนิดนี้บน *S. sanguineum* ซึ่งมี type specimen ที่สุมาตรา (Shivas *etal.,* 2008)

Sporisorium clandestinum R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 108 (2006)

พบบน *Aristida setacea* Retz.: **อำเภอนาคู จังหวัดกาฬสินธุ์** พบบน *A. balansae* **ที่อำเภอศรีสงครสม จังหวัดนครพนม** (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น

Sori เกิดในรังไข่ บางอัน ของช่อดอก เห็นไม่ชัดเจน อยู่ภายในกาบใบล่างมีลักษณะคล้ายหนวดแหลม รูปร่างคล้ายกระสวย เนื้อเยื่อขยายตัว มีขนาด 0.5-1 × 3-4 มิลลิเมตร เยื่อหุ้ม sorus เริ่มแรกมีสีเทาหม่น บาง แตกออกเมื่อแก่ ภายในมีกลุ่มของ spore ball สปอร์และ sterile cells กึ่งเกาะรวมตัวกัน ถึง ลักษณะเป็นเม็ดแป้ง สีดำ

Spore balls รูปร่างและขนาดไม่แน่นอน รูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ รูปรีตรงกลางกว้าง รูปเรียวยาว หรือรูปร่างไม่แน่นอน มีขนาด 30-70 x 40-80(-100) ไมครอน สีน้ำตาลแกมเขียวมะกอก ถึงทึบแสง สปอร์เกาะรวมตัวกัน >10 หรือ >100 สปอร์ ซึ่งแยกออกจากกันได้ง่าย

Spores รูปร่างกลม รูปไข่ รูปรีตรงกลางกว่ง ขนาด 5-6.5 × 5.5-7 ไมครอน สีน้ำตาลอมเขียวมะกอก ผนังสปอร์ไม่ค่อยเรียบ หนา 0.5-0.8 ไมครอน ผิวของสปอร์มีตุ่มเล็ก ๆ ยื่นออกมา ถึงมีลักษณะเป็นคลื่น

Sporisorium cruentum (J.G.Kühn) Vánky, *Symb. Bot. Upsal*. 24: 115 (1985)

พบบน *Sorghum propinquum* อำเภอเชียงแสนและอำเภอขุนตาล จังหวัดเชียงราย และพบบนข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor*)

Sori เกิดอยู่ในดอกย่อยทั้งหมดของช่อดอกที่แคระแกร็น เยื่อหุ้มบอบบางและหลุดออกได้ง่าย ภายในมีกลุ่มสปอร์ลักษณะเป็นผงแป้ง สีน้ำตาลเข้ม เกาะกลุ่มรวมตัวกับกลุ่มของ sterile cells และ columella ซึ่ง columella เกาะรวมกับเนื้อเยื่อของพืชโดยเส้นใยของสปอร์และ sterile cells สปอร์เดี่ยวเมื่อหรือแก่หรือเกาะกันอย่างหลวม ๆ

Spores รูปร่างกลม ถึงรูปไข่ มีขนาด 6.5-8.5 x 7.5-10 ไมครอน สีน้ำตาลแกมเขียวมะกอก ผิวสปอร์มีตุ่มถึงตุ่มแหลมยื่น

Sterile cells มีขนาดใหญ่กว่าสปอร์ (ยาว 8-16 ไมครอน) อยู่รวมกันเป็นกลุ่มขนาดเล็กหรือเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ ไม่มีสีถึงสีเหลืองซีด ผนัง

Sporisorium dichanthicola (Mundkur & Thirum.) Vánky, *Fungal Diversity* 15: 229 (2004)

พบบน *Dichanthium caricosum* เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ *อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย และอำเภอดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา (ตารางที่ 1)*

Sori เกิดอยู่ในรังไข่และช่อดอกทั้งช่อที่ถูกทำลาย รูปไข่ มีขนาด 1 x 2–3 มิลลิเมตร อยู่ภายในกาบใบ เยื่อหุ้มผนังเริ่มแรกบาง สีน้ำตาล เมื่อเยื่อหุ้มผนังแตกออก จากด้านบน ภายในมีกลุ่มสปอร์และ sterile cell เกาะรวมตัวกัน ลักษณะเป็นผง สีน้ำตาลดำ และล้อมรอบด้วย columella ยาว 2-3 มิลลิเมตร

Spores สปอร์เมื่อแก่มีเซลล์เดียว รูปร่างค่อนข้างกลม หรือ รูปรีตรงกลางกว้าง หรือรูปหลายเหลี่ยม หรือไม่แน่นอน มี 5.5–7(–8) x 5.5–8(–9) ไมครอน สีน้ำตาลอมเหลือง ผนังเรียบหนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผิวสปอร์มีหนามแหลมยื่นออกมาเป็นช่วง ๆ ไม่หนาแน่น

Sterile cells เกาะกันเป็นกลุ่มหรือเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ ในตัวอย่างที่แก่ sterile cell ยุบตัวลง มีเซลล์เดียว ยาว 7-15 ไมครอน ไม่มีสี ผนังบาง หนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ

ราชนิดนี้พบครั้งแรกและมีรายงานพบเฉพาะในประเทศอินเดียเท่านั้น

Sporisorium doidgeae (Zundel) Langdon & Fullerton, *Mycotaxon* 6: 452 (1978)

พบบน *Bothriochloa bladhii* อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย พบบน *Bothriochloa* ที่อำเภอดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา (ตารางที่ 1)

Sori มีรูปร่างไม่แน่นอน ราทำลายทั้งช่อดอก ทั้งหมดหรือบางส่วนของก้านช่อดอก หรือบางส่วนของช่อดอกย่อยและก้านช่อดอกย่อย รูปร่างทรงกระบอก อยู่บนกิ่งที่แตกออกมาหรือรวมกัน มักพบติดกับก้านช่อดอกหรือกลุ่มของช่อดอกย่อย มีขนาด 1-4 มิลลิเมตร x 1-7 เซ็นติเมตร บางส่วนอยู่ภายในกาบใบ เยื่อหุ้มผนังมีสีน้ำตาลเริ่มแรก ต่อมาเยื่อหุ้มผนังแตกออกและหลุดออกไป ภายในมีกลุ่มของสปอร์สีดำ ลักษณะเป็นผง อัดกันอย่างหลวม ๆ กับ spore ball และ sterile cells ที่ล้อมรอบด้วย columella เดี่ยวหรือแตกแขนง

Spore balls สลายตัวไปเมื่ออายุมาก เมื่ออ่อนมีรูปร่างค่อนข้างกลม รูปรีตรงกลางกว้าง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80-100 ไมครอน สีน้ำตาลเข้ม สปอร์รวมตัวกันเป็นกลุ่มประมาณ 50-200 สปอร์ และเมื่อแก่ spore balls จะถูกล้อมรอบด้วยเส้นใยไม่มีสี มีลักษณะคล้ายวุ้นและสลายตัวไป

Spores มีเซลล์เดียว รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึง รูปรีตรงกลางกว้าง ถึงรูปหลายเหลี่ยม มีขนาด 8-9.5 x 8-10.5(-12) ไมครอน สีน้ำตาลเหลือง ผนังเรียบ หนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ หรือมีผิวขรุขระ มีตุ่มแหลมยื่นออกมาเป็นช่วง ๆ ไม่ติดกัน เมื่อมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน SEM เห็นผิวสปอร์มีหนาม สั้น ๆ เรียงตัวกันอย่างหนาแน่น ยื่นออกมา

Sterile cells อยู่รวมกันเป็นกลุ่มหรือเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ sterile cell มีเซลล์เดียว และมีด้านใดด้านหนึ่งหรือหลายด้านมีลักษณะแบน มักไม่ค่อยพบรูปร่างกลม มีขนาด 5-10 x 6-11(-15) ไมครอน ไม่มีสี และในตัวอย่างที่แก่ sterile cells จะยุบตัวลง ผนังหนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ

Sporisorium exsertum (McAlpine) L. Guo, Mycosystema 3: 80 (1990)

พบบน *Themeda triandra* ที่อำเภอเวียงเชียงรุ้ง จังหวัดเชียงราย

Sporisorium flagellatum (Syd., P.Syd. & Butler) Vánky, *Mycotaxon* 62: 139 (1997)

พบบน *Ischaemum indicum* อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sori ราทำลายช่อดอกทั้งหมด เยื่อหุ้มผนังสีน้ำตาลแกมเหลือง และอยู่ตรงส่วนปลายของกาบใบ ยาวมากกว่า 5 เซ็นติเมตร มีลักษณะบิด มี columella ยื่นออกมา เยื่อหุ้มผนังแตกออกเมื่อแก่ ภายในมีกลุ่มของ spore balls เป็นผงรวมตัวเกาะกันอยู่กับกลุ่มของ sterile cells

Spore balls รูปร่างค่อนข้างกลมถึงรูปไข่ มีขนาด 25–50 x 28–65 ไมครอน สีน้ำตาลแดง สปอร์รวมตัวกันประมาณ 7-30 สปอร์ และสปอร์แยกออกจากกันได้ง่าย

Spores รูปร่างค่อนข้างกลม รูปรีตรงกลางกว้าง ถึงรูปร่างไม่แน่นอน สปอร์ด้านที่ติดกันจะแบนราบ มีขนาด 9–15(–17) x 12–19 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังหนาประมาณ 1–1.5 ไมครอน ส่วนของผนังสปอร์ที่บางที่สุดมีตุ่มลักษณะเป็นหนาม เล็ก ยื่นออกมา

Sporisorium holstii (Henn.) Vánky, *Mycotaxon* 51: 162 (1994)

พบบน *Themeda triandra* อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร (ตารางที่ 1)

Sori อยู่ภายในก้านของช่อดอกย่อยทั้งหมด หรือ ส่วนที่อยู่ตรงกลางของก้านช่อดอกย่อย รูปทรงกระบอก เรียวยาวตรงที่ฐานและปลายยอด มีขนาด 1-1.5 x 10-20 มิลลิเมตร เริ่มแรกเยื่อหุ้มผนังปกคลุมมีสีน้ำตาลแกมเหลือง ต่อมาเยื่อหุ้มผนังแตกออกตามแนวยาว ภายในมีกลุ่มของ spore ball อยู่รวมตัวกันมีลักษณะเป็นผง และมี columellae รูปร่างคล้ายกระสวย หลายอัน

Spore balls ส่วนใหญ่ spore balls ไม่สลายตัว รูปร่างและขนาดไม่แน่นอน รูปไข่ถึงรูปร่างไม่แน่นอน บางครั้งรวมตัว เกาะกันกันเป็นลักษณะรูปหลายเหลี่ยม ยาวประมาณ (35-)50-130 ไมครอน สีน้ำตาลแดงเข้ม ถึงสีน้ำตาลดำ ทึบแสง ประกอบด้วยสปอร์รวมตัวกันตั้งแต่มากกว่า 12 จนถึงหลายร้อยสปอร์

Spores รูปไข่ ถึงรูปร่างไม่แน่นอน มีขนาด 9.5-13 x 12-14.5 ไมครอน สีแดงเข้ม ด้านนอกของสปอร์ลักษณะมีหนามแหลมยื่นออกมา หนังบางหนาประมาณ 0.5 ไมครอน หนามแหลมยื่นออกมาประมาณ 1 ไมครอน ผนังไม่เรียบบริเวณด้านที่ติดกัน ผนังหนาประมาณ 1-3 ไมครอน ผนัง

Sporisorium inopinatum Vánky, *Mycotaxon* 81: 384 (2002)

พบบน *Aristida* sp.: อำเภอนาคู จังหวัดกาฬสินธุ์ (ตารางที่ 1) จากการสำรวจครั้งนี้พบรา *Sporisorium inopinatum* บนพืชอาศัยดังกล่าวเพียง 1 sorus เท่านั้น

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก เห็นไม่ชัดเจน อยู่ภายใน lemma มีลักษณะยาวนอกจากด้านข้างของ sorus จะบวมขยายตัวเล็กน้อย รูปร่างคล้ายกระสวย มีขนาด 0.5-1 x 4-5 ไมครอน เริ่มแรกเยื่อหุ้มผนังมีสีเขียว และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ประกอบด้วยปลอกหุ้มเมล็ดและส่วนของรา มักพบ sori อยู่ภายในส่วนของพืช และยังคงอยู่ภายใน lemma บางครั้ง sori แตกออกตามแนวยาว ตรง hilum ของ caryopsis เริ่มแรกภายในมีกลุ่มของ spore ball รวมตัวกันอยู่ต่กมามีลักษณะเป็นผง ไม่พบ columella ใน sori

Spore balls มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน รูปร่างค่อนข้างกลม รูปรีตรงกลางกว้าง รูปยาวเรียว ถึงไม่แน่นอน มีขนาด 30-100 x 50-120(-150) ไมครอน สีเขียวมะกอกเข้ม ถึงสีน้ำตาลค่อนข้างทึบแสง spore ball มักไม่สลายตัว และประกอบด้วยสปอร์ 10 ถึงมากกว่า 100 สปอร์รวมตัวกัน และแยกออกจากกันเมื่อมีความดัน

Spores รูปร่างหลายเหลี่ยม ไม่ค่อยพบสปอร์ที่มีรูปร่างกลม หรือรูปรีตรงกลางกว้าง มีขนาด 8-11 x 8-12(-13) ไมครอน ผนังด้านนอกของสปอร์มีสีเขียวมะกอกอมน้ำตาล ผิวสปอร์ขรุขระมีหนามแหลมยื่นออกมาติดกันอย่างหนาแน่น หนามที่ยื่นออกมาสูงประมาณ 1-2(-2.5) ไมครอน ผนังด้านในของสปอร์สีซีด ผนังบาง หนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ

Sterile cells เกิดรวมกันระหว่าง spore ball จำนวนมาก หรือ เกิดเดี่ยว ๆ หรือรวมกันเป็นกลุ่มเล็ก ๆ รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปรีตรงกลางกว้าง หรือรูปไข่ ถึงรูปร่างไม่แน่นอน มีขนาด 6.5-11 x 8-14.5 ไมครอน ผนังหนาประมาณ 0.5-1.5 ไมครอน ผนังเรียบ

Sporisorium ischaemicola (L.Ling) Vánky, *Mycotaxon* 89: 99 (2004)

พบบน *Ischaemum indicum* อำเภอลำดวน จังหวัดสุรินทร์ บ้านโพธิ์ จังหวัดหนองคาย อำเภอถลาง จังหวัดภูเก็ต จังหวัดพิษณุโลก และ อำเภอเวียงเชียงรุ้ง อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sori ราทำลายส่วนของรังไข่ของช่อดอกย่อยทั้งหมดของช่อดอก รูปทรงรีตรงกลางกว้าง มีขนาด 1-2 x 2-4 มิลลิเมตร อยู่ภายในส่วนที่หุ้มดอก เริ่มแรกเยื่อหุ้มผนังมีสีน้ำตาล เมื่อแก่จะแตกออก ภายในมีกลุ่มของสปอร์เกาะกันอยู่กับ sterile cells และมี columella ปกคลุม sorus ตามความยาว

Spore balls พบ spore ball ในระยะเริ่มต้นของการพัฒนาการเกิดของสปอร์

Spores เมื่อแก่มีเซลล์เดียว รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปไข่ หรือรูปทรงรีตรงกลางกว้าง ขนาดไม่แน่นอน ส่วนของผนังที่ขรุขระจะเป็นส่วนที่หนาที่สุดและหยาบที่สุด (ขึ้นอยู่กับจุดเกิดเริ่มต้นที่ติดกับ spore ball) สปอร์มีขนาด 9.5-14 x 10.5-15 ไมครอน สีน้ำตาลแดงปานกลาวถึงสีน้ำตาลแดงเข้ม ผนังเรียบถึงไม่เรียบ หนา 0.7-2 ไมครอน ผนังหนาที่สุดอยู่ที่ผนังด้านในสุด ผิวของสปอร์มีหนามแหลมยื่นออกมา ลักษณะคล้ายฟันเลื่อย

Sterile cells อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม หรือเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ รูปร่างค่อนข้างกลม รูปทรงรีตรงกลางกว้าง ถึงรูปร่างไม่แน่นอน ยาวประมาณ 6–16 ไมครอน สีค่อนข้างใส ผนังบางและเรียบ ในตัวอย่างเก่า sterile cells ยุบตัว .

Sporisorium likhitekarajae R.G. Shivas, Athipunyakom & Mc Taggart, sp. nov.

พบบน *Ischaemum* sp. ที่อำเภอศรีสงคราม จังหวัดนครพนม

Sori เกิดอยู่ในช่อดอกย่อยทั้งหมดของช่อดอก ราเข้าทำลายส่วนของด้านในสุดของดอกตัวเมีย บางส่วนอยู่ในกลีบดอกชั้นนอกสุด มี peridium สีน้ำตาลแกมเหลืองปกคลุม sori อยู่ต่อมาจะแตกออกในทุกที่ ภายในประกอบด้วยกลุ่มของ spore ball รวมกันอยู่เป็นจำนวนมาก คล้ายก้อนแป้ง ลักษณะคล้ายกระสวย มักพบ columellae

Spore balls ค่อนข้างจะอยู่เป็น spore balls อย่างถาวร ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน รูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ รูปเรียวยาว หรือรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 30 – 120 x 25-70 ไมครอน สีน้ำตาลแกมแดงเข้มถึงสีค่อนข้างทึบแสง ประกอบด้วยสปอร์รวมกันประมาณ 10 – 100 สปอร์

Spores รูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ รูปทรงรีตรงกลางกว้างถึงรูปร่างไม่แน่นอน และรูปร่างหลายเหลี่ยม ขนาด 8.0-13.5 x 6.5-10.0 ไมครอน สปอร์มี 2 แบบ สปอร์ด้านนอก สีน้ำตาลแกมแดงเข้ม ผนังหนา 0.5-2.0 ไมครอน ผิวผนังเป็นจุดเล็กถุงขรุขระ หนาแน่นอย่างปานกลาง ส่วนที่ติดด้านข้างเรียบ ผิวสปอร์เรียบ ส่วนที่ไม่ติดด้านใดมีลักษณะเป็นคลื่นถึงคล้ายฟันละเอียด ด้านในของสปอร์ สีน้ำตาลแกมเหลืองอ่อน ผนังหนา 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ

Sterile cell ไม่พบ

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น

Sporisorium manilense (Syd. & P.Syd.) Vánky, *Mycotaxon* 59: 110 (1996)

พบบน *Sacciolepis indica* อำเภอโนนคูน จังหวัดศรีสะเกษ และ อำเภอพังโคน อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ในช่อดอกย่อยทั้งหมดของช่อดอก ประกอบด้วยรังไข่และส่วนในที่สุดของดอก ซึ่งเห็นไม่ชัดเจน แผ่งอยู่ในการพัฒนาชั้นนอกสุดของดอก เริ่มแรกเยื่อหุ้มผนังมีสีน้ำตาลและหลุดออกไปเมื่อแก่ ภายในมีกลุ่มของ spore balls และ สปอร์ เกาะรวมตัวกันกับ sterile cells อย่างหลวม ๆ มีลักษณะเป็นผง สีน้ำตาลเข้ม และมี columella ลักษณะสั้น ๆ รอบล้อมอยู่ตรงกลาง

Spore balls มีรูปร่างไม่แน่นอน ยาวประมาณ 40-80(-110) ไมครอน ประกอบด้วยสปอร์เป็นจำนวนมากและแยกออกจากกันได้ง่าย

Spores เมื่อแก่มีเซลล์เดียว รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปไข่ มีขนาด 9-12.5 x 10.5-13(-14.5) ไมครอน สีน้ำตาลออกเขียวมะกอก ผนังเรียบ หนาประมาณ 1 ไมครอน ผิวสปอร์มีลักษณะเป็นตุ่มขนาดเล็กยื่นออกมาอย่างหนาแน่นปานกลาง และผิวสปอร์มีลักษณะเป็นหนามยื่นออกมาอย่างหนาแน่นเมื่อมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน SEM

Sterile cells เกาะกันเป็นกลุ่มขนาดเล็ก มีเซลล์เดียว รูปร่างกลม รูปทรงรีตรงกลางกว้างหรือรูปร่างไม่แน่นอน มีด้านหนึ่งหรือหลายด้านที่แบนราบ ยาวประมาณ 7-12 ไมครอน สีค่อนข้างใส ผนังบาง หนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ

Sporisorium ophiuri (Henn.) Vánky, *Publ. Herb. Ustilag.* Vánky (HUV) 3: 9 (1986)

พบบน *Rottboellia cochinchinensis* อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Sori ราทำลายช่อดอกทั้งหมด รูปร่างทรงกระบอกยาว มีขนาด 2-3 มิลลิเมตร x 5-30 เซ็นติเมตร อยู่ภายในส่วนปลายของกาบใบ เริ่มแรกเยื่อหุ้มผนังมาสีน้ำตาลเทา และหลุดออกไปเมื่อแก่ ทำให้เห็นกลุ่มของ spore balls สปอร์ และ sterile cells เกาะรวมตัวกันอย่างหลวม ๆ อยู่ภายใน มีสีน้ำตาลเข้ม และมี columella ลักษณะคล้ายแส้ล้อมรอบ

Spores มีเซลล์เดียว รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปไข่ ถึงรูปร่างไม่แน่นอน มีขนาด 8-12 x 9-14 ไมครอน สีน้ำตาลเหลืองเข้ม ผนังเรียบ หนาประมาณ 1 ไมครอน ผิวสปอร์ขรุขระ ลักษณะเป็นตุ่มขนาดเล็กยื่นออกมาอย่างหนาแน่น ผิวสปอร์รอบนอกมีลักษณะเป็นฟันเลื่อย

Sterile cells เกาะกันเป็นกลุ่มมีรูปร่างไม่แน่นอน หรือเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ เป็นคู่หรือเดี่ยว ๆ และยุบตัวลงในตัวอย่างเก่า ยาวประมาณ 10-18 ไมครอน สีค่อนข้างใส ผนังเรียบ หนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ

Sporisorium paspali-thunbergii (Henn.) Vánky, *Publ. Herb. Ustilag. V□nky* (HUV) 3: 9 (1986)

พบบน *Paspalum orbiculare* อำเภอโนนคูน จังหวัดศรีสะเกษ (ตารางที่ 1)

Sori ราเข้าทำลายช่อดอกทั้งหมด รูปร่างทรงกระบอกยาว มีขนาดประมาณ 1.5-3(-4) มิลลิเมตร x 5-15 เซ็นติเมตร มีลักษณะบิดเป็นเกลียว บางส่วนแฝงอยู่ในส่วนปลายของกาบใบ เริ่มแรกเยื่อหุ้มผนังมีสีเทาถึงสีน้ำตาล ต่อมาเยื่อหุ้มผนังแตกออกและหลุดออกไปพบว่าภายในมีกลุ่มของ spore balls และสปอร์ เกาะกันอยู่ มีสีน้ำตาลเข้ม ล้อมรอบด้วย columella ,ลักษณะเป็นคลื่น รูปร่างคล้ายกระสวย บางครั้งส่วนปลายแตกกิ่งสั้น ๆ ออกทางด้านข้าง พบน้อยมากที่ sori จะอยู่เฉพาะที่ช่อดอกย่อยเท่านั้น

Spore balls รูปร่างกลม รูปไข่ รูปรียาวตรงกลางกว้าง หรือรูปร่างไม่แน่นอน มีขนาด 25-40 x 30-60 ไมครอน สีน้ำตาลแดงเข้ม spore balls ประกอบด้วย สปอร์เกาะรวมตัวกันตั้งแต่ (5-)8-40 สปอร์หรือมากกว่า แต่ก็สามารถแยกออกจากกันได้ง่าย

Spores รูปร่างค่อนข้างกลม รูปทรงรีตรงกลางกว้าง รูปหลายเหลี่ยม หรือรูปร่างไม่แน่นอน มีขนาด (8-)9-12(-14.5) x (10.5-)13-17(-20) ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังไม่เรียบ มุมผนังที่หนาที่สุดประมาณ 0.5-1.5(-2) ไมครอน ผิวสปอร์เรียบถึงมีจุด ๆ หรือ ผิวขรุขระมีตุ่มยื่นออกมาอย่างหนาแน่น ผิวสปอร์รอบนอกเรียบ

Sterile cells ไม่พบ

Sporisorium pseudosorghi Vánky, R.G.Shivas & P.Athipunyakom, sp. nov., *Mycol. Balcan*. 3: 109 (2006)

พบบน *Pseudosorghum fasciculare* เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น

Sori ราเข้าทำลายช่อดอกทั้งหมด กว้างประมาณ 1-1.5 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 7-8 เซ็นติเมตร แฝงตัวอยู่ในส่วนปลายของกาบใบ ภายในมีกลุ่มของสปอร์ ลักษณะเป็นผงสีดำ เกาะ

รวมกันกับ sterile cell และมี columella ลักษณะยาว โค้งเล็กน้อยหรือมีลักษณะเป็นคลื่น อยู่ตรงกลาง บางครั้งยังพบเศษที่เหลืออยู่ที่แกนของดอก ไม่ค่อยพบ columella แตกกิ่งก้านสั้น ๆ ที่ปลาย

Spores เซลล์เดียว รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปรีตรงกลางกว้าง มีขนาด 7-9 x 8-10.5 ไมครอน สีน้ำตาลอมเหลืองเข้ม ผนังเรียบ หนาประมาณ 0.5-0.8 ไมครอน ผิวสปอร์ขรุขระ มีตุ่มยื่นออกมาเป็นจุด ๆ อย่างหนาแน่น ผิวสปอร์ภายนอกเรียบ

Sterile cells เกาะกันเป็นกลุ่มมีรูปร่างม่แน่นอน sterile cells มีเซลล์เดียวลมีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน รูปร่างค่อนข้างกลม รูปรีตรงกลางกว้าง ถึงรูปร่างไม่แน่นอน มีด้านหนึ่งด้านใดหรือหลายด้านที่มีลักษณะแบนราบ มีขนาด 4-12 x 5.5-13 ไมครอน สีค่อนข้างใส ผนังหนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ

Sporisorium sacchari (Rabenh.) Vánky, *Symb. Bot. Upsal*. 24: 120 (1985)

พบบน *Saccharum arundinaceum* etz.: อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอแม่สาย อำเภอเชียงของ อำเภอเวียงเชียงรุ้ง จังหวัดเชียงราย อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก และอำเภอนายูง จังหวัดสกลนคร (ตารางที่ 1)

พบบน *Saccharum spontaneum* ที่อำเภอเมือง จังหวัดเลย

พบบน *Saccharum* sp. [c.f. *arundinaceum* Retz.]: เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ และ อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ (ตารางที่ 1)

พบบน *Saccharum* sp. ที่อำเภอน้ำโส จังหวัดอุดรธานี (ตารางที่ 1)

Sporisorium shivasiorum Vánky

Sori เกิดอยู่ในรังไข่ทุกอันของช่อดอก รูปร่างทรงกระบอกยาวถึงรูปร่างคล้ายกระสวย มีขนาด 0.5–1 x 5–15 มิลลิเมตร อยู่ที่ปลายยอดเกสรตัวเมียบนก้านเกสรตัวเมียทั้งสอง บางส่วนอยู่ใน กลีบดอก (floral envelopes) peridium เริ่มแรกหนา สีน้ำตาลแกมเหลือง ต่อมาจะแตกออกตามแนวยาว ภายในประกอบด้วยกลุ่มของ spore balls มีลักษณะเป็นผงแป้ง และ columella อยู่ตรงกลาง มีลักษณะยาว

Spore balls รูปร่างหลายเหลี่ยม มักไม่ค่อยพบรูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ หรือรูปร่างรี มีขนาด 30-110 x 40-150(-180) ไมครอน สีน้ำตาลแดง ประกอบด้วยจำนวนสปอร์ตั้งแต่ 10 หรือหลายร้อยสปอร์รวมกันและสามารถแยกออกจากกันได้โดยความดัน

Spores มีสองรูปแบบ สปอร์ด้านนอก (outer spore) มีรูปร่างค่อนข้างกลม ทรงรี (ellipsoidal) ถึงรูปร่างหลายเหลี่ยม ขนาด 8-11.5 x 9-12 ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลืองเข้ม ผนังสปอร์หนา 0.5-1(-1.5) ไมครอน ส่วนที่หนาที่สุดของผิวสปอร์จะมีผนังขรุขระ ผนังเป็นหนามแบบ echinulate มีลักษณะเป็นตุ่มยื่นออกมาประมาณ 0.4 ไมครอน ด้านข้างจะมองเห็นผิวสปอร์เรียบ ถึง มีลักษณะเป็นจุดเล็ก ๆ ผิวสปอร์เรียบ ผิวมีลักษณะเป็นคลื่น (undulate) สปอร์ด้านใน

(inner spore) มีขนาดเท่ากับสปอร์ด้านนอก (outer spores) มีลักษณะกลมหรือรูปร่างหลายเหลี่ยม บ สีน้ำตาลแกมเหลืองอ่อน ผนังหนา 0.5 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบหรือมีลักษณะเป็นจุดเล็ก ๆ กระจายตัวกันอย่างหนาแน่น

Sterile cells ไม่มี

Sporisorium sorghi C.G. Ehrenberg ex H.F. Link, 1825

พบบนข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor*) ที่จังหวัดนครสวรรค์ (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ภายในรังไข่ทั้งหมดของช่อดอก รูปร่างทรงกระบอกสั้น มีขนาด 2-6 มิลลิเมตร อยู่ภายในกาบช่อย่อย เริ่มแรกเยื่อหุ้มผนังมีสีน้ำตาล และต่อมาแตกออก ภายในมีกลุ่มของสปอร์ ลักษณะเป็นผง สีน้ำตาลเข้ม มี columella อันเดียวอยู่ตรงกลาง

Spore balls กลุ่มของสปอร์เกาะกันอย่างหลวม ๆ และสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย

Spores รูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ รูปรีตรงกลางกว้าง ถึงรูปหลายเหลี่ยม มีขนาด 7-11(12) x 7-10.5 ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลือง ภายนอกเรียบ ผิวสปอร์มีตุ่มแหลมยื่นออกมาเป็นระยะเมื่อมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

Sterile cells มีเซลล์เดียวหรือเกาะรวมกันเป็นกลุ่มรูปร่างไม่แน่นอน มีขนาดใหญ่กว่าสปอร์ ไม่มีสี ผนังบางหนาประมาณ 0.5 ไมครอน ผนังเรียบ

Sporisorium tenue (Syd. & P. Syd.) Vánky, Diversity 15: 238 (2004)

พบบน *Bothriochloa bladhii* ที่อำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก (ตารางที่ 1)

Sporisorium trispicatae R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, sp. nov. *Mycol. Balcan*. 3: 111 (2006)

พบบน *Eulalia trispicata* (Schult.) เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก รูปร่างทรงกระบอกยาว และส่วนปลายเรียว ติดอยู่กับส่วนของก้านและปลายยอดเกสรตัวเมีย ขนาด 1 x 10-30 มิลลิเมตร peridium มีสีน้ำตาลอ่อนในระยะแรก และแตกออกตรงส่วนปลายตามแนวยาว ภายในประกอบด้วยกลุ่มของ spore balls มีลักษณะเป็นผงคล้ายแป้ง สีดำ ล้อมรอบ columella รูปร่างยาว columella บางส่วนอาจแตกออก

Spore balls รูปร่างกลม รุปไข่ รูปทรงรีตรงกลางกว้าง ถึงรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 40-90 x 50-140 ไมครอน สีน้ำตาลแดงดำ ประกอบด้วยจำนวนสปอร์ตั้งแต่ 10 หรือหลายร้อยสปอร์รวมกันและสามารถแยกออกจากกันได้ง่าย

Spores มีสองรูปแบบ สปอร์ด้านนอก (outer spore) มีรูปร่างค่อนข้างกลม ellipsoidal ถึงรูปร่างหลายเหลี่ยม ขนาด 9.5-12 x 10.5-14.5 ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลืองเข้ม ผนังสปอร์หนา 0.5-1.5 ไมครอน ส่วนที่หนาที่สุดของผิวสปอร์จะมีผนังขรุขระ (verrucose) สปอร์ด้านใน (inner spore) มีลักษณะกลมหรือรูปร่างหลายเหลี่ยม ขนาดเท่ากับสปอร์ด้านนอก สีน้ำตาลแกมเหลืองอ่อน ผนังหนา 0.5 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบหรือเป็นจุดเล็ก ๆ

Sterile cells ไม่พบ

***Sporisorium* sp. 1**

พบบนหญ้า unidentified ที่อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

***Sporisorium* sp. 2**

พบบนหญ้า unidentified ที่อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

Tilletia chiangmaiensis R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, sp. nov., *Mycol. Balcan*. 3: 112 (2006)

พบบน *Arundinella bengalensis* อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1) ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย

Tilletia filisora R.G. Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 113 (2006)

พบบน *Pennisetum setosum* เขื่อนจุฬาภรณ์ อำเภอคลองสาน จังหวัดชัยภูมิ อำเภอนครไทย อำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก และ อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

พบบน *Pennisetum* sp. ที่อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก สังเกตเห็นได้ยาก รูปร่างทรงกระบอกแคบ ลักษณะใกล้เคียงคล้ายรูปกระสวย ขนาด 0.3-0.7 × 2-6 มิลลิเมตร ส่วนใหญ่มักอยู่ในกลีบดอก มี peridium –ปกคลุมอยู่ ลักษณะบาง คงทน สีเทา ของพืชอาศัย ส่วนปลายยอด เมื่อแก่จะแตกออกตามแนวยาว ภายในมีกลุ่มของสปอร์และ sterile cell สีดำ ระยะแรกเกาะกันเป็นก้อน ต่อมาจะมีลักษณะเป็นผงแป้ง

Spores รูปร่าง ขนาด สี และผิวของสปอร์ ไม่แน่นอน รูปร่างกลม รูปทรงรี ถึงรูปร่างหลายเหลี่ยม ขนาด 12-20 × 13-24 ไมครอน สีเหลือง – สีน้ำตาลออกช็อคโกแลตเข้ม ถึงค่อนข้างทึบแสง ผนังสปอร์หนา 2-3.5 ไมครอน ผิวสปอร์ขรุขระ มีปุ่มยื่นออกมาสูงประมาณ 1-2.5 ไมครอน ปุ่มมีลักษณะแบนหรือกลม ปุ่มลักษณะราบแบนหรือปลายกลมมน ปุ่มที่ปรากฏเห็นในผิวของสปอร์มีลักษณะกลมถึงรูปหลายเหลี่ยม เป็นจุดสีดำ มีประมาณ 8-16 ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของสปอร์ และมีการจัดเรียงตัวของจุดประมาณ 25-45 บนวงตามเส้นศูนย์สูตร

Sterile cells มีขนาดและรูปร่างที่แตกต่างกัน รูปร่างกลม รูปทรงรีตรงกลางกว้าง ถึง รูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 8-22 × 9.5-23(-30) ไมครอน สีค่อนข้างใส ถึง น้ำตาลออกแหลือง ผนังหนา subhyaline to pale 1-2.5 ไมครอน ผิวสปอร์เรียบถึงขรุขระเป็นหนามละเอียดแบบ verrucose-echinulate

Tilletia ischaemi Vánky & N.D.Sharma, *J. Mycopathol. Res*. 39: 71 (2001)

พบบน *Ischaemum rugosum* อำเภอเชียงแสน อำเภอเวียงเชียงรุ้ง อำเภอวังชิ้น จังหวัดเชียงราย (ตารางที่ 1)

ราชนิดนี้พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศอินเดียเท่า

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก ลักษณะบวม รูปร่างค่อนข้างทรงกระบอก (subcylindrical) ขนาด 1-1.5 x 4-8 มิลลิเมตร อยู่ระหว่าง floral envelopes เริ่มแรกถูกปกคลุมด้วยอยู่ใน pericarp หนา ซื่อต่อมาจะแตกออก ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์รวมตัวกับ sterile cells มีลักษณะเป็นผงแป้ง สีดำ

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปทรงรีตรงกลางกว้าง ขนาด 17.5-24(-28) x 18-26(-30) ไมครอน สีน้ำตาลออกแดงเข้ม ถึงทึบแสง ผิวผนังสปอร์มีปุ่มยื่นออกมาลักษณะคล้ายคล้ายกรวยถึงแบนราบ กระจายอย่างหนาแน่น สูงประมาณ 2(-2.5) ไมครอน ในส่วนของผิวจะเห็นจุดลักษณะหลายเหลี่ยม เล็ก ๆ สีดำเข้ม

Sterile cells รูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ รูปทรงรี ถึงรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 15-22 x 16-26(-30) ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลืองอ่อน ผนังหนา 1.5-2.5 ไมครอน มักพบมีผนังสองถึงหลายชั้น ผิวสปอร์เรียบ

Tilletia lageniformis Vánky, C.Vánky, R.G.Shivas & P.Athipunyakom, sp. nov., *Mycol. Balcan*. 3: 115 (2006)

พบบน *Hyparrhenia rufa* เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง และอำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น และพบบนหญ้า *Tilletia lageniformis* ในประเทศไทย ซึ่งยังไม่เคยพบราเขม่าดำบนพืชอาศัยชนิดนี้มาก่อน (Shivas, *et al*., 2006)

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก อยู่ใน floral envelopes บางครั้งก็สังเกตุเห็นได้ยาก บางครั้งก็สามารถมองเห็นได้ รูปร่างลักษณะ flask-shaped เมื่อยังอ่อนอยู่ แต่ก็มักพบลักษณะรูปไข่ รูปคล้ายกระสวยกว้าง รูปทรงรี หรือรูปคล้ายทรงกระบอกเมื่อแห้ง ขนาด 0.8-2 × 2-5 มิลลิเมตร เริ่มแรกมี peridium ปกคลุม peridium บาง สีเทา เกิดอยู่บนส่วยปลาย ภายใน

ประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์และ sterile cells รวมตัวกัน สีดำ เมื่อส่วนปลายเปิดออกจะเห็นกลุ่มของสปอร์อัดตัวกันแน่นและมีลักษณะเป็นผงแป้งเมื่อแก่

Spores รูปร่งกลม ค่อนข้างกลม รูปทรงรีตรงกลางกว้าง หรือรูปหลายเหลี่ยม ขนาด 18-25 × 18.5-27 ไมครอน สีน้ำตาลช็อคโกแลต หรือทึบแสง ผนังหนา 2-3 ไมครอน ผนังมีปุ่มลักษณะแบนราบตรงปลายมีลักษณะกลมมน ยื่นออกมา สูงประมาณ 1-2.5 ไมครอน เมื่อสังเกตบริเวณผิวจะเห็นลักษณะเป็นจุดเข้ม ลักษณะกลมถึงรูปหลายเหลี่ยม มีประมาณ 12-17 ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของสปอร์ และมีการจัดเรียงตัวของจุดประมาณ 41-54 บนวงตามเส้นศูนย์สูตร

Sterile cells รูปร่างกลม รูปทรงรี ถึงรูปร่างไม่แน่น่อน ขนาด 10.5-30 × 11-35 ไมครอน สีค่อนข้างใส ถึงสีน้ำตาลแกมเหลืองอ่อน ผนังหนา 1-3 ไมครอน ผิวผนังเรียบ หรือขรุขระแบบละเอียดถึงหยาบ

Tilletia setariae-parviflorae Vánky & R.G.Shivas sp. nov., *in* Vánky, *Mycotaxon* 99: 11 (2007)

พบบน *Setaria parviflora* ที่ อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก รูปไข่ หรือรูปทรงรี ขนาด 1.5-2.5 x 2-4 มิลลิเมตร กระจายอยู่ในระหว่าง floral envelopes มี peridium ปกคลุม ผนังหนา สีน้ำตาลคล้ำ peridium จะแตกออกเมื่อแก่ ภายในประกอบด้วยด้วยกลุ่มของสปอร์และ sterile cells รวมตัวกันอยู่ มีลักษณคล้ายผงแป้ง สีดำ

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปทรงรี มักไม่ค่อยพบรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 21-28 x 24-32 ไมครอน สีน้ำตาลช็อกโกแลถึงสีทึบแสง ผิวผนังมีลักษณะเป็นปุ่มกระจายกันอยู่ ยื่นออกมา สูงประมาณ 2-4 ไมครอน รูปรางคล้ายทรงกระบอก ตรงปลายมีลักษณะกลมมน เมื่อสังเกตุบริเวณผิวจะเห็นลักษณะเป็นจุดเข้ม รูปหลายเหลี่ยม มีประมาณ 6-8(-9) ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของสปอร์ และ 41-54 บนวงตามเส้นศูนย์สูตร เมื่อสังเกตุส่วนกลางจะเห็นการจัดเรียงตัวของจุดประมาณ 24-34 บนวงตามเส้นศูนย์สูตร และไม่พบ Hyaline sheath

Sterile cells มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน มักพบเห็น sterile cells ยุบตัวลง รูปร่างค่อนข้างกลม รูปทรงรี หรือรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 7-30 x 13.5-36 ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลืองเข้มปานกลาง ผนังหนา 1-2 ไมครอน ผนังเรียบ หรือมีลักษณะขรุขระทั้งละเอียดหรือหยาบกระจายอยู่

Tilletia thailandica Vánky & R.G.Shivas sp. nov., *in* Vánky, *Mycotaxon* 99: 19 (2007)

พบบน *Eragrostis amabilis* อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก เห็นไม่เด่นชัด รูปไข่ หรือรูปทรงรี ขนาด 0.3-0.5 x 0.4-1 มิลลิเมตร อยู่ใน the floral envelopes เริ่มแรกมี peridium ปกคลุม สีเทาเข้ม ผนังบาง เมื่อ peridium แตกออก ภายในมีประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์และ sterile cells รวมตัวกันอยู่ เกาะติดกันเป็นก้อน ถึง ลักาณะผงแป้ง สีดำ หรือ sori สลายตัวไปเป็นชิ้นเล็ก ๆ

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปทรงรีตรงกลางกว้าง ขนาด 16-21 x 17.5-21.5 ไมครอน สีน้ำตาลแดงถึงสีเหลือง ผนังหนา ผิวผนังมีปุ่มยื่นออกมา สูงประมาณ 2-2.5 ไมครอน ปุ่มมีลักษณะแบน มักไม่ค่อยพบปลายค่อนข้างแหลม เมื่อสังเกตุจากผิวจะเห็นจุดสีดำเข้ม รูปร่างหลายเหลี่ยมหระจายตัวกันอยู่ที่ผิว มีประมาณ 5-7 ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางสปอร์ แยกกันโดยเส้นสีใส ลักษณะแคบ เมื่อสังเกตุจากส่วนกลางจะเห็นปุ่ม ประมาณ 21-29 ปุ่มเรียงตัวกันเป็นวงตามเส้นศูนย์สูตร ไม่พบ hyaline sheath

Sterile cells มีขนาด สี และผิวผนังสปอร์ผันแปร รูปร่างกลม ค่อนข้างกลมถึงรูปทรงรี ขนาด 8-23 x 9.5-25 ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลืองอ่อนถึงค่อนข้างใส ผนังหนา 0.5-1.5 ไมครอน ผิวผนังเรียบ ผนังขรุขระกระจายตัวอยู่ หรือเป็นปุ่มรวมตัวกันเป็นกลุ่ม ใหญ่ รูปทรงกระบอก

Tilletia vittata (Berk.) Mundk., *Trans. Brit. Mycol. Soc*. 24: 312 (1940)

พบบน *Oplismenus compositus* อำเภอเมือง จังหวัดอุตรดิตถ์ อำเภอเวียงป่าเป้า อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดเลย (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ในรังไข่ มีเนื้อเยื่อขยายตัวมากกว่าปกติ กระจายกันอยู่ รูปร่างคล้ายทรงกระบอก โค้งเล็กน้อย ขนาด 1-2 x 3-15(-20) มิลลิเมตร ปกคลุมด้วยส่วนของเนื่อเยื่อมีขนของพืชอาศัยเนื้อเยื่อ ลักษณะมีขน ของพืชอาศัย เมื่อแก่เนื้อเยื่อจะแตกออก แตกออกเป็นแนวยาว ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์และ ฑterile cells รวมตัวกันอน่างหนาแน่น มีลักษณะคล้ายผงแป้ง สีดำ

Spores รูปร่างกลมถึงรูปร่างค่อนข้างกลม ขนาด 14-19 x 15-20 ไมครอน สีเหลืองถึงสีน้ำตาลแดงเข้ม ผนังหนา 1.5-2 ไมครอน ผิวผนังสปอร์มีลักษณะเป็นปุ่มหนายื่นออกมา สูงประมาณ 1-1.5 ไมครอน อาจจะเป็นปุ่มสั้น เรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ แตกไม่เกาะกันเป็นกลุ่ม เมื่อสังเกตตรงส่วนกลางจะเห็นเป็นลักษณะคล้ายรูปลิ่ม หรือส่วนปลายมีลักษณะแบน

Sterile cells รูปร่างค่อนข้างกลม รูปไข่ถึงรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 9-17 x 9-19 ไมครอน สีน้ำตาลอมเขียวมะกอกอ่อน ผนังหนา 1-2.5 ไมครอน ผิวผนังเรียบ หนา หรือผิวผนังขรุขระอย่างละเอียด (สปอร์อ่อน)

Trichocintractia utriculicola M. Piepenbring, Can. J. Bot. 73: 1095, 1995

พบบน On *Rhynchospora corymbosa*: อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร อำเภอตะกั่วป่า จังหวัดพังงา อำเภอเขาพนม จังหวัดกระบี่ และอำเภอละหานทราย จังหวัดบุรีรัมย์ (พรพิมล และคณะ, 2550) (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ใน spikelets ของ inflorescences ซึ่งเกิดแทนที่ช่อดอก รูปร่าง ovoid ถึง egg-shaped ขนาด 2-2.5 x 3-5 มิลลิเมตร เริ่มแรก sori ถูกปกคลุมด้วยผนังเนื้อเยื่อขาวอมเทา เริ่มแรกปิดต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล กลุ่มสปอร์สีดำจะอยู่ภายในเนื้อเยื่อ สปอร์เซลล์เดียว รูปร่าง round ถึง boardly elliptic ขนาด 11-15 x 10-17 ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังหนา 1-2 ไมครอน ผนังสปอร์เรียบและมีลักษณะเป็น punctuate เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound ผนังสปอร์มีลักษณะ verruculose เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

Piepenbring (1994) ศึกษาราเขม่าดำ *Cintractia utricolicola* บน *Rhynchospora* spp. ราสร้าง sori ใน spikelets ซึ่งแตกต่างจาก *Cintractia* spp. และตั้ง genus ใหม่ของ *Cintractia utricolicola* เป็น *Trichocintractia*

ราชนิดนี้พบมากในเขตร้อนชื้น บนพืชอาศัยตระกูล Cyperaceae ได้แก่ *Rhynchospora corymbosa, R. cyperoides, R gigantean* (Vánky, 2002)

Ustilago coicis Bref., *Unters. Gesammtgeb. Mykol*. 12: 110 (1895)

พบบน *Coix lachryma-jobi* L.: อำเภอวังสระพุง จังหวัดเลย (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ในรังไข่และดอกเกสรตัวผู้ ลักษณะบวม รูปร่างกลม ขนาด 5–10 มิลลิเมตร สปอร์อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม สีน้ำตาลเข้ม ลักษณะคล้ายแป้ง

Spores รูปร่างกลมถึงรูปทรงรี ขนาด 7–10.5 x 8.5–12 ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลือง ผนังหนา 0.5 ไมครอน ผิวผนังขรุขระแบบ verrucose-echinulate เห็นชัดเจนแต่กระจายตัวอยู่น้อย ผิวภายนอกมีลักษณะเป็นคลื่น ลักษณะคล้ายฟัน เมื่อสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน ผนังมีลักษณะเป็นหนาม สั้น ๆ

Ustilago cynodontis (Pass.) Henn., *Bull. Herb. Boissier* 1: 114 (1893)

พบบน *Cynodon dactylon* ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง อำเภอเมือง จังหวัดระยอง อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น อำเภอบ้านหมอ จังหวัเสระบุรี อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ หมู่บ้านชลนิเวศน์ และ สระน้ำบริเวณกลุ่มวิจัยกักันพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ในช่อดอก โดยช่อดอกย่อยถูกทำลาย และกลุ่มสปอร์ สีน้ำตาลดำ มีลักษณะเป็นผงฝุ่นปกคลุมช่อดอก บางครั้งการเข้าทำลายเป็นเฉพาะจุด ตรงส่วนฐานของช่อดอก ทำให้ช่อดอกร่วง sori อ่อนจะอยู่ในกาบใบ การเข้าทำลายเป็นแบบ Infection systemic.

Spores รูปร่างกลมถึงค่อนข้างกลม ขนาด 5.5-8 x 6-8(-8.5) ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลืองถึงสีน้ำตาลออกเขียวมะกอกอ่อน ผนังเรียบ เมื่อสังเกตุภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน ผิวผนังมีลักษณะเป็นปุ่มสั้น ๆ ยื่นออกมา สปอร์อ่อนมักเรียงต่อกันเป็นลูกโซ่ เชื่อมติดกันด้วยเศษของเส้นใยใส ขนาดเล็ก

Ustilago engenula Syd., P.Syd & E.J.Butler, *Ann. Mycol*. 10: 251 (1912)

พบบน *Eragrostis japonica* อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรีอำเภอตรอน จังหวัดอุตรดิตถ์ จังหวัดอุดรธานี จังหวัดพิษณุโลก อำเภอแม่สวย จังหวัดเชียงราย และอำเภอเหนือคลอง จังหวัดกระบี่ (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ในรังไข่บางอันของช่อดอก มองเห็นไม่ค่อยชัด เกิดอยู่ระหว่าง floral envelopes ขนาดเล็ก รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปทรงรี รูปไข่ หรือรูปคล้ายมะนาว ขนาด 0.2-0.7 x 0.3-1 มิลลิเมตร ปกคลุมด้วย pericarp บาง ๆ ต่อมาแตกออกจากส่วนยอด ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์และ sterile cells มีลักษณะเกาะติดกันเป็นกลุ่มถึงลักษณะคล้ายผงแป้ง สีน้ำตาลดำ หรือ sori ร่วงออกจากพืช

Spores รูปร่าง และขนาดไม่แน่นอน ทางด้านข้างจะเห็นสปอร์รูปทรงรี กว้าง 8-12 ไมครอน ทางด้านหน้าสปอร์มีรูปร่างกลม รูปทรงรีตรงกลางกว้าง หรือรูปร่างหลายเหลี่ยม ขนาด 9.5-13 x 10-14(-16) ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลือง สปอร์บางอันเห็นมีจุด สีสดใส อยู่ที่ผิว มีเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 0.5-0.8 ไมครอน ผนังสปอร์หนา 0.5-1 ไมครอน ด้านข้างมีลักษณะแบนจะมีผนังที่บางกว่า ผิวผนังสปอร์ขรุขระแบบ verrucose-echinulate ผิวสปอร์ภายนอกค่อนข้างเรียบถึงลักษณะคล้ายฟันละเอียด

Sterile cells อยู่เป็นกลุ่ม หรืออยู่เดี่ยว ๆ มีเซลล์เดียว รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปทรงรี ไม่ค่อยพบด้านที่แบน ขนาด 5.5-13.5 × 5.5-14.5 ไมครอน ไม่มีสี ผนังหนา 0.5 ไมครอน ผิวเรียบ

Ustilago esculenta Henn., Hedwigia 34: 10 (1895)

พบบน *Zizania latifolia* ที่สถานีทดลองข้าว อำเภอดหนือคลอง จังหวัดกระบี่

Ustilago maydis (DC.) Corda, *Icones fungorum* 5: 3 (1842)

พบบน *Zea mays* อำเภอวังสระพุง จังหวัดเลย (ตารางที่ 1)

Sori เกิดอยู่ในลำต้น ใบ หรือช่อดอก (ทั้งเพศผู้และเพศเมีย) มีลักษณะเป็นตุ่ม หรือเป็นปม มีขนาดที่แตกต่างกัน เริ่มแรกถูกปกคลุมด้วย เนื้อเยื่อเรียบ ผนังบาง สีเงินแกนเทา ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และแตกออกในที่สุด ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์ ลักษณะคล้ายผงแป้ง

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม รูปไข่ ถึงรูปยาวเรียว หรือรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 7-11 x 7-13 ไมครอน สีน้ำตาลอมเขียวมะกอกอ่อน ผนังหนา 0.5 ไมครอน ผิวผนังขรุขระแบบ echinulate

Ustilago neyraudiae Mundk., *Trans. Brit. Mycol. Soc*. 24: 323 (1940)

พบบน *Neyraudia reynaudiana* อำเภอหางดง และ เขื่อนแม่งัด อำเภอแม่แตง อำเภอพร้าว จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอน้ำโส จังหวัดเลย (ตารางที่ 1)

Sori อยู่ในรังไข่และภายในส่วนของดอกทำให้รูปร่างเปลี่ยนเป็นรูปไข่ รูปคล้ายกระสวย ตรงกลางกว้าง สีดำ ขนาด 0.5-1 x 1.5-2.5 มิลลิเมตร บางส่วนของ sori อยู่ในด้านนอกของ floral envelopes เริ่มแรกมีเนื้อเยื่อหุ้มเซลล์ของพืชอาศัย บาง ๆ หุ้มอยู่ และจะแตกออกเมื่อแก่ ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์ ลักษณะกึ่งเกาะกันเป็นกลุ่มถึงลักษณะคล้ายฝุ่นแป้ง สีดำ อัดกันแน่น มักพบราเข้าทำลายทุกดอกของช่อดอกย่อย แต่บางครั้งก็พบราเข้าทำลายเพียงบางดอกเท่านั้น

Spores รูปร่างกลม รูปทรงรีตรงกลางกว้าง ถึงรูปหลายเหลี่ยม ขนาด 7-10 x 8.5-11 สีน้ำตาลแดงแกมแดง ผนังหนา 0.8 ไมครอน ผิวผนังสปอร์ขรุขระแบบ punctate-verruculose ค่อนข้างละเอียด ผิวสปอร์ภายนอกดูเรียบ

Ustilago phragmitis L.Ling, *Sydowia* 4: 76 (1950)

พบบน *Phragmites karka* อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอเขาพนม จังหวัดกระบี่ และอำเภอพระแสง จังหวัดสุราษฎร์ธานี (ตารางที่ 1)

Sori เกิดใน รังไข่และภายในส่วนของดอกของกลุ่มของช่อดอกย่อย หรือช่อดอกย่อยทั้งหมดของก้านช่อดอก sori รูปร่างกลม รูปไข่ รูปร่างไม่แน่นอน หรือรูปร่างยาว ส่วนใหญ่อยู่เป็นกลุ่ม ขนาด 0.5-2 x 0.5-3(-5) มิลลิเมตร มี peridium หนา สีน้ำตาลเข้มปกคลุม มักพบชิ้นส่วนของ sori ติดอยู่ในส่วนของดอก peridium แตกออกเมื่อแก่ ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์อัดกันแน่นลักษณะกึ่งเกาะกันเป็นกลุ่มถึงลักษณะคล้ายฝุ่นแป้ง สีน้ำตาลเข้ม

Spores รูปร่างกลม รูปไข่ รูปทรงรีตรงกลางกว้าง รูปเรียวยาว ถึงรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 7.5-11 x 8-13.5 ไมครอน สีน้ำตาลอมเหลืองอ่อน ผนังหนา 0.5 ไมครอน ผิวผนังสปอร์ขรุขระแบบ punctate-verruculose ผิวสปอร์ภายนอกดูเรียบ

Ustilago planetella R.G. Shivas, Vánky & Athipunyakom in Vánky

พบบน *Eragrostis japonica* อำเภอตรอน จังหวัดอุตรดิตถ์ (ตารางที่ 1)

ราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราที่พบครั้งแรกและมีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น

Sori เกิดในช่อดอกย่อยบางช่อของช่อดอก ราทำลายส่วนในสุดของดอก สังเกตเห็นไม่ชัดเจน รูปร่างกลม รูปไข่หรือรูปทรงรีตรงกลางกว้าง ขนาด 0.2-0.5 × 0.2-0.6 ไมครอน บางครั้งอยาในกาบช่อย่อย peridium สีเทา บาง ปกคลุม ต่อมาแตกออกเมื่อแก่ ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์อัดกันแน่น สีน้ำตาลเข้ม

Spores เมื่อสังเกตุจากด้านข้างมีลักษณะเป็นวงถึงรูปวงรี ขนาด 7-10 ไมครอน มีผนัง 2 ชั้น ผนังบาง ด้าน polar areas ไม่มีสี และกว้าง บริเวณวงเส้นศูนย์สูตรสีเข้มกว่า เมื่อสังเกตุจากด้านหน้าสปอร์มีลักษณะกลม ค่อนข้างกลม หรือรูปทรงรีตรงกลางกว้าง ขนาด 8-10.5 x 9-12 ไมครอน สีน้ำตาลแกมเหลืองอ่อน มีจุดกลมตรงกลางตรงส่วน polar area มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-5 ไมครอน ผนังสปอร์หนา 1 ไมครอน และสีเข้ม บริเวณวงเส้นศูนย์สูตร และหนา 0.5 ไมครอนที่บริเวณ ผิวสปอร์มีลักษณะเรียบถึงขรุขระแบบ punctate-verruculose ผิวสปอร์ภายนอกเรียบถึงลักษณัเป็นคลื่นค่อนข้างละเอียดที่บริเวณ

Ustilago scitaminea Syd., *Ann. Mycol*. 22: 281 (1924)

พบบน *Saccharum officinarum* อำเภอบรรพตพิสัย จังหวัดนครสวรรค์ และอำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี (ตารางที่ 1) ราเขม่าดำนี้ก่อให้เกิดโรคกับอ้อย

Sori เกิดอยู่ในก้านดอก ทำให้ก้านดอกมีลักษณะรูปร่างยาว flagelliform โค้ง ส่วนด้านฐานของ sori อยู่ในกาบใบ ส่วนยอดจะเปิดออก มองเห็นได้อย่างชัดเจน มี peridium ปกคลุม สีเงิน ต่อมาจะหลุดออกไป ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์ลักษณะเป็นฝุ่นสีน้ำตาลดำเกาะรวมกันกับกลุ่มของ sterile cells

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ถึงรูปร่างค่อนข้างรี ขนาด 5.5-7.5 x 6.5-8(-10) ไมครอน สีน้ำตาลแดง ผนังหนา 0.5-0.8 ไมครอน ผิวผนังค่อนข้างเรียบ ขรุขระแบบ punctate-verruculose ผิวสปอร์ภายนอกเรียบถึงลักษณัเป็นคลื่นค่อนข้างละเอียดที่บริเวณ ถึงลักษณะแบบ echinulate

Sterile cells มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน ขนาดใหญากว่าสปอร์ (เส้นผ่านศูนย์กลางยาว 8-23 ไมครอน) สีเหลือง หรือ สีน้ำตาลแกมเหลืองอ่อน เรียบ

Ustilago trichophora (Link) Körn., *Hedwigia* 16: 36 (1877)

พบบน *Echinochloa colonum* อำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก (ตารางที่ 1)

Sori กระจายอยู่ในดอกในช่อดอก (ส่วนใหญ่เข้าทำลายทุกส่วนของดอก รวมทั้งรังไข่ด้วย) และส่วนขยายพันธุ์ของพืช (ใบ ลำต้น) ลักษณะคล้ายลูกกระสุน มีเส้นผ่านศูนย์กลางไม่มากนัก มีความยาวประมาณ 10 เซ็นติเมตร บวม (โดยเฉพาะบนลำต้น) มี peridium มีขนปกคลุม sori อยู่ ประกอบด้วย ชั้นด้านในเป็นชั้นของรา ชั้นด้านนอกเป็นชั้นของพืชอาศัย ตอมา peridium

แตกออก ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์ สีน้ำตาลเข้ม เริ่มแรกลักษณะเกาะกันเป็นก้อนต่อมามีลักษณะคล้ายผงแป้ง

Spores รูปร่างกลม รูปร่างค่อนข้างกลม ถึงรูปไข่ เส้นผ่านศูนย์กลางยาว 6-11 x 7-12 ไมครอน ผิวผนังสปอร์ขรุขระแบบ punctate-tuberculate หรือ echinulate ผิวขรุขระกระจายตัวถึงหนาแน่น สีน้ำตาลแกมเขียวอ่อน เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนผิวผนังขรุขระขนาดเล็กกระจายตัวอย่างหนาแน่นบนผิวและมีหนามยื่นออกมากระจายตัวบนผิวบางๆ

Yelsemia droserae R.G.Shivas, Vánky & P.Athipunyakom, *Mycol. Balcan*. 3: 115 (2006)

พบบน *Drosera burmanni* Vahl: อำเภอโนนคูน จังหวัดอุบลราชธานี (ตารางที่ 1) พืชอาศัยชนิดนี้เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ พบราเขม่าดำชนิดนี้เป็นราชนิดใหม่ที่พบครั้งแรกในประเทศไทย ต่อมาพบราเขม่าดำชนิดนี้ที่ประเทศออสเตรเลีย

ราสร้าง sori .ใน capsiles (เมล็ด) ของ *Drosera* เป็นพืชกินแมลง รา *Yelsemia droserae* ที่พบครั้งนี้เป็นราเขม่าดำชนิดที่สองที่พบในพืชที่กินแมลง

Sori เกิดอยู่ในถุงหุ้มทั้งหมดของช่อดอกแต่ละอัน เข้าทำลายเมล็ด ทำให้เมล็ดบวม sori รูปร่างกลม เส้นผ่านศูนย์กลางยาว 1.5-2 มิลลิเมตร สีน้ำตาลดำเข้ม เมื่อแก่ถุงหุ้มจะแตกแยกออกตามแนวยาว ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์มีลักษณะเป็นผลคล้ายแป้ง สีดำ อัดแน่นกันอยู่

Spores รูปร่างกลม ค่อนข้างแบนราบ เมื่อสังเกตด้านข้างของสปอร์มีลักษณะค่อนข้างกลม หรือรูปทรงรีตรงกลางกว้าง กว้าง 25-33 ไมครอน ส่วนของวงตามแนวเส้นศูนย์สูตรมีสีน้ำตาลเข้ม กว้าง 20-28 ไมครอน และด้านตรงข้าม 2 ด้าน polar cap ลักษณะบวม รูปกรวยถึงค่อนข้างกลม สีเหลืองอ่อน บนด้านที่แบน สูง 3-7 ไมครอน กว้าง 12-20 ไมครอน สปอร์ด้านหน้ามีลักษณะกลม รูปรี รูปไข่ถึงรูปร่างหลายเหลี่ยม ขนาด 25-33.5 × 28-38 ไมครอน สีน้ำตาลเข้มถึงค่อนข้างทึบแสงมีวงตรงกึ่งกลาง ผนังสปอร์ของวงตามแนวเส้นศูนย์สูตรหนา 1.5-3 ไมครอน บางกว่า (1-1.5 µm) .ส่วนใต้ของ the polar areas ผนังขรุขระ ผิวสปอร์ภายนอกหยาบ

รา *Yelsemia lowrieana* R.G.Shivas & Vánky เป็นอีกชนิดหนึ่งที่พบบน *Byblis rorida* ซึ่งเป็นพืชกินแมลง พบทางตะวันตกของประเทศออสเตรเลีย ราเข้าทำลายลำต้น ดอก และเมล็ด (Shivas & Vánky 2003)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจ รวบรวมราเขม่าดำ ได้ราเขม่าดำทั้งหมดจำนวน 91 ตัวอย่าง จากจังหวัดต่าง ๆ จำนวน 26 จังหวัด ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2551 จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกชนิดได้ราเขม่าดำได้ 13 genera 52 species ส่วนใหญ่ราเขม่า

ดำที่พบยังไม่มีรายงานในประเทศไทย และจากการสำรวจรวบรวมราเขม่าดำครั้งนี้พบราเขม่าดำชนิดใหม่ที่จำนวนทั้งหมด 10 ชนิด ตัวอย่างแห้งของราเขม่าดำเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และเตือนใจ บุญหลง. 2545. โรคของข้าวโพดและการควบคุมโรค. กลุ่มวิจัยโรคพืชไร่ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพ ฯ . 69 หน้า.

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และพจนา ตระกูลสุขรัตน์. 2550. ราเขม่าดำใน Family Cintractiaceae จากประเทศไทย. หน้า 663-670. *ใน* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน วันที่ 30 มกราคม-2 กุมภาพันธ์ 2549.

วันทนีย์ อู่วานิชย์. 2545. โรคสำคัญของอ้อย. กลุ่มวิจัยโรคพืชไร่ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพ ฯ . 78 หน้า.

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

Begrew, D., R. Bauer and F. Oberwinkler. 1997 or 1977. Phylogenetic studies on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences of smut fungi and related taxa. Can. J. Bot. 75: 2045-2056.

Benson, H.J. 1998. Fungi: Yeasts and Molds. P. 40-45. *In* Microbiological Applications Laboratory: Complete Version Lab Manual (Manual in General Microbiology) by the McGraw-Hill Companies, USA.

Blanz, P.A. and M. Gottschalk. 1984. A comparison of 5S ribosomal RNA nucleotide sequence from smut fungi. Systematic and Applied Microbiology 5: 518-526.

Lee, L. 1950. Studies in the genus Cintractia. II. C. axicola and related species. Mycologia 42: 646-653.

McKenzie, E.H.C. and K. Vánky. 2001. Smut fungi of New Zealand: An introduction and list of recorded species. New Zealand J. of Bot. 39: 501-515.

Piepenbring, M. 1995. *Trichocintractia*, a new genus for *Cintractia utriculicola* (Ustilaginales). Can.J.Bot. 73: 1089-1096.

Reeder RH, Ellison CA, Thomas MB (1996) Population dynamic aspects of the interaction between the weed *Rottboellia cochinchinensis* (itch grass) and the potential biological control agent *Sporisorium ophiuri* (head smut). Proceedings of the 9th international symposium on biological control of weeds, Stellenbosch, South Africa, 19-26 January 1996, pp.205-211.

Shivas RG, Vánky K, Vánky C, Kula GR, Gavali V (2001) An annotated checklist of Ustilaginomycetes in Papua New Guinea. *Australasian Plant Pathology* 30, 231-237.

Shivas RG, Vánky K, (2003). First record of a smut fungus on *Byblidaceae*: *Yelsemia lowrieana*, a new species from Australia. *Fungal Diversity* 13: 131-135.

Shivas R., P. Athipunyakom, S. Likhitekaraj, W. Butranu, T. Bhasabutra, A. Somrith, K. Vánky and C. Vánky. 2007. An annotated checklist of smut fungi (Ustilaginomycetes) from Thailand. Australasian Plant Pathology, 36: 1-7.

Shivas, R., **P. Athipunyakom**, A.R. Mc Taggart. 2008. New records of smut fungi (*Ustilaginomycetes*) from Thailand, including two new species, *Sporisorium likhitekarajae* and *Tilletia isachneicola*

Thaung MM (2005) Rusts, smuts and their allies in Burma. *Australasian Mycologist* 24, 29-46.

Titatarn S, Chiengkul A, Unchalisangkas D, Chamkrachang W, Chew-Chin N,

Vánky K. 1997. *Cintractia mitchellii* Vánky. Mycotaxon 62: 159.

Vánky K. 1999. The new classificatory system for smut fungi, and two new genera. Mycotaxon 70: 35-49.

Vánky K. 2002. Illustrated genera of smut fungi, 2nd ed. APS Press, St. Paul. 238 pp.

Vánky K. 2000. New taxa of Ustilaginomycetes. Mycotaxon 74: 343-356.

Vánky K. (2007) Taxonomic studies in *Ustilaginomycetes* – 27. *Mycotaxon* 99, 1-70.

Vánky K, R. Shivas and P. Athipunyakom. 2006. New smut fungi (Ustilaginomycetes) from Thailand. Mycologia. Balcanica. 3: 107-118.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 รายชื่อราเขม่าดำบนพืชอาศัยต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างปี 2548-2551

ราเขม่าดำ	พืชอาศัย	แหล่งที่เก็บ
Cintractia axicola	*Fimbristylis dichotoma* (L.) Vahl (หญ้านิ้วหนู)	อ. นครไทย จ พิษณุโลก อ. เชียงแสน จ.เชียงราย อ. แม่จัน จ.เชียงราย อ. แม่แตง จ.เชียงใหม่ อ. เหนือคลอง จ.กระบี่ อ.เมือง จ.กระบี่ อ.ปลายพระยา จ.กระบี่ อ. ตะกั่วป่า จ.พังงา จ.พังงา อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร อ. ละหานทราย จ.บุรีรัมย์ เขื่อนรัชประภา อ.บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี บ้านวังชิ้น จ.เลย
Cintractia limitata	*Cyperus corymbosus* Rottb. (กกสานเสื่อ กกจันทบุรี) *Cyperus mitis* Steud. (กกแห้วหมู) *Cyperus* sp.	อ. โกสุมพิสัย จ. ขอนแก่น อ. เมือง จ. สุมทรสงคราม อ ปราณบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์ จ.เพชรบุรี
Cintractia mitchellii	*Fimbristylis acuminata* Vahl (หญ้าเปลือกกระเทียมทราย) *Fimbristylis tetragona* R.Br. (กกก้านดอก) *Fimbristylis parviflora*	อ. วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี อ. ท่าตูม จ. สุรินทร์ อ.พังโคน จ.สกลนคร อ.ศรีสงคราม จ.นครพนม
Conidiosporomyces ayresii	*Panicum maximum* (เสือแกลก)	อ. เมือง จ. เพชรบุรี เขื่อนปราณบุรี อ. ปราณบุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์ จ.ประจวบคีรีขันธ์ จ.กระบี่ อ.เขาพนม จ.กระบี่

	Panicum sp. *Megathyrsus maximus*	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี อ. ไทรโยค จ. กาญจนบุรี อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย อ.ทับสะแก จ.ประจวบคีรีขันธ์ อ.บางสะพานน้อย จ.ประจวบคีรีขันธ์
Dermatosorus eleocharidis	*Eleocharis dulcis*	จ.ภูเก็ต
Dermatosorus schoenoplecti	*Schoenoplectus juncoides* (พรงกลมใหญ่)	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Entyloma bidentis	*Bidens pilosa* (หญ้าก้นจ้ำขาว)	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ . อ.สอง จ.แพร่
Eriocaulago jagdishwarri	*Eriocaulon*	อ.ศรีสงคราม จ.นครพนม
Franzpetrakia microstegii	*Microstegium vagans*	อ. สังขละบุรี จ. กาญจนบุรี
Macalpinomyces arundinellae-setosae	*Arundinella setosa*	เขื่อนแม่งัด อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ .
Macalpinomyces bothriochloae	*Bothriochloa bladhii* (หญ้าขี้หมา) *Bothriochloa pertusa* (หญ้าหอม)	อ. หางดง จ.เชียงใหม่ อ. เชียงแสน จ. เชียงราย อ. เวียงป่าเป้า จ. เชียงราย
Macalpinomyces bursus	*Themeda villosa*	อ.เชียงของ จ.เชียงราย อ. เชียงแสน จ. เชียงราย อ.เวียงเชียงรุ้ง จ.เชียงราย
Macalpinomyces ewartii	*Sorghum nitidum*	จ. พะเยา
Macalpinomyces siamensis	*Coelorachis striata* (หญ้าขน)	อ. พร้าว จ.เชียงใหม่
Microbotryum tenuisporum	*Polygonum* aff. *Barbatum*	อ. เมือง จ. กาญจนบุรี
Moeziomycea bullatus	*Leersia hexandras* (หญ้าไทร) *Polytrias amaura* (หญ้านวลจันทร์)	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี อ. ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ อ.เวียงเชียงรุ้ง จ.เชียงราย สนามหญ้าโรงแรมกรีนเวิลด์ อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี
Pilocintractria adrianae	*Fimbristylis miliacea*	จ.แพร่

Pilocintractria fimbristylidicila	*Fimbristylis bisumbellata*	จ.ประจวบคีรีขันธ์
Sporisorium amaurae	*Polytrias amaura*	อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน อ.ศรีสงคราม จ.นครพนม อ.เมือง จ.ชุมพร จ.จันทบุรี อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย
Sporisorium andropogonis-aciculati	*Chrysopogon aciculatus* (หญ้าเจ้าชู้)	อ. ท่าตูม จ. สุรินทร์
Sporisorium anthistiriae	*Themeda triandra* (หญ้าแฝก) *Themeda australis*	อ. ภูพาน จ. สกลนคร อ.เวียงเชียงรุ้ง จ.เชียงราย อ. เวียงป่าเป้า จ. เชียงราย
Sporisorium axthraxonis	*Arthraxon hispidus*	อ. หางดง จ.เชียงใหม่
Sporisorium berndtii	*Schizachyrium sanguineum*	เขื่อนแม่งัด อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ .
Sporisorium clandestinum	*Aristida setacea* *Aristida balanse*	อ. นาคู จ. กาฬสินธุ์ อ.ศรีสงคราม จ.นครพนม
Sporisorium cruentum	*Sorghum propinqum* (หญ้าพง)	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย อ. เชียงของ จ. เชียงราย
	Sorghum bicolor	จ. นครสวรรค์
Sporisorium dichanthicola	*Dichanthium caricosum* (หญ้าแหวน)	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ . อ. เชียงแสน จ. เชียงราย อ.ดอกคำใต้ จ.พะเยา จ.พะเยา
Sporisorium doidgeae	*Bothriochloa bladhii* (หญ้าขี้หมา)	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Sporisorium exsertum	*Themada triandra*	อ.เวียงเชียงรุ้ง จ.เชียงราย อ.พร้าว จ.เชียงใหม่

Sporisorium flagellatum	*Ischaemum indicum*	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย อ.ทุ่งตะโก จ.ชุมพร อ.ถลาง จ.ภูเก็ต จ.ภูเก็ต
Sporisorium holstii	*Themeda triandra* (หญ้าแฝก)	อ. ภูพาน จ. สกลนคร
Sporisorium inopinatum	*Aristida* sp.	อ. นาคู จ. กาฬสินธุ์
Sporisorium ischaemicola	*Ischaemum indicum* *Ischaemum rugosum*	อ. ลำดวน จ. สุรินทร์ อ. เชียงแสน จ. เชียงราย อ.เวียงเชียงรุ้ง จ.เชียงราย อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก จ.หนองคาย อ.ถลาง จ.ภูเก็ต จ.ภูเก็ต จ.ภูเก็ต
Sporisorium likhitekarajae	*Ischaemum* sp.	อ.ศรีสงคราม จ.นครพนม
Sporisorium manilense	*Sacciolepis indica* (หญ้าปล้องเล็ก)	อ. โนนคูณ จ. ศรีสะเกษ อ. ภูพาน จ. สกลนคร อ.พังโคน จ.สกลนคร
Sporisorium ophiuri	*Rottboellia cochincninensis*	อ. เวียงแก่น จ. เชียงราย
Sporisorium paspali-thunbergii	*Paspalum orbiculare* (หญ้านมหนอน)	อ. โนนคูณ จ. ศรีสะเกษ
Sporisorium pseudosorghi	*Pseudosorghum fasciculare*	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ .
Sporisorium sacchari	*Saccharum arundinaceum* Retz. (แขม) *Saccharum* sp.[c.f.*dinaceum* Retz.]	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี อ. แม่สาย จ. เชียงราย อ. เชียงของ จ. เชียงราย กิ่งอ.เวียงเชียงรุ้ง จ.เชียงราย อ.นายูง จ.อุดรธานี อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก อ.เมือง จ.เลย เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ . อ. เมือง จ. อุตรดิตถ์

	Saccharum sp.	อ.น้ำโส จ.อุดรธานี
Sporisorium shivasiorum	*Eulalia trispicata*	จ.เชียงใหม่
Sporisorium tenue	*Bothriochloa bladhii*	อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก
Sporisorium trispicatae	*Eulalia trispicata*	เขื่อนแม่งัด อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ .
Sporisorium sp. 1	unidentified host	อ.เมือง จ.เชียงราย
Sporisorium sp. 2	unidentified host	อ.เมือง จ.เชียงราย
Tilletia chiangmaiensis	*Arundinella bengalensis*	อ. พร้าว จ.เชียงใหม่
Tilletia filisora	*Pennisetum setosum* *Pennisetum* sp.	เขื่อนจุฬาภรณ์ อ. คลองสาน จ. ชัยภูมิ . อ. นครไทย จ พิษณุโลก อ. วังทอง จ พิษณุโลก อ. พร้าว จ.เชียงใหม่ อ.แก่งกระจาน จ.เพชรบุรี
Tilletia ischaemi	*Ischaemum rugoaum* (หญ้าแดง)	อ. เชียงแสน จ. เชียงราย จ.เชียงราย กิ่งอ.เวียงเชียงรุ้ง จ.เชียงราย อ.วังชิ้น จ,เชียงราย เขื่อนรัชประภา อ.บ้านตาขุน จ.สุราษฎร์ธานี จ.สุราษฎร์ธานี
Tilletia isachneicola	*Isachne globosa*	อ.ตะกั่วป่า จ.พังงา
Tilletia lageniformis	*Hyparrhenia eufa* (หญ้าแสงคำ)	เขื่อนแม่งัด อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ . อ. พร้าว จ.เชียงใหม่
Tilletia setariae-parviflorae	*Setaria parviflora* (หญ้ากาบไผ่)	อ. ภูพาน จ. สกลนคร
Tilletia thailandica	*Eragrostis amabilis*	อ. ด่านซ้าย จ. เลย
Tilletia vittata	*Oplismenus compositus* (หญ้าไข่แมงดา)	อ. เมือง จ. อุตรดิตถ์ อ. เวียงป่าเป้า จ. เชียงราย อ. พร้าว จ.เชียงใหม่ น้ำตก จ.เลย จ.เลย อ.แม่สรวย จ.เชียงราย

Tilletia sp.	*Sacciolepis indica*	ทรายมูล จ.สกลนคร
Trichocintractia utriculicola	*Rhynchospora corymbosa* (L.) Britton (หญ้าคมบาง)	อ. ท่าแซะ จ.ชุมพร อ. ตะกั่วป่า จ. พังงา อ. เขาพนม จ.กระบี่ อ. ละหานทราย จ.บุรีรัมย์
Ustilago coicis	*Coix lachryma-jobi* L.: (เดือย)	อ. วังสะพุง จ. เลย
Ustilago cynodontis	*Cynodon dactylon* (หญ้าแพรก)	ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง อ. เมือง จ. ระยอง อ. เมือง จ.ขอนแก่น อ. แม่แตง จ.เชียงใหม่ หมู่บ้านชลนิเวศน์ กรุงเทพ ฯ สระน้ำบริเวณกลุ่มวิจัยกักกันพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ บ้านท่าลาน อ.บ้านหมอ จ.สระบุรี
Ustilago engenula	*Eragrostis japonica*	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี อ. ตรอน จ. อุตรดิตถ์ จ.อุดรธานี อ.ทองแสนกาน จ.พิษณุโลก อ.แม่สรวย จ.เชียงราย
Ustilago esculenta	*Zizania latifolia*	ศูนย์บริการวิชาการ อ.เหนือคลอง จ.กระบี่
Ustilago maydis	*Zea mays* (ข้าวโพด)	อ. วังสะพุง จ. เลย จ.นครสวรรค์
Ustilago neyraudiae	*Neyraudia reynaudiana* (Kunth) Keng ex Hitchc.	อ. หางดง จ.เชียงใหม่ เขื่อนแม่งัด อ. แม่แตง จ. เชียงใหม่ . อ.น้ำโส จ.อุดรธานี

Ustilago phragmitis	*Phragmites karka* (Retz.) Steud.	อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี อ.เขาพนม จ.กระบี่ อ.พระแสง จ.สุราษฎร์ธานี
Ustilago planetella	*Eragrostis japonica* (Thunb.) Trin.	อ. ตรอน จ. อุตรดิตถ์
Ustilago scitaminea	*Saccharum officinarum* L/ *Saccharum spontaneum*	อ. บรรพตพิสัย จ. นครสวรรค์ อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี อ. เชียงแสน จ. เชียงราย
Ustilago trichophora	*Echinochloa colonum* (หญ้าข้าวนก)	อ. วังทอง จ พิษณุโลก
Yelsemia droserae	*Drosera burmanni* (จอกบ่วาย)	อ. โนนคูณ จ. ศรีสะเกษ

สำรวจ รวบรวมและจำแนกราสกุล Cercosporoid fungi และ teleomorph

Surveying, Collecting, and Identification of Cercosporoid fungi and their teleomorph

พรพิมล อธิปัญญาคม สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างราสาเหตุโรคพืชสาเหตุเกิดจาก *Cercosporoid* fungi จำนวน 38 ตัวอย่าง จากพืช 22 ชนิด ในแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550-กันยายน 2551 แล้วนำไปศึกษาเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อโดยตรง (Direct observation) การแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (Tissue transplanting) การจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโดยการศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของราบนเนื้อเยื่อพืช ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อ พบว่าจำแนกได้รา 5 สกุล (genera) 16 ชนิด (species) ได้แก่ *Asperisporium caricae*, *Cercospora citrullina, C. coffeicola*, *C. lactucae-sativae*, *C. subsessilis*, *C. zinnia*, *Corynespora cassiicola*, *Passalora bougainvillea*, *P. henningsii*, *P. arachidicola*, *P. personata*, *Pseudocercospora dendrobii*, *Ps. Jujubae*, *Ps. kaki*, *Ps. musae* (teleomorph: *Mycosphaerella musicola*) และ *Ps. stahlii* และราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ชนิด (undidentified species) ได้แก่*Mycosphaerella* 5 ชนิด พบบนใบจุดของบวบ รงทอง ลิ้นจี่ ลิ้นมังกร และเล็บครุฑ *Cercospora sp.* บนใบจุดนางแย้ม และ *Cladosporium* 2 ชนิด พบบนใบจุดแคนตาลูปและขาไก่ ตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่กลุ่มวิจัยโรคพืช

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-24-51

คำนำ

รา *Cercosporoid* fungi เป็นกลุ่มราที่ใหญ่ที่สุดใน Hyphomycetes ซึ่งราในกลุ่มนี้จะมีรา *Mycosphaerella* Johanson เป็น teleomorphs จัดอยู่ใน Order Dothideales, Family Mycosphaerellaceae (Crous *et al*., 2000) รา *Mycosphaerella* เป็นกลุ่มราที่ใหญ่ที่สุดใน Ascomycetes มีมากกว่า 2,000 ชนิด และมี anamorphic ประมาณ 23 genera กลุ่มที่ใหญ่ที่สุดของ anamorphic genera ของรา *Mycosphaerella* ได้แก่ *Cercospora* มีประมาณ 700 ชนิด, *Pseudocercospora* มีประมาณ 1,300 ชนิด, *Passalora* มีประมาณ 550 ชนิด
ส่วนใหญ่ รา *Cercosporoid* fungi มักเป็นสาเหตุของโรคใบจุด ทำให้เกิดแผลทุกส่วนของพืช ได้แก่ ดอก ผล bracts เมล็ด และ pedicle รา *Mycosphaerella musicola, M. fijensis* เป็นสาเหตุโรค Sigatoka ของกล้วย *M.graminicola* เป็นสาเหตุของโรค Septoria leaf blotch ของธัญญพืช *M. fragariae* เป็นสาเหตุโรคใบจุดสตรอเบอรี *M. citri* เป็นสาเหตุโรค greasy spot ของส้ม *M. pini* เป็นสาเหตุโรค needle blight ของสน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ กระดาษ ถุงพลาสติค ปากกาเคมี ดินสอ กรรไกรตัดกิ่ง และ GPS
2. อุปกรณ์จัดเก็บตัวอย่างแห้ง ได้แก่ แผ่นไม้อัดทับตัวอย่าง กระดาษ
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ slide cover slip ปากคีบ เข็มเขี่ยปลายแหลม ใบมีดโกน ตะเกียง ยาทาเล็บ
4. สารเคมีสำหรับ mount slide ได้แก่ lactophenol , lactic acid, shear's sulution
5. สารเคมีได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ : สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ แอธิล แอลกอฮอล์ 75%
6 อาหารวุ้นสังเคราะห์ corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA)
7. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขวดดูแรน บีกเกอร์ เป็นต้น
8. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว เป็นต้น
9. กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope พร้อมกล้องถ่ายรูปและ camera lucida สำหรับวาดภาพราจากกล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. สำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph

สำรวจเก็บตัวอย่างโรคพืชจากส่วนของใบ ดอก ผล กิ่ง ลำต้น และรากของพืช จากแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย บันทึกรายละเอียด ชนิดพืช แหล่งที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค ห่อตัวอย่างพืชด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บรรจุห่อตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาทำศึกษาชนิดและแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ และจัดเก็บตัวอย่างแห้งของพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การศึกษารา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph จากส่วนที่เป็นโรค

2.1 การศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง (Direct observation)

ศึกษาลักษณะอาการของราสาเหตุโรคและสังเกตลักษณะของโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์ของราที่เกิดบนใบ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo บันทึกลักษณะต่าง ๆ ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยส่วนของรา ได้แก่ สปอร์ หรือส่วนขยายพันธุ์ของรา มาวางบนสไลด์ หรือใช้ใบมีดตัดขวางชิ้นส่วนพืชให้บาง ๆ หยดน้ำหรือสีย้อม และปิดทับด้วยแผ่น cover slip และตรวจดูลักษณะต่าง ๆ ของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

ถ้าไม่พบสปอร์ของราบนชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคหลังจากตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และเมื่อเขี่ยเชื้อดูแล้ว ไม่พบราบนชิ้นส่วนพืชให้ทำ moist chamber โดยนำตัวอย่างพืชมาบ่มไว้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว วางชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรคไว้บนกระดาษกรองที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วและหยดน้ำนึ่งที่ฆ่าเชื้อแล้วบนกระดาษกรองเพื่อให้ความชื้น บ่มไว้อุณหภูมิห้องปฏิบัติการนาน 3-7 วัน ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยราที่เจริญอยู่บนชิ้นส่วนพืชมาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound บันทึกลักษณะต่าง ๆ วัดขนาดส่วนต่าง ๆ ของราและถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์

2.2 การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (Tissue transplanting)

ตัดตัวอย่างพืชที่เป็นโรคบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืช โดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) และ Malt Extract Agar (MEA) ต้องทำภายใต้ aseptic condition บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ตัดปลายเส้นใย (hyphal tip) ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ จนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของราต่อไป เก็บรักษาสายพันธุ์ราไว้ในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส

2.3 การจำแนกชนิดรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph

1 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ สี ขนาด ชนิดของโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์

2 นำลักษณะสัณฐานที่ได้จากการศึกษาของราดังกล่าวเปรียบเทียบกับคู่มือการจัดจำแนกชนิดรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph ได้แก่ Chupp (1954); Sivanesan (1984); Crous (1998); Hsieh and Goh (1990); Ellis (1971, 1993); Hanlin (1992, 1998); Guo and Hsieh (1995); Hyde *et al.* (2000); Shin and Kim (2001) และ Crous and Braun (2003)

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น – สิ้นสุด

ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553

สถานที่ - แหล่งพืชธรรมชาติ

- แปลงปลูกพืชของเกษตรกร
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลสำรวจรวบรวมตัวอย่างราสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph

ผลการสำรวจรวบรวมและเก็บตัวอย่างสาเหตุโรคพืชที่เกิดจากรา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph ได้ตัวอย่างโรคพืชทั้งหมด 38 ตัวอย่าง จากพืชทั้งหมด 22 ชนิด ในจังหวัดกาญจนบุรี กรุงเทพฯ ขอนแก่น จันทบุรี ชัยนาท เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม นครนายก นครราชสีมา นครสวรรค์ ตาก ตราด ปทุมธานี ปราจีนบุรี พะเยา พิจิตร เพชรบูรณ์ เพชรบุรี ราชบุรี สงขลา และสระบุรี ตัวอย่างโรคพืชที่รวบรวมได้ทั้งหมดนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาราจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง การทำ moist chamber และโดยวิธีการแยกราจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค รายละเอียดชนิดพืชที่เก็บตัวอย่างโรค รายละเอียดชนิดพืชที่เก็บตัวอย่างโรค และจำแนกราแสดงอยู่ในตารางที่ 1

2. การศึกษารา *Cercosporoid* fungi และ teleomorph จากส่วนที่เป็นโรค

จำแนกได้รา 5 สกุล (genera) 16 ชนิด (species) ได้แก่ *Asperisporium caricae* (ใบจุดมะละกอ), *Cercospora citrullina* (ตำลึง), *C. coffeicola* (ใบจุดกาแฟ), *C. lactucae-sativae*

(ใบจุดผักสลัด), *C. subsessilis* (ใบจุดสะเดา), *C. zinnia* (ใบจุดบานชื่น), *Corynespora cassiicola* (ใบจุดมะละกอและแคนตาลูป), *Passalora bougainvillea* (ใบจุดเฟื่องฟ้า), *P. henningsii* (ใบจุดมันสำปะหลัง), *P. arachidicola* (ใบจุดถั่วลิสง), *P. personata* (ใบจุดถั่วลิสง), *Pseudocercospora dendrobii* (ใบจุดกล้วยไม้), *Ps. Jujubae* (ใบจุดพุทรา), *Ps. Kaki* (ใบจุดพลับ), *Ps. musae* (teleomorph: *Mycosphaerella musicola*) (ใบจุดกล้วย) *Ps. stahlii* (ใบจุดกะทกรก) และราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ชนิด (undidentified species) ได้แก่ *Mycosphaerella* 5 ชนิด พบบนใบจุดของบวบ รงทอง ลิ้นจี่ ลิ้นมังกร และเล็บครุฑ *Cercospora sp.* บนใบจุดนางแย้ม และ *Cladosporium* 2 ชนิด พบบนใบจุดแคนตาลูปและขาไก่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างราสาเหตุโรคพืชสาเหตุเกิดจาก *Cercosporoid* fungi จำนวน 38 ตัวอย่าง จากพืช 22 ชนิด ในแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550-กันยายน 2551 จำแนกได้รา 5 สกุล (genera) 16 ชนิด (species) ได้แก่ *Asperisporium caricae*, *Cercospora citrullina, C. coffeicola*, *C. lactucae-sativae*, *C. subsessilis*, *C. zinnia*, *Corynespora cassiicola*, *Passalora bougainvillea*, *P. henningsii*, *P. arachidicola*, *P. personata*, *Pseudocercospora dendrobii*, *Ps. Jujubae*, *Ps. kaki*, *Ps. musae* (teleomorph: *Mycosphaerella musicola*) และ *Ps. stahlii* และราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้ ชนิด (undidentified species) ได้แก่*Mycosphaerella* 5 ชนิด พบบนใบจุดของบวบ รงทอง ลิ้นจี่ ลิ้นมังกร และเล็บครุฑ *Cercospora sp.* บนใบจุดนางแย้ม และ *Cladosporium* 2 ชนิด พบบนใบจุดแคนตาลูปและขาไก่ ตัวอย่างแห้งโรคพืชเก็บไว้ที่พิพิธภัณฑ์โรคพืชที่กลุ่มวิจัยโรคพืช

เอกสารอ้างอิง

Chupp. C. 1954. A monograph of the fungus genus *Cercospora*. Ithaca, New York.

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

Crous, P.W.and U. Braun. 2003. *Mycosphaerella* and its anamorph: 1. Name published in *Cercospora* and *Passalora*. Centraabureau voor Schimmelculture, Utrect, 571pp.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK. 608 pp.

Ellis, M.B. 1993. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK. 507 pp.

Guo, Y.I and W. H Hsieh. 1995. The Genus Pseudocercospora in China. International Academic Publishers, Rebublic of China. 388 pp.

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

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

Hsieh, W.H and T.K. Goh. 1990. *Cercospora* and Similar Fungi from Taiwan. Maw Chang Book, Co., Taipei. 376 pp.

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

Shin, H.D and J.D. Kim. 2001. *Cercospora* and Allied Genera from Korea. National Institute of Agricultural Science and Technology, Suwon, Korea. 302 pp.

Sivanesan, A. 1984. The Bitunicate Ascomycetes and Their Anamorphs. Germany, Braunschweig, J. Cramer, 710 pp.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 รายชื่อรา *Cercosporoid* fungi และteleomorph บนพืชอาศัยต่าง ๆ ระหว่างปี 2550-2551

รา	พืชอาศัย	แหล่งที่เก็บ
Asperisporium caricae	มะละกอ	ขอนแก่น
Cercospora citrullina	ตำลึง	ปทุมธานี สงขลา พิจิตร เชียงใหม่
Cercospora coffeicola	กาแฟ	เพชรบูรณ์
Cercospora lactucae-sativae	ผักสลัด	เชียงใหม่
Cercospora subsessilis	สะเดา	ชัยนาท
Cercospora zinniae	บานชื่น	เพชรบุรี
Corynespora cassiicola	มะละกอ	เชียงราย (2 ตัวอย่าง) ปราจีนบุรี
	แคนตาลูป	นครสวรรค์
Passalora bougainvillae	เฟื่องฟ้า	เพชรบูรณ์ เชียงราย
Passalora henningsii	มันสำปะหลัง	ตราด
Passalora arachidicola	ถั่วลิสง	เพชรบุรี
Passalora personata	ถั่วลิสง	เชียงใหม่
Pseudocercospora dendrobii	กล้วยไม้	นครปฐม
Pseudocercospora jujubae	พุทรา	เชียงใหม่ เชียงราย นครราชสีมา สระบุรี นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี
Pseudocercospora kaki	พลับ	เพชรบูรณ์
Pseudocercospora musae (teleomorph: *Mycosphaerella musicola*)	กล้วย	เชียงใหม่
Pseodocercospora stahlii	กะทกรก	ปทุมธานี
Mycoshaerella sp. 1	ลิ้นจี่	เชียงราย
Mycoshaerella sp. 2	บวบ	เชียงใหม่
Mycoshaerella sp. 3	เล็บครุฑ	เชียงราย กรุงเทพ ฯ
Mycoshaerella sp.	ลิ้นมังกร	ตาก

Mycoshaerella sp.	รงทอง	จันทบุรี
Cercospora sp.	นางแย้ม	นครนายก
Cladosporium sp.	ขาไก่	เพชรบุรี
Cladosporium sp.	แคนตาลูป	พะเยา

สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา Fusarium สาเหตุโรคพืช

Surveying, Collecting and Identification of Plant Pathogenic Fusarium

อภิรัชต์ สมฤทธิ์

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี ธารทิพย ภาสบุตร สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

รวบรวมและเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคที่คาดว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium* ในพื้นที่เพาะปลูกพืชของเกษตรกรตามภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2551 นำตัวอย่างพืชเป็นโรคมาแยกเชื้อราบริสุทธิ์บนอาหาร WA สามารถจำแนกเชื้อรา *Fusarium* ได้จำนวน 40 ไอโซเลท และเมื่อจำแนกชนิด (species) ของเชื้อราบริสุทธิ์ทั้งหมดโดยอาศัยลักษณะของสัณฐานวิทยา ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA, CLA และ KCL และจำแนกตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983) สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Fusarium* ได้แก่ *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum* และ *F. solani* เชื้อรา *Fusarium* ทั้ง 5 ชนิด แยกได้จากพืช 20 ชนิดที่ปลูกในพื้นที่ 14 จังหวัด ได้แก่ กล้วยน้ำว้าเป็นโรคตายพราย กล้วยไม้สกุลแคทรียาเป็นโรคต้นเน่า กล้วยไม้สกุลแดงกิตติเป็นโรคใบไหม้ กล้วยไม้สกุลคาลิบโซ่เป็นโรคใบไหม้ กล้วยไม้สกุลแวนด้าเป็นโรคโคนใบไหม้ดำ กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเป็นโรคเหี่ยว กล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าวเป็นโรคใบจุดและใบไหม้ ข้าวเป็นโรคถอดฝักดาบและโรคเมล็ดด่าง ข้าวโพดเป็นโรคลำต้นเน่า หรือโรคเส้นใบแดง ข้าวฟ่างเป็นโรคลำต้นเน่าแดง ขิงเป็นโรคเหี่ยว แตงไทยเป็นโรคเหี่ยวและผลเน่า แตงแคนตาลูปเป็นโรคลำต้นและผลเน่า ถั่วลันเตาเป็นโรคเหี่ยว ปอเทืองเป็นโรคเหี่ยว พริกหยวกเป็นโรคเหี่ยว พริกชี้ฟ้าเป็นโรคเหี่ยว มะเขือเปราะเป็นโรคเหี่ยว ยาสูบเป็นโรคเหี่ยว และหอมใหญ่เป็นโรคเหี่ยว

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-25-51

คำนำ

Fusarium Fries เป็นราจัดอยู่ใน subdivision Deuteromycotina, form–class Hyphomycetes, form–order Tuberculariales, form-family Tuberculariaceae *Fusarium* เป็นราอาศัยในดิน พบได้ทั่วไปทุกแห่ง เชื้อรา *Fusarium* สาเหตุโรคพืชเป็นพวกที่เข้าทำลายและทำให้เกิดโรคทางระบบท่อลำเลียงของพืช ทำให้เกิดโรคเน่าในหัว เหง้า และรากพืช และเป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ซึ่งระบาดทำความเสียหายแก่ พืชไร่ พืชหัว พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ และไม้ผลทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โรคสำคัญในต่างประเทศที่เกิดจากรา *Fusarium* และทำความเสียหายมาก ได้แก่ โรคเหี่ยวในกล้วย (Panama wilt) โรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พริก ปอ (flax) ฝ้าย ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ถั่วลันเตา หัวหอม มันฝรั่ง กล้วย ส้ม และ แอปเปิล ในประเทศไทยพบราสกุลนี้หลายชนิดกระจัดกระจายอยู่ทั้งในดินและพืช มากกว่าราชนิดอื่นโดยเป็นสาเหตุของโรคในพืชที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ ธัญพืชเมืองหนาว ฝ้าย ถั่วลิสง หัวหอม กะหล่ำปลี แตงโม มะเขือเทศ พริก ถั่วฝักยาว และ มันฝรั่ง แต่โรคที่พบว่า เชื้อรา *Fusarium* ทำความเสียหายให้กับพืชในประเทศไทยมากที่สุด คือโรคเหี่ยว (Fusarium wilt disease) กับพืชล้มลุก และพืชผักหลาย ๆ ชนิด และโรคผลเน่า (Fusarium fruit rot) ที่ทำมีการระบาดทำความเสียหายให้กับผลผลิตพืชเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะกับพืชตระกูลแตง ที่มีการขยายพื้นที่ปลูกเพื่อจำหน่ายในประเทศ และส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศ ในต่างประเทศมีรายงานการเข้าทำลายของเชื้อ *Fusarium* ในพืชตระกูลแตงหลายชนิดด้วยกัน เช่น *F. oxysporum* สาเหตุโรค fusarium wilt นอกจากนั้นยังมีเชื้อ *Fusarium* สาเหตุโรคผลเน่า คือ เชื้อรา *F. graminum* Corda, *F. graminearum* Schwabe, *F. acuminatum* Ellis & Everh. sensu Gordon, *F. avenaceum* (Fr.:Fr.) Sacc., *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc., *F. moniliforme* J. Sheld. แม้ที่ผ่านมาได้มีรายงานการศึกษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* ในประเทศไทยบ้างแล้ว แต่ก็เป็นข้อมูลที่สามารถอธิบายได้เพียงบางส่วนหรือช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น ซึ่งในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการปลูกพืชพันธุ์ที่คล้ายคลึงกับพันธุ์ที่ผลิตในต่างประเทศหรือนำเข้าพันธุ์พืชมาจากต่างประเทศมาปลูกเป็นการค้า ซึ่งพืชเหล่านี้มีรายงานการพบโรคเหี่ยวและโรคผลเน่าจากเชื้อราสกุล *Fusarium* อยู่เสมอ ดังนั้นจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่งในการวางแผนการศึกษาเพื่อรวบรวมข้อมูลว่าปัจจุบันประเทศไทย มีเชื้อรา *Fusarium* ชนิด (species) ใหม่เกิดขึ้นเป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวและผลเน่าเกิดขึ้นหรือไม่ เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้น ทำให้จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมเพื่อปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป และความเสียหายของผลผลิตเนื่องจากจุลินทรีย์โรคพืชจึงเกิดเป็นประจำทุกปี ซึ่งผลจากการศึกษาจะทำให้เข้าใจ แหล่งที่มา การผันแปรและการพัฒนาของเชื้อ *Fusarium* ในการทำให้เกิด

โรค นอกจากนั้นจากการศึกษายังทำให้ทราบพื้นที่การเกิดโรค แหล่งแพร่กระจาย และได้ culture ของ isolate ต่างๆ ที่จัดจำแนกชื่อชนิดแล้วพร้อมข้อมูลเก็บรักษาไว้ใน culture collection ของกรมวิชาการเกษตร เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาวิจัยทางด้านต่างๆ เช่น เปรียบเทียบลักษณะที่อาจผันแปรที่เกิดขึ้นของเชื้อในช่วงปีที่ต่างกัน หรือใช้ศึกษาทางด้านอณูชีววิทยา เปรียบเทียบการจัดจำแนกทาง DNA กับการจำแนกทางสัณฐานวิทยาเพื่อยืนยันชื่อที่ถูกต้องของเชื้อบางชนิด (species) หรือศึกษาการสร้างสารพิษ รวมถึงการมีประโยชน์อื่นเป็นต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชที่เป็นโรคที่เกิดจาก *Fusarium* จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในประเทศไทย
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ WA (Water Agar), PDA (Potato Dextrose Agar), CLA (Corn Leaf Agar) และ KCL
3. กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ
4. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ
5. วัสดุอุปกรณ์สำหรับปลูกต้นไม้ในโรงเรือนทดลอง เช่น กระถางปลูกต้นไม้ขนาดความจุ 10 ลิตร ดิน พลั่ว บัวรดน้ำ ฯลฯ
6. เมล็ดพันธุ์ หรือต้นกล้าพืช สำหรับทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของ *Fusarium* แต่ละไอโซเลท

วิธีการ

กรรมวิธีและวิธีการทดลอง :

1. การเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชที่แสดงอาการเหี่ยว และ ผลเน่า จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย บันทึกข้อมูลในแปลงปลูก บันทึกและถ่ายภาพลักษณะอาการของโรค

2. การแยกเชื้อ *Fusarium* จากพืชที่เป็นโรค

2.1 วิธีการวางเนื้อเยื่อพืชเป็นโรคในกล่องชื้น (moist chamber method) โดยนำชิ้นส่วนพืชที่เป็นโรควางลงบนกระดาษกรองในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อราสร้างสปอร์ จึงแยกสปอร์จากผิวชิ้นส่วนพืช

2.2 วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (tissue transplanting method) โดยตัดชิ้นส่วนพืชระหว่างส่วนเป็นโรคและส่วนปกติ หรือบริเวณท่อน้ำท่ออาหารของลำต้นและส่วนโคนของพืชที่แสดงอาการโรคเหี่ยว หรือ บริเวณผลที่มีอาการเน่า ให้มีขนาดประมาณ 5 x 5 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อบริเวณผิวของชิ้นส่วนพืชด้วยคลอร็อกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ (chlorox 10%) นาน 3-4 นาที แล้วแต่ขนาดของชิ้นส่วนพืช ย้ายลงวางบนอาหาร WA บ่มเชื้อ 24-36 ชั่วโมง ที่ 28 °ซ. เมื่อเส้นใยเจริญออกมา จึงแยกเส้นใยเชื้อลงเลี้ยงบนอาหาร PDA

3. การศึกษาและการจำแนกชนิด

3.1 ทำเชื้อบริสุทธิ์โดยการใช้ single–spore technique

เขี่ยกลุ่มสปอร์ลงใน vial ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทำสปอร์แขวนลอยให้มีปริมาณสปอร์ประมาณ 10 สปอร์ ต่อ 1 ลูป (loop; ห่วงลวด) ภายใต้เลนส์ objective กำลังขยายต่ำ ใช้ลูปที่ปลอดเชื้อแตะสปอร์แขวนลอย แล้วขีด (streak) ลงบนผิวหน้าของอาหาร WA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นใช้เข็มเขี่ยตักสปอร์เดี่ยวที่งอก มาเลี้ยงบนอาหาร PDA

3.2 การจำแนกชนิด : ทำการศึกษาลักษณะของสัณฐานวิทยา ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และจำแนกตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983) ตามขั้นตอนต่อไปนี้

- ศึกษาลักษณะการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Fusarium* และศึกษาการสร้าง pigment, sclerotium และ sporodochium บนอาหาร PDA
- บันทึกลักษณะและวัดขนาดของ conidium, conidiophore บนอาหาร CLA อายุ 10-14 วัน ที่อุณหภูมิ 26-28 °ซ. ภายใต้แสง NUV (near ultraviolet)
- บันทึกการสร้าง และลักษณะของ chlamydospore บนอาหาร KCl อายุ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 26-28 °ซ. ภายใต้แสง NUV (near ultraviolet)
- ทำ slide culture เพื่อศึกษาลักษณะของ sporogenous cell, phialide, microconidium, macroconidium

3.3 การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลในแปลงปลูก ระดับความเสียหายของโรค บันทึกและถ่ายภาพลักษณะอาการของโรค

2. บันทึกลักษณะโคโลนีที่เจริญของเชื้อบริสุทธิ์ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

3. บันทึกลักษณะสัณฐานและขนาดของเชื้อ ได้แก่ sporogenous cell, phialide, microconidium, macroconidium

4. บันทึกชนิด (species) ของเชื้อ *Fusarium* ที่พบบนพืชและสถานที่พบโรค

4. การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค

1. เตรียมต้นพืชสำหรับทดสอบ : โดยเตรียมดินร่วน ใส่กระถางปลูกต้นไม้ขนาดความจุ 10 ลิตร นำเมล็ดพันธุ์หรือต้นกล้าพืช มาปลูกในกระถางที่บรรจุดินแล้ว วางกระถางปลูกพืชไว้ในโรงเรือน ที่แสงแดดส่องถึง ดูแลรดน้ำและให้ปุ๋ย

2. เตรียม inoculum: เลี้ยงเชื้อรา *Fusarium* ที่ต้องการทดสอบ บนอาหาร PDA ประมาณ 7 วัน จากนั้นถ่ายเชื้อลงในอาหารเมล็ดข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว บ่มเชื้อเป็นเวลา 14 วัน จากนั้น ชั่งเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อราเจริญอยู่จำนวน 30 กรัม แบ่งเป็น 3 ส่วน ๆ ละ 10 กรัม ฝังไว้ที่โคนต้นพืชที่ต้องการทดสอบ สำหรับเชื้อ *Fusarium* ทีทำให้เกิดอาการโรคทางดอก ผล และใบ ก็นำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อราเจริญอยู่ มาทำสปอร์แขวนลอยในน้ำ ปรับให้มีความหนาแน่นของสปอร์เท่ากับ $1.0x10^5$ สปอร์ต่อ 1 มิลลิลิตร นำสปอร์แขวนลอยพ่น บริเวณส่วนที่พบการเกิดโรค ตรวจสอบการเกิดโรคและลักษณะอาการที่เกิดขึ้น หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 1 สัปดาห์

3. ดำเนินการตามวิธีการ Koch's postulate: นำเนื้อเยื่อพืชที่พบโรค มาแยกเชื้อ และจำแนกชนิดตามวิธีการที่ได้ดำเนินการมาในหัวข้อ การศึกษาและการจำแนกชนิด เมื่อได้เชื้อรา Fusarium ชนิดเดียวกับที่ใช้ปลูกเชื้อแล้ว ก็นำมาปลูกเชื้อซ้ำอีกครั้งในพืชชนิดเดิม ตรวจสอบการเกิดโรคและลักษณะอาการที่เกิดขึ้น

4. บันทึก และสรุปผลที่ได้

เวลาและสถานที่

1. กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2. แปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การรวบรวมและเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคที่คาดว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium* ในพื้นที่เพาะปลูกพืชของเกษตรกรตามภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2551 เมื่อนำตัวอย่างพืชเป็นโรคมาแยกเชื้อราบริสุทธิ์บนอาหาร WA สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Fusarium* จำนวน 40 ไอโซเลท และเมื่อจำแนกชนิด (species) ของเชื้อราบริสุทธิ์ทั้งหมด โดยอาศัยลักษณะของสัณฐานวิทยา ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA, CLA และ KCL และจำแนกตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983) สามารถจำแนกได้เชื้อรา *Fusarium* 5 ชนิด (species) ได้แก่ *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum* และ *F. solani* ซึ่งเชื้อ

รา *Fusarium* ทั้งหมดแยกได้จากพืช 20 ชนิดที่ปลูกในพื้นที่ 14 จังหวัด ได้แก่ กล้วยน้ำว้าเป็นโรคตายพราย กล้วยไม้สกุลแคทรียาเป็นโรคต้นเน่า กล้วยไม้สกุลแดงกิตติเป็นโรคใบไหม้ กล้วยไม้สกุลคาลิบโซ่เป็นโรคใบไหม้ กล้วยไม้สกุลแวนด้าเป็นโรคโคนใบไหม้ดำ กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเป็นโรคเหี่ยว กล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าวเป็นโรคใบจุดและใบไหม้ ข้าวเป็นโรคถอดฝักดาบและโรคเมล็ดด่าง ข้าวโพดเป็นโรคลำต้นเน่า หรือโรคเส้นใบแดง ข้าวฟ่างเป็นโรคลำต้นเน่าแดง ขิงเป็นโรคเหี่ยว แตงไทยเป็นโรคเหี่ยวและผลเน่า แตงแคนตาลูปเป็นโรคลำต้นและผลเน่า ถั่วลันเตาเป็นโรคเหี่ยว ปอเทืองเป็นโรคเหี่ยว พริกหยวกเป็นโรคเหี่ยว พริกชี้ฟ้าเป็นโรคเหี่ยว มะเขือเปราะเป็นโรคเหี่ยว ยาสูบเป็นโรคเหี่ยว และหอมใหญ่เป็นโรคเหี่ยว โดยอาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* ในพืชแต่ละชนิดมีลักษณะอาการ และสถานที่พบโรคแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 1

สำหรับรายละเอียดของเชื้อรา *Fusairum* จำนวน 6 ชนิดมีดังนี้

Fusarium moniliforme Sheldon

ชื่อพ้อง : *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg

F. fujikuroi Nirenberg

F. moniliforme var. *subglutinans* Wr. & Reink

F. moniliforme Sheldon emend. Snyd. & Hans. pro parte

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เชื้อราสร้างเส้นใยฟู สีขาว เจริญอย่างรวดเร็ว เมื่อมีอายุมากขึ้นเส้นใยมีสีชมพู ชมพูแซมด้วยสีม่วง จนถึงสีชมพูอมม่วง ขนาดความยาวของโคโลนีในหลอดอาหารโดยเฉลี่ยวัดได้ 7.8 เซนติเมตร เมื่ออายุ 12 วัน สร้าง sporodochium สีส้มบนผิวหน้าวุ้นอาหาร โคโลนีด้านใต้วุ้นอาหารมีสีม่วง หรือสีม่วงคราม พบการสร้างเม็ด sclerotium สีเขียวอมน้ำเงิน กระจายในวุ้นอาหาร

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA: เชื้อราสร้าง microconidium จำนวนมาก โดยสร้างเป็นกลุ่ม (false head) และสร้างต่อกันเป็นลูกโซ่ยาวบน microconidiophore แบบ monophialide microconidia รูปไข่ (oval) ถึงรูปกระบอง (club-shaped) มี 1 เซลล์ ไม่มีสี ขนาด 2-3 x 6-9 ไมครอน macroconidium สร้างบน conidiophore แบบ monophialide ที่แตกกิ่งก้านและรวมกันเป็นกลุ่ม (mass) บน sporodochium ที่มีสีส้ม และมีรูปร่างแบบ cushion-shaped macroconidium รูปร่าง fusiform โค้งเล็กน้อยจนถึงเกือบตรง ช่วงกลางสปอร์ค่อนข้างแคบยาว และผนังทั้งสองด้านขนานกัน เซลล์ที่ฐานลักษณะคล้ายเท้า (foot-shaped) ไม่มีสี มี septum 3-6 ขนาด 20-24 x 3.5-4 ไมครอน เชื้อรานี้ไม่สร้าง chlamydospore

F. moniliforme สร้าง microconidium ได้ดี และสร้างจำนวนมากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่บาง isolate สร้าง macroconidium จำนวนน้อย ลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกคือ conidiophore เป็นแบบ monophialide ไม่มีการสร้าง polyphialide และมีการสร้าง microconidium ทั้งแบบเป็น

กลุ่ม (false head) และแบบต่อกันเป็นลูกโซ่ (chain) ที่มีความยาวมาก บางครั้งมีจำนวน conidium ถึง 50 conidium ต่อ 1 ลูกโซ่ (Nelson *et al*., 1983) พัฒนาและคณะ (2543) ได้ศึกษาโรคถอดฝักดาบของข้าวในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ.2537-2538 และอภิรัชต์และคณะ (2545) ได้ศึกษารวบรวมเชื้อรา *Fusarium* สาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าว พบว่า isolate ต่างๆ ที่แยกได้จากอาการโรคถอดฝักดาบจากหลายท้องที่ในภาคเหนือและภาคกลาง มี microconidiophore ลักษณะเป็น mono- และ polyphialide ซึ่งเป็นลักษณะของ *F. proliferatum* ในประเทศมาเลเซียมีรายงานพบราทั้ง 2 ชนิดนี้ เป็นสาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าว (Salleh, 1988)

F. oxysporum **Schlecht ex Fries, emend. Snyder & Hansen**

ชื่อพ้อง : *F. oxysporum* Schlecht. Emend. Snyd. & Hans. pro parte

F. redolens Wollenw.

F. oxysporum Schlecht. Emend. Snyd. & Hans. var. *redolens* (Wollenw.) Gordon

F. oxysporum Schlecht.

F. oxysporum Schlecht. var. *redolens* (Wollenw.) Gordon

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เชื้อราสร้างเส้นใยฟู ละเอียด สีขาว สีขาวแซมม่วง สีชมพูม่วง สีม่วงอ่อน จนถึงสีม่วงเข้ม เจริญอย่างรวดเร็ว สร้าง sporodochium สีส้มจำนวนมาก โคโลนีด้านใต้ผิวอาหารมีสีม่วงอ่อน ม่วงเข้ม หรือน้ำเงินเข้ม และสร้างเม็ด sclerotium สีน้ำเงิน

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA : เชื้อราสร้าง microconidium จำนวนมากเกาะเป็นกลุ่มแบบ false head บน monophialide ซึ่งเกิดจากด้านข้างของเส้นใย phialide รูปร่างคล้ายขวดหรือพินโบว์ลิ่ง ไม่มีสี มีขนาดสั้นกว่า phialide ของ *F. moniliforme* และ *F. solani* microconidia รูปไข่ ยาวรี สั้นป้อม จนถึงรูปทรงกระบอก ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ส่วนใหญ่มี 1 เซลล์ macroconidia รูปร่างโค้งแบบ fusoid-subculate เซลล์ที่ฐานมีลักษณะคล้ายเท้า (foot-shaped) เซลล์ที่ปลายเรียวแหลม หรือทู่มน ผนังบาง ไม่มีสี มี septum 3-5 ขนาด 24-26 x 3-4.5 ไมครอน เกิดบน conidiophore ที่แตกกิ่งก้านมากหรือเกิดบน sporodochium ที่มีลักษณะเป็นก้อน (tubercularia-like) เชื้อราชนิดนี้สร้าง chlamydospore รูปไข่ หรือทรงกลม ผนังเรียบหรือผนังขรุขระ เกิดที่บริเวณส่วนปลายเส้นใย (terminal) และส่วนกลางเส้นใย (intercalary) มักเกิดเดี่ยว แต่บางครั้งเกิดเป็นคู่หรือเป็นลูกโซ่

เชื้อราชนิดนี้ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (vascular wilt) กับพืชหลายชนิด เป็นราที่มีพืชอาศัยกว้างมาก ทำความเสียหายกับพืชมากที่สุด และมีความสามารถทำให้เกิดโรคเฉพาะกับพืช โดย

ลักษณะของสัณฐานวิทยาคล้ายคลึงกัน ดังนั้น นักอนุกรมวิธานราที่ได้ศึกษา และจัดระบบการจำแนก จึงได้ให้ชื่อเป็น form-species เฉพาะพืชอาศัยแต่ละชนิด เช่น โรคเหี่ยวของแตงเกิดจาก *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, โรคเหี่ยวของฝ้ายเกิดจาก *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* และ โรคต้นเหี่ยวของถั่วเหลืองเกิดจาก *F. oxysporum* f. sp. *glycines* ซึ่งขนาดและรูปร่างของ macroconidia มีความผันแปรบ้างในระหว่าง form-species (Booth, 1971)

F. proliferatum (Matsushima) Nirenberg

ชื่อพ้อง : *F. moniliforme* Sheldon pro parte

F. moniliforme Sheldon emend. Snyd. & Hans. pro parte

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เส้นใยฟู หนาแน่น ขณะยังอ่อนมีสีขาว เมื่อมีอายุมากขึ้น มีสีชมพูส้ม สีส้มชมพู จนถึงสีชมพูม่วง โคโลนีเจริญอย่างรวดเร็ว ขนาดความยาวของโคโลนีในหลอดอาหาร มากกว่า 7 เซนติเมตร เมื่ออายุ 12 วัน sporodochium มีสีส้ม ถึงสีส้มเข้ม โคโลนีด้านใต้อาหารวุ้นมีสีส้มอ่อน สีม่วงแดง จนถึงสีม่วงคราม บาง isolate สร้างเม็ด sclerotium สีน้ำเงิน

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA : ลักษณะโดยทั่วไปคล้าย *F. moniliforme* และ *F. subglutinans* ซึ่ง microconidium เกิดบน microconidiophore ทั้งแบบเป็นกลุ่ม (false head) และ ต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ (chain) แต่จำนวน conidium ในแต่ละลูกโซ่น้อยกว่า *F. moniliforme* พบสร้าง phialide ทั้งแบบ mono- และ polyphialide เช่นเดียวกับ *F. subglutinans* และไม่สร้าง chlamydospore

Nelson, *et al*. (1983) จัด *Fusarium* ใน section Liseola จำนวน 4 ชนิด คือ *F. moniliforme, F. proliferatum, F. subglutinans* และ *F. anthophilum* มีลักษณะโดยทั่วไปใกล้เคียงกันมาก จะแตกต่างกันในบางลักษณะอย่างใดอย่างหนึ่งเท่านั้น ดังนั้นการศึกษาเพื่อจำแนกชนิด ต้องใช้ความละเอียดถี่ถ้วน และดำเนินการตามขั้นตอนของ Nelson, *et al*. (1983) (หากใช้ระบบการจัดจำแนกของ Nelson) และควรศึกษาจำนวนหลายๆ isolate เพื่อเปรียบเทียบกัน ในต่างประเทศมีรายงานพบเชื้อรานี้บนพืชตระกูลกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* (http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/f-prolif.htm.) และอภิรัชต์และคณะ (2545) ได้ศึกษารวบรวมเชื้อรา *Fusarium* สาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าว พบว่าเกิดจากเชื้อรา *F. proliferatum* เนื่องจากเชื้อรานี้สร้างก้านชูโคนีเดียแบบ polyphialide

F. semitectum Berk. & Rav.

ชื่อพ้อง : *F. roseum* Lk. emend. Snyd. & Hans. pro parte

F. roseum Lk. emend. Snyd. & Hans. var. *arthrosporioides* (Sherb.) Messiaen & Cassini pro parte

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เส้นใยฟูหนา ขณะยังอ่อนมีสีขาวนวล เมื่ออายุมากขึ้นมีสีน้ำตาลอ่อน จนถึงสีน้ำตาลเหลือง เจริญอย่างรวดเร็ว ขนาดความยาวของโคโลนีบนหลอดอาหารมากกว่า 7 เซนติเมตร เมื่ออายุ 12 วัน สร้าง sporodochium สีส้มอ่อนบนผิวหน้าอาหาร โคโลนีด้านใต้อาหารวุ้น มีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA : ไม่ค่อยพบสร้าง microconidium ส่น macroconidium มี 2 ลักษณะ ลักษณะแรกรูปร่างคล้ายกระสวย (spindle-shaped) ตรงหรือโค้งเล็กน้อย เซลล์ที่ฐานมี papilla เป็นตุ่มเล็กๆ ไม่มีรูปร่างคล้ายเท้า (foot-shaped) ส่วนปลายเรียวแหลม ไม่มีสี มี septum 3-5 ขนาด 17-28 x 2.5-4 ไมครอน เกิดบน conidiophore แบบ mono- และ polyphialide ที่แตกกิ่งก้านหรือไม่แตกกิ่งก้าน และชูลอยในอากาศอยู่กับกลุ่มเส้นใย ลักษณะที่สอง รูปร่าง fusoid-shaped โค้ง เซลล์ที่ฐานมีลักษณะคล้ายเท้า (foot-shaped) ปลายเรียวแหลมถึงทู่มน ไม่มีสี มี septum 3-5 ขนาด 17-28 x 2.5-4 ไมครอน ลักษณะคล้าย *F. oxysporum* มาก เกิดบน conidiophore แบบ mono- และ polyphialide ที่แตกกิ่งก้านมาก และอยู่เป็น mass ที่เรียกว่า sporodochium เชื้อราชนิดนี้สร้าง chlamydospore รูปกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-10 ไมครอน เกิดเดี่ยวหรือต่อเป็นลูกโซ่ ที่ส่วนกลางเส้นใย

โดยปกติ เชื้อราชนิดนี้เป็นพวก saprophyte หรือ secondary invader กับพืช มักพบเสมอบนเมล็ดพืชหลังการเก็บเกี่ยว ทำความเสียหายกับเมล็ด ทำให้เมล็ดมีคุณภาพต่ำ สูญเสียความงอก และเชื้อรายังสามารถติดไปกับเมล็ดได้ (seed-borne) (Neergaard, 1977)

F. solani (Mart.) Appel & Wollenw. Emend. Snyd. & Hans

ชื่อพ้อง : *F. javanicum* Koorders

F. coeruleum (Libert) Sacc.

F. solani (Mart.) Sacc.

F. eumartii Capenter

F. illudens Booth

F. ventricosum Appel. & Wollenw.

F. solani (Mart.) Sacc. var. *coeruleum* (Sacc.) Booth

F. tumidum Sherb.

F. solani (Mart.) Sacc. var. *coeruleum* (Sacc.) Bilai

F. solani (Mart.) Sacc. var. *ventricosum* (Appel & Wollenw.) Joffe

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA : เส้นใยฟู ขณะยังอ่อนมีสีขาวนวล เมื่ออายุมากขึ้นมีสีครีม หรือสีครีมแซมด้วยสีน้ำเงิน เจริญอย่างรวดเร็ว ขนาดความยาวของโคโลนีในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ 7 เซนติเมตร เมื่ออายุได้ 12 วัน sporodochium บนผิวอาหารมีลักษณะเป็นเลื่อมมัน สีครีม บางครั้งเส้นใยยุบตัวลง เห็นแต่เฉพาะ sporochium จำนวนมาก บาง isolate มีสีน้ำเงินแกมเขียว โคโลนีด้านใต้วุ้นอาหารมีสีครีม สีน้ำเงินแกมเขียว หรือสีคราม อาจสร้างหรือไม่สร้างเม็ด sclerotium

ลักษณะสัณฐานวิทยาบนอาหาร CLA : microconidium เกิดเป็นกลุ่มแบบเป็นกลุ่ม (false head) บน conidiophore แบบ monophialide ซึ่งอาจแตกกิ่งก้านหรือไม่แตกกิ่งก้าน microconidium รูปไข่ รูปไต มี 1-2 เซลล์ ไม่มีสี ขนาด 8-16 x 2-4 ไมครอน macroconidia ไม่มีสี รูปทรงกระบอก ลักษณะอ้วน (stout) บริเวณกลาง conidium ค่อนข้างตรง และผนัง 2 ด้านขนานกันจนเกือบตลอด โค้งเข้าเล็กน้อยตรงส่วนหัวและส่วนท้าย เซลล์ปลายสุดโค้งมน เซลล์ที่ฐานมีลักษณะคล้ายท้า (foot-shaped) ขนาดสั้น หรือเป็น notch มี septum 3-5 ขนาด 35-55 x 4.5-6 ไมครอน macroconidiophore อาจแตกกิ่งก้านหรือไม่แตกกิ่งก้านเป็นแบบ monophialide เชื้อราชนิดนี้สร้าง chlamydospore สีน้ำตาล รูปไข่หรือทรงกลม ผนังเรียบหรือขรุขระ เกิดเดี่ยว เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นลูกโซ่ ที่บริเวณส่วนปลายหรือส่วนกลางเส้นใย chlamydospore มีขนาด 10-17 x 9-12 ไมครอน

False head ของกลุ่ม microconidium มีขนาดค่อนข้างใหญ่ เมื่อเทียบกับ false head ของ *F. oxysporum* และ *F. moniliforme* ส่วน monophialide ที่สร้าง microconidium มีความยาวเป็น 2 และ 3 เท่าของ monophialide ของ *F. moniliforme* และ *F. oxysporum* ตามลำดับ

โรคเร่งตายของถั่วเหลืองในประเทศไทย นลินีและคณะ (2545) ได้ศึกษาตัวอย่างถั่วเหลืองที่เป็นโรคนี้จำนวนมากจากหลายแหล่งปลูกของประเทศ และรายงานว่าทุก isolate ที่ทำการศึกษามีลักษณะและขนาดใกล้เคียงกับ *F. solani* form B (FSB) ซึ่งเปรียบเทียบกับรายงานจากต่างประเทศที่จำแนก strain ของ *F. solani* สาเหตุโรคเร่งตายของถั่วเหลืองเป็น 2 strains คือ *F. solani* form A (FSA) และ *F. solani* form B (FSB)

สำหรับการทดสอบในหัวข้อที่ 4. การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค จะได้ดำเนินการต่อไปในปีงบประมาณ 2552 ซึ่งจะได้นำผลการทดสอบมารายงานต่อไป

ตารางที่ 1 ชนิด (species) ของเชื้อรา *Fusarium* ชนิดพืชที่พบเชื้อ ลักษณะอาการ และ สถานที่พบเชื้อรา *Fusarium* ระหว่างการสำรวจ เก็บตัวอย่าง และจำแนกชนิดเชื้อรา *Fusarium* สาเหตุโรคพืช ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2551

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
F. moniliforme	ข้าวโพด	3	โรคลำต้นเน่า หรือ โรคเส้นใบแดง	ใบของต้นเป็นโรคเหี่ยวสลด เส้นใบมีสีแดงลำต้นแห้งตาย หรือแตก เนื้อเยื่อภายในลำต้นมีแผลสีชมพูอมม่วง	อ.พุทธบาท จ.สระบุรี (2 ไอโซเลท) อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี (1 ไอโซเลท)
	ข้าวฟ่าง	2	โรคลำต้นเน่าแดง	ใบและยอดของต้นเป็นโรคบิดงอ ยอดไม่แตกใบเป็นปกติ ต้นแคระแกรน เนื้อเยื่อภายในลำต้นมีแผลสีแดงเข้ม	อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี
F. oxysporum	กล้วยน้ำว้า	5	โรคตายพราย (*F. oxysporum* f. sp. *cubense*)	ใบด้านนอกของลำต้นจำนวน 3-4 ใบ หักพับและเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เนื้อเยื่อท่อลำเลียงภายในลำต้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล	อ.เชียงคาน จ.เลย (1 ไอโซเลท), อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ (1 ไอโซเลท) อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ (1 ไอโซเลท) อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี (1 ไอโซเลท)
	ขิง	1	โรคเหี่ยว (*F. oxysporum* f. sp. *zingiberi*)	ใบเหลือง ต้นเหี่ยว แคระแกรน เมื่อขุดแง้งขิง พบแผลเน่าสีน้ำตาล ปกคลุมด้วยเส้นใยเชื้อราสีขาว	อ.ภูเรือ จ.เลย
	ถั่วลันเตา	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยว ใบเหลือง จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่

1368

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
F. oxysporum	พริกหยวก	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.เชียงแสน จ.เชียงราย
	พริกชี้ฟ้า	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน
	ปอเทือง	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน
	มะเขือเปราะ	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน
	ยาสูบ	1	โรคเหี่ยว	ต้นเหี่ยวฟุบทั้งต้น ใบสลด จน เหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อภายในโคนต้นมีแผลสีน้ำตาล	อ.แม่ลาว จ.เชียงราย
	หอมใหญ่	1	โรคเหี่ยว	ใบสลด จนเหลืองแห้งตายไปทั้งต้น เนื้อเยื่อที่โคนต้นมีแผลเน่า มีเส้นใยของสีขาวปกคลุม	อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่
F. proliferatum	กล้วยไม้สกุลคาลิบโซ่	1	โรคใบไหม้	ใบมีจุดแผลไหม้สีดำ และแผลยุบตัว	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
	กล้วยไม้สกุลแคทรียา	1	โรคต้นเน่า	ใบและลำต้นเหี่ยวและแห้ง บริเวณรากมีแผลสีน้ำตาลดำ	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
	กล้วยไม้สกุลแดงกิตติ	1	โรคใบไหม้	ใบมีจุดแผลไหม้สีดำ และแผลยุบตัว	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี

1369

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
F. proliferatum	ข้าว	13	โรคถอดฝักดาบ หรือโรคหลาว	ต้นข้าวผอมมีสีเขียวอ่อน ลำต้นย่างปล้อง สูงกว่าปกติ โคนต้นและรากมีแผลเน่าสีน้ำตาลดำ เมื่อดึงมักขาดง่าย บางครั้งพบเส้นใยสีชมพูบริเวณโคนหรือข้อที่ย่างปล้องขึ้นมา	อ.แม่สรวย จ.เชียงราย (2 ไอโซเลท) อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ (2 ไอโซเลท) อ.เมือง จ.แพร่ (1 ไอโซเลท) อ.บุณฑริก จ.อุบลราชธานี (2 ไอโซเลท) อ.เดชอุดม จ.อุบลราชธานี (2 ไอโซเลท) อ.เมือง จ.สุรินทร์ (3 ไอโซเลท) อ.กระสัง จ.สุรินทร์ (1 ไอโซเลท)
F. semitectum	ข้าว	1	โรคเมล็ดด่าง	เมล็ดข้าวและรวงข้าวมีแผลเป็นจุดสีเทาปนชมพู เมล็ดข้าวลีบแห้ง	อ.ปางมะผ้า จ.แม่ฮ่องสอน
	แตงไทย	1	โรคเหี่ยวและผลเน่า	ต้นและใบเหี่ยวฟุบ บริเวณโคนและรากมีแผลสีน้ำตาล ถึงน้ำตาลแดง ผลมีแผลเน่ายุบตัว และมีเส้นใยสีขาวปกคลุม	อ.คลองสามวา จ.กรุงเทพมหานคร
F. solani	กล้วยไม้สกุลรองเท้านารี	1	โรคเหี่ยว	ใบและลำต้นเหี่ยวและแห้ง บริเวณรากมีแผลสีน้ำตาลดำ	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
	กล้วยไม้สกุลแวนด้า	1	โรคโคนใบไหม้ดำ	โคนใบมีจุดแผลไหม้สีดำ ต้นเหี่ยว	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี
	กล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าว	1	โรคใบจุดและใบไหม้	ใบจุดแผลสีน้ำตาลดำ กระจัดกระจายทั่วใบ	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี

1370

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด *Fusarium*	ชนิดพืชที่พบเชื้อ	จำนวนไอโซเลท	ชื่อโรค	ลักษณะอาการ	สถานที่พบ
F. solani	แตงแคนตาลูป	1	โรคลำต้นเน่าและผลเน่า	ต้นและใบเหี่ยวฟุบ บริเวณโคนและรากมีแผลสีน้ำตาล ถึงน้ำตาลแดง ผลและขั้วผลมีแผลเน่ายุบตัว และมีเส้นใยสีขาวปกคลุม	อ.พยุหะคีรี จ.นครสวรรค์
รวม		40			

1371

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การรวบรวมและเก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคที่คาดว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium* ในพื้นที่เพาะปลูกพืชของเกษตรกรตามภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2551 แล้วนำตัวอย่างพืชเป็นโรคมาแยกเชื้อราบริสุทธิ์บนอาหาร WA สามารถจำแนกเชื้อรา *Fusarium* ได้จำนวน 40 ไอโซเลท และเมื่อจำแนกชนิด (species) ของเชื้อราบริสุทธิ์ทั้งหมดโดยลักษณะของสัณฐานวิทยา ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA, CLA และ KCL และจำแนกตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983) สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Fusarium* 5 ชนิด ได้แก่ *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. semitectum* และ *F. solani* เชื้อรา *Fusarium* ทั้ง 5 ชนิด แยกได้จากพืช 20 ชนิดที่ปลูกในพื้นที่ 14 จังหวัด ได้แก่ กล้วยน้ำว้าเป็นโรคตายพราย กล้วยไม้สกุลแคทรียาเป็นโรคต้นเน่า กล้วยไม้สกุลแดงกิตติเป็นโรคใบไหม้ กล้วยไม้สกุลคาลิบโซ่เป็นโรคใบไหม้ กล้วยไม้สกุลแวนด้าเป็นโรคโคนใบไหม้ดำ กล้วยไม้สกุลรองเท้านารีเป็นโรคเหี่ยว กล้วยไม้สกุลเอื้องพร้าวเป็นโรคใบจุดและใบไหม้ ข้าวเป็นโรคถอดฝักดาบและโรคเมล็ดด่าง ข้าวโพดเป็นโรคลำต้นเน่า หรือโรคเส้นใบแดง ข้าวฟ่างเป็นโรคลำต้นเน่าแดง ขิงเป็นโรคเหี่ยว แตงไทยเป็นโรคเหี่ยวและผลเน่า แตงแคนตาลูปเป็นโรคลำต้นและผลเน่า ถั่วลันเตาเป็นโรคเหี่ยว ปอเทืองเป็นโรคเหี่ยว พริกหยวกเป็นโรคเหี่ยว พริกชี้ฟ้าเป็นโรคเหี่ยว มะเขือเปราะเป็นโรคเหี่ยว ยาสูบเป็นโรคเหี่ยว และหอมใหญ่เป็นโรคเหี่ยว

สำหรับการทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรค จะได้ดำเนินการต่อไปในปีงบประมาณ 2552 ซึ่งจะได้นำผลการทดสอบมารายงานต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน, พากเพียร อรัญนารถ และศุภนิตย์ หิรัญประดิษฐ์. 2543. ลักษณะของ *Fusarium proliferatum* (Mutsushima) Nirenberg สาเหตุโรคถอดฝักดาบของข้าว, หน้า 55. *ใน* การประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ปี 2543, 8-10 มีนาคม 2543, อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี. (บทคัดย่อและสรุปผลการดำเนินงาน)

พัฒนา สนธิรัตน, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์, วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 285 หน้า.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์, พัฒนา สนธิรัตน, นิยม ไข่มุกข์ และธารทิพย ภาสบุตร. 2545. รวบรวมและจำแนกชนิดเชื้อราสกุล *Fusarium* สาเหตุโรคชนิดต่างๆ ของพืชเศรษฐกิจ. รายงานผลงานวิจัยประจำปีกลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ.

Ainsworth, G. C. 1973. Introduction and keys to higher taxa, pp.1-7. *In* The fungi Vol.IV B. Eds., G.C. Ainsworth, F.K. Sparrow, and A.S. Sussman. Academic Press, New York.

Barron, G.L. 1977. The Genera of Hyphomycetes from Soil. 3rd ed. Noble offset printers, Inc., New York. 364 p.

Booth, C. 1971. The Genus Fusarium. C.M.I., Kew, Surrey, England. 237 p.

Brayford, L. R. 1985. The genus Fusarium. C.M.I. International course on the identification of fungi and bacteria of agriculture importance. 4 p.

Domsch, K.H., W. Gams, and T.H. Anderson. 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London. 859 p.

Http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/f-prolif.htm.

Neergaard, P. 1977. Seed Pathology, Vol.1. The Macmillan Press Ltd., London & Basingstoke. 839 p.

Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and W. H. O. Marasas. 1983. Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University Press, University Park and London. 193 p.

Ou, S. H. 1984. Rice Diseases. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 270 p.

Salleh, B. 1988. Distribution, Biology and Control of 'Bakanae' Disease in the Malaysian Peninsula. The Sixth International Fusarium Workshop. (Abstr. of Papers.)

Ventura, J. A. 1988. Present status of Panama disease (Fusarium wilt) in Espirita Santo State Brazil. The Sixth International Fusarium Workshop, August 30-31, 1988., Tsukuba Science City, Japan. 40 p. (Abstr. of Papers)

Zillinsky, F. J. 1983. Common Disease of Small Grain Cereals, A Guide to Identification. CIMMY T, Mexico. 141 p.

ภาคผนวก

อาหารเลี้ยงเชื้อราที่ใช้ในการทดลอง

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง (Potato)	200	กรัม
น้ำตาล Dextrose	20	กรัม
วุ้นผง (Agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

2. Potato Dextrose Agar (PDA) ที่เตรียมขึ้นตามวิธีการของ Nelson และคณะ (1983)

มันฝรั่ง (Potato)	250	กรัม
น้ำตาล Dextrose	20	กรัม
วุ้นผง (Agar)	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

3. Water Agar 1.5% (WA)

วุ้นผง (Agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

4. Corn Leaf Agar (CLA)

วุ้นผง (Agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ใบข้าวโพดขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

เตรียมโดยวางใบข้าวโพดที่ฆ่าเชื้อแล้ว ที่อุณหภูมิ 121 °ซ. ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ WA 1.5% แล้วเก็บจานอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-4 วัน เมื่อไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อรา จึงใช้เลี้ยงเชื้อราได้

สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราสกุล Curvularia สาเหตุโรคพืช

Survey Collect and Identification of Curvularia

พีระวรรณ พัฒนวิภาส อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
ทัศนาพร ทัศคร พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการไหม้และจุดจากแหล่งปลูกในประเทศไทยตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค สามารถจำแนกเป็นเชื้อราสกุล Curvularia ทั้งสิ้น 24 ไอโซเลท ได้แก่ โรคใบจุดข้าวโพดมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia lunata* จาก บ้านแก่งเสี้ยน อ. เมือง จ. กาญจนบุรี จำนวน 1 isolate จาก ต. ปากช่อง ต. ซับม่วง และ ต. พญาเย็น อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา จำนวน 3 isolate จาก อ. เมือง จ. พิษณุโลก จำนวน 1 isolate จาก อ. มวกเหล็ก และ อ. พระพุทธบาท จ. สระบุรี จำนวน 2 isolate จาก อ. น้ำปาด จ. อุตรดิตถ์ จำนวน 1 isolate จาก อ. แม่แจ่ม อ. เมือง อ. สันทราย จ. เชียงใหม่ จำนวน 3 isolate จาก อ. แม่ระมาด แล ะ อ. แม่สอด จ. ตาก จำนวน 4 isolate จาก กิ่ง อ.วังม่วง จ. สระบุรี จำนวน 1 isolate โรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้สกุลหวาย มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia eragotidis* จาก อ. สามพราน จ. นครปฐม จำนวน 1 isolate และจาก จ. สุพรรณบุรี จำนวน 1 isolate โรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้สกุลหวายแคระมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia eragotidis* จาก จ. กรุงเทพมหานคร จำนวน 1 isolate โรคจุดบนกล้วยไม้สกุลออยซิเดียมมีสาเหตุจากเชื้อ*Curvularia tuberculata* โรคใบไหม้สบู่ดำมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia lunata* จาก อ. แม่ระมาด จ. ตาก และ.จ. กรุงเทพมหานคร จำนวน 2 isolate โรคเมล็ดเน่าดำของข้าวฟ่างมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia lunata* จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี จำนวน 1 isolate โรคใบจุดแกลดดิโอลัสมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia prasadii* จำนวน 1 isolate และโรคใบไหม้ลิ้นมังกรมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia pallescens* จาก จ. ตาก จำนวน 1 isolate

---

รหัสการทดลอง 09-02-49-01

คำนำ

เชื้อราสกุล Curvularia เป็นสาเหตุโรคที่สำคัญของพืชไร่และพืชสวนหลายชนิด มีรายงานโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* บนข้าวโพดโดยใบข้าวโพดจะมีอาการจุดเล็กๆขนาดเท่าหัวเข็มหมุดสีเขียวอ่อนต่อมาตรงกลางจุดจะแห้งมีสีเทาหรือน้ำตาลอ่อน (ขจรศักดิ์ ,2509) แตงฝรั่ง แตงเทศ(ปราณีตและคณะ, 2532) แกลดิโอลัส(ประสาทพร, 2521) พบจุดสีน้ำตาลเข้มบนใบ กรรณิการ์และคณะรายงานว่าพบโรคผลเน่าบนลิ้นจี่โดยลิ้นจี่ที่พบมีจุดสีน้ำตาลเข้มบนผลลิ้นจี่ทำให้ผลผลิตลิ้นจี่เน่าเสียเร็ว และเชื้อรา *Curvularia lunata* เป็นสาเหตุของโรคผลเน่าดำบนมะละกอ นอกจากนี้เชื้อรา *Curvularia lunata* เป็นสาเหตุโรคเมล็ดเน่าดำบนข้าวฟ่าง (Chandrasrikul, 1962) เชื้อรา *Curvularia erarostidis* สาเหตุโรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนกล้วยไม้(ศิริลักษณ์และคณะ, 2521) โดยทำให้ดอกกล้วยไม้เป็นจุดสีเหลืองอมน้ำตาลต่อมาจุดขยายใหญ่ขึ้นเปลี่ยนเป็นสีเข้มคล้ายสีสนิม และเป็นสาเหตุโรคใบไหม้บนปาล์มน้ำมัน(ปรานีและคณะ, 2522) เชื้อรา *Curvularia* spp. สาเหตุของโรคฝักจุดหรือฝักลาย(Pot spot) บนกระเจี๊ยบเขียว(นิยมรัฐและลักษณา, 2533) โรคใบจุดบนต้นกล้าของมะพร้าว(ศรีสุรางค์ และคณะ, 2526) โรคใบจุดบนยางพารา(พงษ์เทพ, 2531)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ถุงพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง กระดาษหนังสือพิมพ์
2. กรอบไม้อัดตัวอย่างแห้งโรคพืช
3. กล้องจุลทรรศน์
4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1. สำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคของพืชผัก ไม้ผล พืชไร่ และวัชพืช ที่มีลักษณะอาการไหม้หรือจุดจากแหล่งปลูกทั่วประเทศ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคของพืชผักไม้ผล พืชไร่ และวัชพืช จากแหล่งปลูกที่สำคัญทั่วประเทศ ได้แก่ แหล่งปลูกในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันตกและภาคใต้ ระหว่างเดือน ตุลาคม 2550 ถึง กันยายน 2551 ตรวจลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก ถ่ายภาพตัวอย่างโรค แล้วนำตัวอย่างโรคพืชเหล่านั้นมาจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

2. การศึกษาลักษณะอาการของโรคบนพืชต่าง ๆ

ศึกษาลักษณะอาการบนพืชไม้ผล พืชผัก พืชไร่ และวัชพืช ในสภาพธรรมชาติ ถ่ายภาพลักษณะอาการต่างๆ เหล่านั้น และเก็บตัวอย่างแห้งโรคพืช ไว้ที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3 การแยกเชื้อ ***Curvularia***

นำตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการไหม้หรือจุดมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplanting method โดยตัดชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคขนาด 3x5 มม. ฆ่าเชื้อภายนอกด้วยคลอร็อกซ์ 10% เป็นเวลา 2-4 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้ออีก 2 ครั้ง วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในสภาพปลอดเชื้อ บ่มเชื้อไว้นาน 2-3 วัน ทำ hyphal tip isolation นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อจำแนกเชื้อต่อไป

3. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อรา ***Curvularia***

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาของเชื้อ *Curvularia* สาเหตุโรคพืช โดยจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยสาเหตุโรค แล้วถ่ายภาพเชื้อราสาเหตุโรคใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาและบันทึกลักษณะของก้านสปอร์ และ สปอร์

4. การจำแนกชนิด เชื้อรา ***Curvularia***

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะของก้านสปอร์ และ สปอร์ กับคู่มือการจำแนกเชื้อรา class Hyphomycetes ของ Ellis M.B. (1971)

เวลาและสถานที่

กันยายน 2548 – กรกฎาคม 2550

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจรวบรวมตัวอย่างโรคพืชจากแหล่งปลูกต่าง ๆ

ผลการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่มีลักษณะอาการไหม้หรือจุดของพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ ไม้ผล พืชไร่ และวัชพืช ได้รวบรวมตัวอย่างพืชที่แสดงลักษณะอาการไหม้หรือจุดจากแหล่งปลูกพืชในภาคเหนือ 8 ตัวอย่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 4 ตัวอย่าง ภาคกลาง 7 ตัวอย่าง ภาคตะวันตก จำนวน 2 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 21 ตัวอย่าง จากแหล่งปลูกจำนวน 10 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก พิษณุโลก อุตรดิตถ์ สระบุรี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี กรุงเทพมหานคร นครปฐม และนครราชสีมา โดยแบ่งเป็นไม้ดอกไม้ประดับ จำนวน 3 ตัวอย่าง และพืชไร่ จำนวน 19 ตัวอย่าง

2. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุ

ผลการศึกษาลักษณะอาการที่ปรากฏบนพืชแต่ละชนิดและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุในห้องปฏิบัติการจากตัวอย่างพืชต่างๆ ที่แสดงอาการโรคราน้ำค้าง โดยเปรียบเทียบกับเอกสารการจัดจำแนกเชื้อรา class Hyphomycetes ของ Ellis M.B. (1971) สามารถจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา *Curvularia* ได้ 21 ไอโซเลท เป็น 5 ชนิด คือ

1 โรคใบจุดข้าวโพด

เชื้อ *Curvularia lunata*

สปอร์สีน้ำตาลอ่อน รูปร่างตรงหรือโค้ง ปลายเรียว มีสี่เซลล์โดยเซลล์ตรงกลางมีขนาดใหญ่สุด มีสีเข้มกว่าหัวท้าย มีฐานสปอร์ชัดเจน

ลักษณะอาการ

อาการของโรคส่วนใหญ่จะแสดงให้เห็นบนใบ แต่บางครั้งอาจพบบนกาบใบ และฝักด้วย ระยะแรกเกิดเป็นจุดเล็กๆ สีเขียวอ่อน ต่อมาตรงกลางจุดจะแห้งมีสีเทาหรือสีน้ำตาลอ่อน ล้อมรอบด้วยวงแหวนสีน้ำตาลแดงในที่สุดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำไหม้และมีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบอีกชั้นหนึ่ง จุดใหญ่เต็มที่จะมีเส้นผ่านศูนย์กลาง

2. โรคเมล็ดเน่าดำของข้าวฟ่าง

เชื้อ *Curvularia lunata*

สปอร์สีน้ำตาลอ่อน รูปร่างตรงหรือโค้ง ปลายเรียว มีสี่เซลล์โดยเซลล์ตรงกลางมีขนาดใหญ่สุด มีสีเข้มกว่าหัวท้าย มีฐานสปอร์ชัดเจน

ลักษณะอาการ

พบเมล็ดข้าวฟ่างมีผงสีเทาหรือดำขึ้นปกคลุม ซึ่งเชื้อราชนิดนี้มีผลต่อคุณภาพของเมล็ดข้าวฟ่าง

3. โรคใบไหม้ของสบู่ดำ

เชื้อ *Curvularia lunata*

สปอร์สีน้ำตาลอ่อน รูปร่างตรงหรือโค้ง ปลายเรียว มีสี่เซลล์โดยเซลล์ตรงกลางมีขนาดใหญ่สุด มีสีเข้มกว่าหัวท้าย มีฐานสปอร์ชัดเจน

ลักษณะอาการ

พบจุดสีน้ำตาลเข้มบนใบสบู่ดำ ต่อมาจุดจะขยายเป็นแผลสีน้ำตาลเข้มขนาดแผลไม่แน่นอนบนใบสบู่ดำ ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงแผลจะขยายรวมกันทำให้ใบไหม้แห้ง

4. โรคใบจุดแกลดดิโอลัส

เชื้อ *Curvularia prasadii*

ลักษณะอาการ

จุดสีน้ำตาลแดง ต่อมาจุดขยายใหญ่ขึ้นทำให้เกิดแผลไหม้แห้งสีน้ำตาล

5. โรคใบไหม้ลิ้นมังกร

เชื้อ *Curvularia pallescens*

สปอร์ตรงหรือโค้งเล็กน้อย สปอร์สีน้ำตาลอ่อน ผนังกั้นเซลล์ที่อยู่ตรงกลาง มักจะไม่อยู่กึ่งกลาง

ลักษณะอาการ

พบแผลรูปไข่ขนาดเล็กบนใบของลิ้นมังกร ภายในแผลมีสีซีดคล้ายฟางข้าว ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม

6. โรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนกล้วยไม้สกุลหวาย

เชื้อ *Curvularia eragotidis*

สปอร์รูปไข่ ผิวเรียบ สีน้ำตาลเข้ม ไม่มีติ่งยื่นออกมา มีผนังกั้นเซลล์ 3 ผนัง สปอร์มีรูปร่างเป็นแบบสมมาตร ก้านชูสปอร์สีน้ำตาล ตรงหรือโค้ง ส่วนปลายมักบิดงอ

ลักษณะอาการ

ดอกกล้วยไม้เป็นจุดสีเหลืองอมน้ำตาลต่อมาจุดขยายใหญ่ขึ้นเปลี่ยนเป็นสีเข้มคล้ายสีสนิม

7. โรคดอกจุดบนกล้วยไม้สกุลออยซิเดียม

เชื้อ *Curvularia tuberculata*

ผนังสปอร์หยาบสปอร์ตรง มีผนังกั้นเซลล์ 3 ผนัง

ลักษณะอาการ

ดอกกล้วยไม้มีอาการจุดกลมขนาดเล็กสีน้ำตาลเข้มหรือดำบนกลีบดอก

สรุปผลการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชที่มีลักษณะอาการไหม้และจุดจากแหล่งปลูกในประเทศไทยศึกษาลักษณะอาการของโรคบนพืชต่างๆในแปลงปลูก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาจำแนกเชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี tissue transplanting method ในห้องปฏิบัติการ ถ่ายรูปตัวอย่างโรคแล้วจัดทำ permanent slide เพื่อการวินิจฉัยโรค สามารถจำแนกเป็นเชื้อราสกุล *Curvularia* ทั้งสิ้น 24 ไอโซเลท ได้แก่ โรคใบจุดข้าวโพดมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia lunata* จาก บ้านแก่งเสี้ยน อ. เมือง จ. กาญจนบุรี จำนวน 1 isolate จาก ต. ปากช่อง ต. ซับม่วง และ ต. พญาเย็น อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา จำนวน 3 isolate จาก อ. เมือง จ. พิษณุโลก จำนวน 1 isolate จาก อ.

มวกเหล็ก และ อ. พระพุทธบาท จ. สระบุรี จำนวน 2 isolate จาก อ. น้ำปาด จ. อุตรดิตถ์ จำนวน 1 isolate จาก อ. แม่แจ่ม อ. เมือง อ. สันทราย จ. เชียงใหม่ จำนวน 3 isolate จาก อ. แม่ระมาด แล ะ อ. แม่สอด จ. ตาก จำนวน 4 isolate จาก กิ่ง อ.วังม่วง จ. สระบุรี จำนวน 1 isolate โรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้สกุลหวาย มีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia eragotidis* จาก อ. สามพราน จ. นครปฐม จำนวน 1 isolate และจาก จ. สุพรรณบุรี จำนวน 1 isolate โรคดอกสนิมหรือโรคจุดสนิมบนดอกกล้วยไม้สกุลหวายแคระมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia eragotidis* จาก จ. กรุงเทพมหานคร จำนวน 1 isolate โรคจุดบนกล้วยไม้สกุลออยซิเดียมมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia tuberculata* โรคใบไหม้สบู่ดำมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia lunata* จาก อ. แม่ระมาด จ. ตาก และ.จ. กรุงเทพมหานคร จำนวน 2 isolate โรคเมล็ดเน่าดำของข้าวฟ่างมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia lunata* จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี จำนวน 1 isolate โรคใบจุดแกลดดิโอลัสมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia prasadii* จำนวน 1 isolate และโรคใบไหม้ลิ้นมังกรมีสาเหตุจากเชื้อ *Curvularia pallescens* จาก จ. ตาก จำนวน 1 isolate

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ เพี้ยนภักตร์, อุบล คือประโคน และวิรัช ชูบำรุง. 2531. โรคผลไม้ส่งออกที่เกิดโรคจากเชื้อราชนิดต่างๆ ก่อนเก็บเกี่ยว. น. 96-105. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2531. กลุ่มงานวิทยาไมโค. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.

ขจรศักดิ์,2509. การศึกษาโรคใบจุดเคอวูลาเรียของข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 61 น.

นิยมรัฐ ไตรศรี และ ลักษณา วรรณภีร์. 2533. โรคที่สำคัญของกระเจี๊ยบเขียวเพื่อการส่งออก, น. 53-56. *ใน* เอกสารประกอบการสัมนาสนทนาปัญหาโรคพืช. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ประสาทพร สมิตะมาน. 2521. โรคของซ่อนกลิ่นฝรั่งที่พบในจังหวัดเชียงใหม่. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 11 (1) : 41-49.

ปราณี ลิ่มศรีวิไล, ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และ ปรีชา สุรินทร์. 2522. การสำรวจโรคของปาล์มน้ำมันระหว่างปี 2519-2521, น. 382-389. ใน รายงานประจำปี 2522. กองวิจัยโรคพืช. กรมวิชาการเกษตร.

ปราณีต ศิริวัลลภ, ทศพล วิสุทธารมณ์, ปัญญา ชยามานนท์, อนันต์ สุนทรเกษมสุข, ลักษณา วรรณภีร์ และ ชำนาญ ทองกลัด. 2532. ศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิดเพื่อป้องกันกำจัดโรคใบแห้งของแตงเทศ, น. 91-93. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2532. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชผักไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.

พงษ์เทพ ขจรไชยกูล. 2531. โรคยางพาราที่สำคัญทางเศรษฐกิจในปัจจุบันและอนาคต. *ใน* การประชุมการจัดทำแนวทางในการวิจัยพัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีการยางในทศวรรษหน้า. สถาบันวิจัยยาง 22-25 สิหาคม 2531. (เอกสารโรเนียว).

สิริลักษณ์ โล่ห์สวัสดิ์, จุมพล สาระนาค และ อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2521. โรคดอกสนิมของกล้วยไม้สกุลหวาย, น. 83-94. *ใน* รายงานประจำปี 2521. กองวิจัยโรคพืช. กรมวิชาการเกษตร.

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, ปราณี ลิ่มศรีวิไล, วิทยา เปรมปรีดิ์ และ ปรีชา สุรินทร์. 2526. การศึกษาโรคของต้นกล้ามะพร้าวพันธุ์ลูกผสมสวี 1, น. 1189-1192. ใน รายงานผลการทดลอง พ.ศ. 2526 เล่มที่ 3. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร.

Chandrasrikul, A. 1962. preliminary host list of plant diseases in Thailand. Tech. Bull. No. 9, Dept. of Agr., Bangkok. 14 p.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 608 p.

ตารางที่ 1 ผลการจำแนกชนิดเชื้อรา *Curvularia* สาเหตุโรคพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ ไม้ผล พืชไร่ และวัชพืช ในประเทศไทย

ไอโซเลท	พืช	เชื้อสาเหตุ	การทำลาย	แหล่งที่พบ
1	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	บ้านแก่งเสี้ยน อ. เมือง จ. กาญจนบุรี
2	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	ต. ปากช่อง อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
3	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	ต. ซับม่วง อ. ปากช่อง. นครราชสีมา
4	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	ต. พญาเย็น อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
5	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	ต. พญาเย็น อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
6	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. เมือง จ. พิษณุโลก
7	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. มวกเหล็ก จ. สระบุรี
8	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. พระพุทธบาท จ. สระบุรี
9	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. น้ำปาด จ. อุตรดิตถ์
10	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. เมือง จ. เชียงใหม่
11	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. สันทราย จ. เชียงใหม่
12	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. แม่แจ่ม จ. เชียงใหม่
13	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. แม่ระมาด จ. ตาก
14	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. แม่สอด จ. ตาก
15	ข้าวโพด	*Curvularia lunata*	ใบ	กิ่งอ.วังม่วง จ. สระบุรี
16	กล้วยไม้สกุลหวาย	*Curvularia eragotidis*	ดอก	อ. สามพราน จ. นครปฐม
17	กล้วยไม้สกุลหวาย	*Curvularia eragotidis*	ดอก	จ, สุพรรณบุรี
18	กล้วยไม้สกุลออยซิเดียม	*Curvularia tuberculata*	ดอก	จ. กรุงเทพมหานคร

ไอโซเลท	พืช	เชื้อสาเหตุ	การทำลาย	แหล่งที่พบ
19	กล้วยไม้สกุลหวายแคระ	*Curvularia eragotidis*	ดอก	จ. กรุงเทพมหานคร
20	สบู่ดำ	*Curvularia lunata*	ใบ	อ. แม่ระมาด จ. ตาก
21	สบู่ดำ	*Curvularia lunata*	ใบ	จ. กรุงเทพมหานคร
22	ข้าวฟ่าง	*Curvularia lunata*	เมล็ด	อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี
23	แกลดดิโอลัส	*Curvularia prasadii*	ใบ	จ. ตาก
24	ลิ้นมังกร	*Curvularia pallescens*	ใบ	จ. ตาก