กรมวิชาการเกษตร
Department of Agriculture
แหล่งความรู้ แหล่งพัฒนา แหล่งก้าวหน้า

36 ปี กรมวิชาการเกษตร

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๑
เล่มที่ ๓

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

สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา Pythium สาเหตุโรคพืช

Surveying, Collection and identification of Pythium

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พีระวรรณ วัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืชที่ เกิดจาก รา *Pythium* spp. จากแหล่งปลูก ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลาง ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2551 ได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า หรือเน่าคอดินจำนวน 5 ตัวอย่าง และในระยะต้นโต ได้ตัวอย่างโรคต้นเน่ารากเน่า 11 ตัวอย่าง เมื่อแยกเชื้อสาเหตุจากตัวอย่างโรคพืช แยกได้ รา *Pythium* บริสุทธิ์ จำนวน 16 ไอโซเลท ศึกษา รา *Pythium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ตรวจไม่พบ รา *Pythium* บนเมล็ดทุกชนิดพืช และศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช โดยเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก ได้ตัวอย่างดิน 8 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง ได้รา *Pythium* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท รวม ได้ รา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ทั้งหมดจำนวน 24 ไอโซเลท เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา แล้วจำแนกชนิดของเชื้อรา *Pythium* spp. จำนวน 18 ไอโซเลท ได้ 11 ชนิด คือ รา *P. monospermum* สาเหตุโรคกล้าเน่าแตงกวา *P. vanterpoolii* สาเหตุโรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง *Pythium* Group G และ *Pythium* Group HS สาเหตุโรคต้นเน่าผักกะเฉด *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคกล้าเน่ามะเขือเทศ *P. spinosum* และ *P. rostratum* สาเหตุโรคต้นเน่าสตรอเบอรี่ *P. indigoferae* สาเหตุโรคต้นเน่าผักชี *P. middletonii* สาเหตุโรคต้นเน่าของต้นขวด *P. perplexium* สาเหตุโรคต้นเน่ารากเน่าผักไร้ดิน ดินคะน้าทุกตัวอย่างจากสุพรรณบุรี ปทุมธานี เชียงใหม่และเชียงราย พบรา *P. aphanidermatum* และดินกวางตุ้งจากเชียงใหม่และเชียงราย พบรา *P. ultimum* ส่วนไอโซเลทอื่น ๆ อยู่ในขั้นตอนการจำแนกชนิดเชื้อ

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

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

รา Pythium เป็นพวกเกิดและอาศัยอยู่ในดิน (soil borne) มีความสามารถที่อยู่รอดด้วยการเป็นพวกซาโพไฟท์ (saprophyte) พวกนี้เป็นปรสิต (parasite) กับพืชเกือบทุกชนิด ไม่เฉพาะเจาะจง มีความสำคัญต่อการเกษตร ทำให้เกิดโรคพืชหลายชนิดที่เป็นพืชเศรษฐกิจ เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดินของกล้าพืชและบางครั้งทำให้เกิดโรคโคนเน่ารากเน่าของพืชที่เจริญเติบโต โดยทำลายเนื้อเยื่อที่บอบบาง เข้าทำลายต้นกล้าพืชได้ทั้งก่อนและหลังการงอกของเมล็ดพืชในดิน การระบาดทำลายต้นกล้าได้รวดเร็ว ขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพแวดล้อม แต่พืชบางชนิดอาจถูกราตัวนี้เข้าทำลายเมื่อตอนอายุมากๆ ได้ เช่น พืชตระกูลแตงที่ปลูกในที่ระบายน้ำไม่ดี ความไม่สมดุลเหมาะสมกับการใส่ปุ๋ยให้กับพืช หรือพืชที่ปลูกไร้ดิน เช่นผักกระเฉด เป็นต้น (ทวี, 2549)

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

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การสำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

1.1 การสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

สำรวจและรวบรวมตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp. จากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทั่วประเทศ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2551

1.2 การศึกษาลักษณะอาการโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

ศึกษาและบันทึกรายละเอียดลักษณะอาการของโรคในแปลงปลูก สภาพแวดล้อมของการเกิดโรคและการปฏิบัติดูแลของเกษตรกร ถ่ายรูปตัวอย่างโรคพืช

1.3 การศึกษา รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช

นำตัวอย่างโรคพืชมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อวินิจฉัยสาเหตุโรค โดยวิธี tissue transplanting ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติ เป็นชิ้นส่วนขนาด 2x2 มิลลิเมตร ตัวอย่างละ 15-20 ชิ้น เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2^0ซ.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นตัวอย่าง เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP อีกครั้ง เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยเชื้อที่เจริญออกจากชิ้นเชื้อ เลี้ยงบนอาหาร CA (Carrot agar) แล้วแยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง เพื่อศึกษารายละเอียดของเชื้อที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

1.4 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช

เก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จากแหล่งปลูก และตลาดขายเมล็ดพันธุ์ เพื่อศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยวางบนอาหาร PDA + BRNAP จานละ 10 เมล็ด เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2^0ซ.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง แล้วปฏิบัติเช่นเดียวกับ ข้อ 1.3

1.5 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก นำตัวอย่างดินมาละลายน้ำ แล้วใช้เมล็ดแตงกวาแขวนลอยในสารละลายดินดังกล่าวนาน 36-48 ชั่วโมง นำเมล็ดแตงกว่านั้น มาแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยวางบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2^0ซ.) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ปฏิบัติเช่นเดียวกับ ข้อ 1.3

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium*

นำเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทมาศึกษารายละเอียดลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาดังนี้

2.1 การศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (โคโลนี) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

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

2.2 การศึกษา ลักษณะ รูปร่างและขนาดสปอร์

เลี้ยงราสาเหตุโรค ในจานขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ CA จำนวน 15 มิลลิลิตร ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของราซึ่งเลี้ยงบนอาหาร CA นาน 3 วัน ลอยในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำไปไว้ภายใต้แสง (ไฟฟ้า) ที่เหมาะสม (GE Cool White F 40 D 40-watt) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้สร้างสปอแรนเจีย (sporangia) ศึกษาและบันทึกลักษณะของสปอร์แรงเจีย การสร้าง sexual structure ของเชื้อ วัดขนาดของ โอโอโกเนีย (oogonia), โอโอสปอร์ (oospores) และ แอนธิริเดีย (antheridia) ศึกษาตำแหน่งของ antheridia บนผิวของ oogonium และลักษณะของ oospore ที่อยู่ภายในแต่ละ oogonium ศึกษาสปอร์ชนิดต่าง ๆ ชนิดละ 50 สปอร์

3. การจำแนกชนิดรา *Pythium* spp.

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการเจริญเส้นใย ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ชนิดต่างๆ (sporangium, chlamydospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของรา *Pythium* สาเหตุโรคกล้าเน่า ราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ และราในดิน กับคู่มือการจำแนกชนิด *Pythium* ของ PLAATS-NITERINK (1981) และ เอกสารวิชาการของ Robertson (1980)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

1.1 การสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

ผลการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp. ในพื้นที่ปลูกพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2551 พบว่า

ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ พบโรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง และโรคกล้าเน่าเบญจมาศ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่ารากเน่าของพืชที่เจริญเติบโตแล้ว ได้แก่ โรคต้นเน่ารากเน่าสตรอแบรี่ 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่ารากเน่าผักสลัดแก้ว 1 ตัวอย่าง และโรครากเน่าต้นเน่าต้นขวด 1 ตัวอย่าง

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบโรคลำต้นหรือกล้าเน่าแตงกวา จากจังหวัดเลย 1 ตัวอย่าง และโรคหัวเน่า (กล้าเน่า) ของหัวไชเท้า (ผักกาดหัว, ผักกาดหวาน) จากเพชรบูรณ์ 1 ตัวอย่าง

ภาคกลาง พบโรคเน่าคอดินหรือโรคกล้าเน่ามะเขือเทศ จากกรุงเทพฯ 1 ตัวอย่าง นอกจากนี้ ในระยะต้นโต พบ โรคต้นเน่าผักกาดหอม 1 ตัวอย่าง ผักไร้ดิน (ผักไฮโดรโปรนิค) 2 ตัวอย่าง โรครากและลำต้นเน่าผักชี 1 ตัวอย่าง และ โรคต้นเน่าจากผักกระเฉดจากกรุงเทพฯ 2 ตัวอย่าง และจังหวัดสมุทรปราการ 1 ตัวอย่าง

รวมได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งหมด 16 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

1.2 การศึกษาลักษณะอาการโรคพืชที่เกิดจาก รา *Pythium* spp.

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

นอกจากนี้พบพืชที่มีลำต้นอวบ นิ่ม ในระยะต้นโต เป็นโรครากและลำต้นเน่า ที่มีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp. ได้แก่ สตรอเบอรี่ ผักสลัดแก้วและผักกาดหอม โดยเฉพาะ ผักที่ปลูกในน้ำ ได้แก่ ผักกะเฉด และผักไร้ดิน เมื่อตรวจเอกสารพบการรายงานการศึกษาสาเหตุโรคพืช ในระยะต้นโตที่มีสาเหตุจากรา *Pythium* spp. ในประเทศไทย คือ อมรรัตน์ และคณะ (2522) รายงานโรคต้นเน่าป่านศรนารายณ์ ทำให้เกิดอาการเน่าเละเป็นสีน้ำตาล อาการเริ่มที่โคนใบ แล้วเน่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แล้วใบหักพับลง ลุกลามไปยังโคนใบอื่นๆ กลางลำต้นเน่าเละ และต้นล้มไปในที่สุด มีสาเหตุจากรา *P. aphanidermatum* นอกจากนี้ สุชาติ (2541) รายงานโรคโคนต้นเน่าและลำต้นเน่า โรคราก

เน่าและโคนเน่าของมะละกอ ว่าเกิดจากรา *P. aphanidermatum* เช่นเดียวกับ พิศาล (2542) รายงานโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ โรคโคนเน่า (stem rot) ของมะละกอ จากรา *P. aphanidermatum* ทำให้โคนต้นเน่าสีน้ำตาลดำและบางครั้งมีเส้นใยสีขาวเกิดขึ้น และรายงานโรคยอดเน่า (heart rot) ของสับปะรด มีสาเหตุจากรา *Pythium* sp. นิยมรัฐ (2542) รายงานโรคผลเน่า (Fruit rot) ของมะเขือเทศ มีลักษณะช้ำเหมือนน้ำร้อนลวก แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำ มีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp. นิตยา (2545) รายงานโรคที่เกิดกับส่วนที่อยู่ใต้ดินของพืชสกุลหอมกระเทียม คือโรค Pythium seed rot and Damping – off มีสาเหตุจากรา *Pythium* sp. ทำให้ต้นกล้ามีปลายใบแห้งและยุบตายเป็นหย่อม ที่โคนต้นบริเวณคอดินมีรอยช้ำเป็นสีน้ำตาล มณฑา (2548) รายงานโรครากเน่าและโคนเน่า (root rot and basal stem rot) ของถั่วเหลือง ที่แสดงอาการเหี่ยวเฉา ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและฉ่ำน้ำ ขอบใบม้วนขึ้น ว่ามีสาเหตุจากรา *Pythium* sp. ซึ่งจะเห็นเส้นใยสีขาวหนาตรงส่วนต่อของรากกับโคนต้น

1.3 การศึกษา รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช

ผลการศึกษาตัวอย่างโรคพืช โดยวิธี tissue transplanting แล้วแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อวินิจฉัยสาเหตุโรค พบว่า ตัวอย่างโรคพืชที่นำมาศึกษาทั้ง 12 ตัวอย่าง มีสาเหตุจาก รา *Pythium* spp. แยกราได้จำนวน 16 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืชจากพื้นที่เพาะปลูกของประเทศไทย (ปีพ.ศ. 2549-2551)

ลำดับ	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
	ภาคเหนือ			
1.	นายสมศักดิ์ – นางกาญจนา สิทธิหาญ 29-1 หมู่ 2 บ้านโป่งแยงนอก ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	กะหล่ำปลีสีม่วง	กล้าเน่า	50-Py-กะหล่ำม่วง-CM 1 S-
2.	นายสมศักดิ์ – นางกาญจนา สิทธิหาญ 29-1 หมู่ 2 บ้านโป่งแยงนอก ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	มะเขือเทศ	กล้าเน่า	50-Py-To-CM 1 S-
3.	ต.สะเมิงใต้ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่	เบญจมาศ	กล้าเน่า	50-Py-เบญจมาศ-CM 1 S-
4.	ต.ม่อนปิ่น อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	สตรอแบรี่	ต้นเน่า/รากเน่า	49-Py-St-CM 1 S
5.	สถานีทดลองเกษตรหลวงปางดะ อ.สะเมิง จ. เชียงใหม่		ต้นเน่า/รากเน่า	49-Py-St-CM 2 S
6.	ต.โป่งแยง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	ผักสลัดแก้ว	โคนเน่า/รากเน่า	50-Py- ผักสลัดแก้ว-CM 1 S
7.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549 อ.แม่เหี๊ยะ จ.เชียงใหม่	ต้นขวด	รากเน่าต้นเน่า	50-Py- Bt-CM 1 S
	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ			
8.	ไร่ TSA ผลิตเมล็ดพันธุ์ อ.ภูเรือ จ.เลย	แตงกวา	ลำต้น/กล้าเน่า	49-Py-Cu-Lo 1 S
9.	บ้านมุกโค ต.หนองแม่นา อ.เขาค้อ จ. เพชรบูรณ์	หัวไชเท้า	กล้าเน่า/หัวเน่า	50-Py-หัวไชเท้า-PhB 1 R-
	ภาคกลาง			
10.	เรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ. กรุงเทพ	มะเขือเทศ	กล้าเน่า	49-Py-To-BK 1 S
11.	คลินิกพืช กรุงเทพฯ	ผักกาดหอม	ต้นเน่า	50-Py- ผักกาดหอม -BK 1 S
12.	สวนคุณมณีรัตน์ เทพบันดาลผล มีนบุรี กรุงเทพฯ	ผักไร้ดิน (ผักไฮโดรโปนิค)	ราก/ลำต้นเน่า	51 Py Hp BK 2 S
13.	คลินิกพืช กรุงเทพฯ	ผักชี	ราก/ลำต้นเน่า	51 Py ผักชี 1 S
14.	กรุงเทพ	ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -BK 1 S
15.	คลินิคพืช กรุงเทพ	ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -BK 3 S
16.	นายสมศักดิ์ สะเสือ 16/2 ม.3 ต.หนองปรือ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -SP 2 S

หมายเหตุ

[1] 49 = จำนวนเลขสองตัวแรก คือ ปี พ.ศ.ที่เก็บตัวอย่าง (49 = พ.ศ.2549)

[2] Py = ตัวอักษรสองตัวแรก คือ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคต้นเน่า กล้าเน่า

[3] Cu = ตัวอักษรสองตัวที่สอง คือ พืชอาศัยที่แยกเชื้อสาเหตุได้

[4] Lo = ตัวอักษรสองตัวที่สาม คือ จังหวัดที่เก็บตัวอย่างโรคกล้าเน่า

[5] 1 = จำนวนเลขหนึ่งตัว คือ ลำดับไอโซเลทของเชื้อสาเหตุที่แยกได้จากพืช

[6] S = ตัวอักษรหนึ่งตัวหลัง คือ ส่วนของพืชที่แยกราสาเตุได้

49-Py-Cu-Lo 1 S

= รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคที่แยกได้จากตัวอย่างโรคโคนเน่าแตงกวา จังหวัดเลย ไอโซเลทที่ 1 เก็บตัวอย่างในปี พ.ศ.2549

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

1.4 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์พืช

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

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

1.5 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

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

ตารางที่ 2 รา *Pythium* spp. แยกจากดินปลูกพืชของประเทศไทย (ปีพ.ศ. 2549-2551)

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

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

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium*

2.1 การศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (โคโลนี) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อนาน 3 วัน พบว่า ราสร้างเส้นใยบนอาหาร CA มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปสม่ำเสมอ ค่อนข้างเป็นระเบียบ ไม่ฟูมาก ลักษณะเส้นใยใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้น ผิวผนังเรียบ ราเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 2 – 3 วันและพบการเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เกิดลักษณะรูปแบบของโคโลนี (culture pattern หรือ colony pattern) คล้ายปุยฝ้าย หรือปุยสำลี หรือ เส้นไยแมงมุม (arachnoid) มีบางไอโซเลทมีรูปคล้ายดอกรักเร่

2.2 การศึกษา ลักษณะ รูปร่างและขนาดสปอร์

รา *Pythium* มีเส้นใยที่ไม่มีผนังกั้น สร้างสปอร์ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ทางเพศ (sexual spores) มีผนังหนาและสปอร์ที่เกิดแบบไม่ผสมพันธุ์ทางเพศ (asexual spores) เป็นสปอร์รูปร่างต่างๆ กัน อาจมีรูปร่างกลม หรือเป็นเส้นยาว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิด (species) สปอร์งอกเส้นใย 1-2 วัน หรืออาจสร้างสปอร์มีหางว่ายน้ำได้ ภายในถุงที่แยกออกมาจากสปอร์ (vesicle) ราพวกนี้ส่วนมากผสมทางเพศด้วยตัวของมันเอง (homothallic fungi) เกิด oospores อยู่ภายในเนื้อเยื่อของพืชที่มันเข้าทำลาย หรือบนอาหารสังเคราะห์เลี้ยงเชื้อบางชนิด บางครั้งพบ สปอร์ผนังหนา รูปร่างกลม ทำการศึกษา พบความแตกต่างของรา *Pythium* spp. หลายชนิด

3. จำแนกชนิดรา *Pythium* spp.

เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาลักษณะการเจริญเส้นใย ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ชนิดต่างๆ (sporangium, chlamydospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของรา *Pythium* spp. สาเหตุโรคกล้าเน่า โรครากเน่าต้นเน่าและราในดิน จำนวน 18 ไอโซเลท กับคู่มือการจำแนกชนิด *Pythium* ของ PLAATS-NITERINK (1981) และ เอกสารวิชาการของ Robertson (1980) พบว่าเป็นรา *Pythium* spp. จำนวน 11 ชนิด ดังนี้

P. monospermum สาเหตุโรคกล้าเน่าแตงกวา

P. vanterpoolii สาเหตุโรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง

Pythium Group G สาเหตุโรคต้นเน่าผักกะเฉด

Pythium Group HS สาเหตุโรคต้นเน่าผักกะเฉด

P. aphanidermatum สาเหตุโรคกล้าเน่ามะเขือเทศ

*P. spinosum*สาเหตุโรคต้นเน่าสตรอเบอรี่

P. rostratum สาเหตุโรคต้นเน่าสตรอเบอรี่

P. indigoferae สาเหตุโรคต้นเน่าผักชี

P. middletonii สาเหตุโรคต้นเน่าของต้นขวด

P. perplexium สาเหตุโรคต้นเน่ารากเน่าผักไร้ดิน

ดินกวางตุ้งจากเชียงใหม่และเชียงราย พบรา *P. ultimum*

ดินคะน้าทุกตัวอย่างจากสุพรรณบุรี ปทุมธานี เชียงใหม่และเชียงราย พบรา

P. aphanidermatum

สำหรับรายละเอียดของการจำแนกชนิดเชื้อจะรายงานในครั้งต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ผลการสำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรคพืช ในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ พบ โรคต้นเน่าหรือกล้าเน่าแตงกวา โรคเน่าคอดินหรือกล้าเน่ามะเขือเทศ โรคกล้าเน่า กะหล่ำปลีสีม่วง โรคกล้าเน่าเบญจมาศ โรคกล้าเน่า/หัวเน่าหัวไชเท้า (ผักกาดหวาน, ผักกาดหัว) โรคต้นเน่ารากเน่าสตรอแบรี่ โรคต้นเน่าผักกาดหอม โรคต้นเน่ารากเน่าผักสลัดแก้ว โรครากเน่าต้นเน่าต้นขวด โรคต้นเน่าจากผักกระเฉด โรคต้นเน่าผักไร้ดิน (ผักไฮโดรโปรนิค) รวมได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งหมด 16 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช ทั้งหมดจำนวน 16 ไอโซเลท จำแนกได้รา *Pythium* 11 ชนิด

ผลการเก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ตรวจไม่พบ รา *Pythium* ทุกชนิดพืช

ผลการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก ได้ตัวอย่างดินคะน้า ดินปลูกกวางตุ้งและดินปลูกสตรอแบรี่ รวมได้ตัวอย่างดิน 8 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง ได้รา *Pythium* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท จำแนกได้รา *Pythium* 2 ชนิด

รวม ได้ รา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ทั้งหมดจำนวน 24 ไอโซเลท จำแนกเป็นรา *Pythium* 11 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

G.I.Robertson. 1980. The genus *Pythium* in New Zealand. New Zealand Journal of Botany. 1980, Vol. 18:73-102.

สำรวจรวบรวมและจำแนกเชื้อราแป้งสาเหตุโรคพืช

Surveying collecting and identification of Powdery mildew

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างราแป้งของพืชชนิดต่างๆ ระหว่างตุลาคม 2550-กันยายน 2551 จำนวน 29 ไอโซเลท ได้แก่ ตำลึง จากกรุงเทพฯ 4 ไอโซเลท สตรอเบอรี่ 2 ไอโซเลท จากจังหวัดเชียงใหม่ ถั่วฝักยาว กระถินณรงค์ ตำลึง ผักชีลาว จากจังหวัดเชียงราย แค ตำลึง จากจังหวัดเชียงใหม่ โทงเทง จากจังหวัดลำปาง ถั่วเขียว พริก จากจังหวัดเพชรบูรณ์ ราแป้งถั่วลันเตา จากจังหวัดเลย เงาะจำนวน 2 ไอโซเลท เทียน จากจังหวัดจันทบุรี เงาะ 2 ไอโซเลท จากจังหวัดตราด มะม่วง จากจังหวัดพิษณุโลก เมลอน จากจังหวัดสระแก้ว เงาะที่เป็นโรคราแป้งบริเวณช่อดอกและใบ จากจังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 2 ไอโซเลท มะขาม จากจังหวัดเพชรบุรี จำนวน 2 ไอโซเลท องุ่น จากจังหวัดนครราชสีมา พบว่าราแป้งสตรอเบอรี่ สามารถจำแนกได้เป็น Oidium subgenus fibroidium sp. ราแป้งตำลึง สามารถจำแนกได้เป็น Oidium subgenus reticuloidium sp. ราแป้งพริก จำแนกได้เป็น *Oidiopsis sicula*

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ราแป้ง จัดเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เตือนใจ และคณะ (2545) รายงานว่าเชื้อราแป้ง ทำให้เกิดโรคกับไม้ผลหลายชนิด คือ มะม่วง ทุเรียน โดยราแป้งมะม่วง เกิดจากเชื้อรา *Oidium mangiferae* ราแป้งทุเรียน เกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. ลักษณ์ และคณะ (2544) รายงานว่าราแป้งของยางพารา เกิดจากเชื้อ *Oidium heveae* เข้าทำลายใบยาง โดยระยะที่เหมาะสมคือใบยางอ่อนอายุ 4-10 วัน นุชนารถ (2546) รายงานว่าโรคราแป้งสามารถเกิดกับพืชผักหลายชนิด ได้แก่ พืชตระกูลมะเขือ ตระกูลแตง ตระกูลถั่ว แครอท โดยเริ่มแรกจะเกิดเป็นผงสีขาวบนใบเป็นกลุ่มเล็กๆ ต่อมากลุ่มเส้นใยและสปอร์ที่แผลจะกระจายกว้างออกไปตามผิวใบ ใบพืชเริ่มเหลือง สปอร์ปกคลุมทั่วใบ เมื่ออาการมากขึ้นใบจะเหลืองและแห้งตาย วุฒิศักดิ์ และคณะ (2548) รายงานว่าราแป้งกุหลาบเกิดจากเชื้อรา *Oidium* sp. โดยระยะแรกผิวด้านบนของใบเป็นจุดสีแดง ต่อมาพบเส้นใยและสปอร์เป็นผงสีขาวคล้ายแป้งเกิดเป็นหย่อมๆ และขยายวงออกไป อาการรุนแรงจะพบบนก้านใบ กิ่ง ดอก ก้านดอก ใบอ่อน กลีบดอก และลำต้นทำให้ใบบิดเบี้ยวใบเหลืองและร่วง Pottorff (2006) รายงานว่าโรคราแป้งจัดเป็นโรคที่ระบาดอย่างแพร่หลาย สามารถเกิดโรคกับพืชหลายชนิด ทั้งธัญพืช ผัก ไม้ดอกไม้ประดับ ไม้ผล วัชพืช แม้กระทั่งป่าไม้ ลักษณะอาการจะคล้ายๆกัยในทุกพืช โดยเกิดเป็นผงสีขาวหรือเทาเป็นจุดหรือปื้นบนส่วนของพืช สามารถเข้าทำลายได้ทั้งใบ ต้นอ่อน ตา ดอก ผลอ่อน ถ้าเป็นกับใบรุนแรงจะทำให้ใบบิดเบี้ยวเสียรูปร่างและร่วงหล่นก่อนกำหนด ถ้าเข้าทำลายตาจะทำให้ตาไม่แตกออก มักระบาดในที่อากาศแห้ง การระบายอากาศไม่ดี ความชื้นประมาณไม่เกิน 90 เปอร์เซ็นต์ และส่วนผิวของพืชไม่เปียก พืชอวบน้ำในระยะต้นอ่อนจะอ่อนแอมากกว่าต้นแก่ ราแป้งมีความจำเพาะเจาะจงกับพืชสูง เช่นราแป้งองุ่นจะไม่เข้าทำลายไลแลค Gubler และคณะ (2006) รายงานว่าเชื้อราแป้งในองุ่น เกิดจากเชื้อรา Uncinula necator สามารถมีชีวิตในฤดูหนาวโดยอยู่ในตาของพืชและสร้าง cleistothecia ซึ่งเป็นส่วนสำคัญสำหรับการอยู่ข้ามฤดูของเชื้อ เมื่อถึงปลายฤดูร้อนต้นฤดูฝน เชื้อจะเข้าทำลายเนื้อเยื่อพืช โดย cleistothecia จะปล่อย ascospores งอกเข้าทำลายพืช ใช้เวลาประมาณ 7-10 วัน

จากที่ได้กล่าวมาข้างต้น ยังมีพืชชนิดอื่นอีกที่เป็นโรคราแป้ง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อให้ได้ทราบชนิดและข้อมูลรายละเอียดของเชื้อราดังกล่าว และได้ตัวอย่างลักษณะอาการบนชิ้นส่วนพืชที่ถูกเชื้อนี้เข้าทำลาย เพื่อนำเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืชสำหรับใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อย่างยั่งยืน และการศึกษาและวิจัยอื่นอีกหลายด้านต่อไป ซึ่งนับวันบทบาทของจุลินทรีย์จะมีความสำคัญต่อการพัฒนาประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ปากกา ถุงพลาสติกฯ
2. กล้องถ่ายภาพ
3. กล้องจุลทรรศน์
4. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น สไลด์ ปากคีบ น้ำยาเม้าท์สไลด์ ฯ
5. เอกสารอ้างอิงทั้งในและต่างประเทศ

วิธีการ

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. รวบรวมตัวอย่างโรคพืชชนิดต่างๆ เก็บข้อมูลรายละเอียด
2. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราแป้งสาเหตุโรคพืช
3. จัดจำแนกสกุล ชนิด ของเชื้อราแป้งสาเหตุโรคพืช
4. เก็บเชื้อราบริสุทธิ์ที่จำแนกได้เข้าหน่วยเก็บรักษา
5. นำตัวอย่างพืชที่แสดงอาการโรค ทำการอัดแห้งตามขั้นตอนจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช และเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์
6. ลงรายละเอียดชนิดพืช สกุล ชนิด ของเชื้อราแป้งสาเหตุโรคพืช สถานที่เก็บ ฯลฯ ตามระบบสากล

การเก็บข้อมูล

1. ทำการบันทึก สถานที่ วันที่ และชนิดของพืช / เมล็ดพืชที่เก็บตัวอย่าง และข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้อง
2. บันทึกอาการของโรค และลักษณะสัณฐานของราบนพืชอาศัย
3. บันทึกข้อมูลทางสัณฐานวิทยา
4. บันทึกภาพ / ข้อมูลภาพ ของเชื้อราแป้งสาเหตุโรคพืช

เวลาและสถานที่

แหล่งปลูกพืชในประเทศไทย และห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตุลาคม 2550 - กันยายน 2553 รวม 3 ปี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการเก็บตัวอย่างราแป้งตำลึง จากกรุงเทพฯ 4 ไอโซเลท สตรอเบอรี่ 2 ไอโซเลท จากจังหวัดเชียงใหม่ ถั่วฝักยาว กระถินณรงค์ ตำลึง ผักชีลาว จากจังหวัดเชียงราย แค ตำลึง จากจังหวัดเชียงใหม่ โทงเทง จากจังหวัดลำปาง ถั่วเขียว พริก จากจังหวัดเพชรบูรณ์ ราแป้งถั่วลันเตา จากจังหวัดเลย เงาะจำนวน 2 ไอโซเลท เทียน จากจังหวัดจันทบุรี เงาะ 2 ไอโซเลท จากจังหวัดตราด มะม่วง จากจังหวัดพิษณุโลก เมลอน จากจังหวัดสระแก้ว เงาะที่เป็นโรคราแป้งบริเวณช่อดอกและใบ จากจังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 2 ไอโซเลท มะขาม จากจังหวัดเพชรบุรี จำนวน 2 ไอโซเลท องุ่น จากจังหวัดนครราชสีมา

จากศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อการจัดจำแนกชนิด ราแป้งพบว่า ราแป้งสตรอเบอรี่ เป็นเชื้อรา Genus Oidium ที่มี Fibrisin body ใน Conidia เมื่อวัดขนาดส่วนต่างๆ สามารถจำแนกได้เป็น Oidium subgenus Fibroidium sp. ราแป้งตำลึงก็เป็น Genus Oidium แต่ไม่พบ Fibrosin body สามารถจำแนกได้เป็น Oidium subgenus Reticuloidium sp. พบว่าเทียนที่แสดงอาการคล้ายราแป้งนั้น ลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่ใช่ลักษณะของเชื้อราแป้ง โรคราแป้งเงาะ จาก จ.จันทบุรีจำนวน 2 ไอโซเลท และตราด จำนวน 2 ไอโซเลท พบว่าตัวอย่างค่อนข้างเก่าเนื่องจากเชื้อราเข้าทำลายนานแล้ว ทำให้ไม่สามารถทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ จำเป็นต้องเก็บตัวอย่างใหม่ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่างเงาะจากนครศรีธรรมราช สามารถจำแนกได้เป็น Pseudoidium sp. ตัวอย่างราแป้งในองุ่นพบว่าส่วนสัณฐานของเชื้อบางส่วนที่ใช้ในการจัดจำแนกไม่ครบถ้วน อาจเนื่องจากตัวอย่างที่เก็บได้เก่าเกินไปหรืออาจเป็นเพราะเกษตรกรมีการใช้สารเคมี จำเป็นต้องเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมในฤดูถัดไป

การสำรวจราแป้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง พบราแป้งบนต้นลูกใต้ใบ ที่จังหวัดบุรีรัมย์ แต่ปริมาณน้อยมากไม่สามารถนำตัวอย่างมาทำการจัดจำแนกเชื้อได้ จะต้องทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมต่อไป ราแป้งพริก จำแนกได้เป็น Oidiopsis sicula ซึ่งตรงกับที่ต่างประเทศรายงานไว้ว่า perfect stage คือ Leveillula taurica แต่จากการเก็บตัวอย่างยังไม่พบ perfect stage ในส่วนพืชชนิดอื่นอยู่ระหว่างการจัดจำแนก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บตัวอย่างราแป้งของพืชชนิดต่างๆ จำนวน 29 ไอโซเลท พบว่าราแป้งสตรอเบอรี่ สามารถจำแนกได้เป็น Oidium subgenus fibroidium sp. ราแป้งตำลึง สามารถจำแนกได้เป็น Oidium subgenus reticuloidium sp. ราแป้งพริก จำแนกได้เป็น Oidiopsis sicula

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ รศ.ดร. ชัยวัฒน์ โตอนันต์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ช่วยให้คำปรึกษา และการตรวจสอบการจัดจำแนกตัวอย่างราแป้งของพืชชนิดต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

เตือนใจ บุญ-หลง สุชาติ วิจิตรานนท์ แสงมณี ชิงดวง. 2545. โรคไม้ผล สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย

ลักษณ์ วงศ์หิรัญภิญโญ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และศุภชัย ลีจีรจำเนียร. 2544. คู่มือโรคพืชสวนอุตสาหกรรม. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 54 หน้า

นุชนารถ จงเลขา. 2546. คู่มือการควบคุมโรคและศัตรูต่างๆของพืชผักแบบผสมผสาน. ศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง. 164 หน้า

วุฒิศักดิ์ บุตรธนู ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และสุรภี กีรติยะอังกูร. 2548. โรคไม้ดอก. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 35-47.

Pottorff, L. P. 2006. Powdery Mildews. Available Source: http://www.ext.colostate.edu/pubs/garden/02902.html, March 24, 2006.

Gubler W. D., R. J. Smith, L. G. Varela, J. J. Stapleton, G. M. Leavitt และ A. H. Purcell. 2006. Grape Powdery Mildew. Available Source: http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r302100311.html, Reviewed 6/06, updated 6/06.

สำรวจ รวบรวม จำแนก และศึกษาพืชอาศัยของรา Sclerotium สาเหตุโรคพืช

Surveying Collecting Identification and Study on Host of Plant Pathogenic Sclerotium

สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
พรพิมล อธิปัญญาคม อภิรัชต์ สมฤทธิ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2551 จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 21 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี พระนครศรีอยุธยา ลพบุรี สุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร พิจิตร อุตรดิตถ์ ลำปาง เชียงใหม่ พะเยา ลำพูน เชียงราย ตาก แม่ฮ่องสอน นครราชสีมา ขอนแก่น เลย เพชรบูรณ์ และจันทบุรี ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมดจำนวน 16 ตัวอย่าง จากพืช 9 ชนิด ได้แก่ โรคโคนเน่าของพริก จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเฟิร์นฮาวาย จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของทานตะวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของกวนอีม จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของถั่วเหลือง จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของมะเขือเทศ จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ (Vanda) จำนวน 1 ตัวอย่าง และ โรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ (Mokara) จำนวน 1 ตัวอย่าง หลังจากนำมาแยกเชื้อ และจำแนกชนิด พบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และได้เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 16 ไอโซเลท รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งได้จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชพร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 16 ตัวอย่าง

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-29-51

คำนำ

เชื้อราสกุล Sclerotium จัดอยู่ใน Form-Class Hyphomycetes (Hyphales) Form-Order Agonomycetales (Mycelia Sterilia) Form-Family Agonomycetaceae มีหลายชนิด (species) เป็นสาเหตุโรคที่สำคัญของพืช เช่น *Sclerotium cepivorum S. rolfsii S. tuliparum S. delphinii* และ *S. wakkeri* เป็นต้น (Von,1981)

S. rolfsii เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน (soilborne) เป็นสาเหตุโรคเน่าระดับดิน (damping off) ของกล้าพืช และโรครากเน่าและโคนเน่าของพืช มีพืชอาศัยมากกว่า 500 ชนิด Farr *et. al*.(1989) รายงานว่ามีพืชมากกว่า 270 สกุล ในประเทศสหรัฐอเมริกาที่เป็นพืชอาศัยของ *S. rolfsii* พืชที่อ่อนแอต่อเชื้อรา *S. rolfsii* เช่น มันเทศ (Sweet potato) ฟักทอง (Pumpkin) ข้าวโพด (Corn) ข้าวฟ่าง (Wheat) ถั่วลิสง (Peanut) นาซีซัส (Narcissus) ไอริส (Iris) ลิเลี่ยม (Lilium) บานชื่น (Zinnia) และ เบญจมาศ (Chrysanthemum) เป็นต้น Aycock, (1966) รายงานถึงความเสียหายของผลผลิตถั่วลิสงที่ปลูกในพื้นที่ราบทางตอนใต้ของรัฐ North Carolina ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 1959 ว่ามีความเสียหาย 1-60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นมูลค่า10-20 ล้านดอลลาร์

ลักษณะของรา *S. rolfsii* คือ สร้างเส้นใยสีขาวหรือสีอ่อน มี camp connection เจริญได้รวดเร็ว และสร้าง sclerotium มีลักษณะเป็นเม็ดกลม สีน้ำตาล ประกอบด้วยเส้นใยอัดตัวกันเป็นชั้นหลายชั้น และเป็นเนื้อเยื่อแบบ pseudoparenchyma ปัจจุบันพบ perfect state จัดอยู่ใน subdivision Basidiomycotina คือ รา *Athelia rolfsii* (Barnett ,1987 ; วิจัย, 2546) สำหรับในประเทศไทยรา *S. rolfsii* เป็นสาเหตุโรคที่สำคัญของพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง โคนเน่าของมะเขือเทศ โคนเน่าของพริก เน่าคอดินของฝ้าย เน่าระดับดินของถั่วฝักยาว เน่าแห้งของกล้วยไม้ รากเน่าของเยอบีร่า ลำต้นเน่าของทานตะวัน หัวและรากเน่าของหอม กระเทียม และต้นแห้งของข้าวบาร์เลย์

ในด้านการศึกษาการจัดจำแนกชนิด การศึกษาพืชอาศัย และรวบรวมราสกุล Sclerotium ยังมีผู้ทำไม่มากนัก และไม่มีการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งโรคราสนิมเข้าสู่พิพิธภัณฑ์ รวมทั้งการเก็บข้อมูลตัวอย่างแห้งยังไม่เป็นระบบสากล ดังนั้นจึงควรที่จะศึกษาเพื่อให้ทราบชนิด (species) ของราสกุล Sclerotium สาเหตุโรคพืช พืชอาศัย และแหล่งแพร่ระบาด รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคของพืชชนิดต่างๆที่เกิดจากราสกุล Sclerotium เพื่อเก็บรวบรวมในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ซึ่งข้อมูลจากการศึกษา สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการศึกษาด้านอารักขาพืช และ เป็นประโยชน์สำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขบวนการนำเข้า ส่งออกพืชผลเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* spp.จากแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย ระหว่างพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2551
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ กล่องเก็บความเย็น ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล
3. แผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืช กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์
4.วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์
5. สารเคมี ได้แก่ lactophenol และ oil immersion
6. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA)
7. กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกล้องถ่ายภาพ และฟิล์ม
8. ตำราสำหรับใช้ในการจัดจำแนกรา *Sclerotium* spp.

วิธีการ

1. สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืช

สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคซึ่งคาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* spp.จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ระหว่างพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2551 โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรค ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค บรรจุห่อตัวอย่างโรคพืชลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Sclerotium* spp.

2.1 แยกเชื้อรา และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

<u>แยกเชื้อราโดยตรง</u>

แยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อเชื้อราสร้าง fruiting body ใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อรามาวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

2.2 พิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate

นำเชื้อรา *Sclerotium* spp.บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน จากนั้นใช้ cork boror ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวุ้นอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อรา นำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกเชื้อด้วยชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค เมื่อพืชเป็นโรคนำส่วนที่แสดงอาการเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ตรวจดู เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคอีกครั้ง

2.3. การจำแนกชนิดรา *Sclerotium* spp.

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา

ศึกษาลักษณะของเชื้อ *Sclerotium* spp โดยเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน ตรวจดูลักษณะโคโลนีของเชื้อ จากนั้นเขี่ยเส้นใย หรือโครงสร้างต่างๆ ลงบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยด lactophenol ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ตรวจดูลักษณะทางสัณฐานของเส้นใย การสร้าง camp connection และโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ด้วยกำลังขยาย 400 และ1,000 เท่า วัดขนาดเส้นใย และโครงสร้างอื่นๆที่สำคัญ โดยใช้ calibrated micrometer ส่วนการวัดขนาด sclerotium ทำโดยเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน แล้วสุ่มวัดขนาด sclerotium จำนวน 50 เม็ด บันทึกลักษณะทางสัณฐานของเส้นใย ขนาด รูปร่าง สี และลักษณะผิวของเม็ด sclerotium แล้วบันทึกภาพ จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของขนาดเม็ด sclerotium และโครงสร้างของราที่วัดขนาดไว้

จัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Sclerotium* spp.สาเหตุโรคพืช

โดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Sclerotium* spp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรา *Sclerotium* spp.

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้เก็บรักษาไว้ 3 วิธี คือเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ใส่ในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส และอีกส่วนหนึ่งเก็บเป็นตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ตัวอย่างโรคพืชที่เก็บมาได้ ส่วนหนึ่งนำมาจัดทำตัวอย่างแห้ง โดยตัดส่วนของพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค วางบนกระดาษฟาง พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช แล้วปิดทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ อัดทับด้วยแผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืช นำไปวางผึ่งลม ไม่ให้ถูกแดด เปลี่ยนกระดาษทุกวัน จนกระทั่งตัวอย่างพืชแห้ง จึงนำมาเก็บในถุงกระดาษสำหรับเก็บตัวอย่างแห้ง พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่างตามระบบสากล (Anonymous, 2005) ได้แก่ ชื่อพืช ลักษณะอาการโรค สถานที่เก็บ ชนิดของราสาเหตุโรคพืช วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และชื่อผู้จัดจำแนกชนิดรา เป็นต้น แล้วส่งเก็บในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืช

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2551 จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 21 จังหวัด ได้แก่ กาญจนบุรี พระนครศรีอยุธยา ลพบุรี สุพรรณบุรี ราชบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร พิจิตร อุตรดิตถ์ ลำปาง เชียงใหม่ พะเยา ลำพูน เชียงราย ตาก แม่ฮ่องสอน นครราชสีมา ขอนแก่น เลย เพชรบูรณ์ และจันทบุรี ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมดจำนวน 16 ตัวอย่าง จากพืช 9 ชนิด ได้แก่ ตัวอย่างโรคโคนเน่าของพริก มีอาการเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเฟิร์นฮาวาย มีอาการเหี่ยว ต้นแห้ง ที่โคนต้น และรากพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 2 ตัวอย่าง ทานตะวัน มีอาการต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของกวนอีม มีอาการใบและกาบใบแห้ง พบเส้นใยสี

ขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง มีอาการต้นเหี่ยว ที่ฝักโคนต้น และราก พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของถั่วเหลือง มีอาการต้นเหี่ยว โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของมะเขือเทศ มีอาการต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และเม็ด sclerotium ของเชื้อรา จำนวน 2 ตัวอย่าง และโรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ Vanda และ Mokara มีอาการโคนต้น ใบ และรากแห้ง บริเวณโคนต้น โคนใบ และรากพบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้ม ของเชื้อรา จำนวน 2 ตัวอย่าง (ตารางที่1)

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Sclerotium* spp.

2.1 แยกเชื้อรา และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

แยกเชื้อรา *Sclerotium* sp.บริสุทธิ์ ได้ทั้งหมด 16 ไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาต่อไป

2.2 พิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate

นำเชื้อรา *Sclerotium* spp.บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน แล้วนำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม พบว่าพืชแสดงอาการโรค และเมื่อนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุตามวิธีการ Koch's postulate พบว่าเชื้อรา *Sclerotium* sp ทั้ง16 ไอโซเลท เป็นสาเหตุโรคพืช

2.3. จำแนกชนิดรา *Sclerotium* spp.

นำเชื้อรา *Sclerotium* sp.ที่รวบรวมได้ มาศึกษาลักษณะทางสัณฐาน โดยศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA และ ลักษณะ ขนาด สี ของเส้นใย สปอร์ และ fruiting body ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้ผลดังนี้

โคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA อายุ 1 วัน มีสีขาว การเจริญสม่ำเสมอ เส้นใยสีขาวฟู มีขนาดกว้าง 2-5 ไมครอน ไม่พบการสร้างสปอร์ แต่จะเริ่มสร้าง sclerotium เมื่อเส้นใยเจริญเต็มผิวหน้าอาหาร และจะสร้างหนาแน่น ตั้งแต่บริเวณขอบโคโลนีเข้ามา 1 เซ็นติเมตร ส่วนบริเวณกลางโคโลนีสร้างเพียงเล็กน้อย เมื่อรามีอายุ 15 วัน เม็ด sclerotium มีขนาด 0.8-1 มิลลิเมตร เส้นใยของเชื้อรามีผนังบาง ไม่มีสี มีผนังกั้นตามขวาง มีการสร้าง clamp connection

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของรา *Sclerotium* sp. ที่รวบรวมได้ ทั้ง 16 ไอโซเลท เปรียบเทียบลักษณะของรา *Sclerotium* spp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรา *Sclerotium* spp. จำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. (ตารางที่ 1)

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ที่แยกได้ทั้ง 16 ไอโซเลท เก็บเข้าศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของกลุ่มวิจัยโรคพืช โดยเก็บไว้ 3 วิธี คือ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ใส่ในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส และอีกส่วนหนึ่งเก็บเป็นตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ได้จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เกิดจากรา *Sclerotium rolfsii* เพื่อส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช จำนวน 16 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2551 จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 21 จังหวัด ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมดจำนวน 16 ตัวอย่าง จากพืช 9 ชนิด เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา เพื่อจำแนกชนิด พบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และได้เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 16 ไอโซเลท รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชพร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 16 ตัวอย่าง เชื้อรา *S. rolfsii* ที่รวบรวมได้จะนำไปศึกษาพืชอาศัยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. จามจุรี โปรดักส์, กรุงเทพฯ. 351 หน้า

Aycock, R. 1966. Stem Rot and Other Diseases Caused by *Sclerotium rolfsii*. Tech. Bul. No. 174. North Carolina Agr. Exp. Sta. 202 pp.

Barnett, H.L. and B. B. Hunter. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3rd Ed., The American Phytopathological Society,.Minnesota. 218 pp.

Farr, D.F., G.F. Bills, G.P. Chamuris, and A.Y. Rossman. 1989. Fungi on Plants and Plant Products in the United States. American Phytopathological Society., St. Paul, Minnesota.

Von ARX, J.A.. 1981. The Gennera of Fungi Sporulating in Pure Culture. 3rd Revised Ed., J. cramer, Kommandit Gesellschaft, Germany. 422 pp.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดพืช เชื้อสาเหตุ ลักษณะอาการ แหล่งที่พบ และจำนวนตัวอย่างโรคพืชที่ได้จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* spp. ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึง กันยายน 2550

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
1	พริก	*Sclerotium rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	ศวส.พิจิตร อ.โพธิ์ประทับช้าง จ.พิจิตร	3
	พริก	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ.เมือง จ.ขอนแก่น	2
2	เฟิร์นฮาวาย	*S. rolfsii*	เหี่ยว ต้นแห้ง ที่โคนต้น และรากพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	2
3	ทานตะวัน	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	เทคโนโลยีราชมงคลจันทบุรี	1
4	กวนอีมเขียว	*S. rolfsii*	ใบและกาบใบแห้ง พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	ต.โป่งผา อ.แม่สาย จ.เชียงราย.	1
5	ถั่วลิสง	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่ฝัก โคนต้น และราก พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	2
6	ถั่วเหลือง	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	จ.ขอนแก่น	1
7	มะเขือเทศ	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และเม็ด sclerotium ของเชื้อรา	จ.พระนครศรีอยุธยา	1
	มะเขือเทศ	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และเม็ด sclerotium ของเชื้อรา	อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	1
8	กล้วยไม้ (Mokara)	*S. rolfsii*	ใบ โคนต้น และรากแห้ง บริเวณโคนต้น โคนใบ และรากพบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้ม ของเชื้อรา	อ.กระทุ่มแบน จ.สมุทรสาคร	1
9	กล้วยไม้ (Vanda)	*S. rolfsii*	ใบเหลืองเหี่ยว ที่โคนใบพบเส้นใยสีขาวของเชื้อรา ใบที่แห้งจะหลุดร่วง รากแห้ง และพบเม็ด sclerotium ที่ใบแห้ง	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	1

สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล Macrophomina สาเหตุโรคของพืชไร่เศรษฐกิจ

Surveying, Collecting and Identification of *Macrophomina* sp. in Economic Crops

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พรพิมล อธิปัญญาคม
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชเป็นโรคที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Macrophomina* sp. ในแปลงปลูกพืชเศรษฐกิจบางพื้นที่ในเขตจังหวัดภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน และภาคเหนือในระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – สิงหาคม 2551 ได้ตัวอย่างพืชเป็นโรค 8 ชนิดจำนวน 15 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธี Tissue transplanting technique และเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการทดลองสามารถจำแนกเชื้อสาเหตุโรคได้เป็นเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* โดยเส้นผ่าศูนย์กลาง sclerotia และ pycnidia บนพืชมีขนาดเฉลี่ย 69.28(±12.53) และ 83.76(±19.93) ไมครอน ตามลำดับ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง sclerotia บนอาหาร 71.70(±14.19) ไมครอน และ conidia ถูกสร้างอยู่ใน pycnidia เท่านั้นไม่สร้างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีขนาดเฉลี่ย 6.25(±1.13) x 12.72(±2.08) ไมครอน

คำนำ

เชื้อราในสกุล *Macrophomina* sp. มีเชื้อราเพียงชนิดเดียวคือ *Macrophomina phaseolina* (Dhingra and Sinclair, 1972) เป็นสาเหตุของโรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal rot หรือ Ashy stem rot เป็นโรคทางลำต้นที่สำคัญโรคหนึ่งมีพืชอาศัยมากกว่า 500 ชนิด (Mehan and McDonald, 1997) ทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชในกลุ่มพืชไร่เศรษฐกิจ เช่น ข้าวฟ่าง (Frederiksen, 1986) ทานตะวัน (Suriachandrasel Van *et al*., 2005) ข้าวโพด ถั่วเหลือง (Short *et al*., 1980) และถั่วเขียว งา (Farr *et al*., 1989) นอกจากนี้ยังพบการระบาดใน

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-30-51

พืชชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิด อาทิเช่น สตรอเบอร์รี่ (Mertely *et al*., 2005) มันฝรั่ง หอม และเบญจมาศ (Farr *et al*., 1989) เป็นต้น เชื้อราชนิดนี้ทำลายระบบท่อน้ำท่ออาหารของพืชและเปลี่ยนภายในลำต้นพืชเป็นสีน้ำตาลไหม้ถึงดำ สภาพแวดล้อมที่ร้อนและแห้งเป็นปัจจัยหนึ่งที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค (Cook *et al*., 1973) และโรคจะระบาดมากขึ้นเมื่อมีการปลูกพืชชนิดเดิมซ้ำในพื้นที่ที่มีประวัติการระบาดของโรค เนื่องจาก *M. phaseolina* สามารถอยู่ข้างฤดูได้ในรูป sclerotia ในเศษซากพืชในดิน (Short *et al*., 1980) และลำต้นพืชจากปีที่ผ่านมา ทำให้ความรุนแรงของโรคเพิ่มมากขึ้น (Summer *et al*., 1995) ในประเทศไทยมีรายงานการระบาดของโรคกับข้าวโพด ถั่วเหลือง และข้าวฟ่าง (พัฒนา และคณะ, 2542) การเกิดโรคของพืชที่มีรายงานไว้แต่เดิมอาจเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากหลายสาเหตุอาทิเช่นสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม การปฏิบัติของเกษตรกร หรือจากความต้านทานของพืชเอง

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจ รวบรวมพืชอาศัยที่เป็นพืชเศรษฐกิจของเชื้อราสาเหตุ *M. phaseolina* สาเหตุโรคลำต้นเน่าดำและพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของโรคในประเทศไทยสำหรับเป็นข้อมูลเบื้องต้น ในการศึกษาการป้องกันกำจัดโรคอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างพืชเป็นโรค Charcoal rot
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA)
3. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการและกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound และชนิด stereo
4. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

1. การแยกเชื้อสาเหตุ

เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำจากพื้นที่ปลูกในเขตภาคต่างๆ ของประเทศในช่วงระหว่างเดือนมกราคม – สิงหาคม 2551 บันทึกลักษณะอาการที่พบในแปลง และนำตัวอย่างมาแยกหาเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี Tissue transplanting technique โดยตัดลำต้นพืชและตัดเนื้อเยื่อท่อน้ำท่ออาหารบริเวณที่พบเม็ด sclerotia สีดำให้มีความยาวประมาณ 1.0 เซนติเมตร นำมาฆ่าเชื้อด้วยการแช่ในคลอร๊อกซ์ (clorox) 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3-5 นาทีและ ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้งเพื่อล้างคลอร๊อกซ์ที่ยังตกค้างอยู่ที่ผิวพืชออก แยกเม็ด sclerotia เดี่ยวเหล่านั้นวางบนอาหาร

water agar (WA) บ่มเชื้อไว้ 3-4 วันที่อุณหภูมิห้อง (25±2°C) จนเชื้อราสร้างเส้นใย ใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญ และย้ายเส้นใยเชื้อราไปเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนเชื้อราสร้างโคโลนี บันทึกลักษณะและสี

2. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

การตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราจากเนื้อเยื่อพืชที่แสดงอาการโรคและเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยตัดชิ้นส่วนพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำบริเวณลำต้นที่พบเม็ดสีดำขนาดยาว 0.5-1 เซนติเมตรวางบนแผ่นสไลด์ หยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อที่ชิ้นส่วนพืช ปิดทับด้วยแผ่น cover slip นำแผ่นสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่างลักษณะและวัดขนาดเม็ดสีดำที่พบ ก่อนใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมกดทับเม็ดสีดำที่อยู่ใต้แผ่น cover slip เบาๆ เพื่อให้เม็ดสีดำแตกและ conidia ที่อยู่ภายในหลุดออกมา ก่อนนำแผ่นสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่างลักษณะและวัดขนาดของ conidia การศึกษา sclerotia บนอาหารจะใช้เข็มเขี่ยปลายแหลมตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่มีเชื้อราสาเหตุโรคเจริญอยู่ วางบนแผ่นสไลด์ หยดน้ำยา Shear's mounting solution (ภาคผนวก 1) ที่ชิ้นวุ้นนั้น ปิดทับด้วยแผ่น cover slip นำแผ่นสไลด์ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่างลักษณะและขนาด sclerotia ของเชื้อราสาเหตุโรค ก่อนส่งตัวอย่างแห้งเข้าเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช และตัวอย่างเชื้อเข้าเก็บรักษาใน culture collection

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2552

พื้นที่ปลูกพืชในภาคต่างๆ ของประเทศ

ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อสาเหตุ

ผลการสำรวจพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจในเขต 18 จังหวัดของภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำจากจังหวัดในเขตภาคเหนือคือ ตาก สุโขทัย และเพชรบูรณ์ ภาคกลางคือ ชัยนาท และสุพรรณบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือคือ สกลนคร ได้จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 15 ตัวอย่างจากพืชอาศัย 8 ชนิด คือ กระเจี๊ยบแดง จำนวน 1 ตัวอย่าง แกลดิโอลัส จำนวน 1 ตัวอย่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จำนวน 1 ตัวอย่าง ข้าวฟ่างหวาน

จำนวน 1 ตัวอย่าง ถั่วเขียว จำนวน 7 ตัวอย่าง ถั่วเหลือง จำนวน 2 ตัวอย่าง ทานตะวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง และหมากประดับ (หมากเหลือง) จำนวน 1 ตัวอย่าง

อาการโรคลำต้นเน่าดำในตัวอย่างพืช จะปรากฏให้เห็นโดยในระยะแรกแผลจะมีลักษณะเป็นรอยฉ่ำน้ำ สีน้ำตาล ต่อมาเมื่อแผลลุกลามขยายไปตามลำต้น ต้นพืชจะล้มเนื่องจากท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลาย เปลือกลำต้นและรากล่อนหลุดลอกง่าย พบกลุ่มผงสีดำขนาดเล็กคล้ายผงถ่านบริเวณผิวเปลือกด้านในที่หลุดล่อน ผิวด้านในของลำต้นที่อยู่เหนือดินและรากพืชใต้ดิน ต้นพืชที่มีอาการรุนแรงเมื่อตัดทางขวางจะพบส่วนกลางต้นกลวง และกลุ่มของท่อน้ำท่ออาหารแตกยุ่ยเป็นเส้น ผงสีดำคล้ายผงถ่านดังกล่าวคือ pycnidia ซึ่งมี conidia อยู่ภายในและ sclerotia ที่เชื้อสาเหตุโรคสร้างขึ้นเพื่อใช้อยู่ข้ามฤดู โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เริ่มแรกเป็นสีขาวต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเทาดำ และสีดำ เมื่อโคโลนีอายุมากจะเปลี่ยนเป็นสีดำทั้งหมด เส้นใยขึ้นฟู พบการสร้าง sclerotia เป็นเม็ดสีดำขนาดเล็กจำนวนมากในอาหาร ซึ่ง Sutton (1980) และ Watanabe (2002) รายงานว่าเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* เป็นสาเหตุโรค Charcoal rot และ Ashy stem rot โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีดำ และสร้าง sclerotia เป็นเม็ดสีดำขนาดเล็กทั้งบนอาหารและบนพืช conidia สร้างอยู่เฉพาะใน pycnidia ไม่สร้างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *M. phaseolina* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าผงสีดำขนาดเล็กบนพืชคือ sclerotia และ pycnidia โดย sclerotia เป็นกลุ่มเส้นใยที่มาเกาะรวมตัวกันจนเห็นเป็นก้อน มีลักษณะค่อนข้างกลม ผนังหนา สีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลดำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยรวมของ sclerotia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 15 ไอโซเลทที่เก็บรวบรวมได้คือ 69.28($\pm$12.53) ไมครอน เป็นขนาดที่ตรงกับ Sutton (1980) รายงานไว้คือ 50-300 ไมครอน

pycnidia มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลดำ และมีลักษณะค่อนข้างกลมคล้าย sclerotia ต่างกันตรงที่ pycnidia มีช่องเปิดเรียกว่า ostioles ปรากฏออกมาจากผิวเล็กน้อย และมีขนาดใหญ่กว่า sclerotia ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยรวมของ pycnidia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 15 ไอโซเลทคือ 83.76($\pm$19.93) ไมครอน มีขนาดเล็กกว่าขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 130-230 ไมครอน

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีดำ เส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้น พบ sclerotia สีน้ำตาลดำจำนวนมากถูกสร้างอยู่ระหว่างเส้นใย ลักษณะค่อนข้างกลมถึงยาวรี (ellipsoid to oboviod) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยรวมของ sclerotia บนอาหารจากเชื้อรา *M. phaseolina* 15 ไอโซเลทมีขนาดใกล้เคียงกับ sclerotia ที่เชื้อราสร้างบนพืชคือ 71.70($\pm$14.19) ไมครอน และเป็นขนาดที่ตรงกับ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 60-120 ไมครอน

conidia เป็นเซลเดี่ยว (1–celled conidia) ใสไม่มีสี ถูกสร้างอยู่เฉพาะใน pycnidia ไม่สร้างบนอาหาร ขนาดเฉลี่ยรวมของ conidia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 15 ไอโซเลทคือ 6.25(±1.13) x 12.72(±2.08) ไมครอน และมีขนาดใกล้เคียงกับขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 14-35 x 6-11.5 ไมครอน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวบและรวมรวมตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal rot ที่มีเชื้อราในสกุล *Macrophomina* เป็นเชื้อสาเหตุ ในพื้นที่ปลูกพืชทั่วประเทศระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – สิงหาคม 2551 ได้ตัวอย่างพืชเป็นโรคจำนวน 15 ตัวอย่าง แยกตามชนิดพืชอาศัยได้เป็น 8 ชนิด คือ กระเจี๊ยบแดง 1 ตัวอย่าง แกลดิโอลัส 1 ตัวอย่าง ข้าวฟ่างหวาน 1 ตัวอย่าง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1 ตัวอย่าง ถั่วเขียว 7 ตัวอย่าง ถั่วเหลือง 2 ตัวอย่าง ทานตะวัน 1 ตัวอย่าง และ หมากเหลือง หรือหมากประดับ 1 ตัวอย่าง และจำแนกราสาเหตุโรคได้เป็น *Macrophomina phaseolina* โคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเทาดำ เส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใสไม่มีสี พบการสร้าง pycnidia และ sclerotia บนเนื้อเยื่อพืช และสร้าง conidia อยู่ภายใน pycnidia บนอาหารพบเฉพาะการสร้าง sclerotia ไม่พบการสร้าง conidia

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และอุบล คือประโคน. 2542. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 3. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 284 หน้า.

Cook,G.E., M.G. Boosalis, L.D. Dunkle, and G.N. Odvody. 1973. Survival of *Macrophomina phaseolina* in corn and sorghum stalk residue. Plant Dis. Reptr. 57:873-875.

Dhingra, O.D., and J.B. Sinclair. 1972. Variation among isolates of *Macrophomina phaseolina* (*Rhizoctonia bataticola*) from the same soybean plant. Phytophatology 62:S1108. (Abstract)

Farr, D.F., G.F. Bills, G.P. Chamuris and A.Y. Rossman. 1989. Fungi on Plants and Plant Products in the United State. APS Press, St. Paul, MN. USA. 1252 pp.

Frederiksen, R.A. 1986. Compendium of Sorghum Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. USA. 82 pp.

Mehan, V. K., and D. McDonald. 1997. Charcoal Rot. *In* Compendium of Peanut Diseases, 2nd ed. N. Kokalis-Burelle *et al*. eds. APS Press. St. Paul, MN. USA. 94 pp.

Mertly, J., T. Seijo and N. Peres. 2005. First report of *Macrophomina phaseolina* causing a crown rot of strawberry in Florida. Plant Diseases 89: 434.

Short, G.E., T.D. Wyllie and P.W. Bristow. 1980. Survival of *Macrophomina phaseolina* in soil and in residue of soybean. Phytopathology 70:13-17.

Summer, D.R., C.C. Dowler, A.W. Hohnson and S.H. Baker. 1995. Conservation tillage and seedling diseases in cotton and soybean double-cropped with triticale. Plant Dis. 79:372-375.

Suriachandrasel Van, M., K.E.A. Aiyyanathan and R. Vimala. 2005. Host range and cross inoculation studies on *Macrophomina phaseolina* from sunflower. Madras Agric. J. 92(4-6) : 238-240.

Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes : Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acevuli and Stromata. Commonwealth Mycological Institute, London, UK. 696 pp.

Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi : Morphologies of Cultured Fungi and Key to Specids. 2nd ed. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 486 pp.

สำรวจ รวบรวม จำแนกและประเมินความรุนแรงแบคทีเรีย สกุล Xanthomonad สาเหตุโรคของพืชผัก

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
เพลินพิศ สงสังข์ วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจการเกิดโรคใบเน่าดำในพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 พบการเกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรีย 2 แบบ คือ ลักษณะอาการแผลไหม้เป็นรูปตัววีจากขอบใบและแผลไหม้เป็นสีน้ำตาลจากกลางใบลามมาที่ขอบใบมีวงสีเหลืองล้อมรอบ ซึ่งเป็นอาการขอบโรคเน่าดำหรือขอบใบทอง และพบการเกิดโรคอาการใหม่คืออาการแผลจุดเล็กขนาด 1-3 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลแห้งลุกลามติดกันพบลักษณะแผลจุดเป็นสะเก็ดนูนดำ ทั้งสองอาการพบระบาดและรุนแรงในช่วงอาการร้อนฝนชุก จากการแยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์อาการทั้งสองแบบ ได้แบคทีเรียลักษณะโคโลนีสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม รูปร่างกลมนูนเยิ้ม ผิวมันขอบเรียบบนอาหาร Nutrient glucose agar และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar ซึ่งเป็นลักษณะของแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* เกิดปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ จากการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมี พบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างเมือก ย่อยเจลาติน ย่อยแป้ง ไอโซเลท P233 (แผลไหม้)ให้ผลออกซิเดสลบ แคตตาเลสบวก (weak positive) และ P254 (แผลจุด)ออกซิเดสและแคตตาเลสบวก ทั้งสองไอโซเลทไม่สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ซูโครส และแลคโตส ไม่สร้างก๊าซไดไฮโดรเจนซัลไฟล์จากเฟอรัสซัลเฟต พืชอาศัยที่พบการเกิดโรคขอบใบทอง ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ คะน้า และผักกาดขาว พืชอาศัยที่พบอาการแผลจุด คือ คะน้า และกะหล่ำดอก

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-31-51

คำนำ

แบคทีเรียในกลุ่ม *Xanthomonas* เป็นกลุ่มที่มีพืชอาศัยกว้างมากกว่า 66 สกุล ในตระกูลของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และมากกว่า 160 สกุล ใน 49 ตระกูลของพืชใบเลี้ยงคู่ (Lyons et al. 1984) โดย *X. campestris* เดิมแบ่งออกเป็น 123 pathovars ตามความจำเพาะในการก่อให้เกิดโรคของพืช (Dye et al. 1980) แต่ต่อมามีการจัดจำแนกแบคทีเรียโดยการจับคู่กันของดีเอ็นเอ DNA-DNA hybridization โดยจัดให้ *X. campestirs* คือ *X. campestris* pv.*campestris* และประกอบด้วย 5 pathovars ที่เป็นสาเหตุโรคพืชของ cruciferous ได้แก่ pvs. *Aberrans, armoraciae, barbareae, incanae* และ *pv. raphani* (Vauterin et al. 1995) ในปี 2001 Vicente et al. ได้ศึกษาการเข้าทำลายพืชในกลุ่ม cruciferous โดยพบว่านอกจาก *X. campestris* pv. *campestris* ยังมีอีก 4 pathovars ได้แก่ *X. campestris* pvs. *aberrans, raphani, armoraciae* และ *pv. incanae*) โดยในการจัดจำแนกกลุ่มของ *X. campestris* pv. *campestris* แบ่งตามเข้าทำลายพืช differential hosts ได้เป็น 5 (Kamoun et al.1992) และ 6 race (Vicente et al. 2001) การศึกษาโรคใบจุดแบคทีเรียของพืชตระกูลกะหล่ำ (crucifers) ที่รัฐโอกาโฮมา ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยการเปรียบเทียบการเกิดโรคและลักษณะอื่น กับ pv. *campestris* จากการศึกษาการเข้าทำลาย ทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอน (Biolog test) และศึกษาเปรียบเทียบกลุ่มของเชื้อโดยลักษณะพันธุกรรมด้วย BOXA1R primers สรุปว่าอาการโรคใบจุดแบคทีเรียเกิดจาก *X. campestris* pv. *armoraciae* (Zhao et al. 2000) การศึกษาโรคแบคทีเรียชนิดใหม่ของพืชตระกูลกะหล่ำที่ประเทศญี่ปุ่น พืชแสดงอาการใบจุดช้ำ แบคทีเรียสามารถทำให้เกิดอาการโรคบนใบมะเขือเทศ physalis แตงกวาและฟักทอง จากการศึกษาคุณสมบัติต่างๆ จำแนกชนิดเป็น *X. campestris* pv. *raphani* (Tanura et al. 1994)

ในประเทศไทยแบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* เป็นสาเหตุโรคที่สำคัญของพืชผัก โดยเฉพาะ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* ที่เป็นสาเหตุโรคเน่าดำ หรือโรคขอบใบทอง (Black rot) ในกะหล่ำและผักกาดต่างๆ มีรายงานการเกิดโรคในพืชชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กะหล่ำ กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ กะหล่ำปม กะหล่ำปลี คะน้า ผักกาดขาวปลี ผักกาดหางหงส์ ผักกาดฮ่องเต้ ผักกาดขาวกวางตุ้ง ผักกาดเขียวกวางตุ้ง ผักกาดเขียวปลี และผักกาดหัว (พัฒนา สนธิรัตน และคณะ, 2537) ซึ่งมีรายงานพบการระบาดทั่วไป และสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์ ทำให้มีการระบาดไปสู่พื้นที่ใหม่ (ศศิธร วุฒิวณิชย์, 2545) การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจการเกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรียสกุล *Xanthomonas* ในพืชผักตระกูลกะหล่ำและผักกาด สำรวจการเกิดโรคอาการใหม่ ๆ การแพร่ระบาด และจำแนกชนิดของเชื้อเพื่อเป็นข้อมูลในการกักกันพืชและการจัดการพืชต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจ รวมรวม จำแนกอาการโรคใบไหม้และใบจุด และการแยกเชื้อเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

สำรวจโรค เก็บตัวอย่างอาการใบไหม้ ใบจุด ของพืชตระกูลกะหล่ำ และผักกาด จากแหล่งปลูกของเกษตรกร บันทึกข้อมูลชื่อที่อยู่ของเกษตรกร พื้นที่ปลูก ปัญหาและการดูแลจัดการโรคในสวน บันทึกภาพอาการผิดปกติ บันทึกแหล่งสำรวจ จำแนกลักษณะอาการผิดปกติของพืช เก็บตัวอย่างอาการโรค ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ และเก็บใส่ในถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่ง นำตัวอย่างเข้าห้องปฏิบัติการเพื่อการแยกเชื้อต่อไป

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

เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อ 1 ลูปเต็มละลายในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง เก็บเชื้อบนอาหารเอียงเททับด้วยพาราฟินเหลว และส่งเชื้อเข้า culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช

2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีบางประการของแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris*

ศึกษาลักษณะโคโลนี และการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NGA, YDC และ SX agar (Shaad และ White, 1974) SA agar, Tween agar ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการ ได้แก่ การย่อยเจลาติน และย่อยแป้ง ปฏิกิริยาคะตาเลส การรีดิวซ์ไนเตรท การสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโตส ทรีฮาโลส ฟรุคโตส มอลโตส ไซโลส ไรโบส ราฟฟิโนส แมนโนส และแมนนิทอล (Krieg และ Holt, 1984; Schaad และคณะ, 2001) และทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอน 95 ชนิด (Biolog test)

3. **จำแนกเชื้อโดยคุณสมบัติการใช้คาร์บอนของแบคทีเรีย**

ทดสอบการใช้คาร์บอน เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแผลไหม้ (ไอโซเลท P233) และแบคทีเรียสาเหตุโรคแผลจุด (P254) ใช้ลูปฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยวมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร BUG™ Agar (Biolog, Inc.) บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อในสารละลาย Inculation fluid (0.4% NaCl, 0.03% Pluronic F-68 และ 0.02% gellan gum) ที่มี 5 mM Sodium thioglycolate วัดค่าแสงส่องผ่าน (transmittance, T) 63% ด้วยเครื่อง Biolog® turbidimetor นำเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียเติมลงใน Biolog® Microplate ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ต่อหลุม บ่ม plate ที่ทดสอบที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-24 ชั่วโมง อ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Micolog™ System ที่ค่าดูดกลืนแสง ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร วิเคราะห์รูปแบบการใช้แหล่งคาร์บอน โดยนำค่าการใช้แหล่งคาร์บอนที่ให้ผลเป็นบวกหรือลบมาวิเคราะห์ด้วย Simple matching หาความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด ด้วยวิธีทางสถิติแบบ Principal Component Analysis

4. **พิสูจน์การก่อให้เกิดโรค และประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ**

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค บนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ ปรับให้มีความเข้มข้นเชื้อประมาณ 2 x 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อบนต้นผักคะน้าที่เพาะและย้ายกล้าลงกระถาง มีใบประมาณ 3-4 ใบ ปลูกเชื้อด้วยการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อผสมผงคาร์บอแรนดัม 5 กระถางต่อซ้ำ และใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเป็นการทดลองควบคุม จากนั้นเก็บต้นพืชทดลองที่ปลูกเชื้อ ในถุงพลาสติกพ่นน้ำให้ความชื้น 24 ชั่วโมง บันทึกลักษณะอาการ ระยะเวลาการเกิดโรค การพัฒนาอาการโรค จากนั้นนำตัวอย่างที่แสดงอาการโรค นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันการเป็นเชื้อสาเหตุโรค ตามวิธี Koch's postulation

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2550 – กันยายน 2551

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช แปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาดของเกษตรกร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ รวมรวม และจำแนกอาการโรค

สำรวจการเกิดโรคในแหล่งปลูกผัก จ. กาญจนบุรี จ. ราชบุรี จ. เพชรบุรี จ. เพชรบูรณ์ และ จ.เชียงใหม่ พบการเกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรีย 2 แบบ คือ ลักษณะอาการแผลไหม้เป็นรูปตัววีจากขอบใบและแผลไหม้เป็นสีน้ำตาลจากกลางใบลามมาที่ขอบใบมีวงสีเหลืองล้อมรอบ ซึ่งเป็นอาการขอบโรคเน่าดำหรือขอบใบทอง (ภาพที่ 1ก) และพบการเกิดโรคอาการใหม่คืออาการแผลจุดเล็กขนาด 1-3 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลแห้งลุกลามติดกันพบลักษณะแผลจุดเป็นสะเก็ดนูนดำ (ภาพที่ 1ข) ทั้งสองอาการพบระบาดและรุนแรงในช่วงอาการร้อนฝนชุก

พืชอาศัยที่พบการเกิดโรคขอบใบทอง ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ คะน้า จากการรายงานการเกิดโรคเน่าดำในประเทศไทยพบในพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กะหล่ำ กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ กะหล่ำปม กะหล่ำปลี คะน้า ผักกาดขาวปลี ผักกาดหางหงส์ ผักกาดฮ่องเต้ ผักกาดขาวกวางตุ้ง ผักกาดเขียวกวางตุ้ง ผักกาดเขียวปลี และผักกาดหัว (พัฒนา สนธิรัตน และคณะ, 2537) แต่จากการสำรวจโรคพบว่าพืชตระกูลผักกาดมีอาการโรคเน่าดำหรือขอบใบทองค่อนข้างต่ำ จากการสำรวจพบเพียงไอโซเลทเดียวจากผักกาดขาว พืชอาศัยที่พบอาการแผลจุด คือ คะน้า และกะหล่ำดอก ซึ่งจากการรายงานของ Zhao et al. (2000) พบว่าอาการโรคใบจุดแบคทีเรียเกิดมากในผักคะน้า ผักโขม มัสตาร์ด และเทอนิป ซึ่งมีอาการแผลจุดเหลี่ยม มีวงสีเหลืองล้อมรอบ

2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสาเหตุโรค

ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่แยกได้ จากลักษณะอาการแผลไหม้และแผลจุด (ภาพที่ 2ค) ได้แบคทีเรียที่มีลักษณะเหมือนกัน คือโคโลนีสีเหลือง กลมนูนเยิ้ม ผิวมันขอบเรียบ บนอาหาร NGA และ YDC โดยสีเหลืองของโคโลนีอาจมีความแตกต่างกันในบางไอโซเลท คือสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม (ภาพที่ 2ก) บนอาหาร SX ลักษณะโคโลนีกลมนูนผิวมันเยิ้มขอบเรียบ สีเขียวเหลืองอมฟ้าม่วง มีขอบใส (clear zone) รอบโคโลนีเนื่องจากแบคทีเรียสามารถย่อยแป้งในอาหาร (ภาพที่ 2ข) บนอาหาร Starch agar โคโลนีสีเหลืองอ่อนถึงเข้ม กลมนูนผิวมัน ขอบเรียบ ไม่เยิ้มมาก บนอาหาร tween agar โคโลนีสีเหลืองอ่อน สร้างฝ้าสีขาวขุ่นรอบโคโลนี ลักษณะเป็นเส้นจากขอบโคโลนี โดยลักษณะโคโลนีบนอาหารชนิดเดียวกัน แบคทีเรียทุกไอโซเลทให้ลักษณะโคโลนีที่คล้ายกัน อาจมีความเข้มของสีโคโลนีที่ต่างกันเล็กน้อย

ผลการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมี เกิดปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ จากการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมี พบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างเมือก ย่อยเจลาติน ย่อยแป้ง ไอโซเลท

P233 (แผลไหม้)ให้ผลออกซิเดสลบ แคตตาเลสบวก (weak positive) และ P254 (แผลจุด)ออกซิเดสและแคตตาเลสบวก ทั้งสองไอโซเลทไม่สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ซูโครส และแลคโตส ไม่สร้างก๊าซไดไฮโดรเจนซัลไฟล์จากเฟอรัสซัลเฟต แบคทีเรียสามารถย่อยเจลาตินและย่อยแป้ง ไม่รีดิวซ์ไนเตรท สามารถสร้างกรดจากน้ำตาลอะราบิโนส กาแลคโตส ทรีฮาโลส ฟรุคโตส มอลโตส ไซโลส ไรโบส ราฟฟิโนส และแมนโนส โดยเชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สร้างกรดจากน้ำตาลแมนนิทอล (ตารางที่ 2) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวตรงกับคุณลักษณะทางชีวเคมีของเชื้อ *X. campestris* (Krieg และ Holt, 1984) สำหรับคุณสมบัติการสร้างกรดจากน้ำตาลชนิดต่างๆ พบว่า 11-89 % ของเชื้อ *X. campestris* ให้ปฏิกิริยาเป็นบวก ความผันแปรดังกล่าวอาจเนื่องจากคุณสมบัติการเข้าทำลายพืชอาศัยที่ต่างกันซึ่งมีการจัดจำแนกเป็น parthovar ซึ่งมีมากกว่า 30 parthovars ทั่วโลก (Schaad และคณะ, 2001) โดยพบในประเทศไทยมากกว่า 10 parthovars (วิชัย, 2531) โดยคุณสมบัติทางชีวเคมีอย่างเดียวไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่าง parthovars ของเชื้อ *X. campestris* ได้

ผลการทดสอบการเจริญของเชื้อที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าแบคทีเรียทุกไอโซเลทสามารถทนร้อน สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และเมื่อทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิ 38 และ 40 องศาเซลเซียส มีเพียงไอโซเลท P 127 สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 38 -40 องศาเซลเซียส

3. จำแนกเชื้อโดยคุณสมบัติการใช้คาร์บอนของแบคทีเรีย

แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าดำ (อาการแผลไหม้) ไอโซเลท P233 ให้ผลบวกในการใช้แหล่งคาร์บอน 22 ชนิด ได้แก่ Dextrin, Glycogen, N-acetyl-D-galactosamine, D-cellobiose, D-fructose, Gentiobiose, α-D-glucose, Maltose, D-mannose, D-melibiose, D-psicose, Sucrose, D-trehalose, Pyruvic acid methyl ester, Succinic acid mono-methyl-ester, citric acid, α-keto valeric acid, D-saccharic acid, Succinic acid, Bromosuccinic acid, L-alanyl-glycine และ L-serine จำแนกได้เพียงระดับ species คือ *Xanthomonas campestris* (ตารางที่ 3)

แบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุด (อาการแผลจุด แผลสะเก็ดดำ) ไอโซเลท P254 ให้ผลบวดในการใช้แหล่งคาร์บอน 38 ชนิด ได้แก่ Dextrin, Glycogen, N-acetyl-D-glucosamine, L-arabinose, D-cellobiose, D-fructose, D-galactose, Gentiobiose, α-D-glucose, m-inositol, α-D-lactose, Lactulose, Maltose, D-mannitol, D-mannose, D-melibiose, β-methyl-D-glucoside, D-psicose, D-raffinose, L-rhamnose, Sucrose, D-trehalose, Pyruvic acid methyl ester, Succinic acid mono-methyl-ester, Citric acid, D-galactonic acid lactone, D-galacturonic acid, α-keto glutaric acid, D-saccharic acid, Succinic acid, Bromosuccinic acid, L-asparagine, L-aspartic acid, L-glutamic acid, L-serine, Glycerol, D-L-α-glycerol

phosephate และ D-glucose-6-phosphate จำแนกเชื้อได้ระดับ species คือ *X. campestris* (ตารางที่ 3)

ผลการใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อทั้งสองไอโซเลท มีความแตกต่างกัน โดยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดสามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างจากแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าดำ อาการแผลไหม้ 16 ชนิด และมีแหล่งคาร์บอนที่เหมือนกัน 20 ชนิด โดยทั้งสองไอโซเลทจัดจำแนกเป็น *X. campestris* และอาจเป็นเชื้อต่าง pathovar กัน

4. พิสูจน์การก่อให้เกิดโรค และประเมินความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อ

จากการปลูกเชื้อทดสอบ 16 ไอโซเลท และการทดลองเปรียบเทียบ พบว่าไอโซเลทที่ก่อให้เกิดโรค มีลักษณะอาการแผลไหม้ ใบไหม้แห้ง 100% (เกิดโรคทั้ง 5 ต้น) คือ ไอโซเลท P226 และ P211 โดยไอโซเลทที่ก่อให้เกิดโรค 80% (4 ต้น) คือ P029, P046, P127, P238 ไอโซเลทที่ก่อให้เกิดอาการใบจุดคือ P046, P081, P254, P230 และ P238 โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากอาการแผลจุดหรือแผลไหม้ ไม่ทำให้เกิดลักษณะอาการจำเพาะของแผลจุดหรือแผลไหม้ เช่น ไอโซเลท P230 แยกเชื้อจากอาการแผลไหม้ พบว่าทำให้เกิดอาการใบไหม้ 40% และใบจุด 80% (4 ต้น) เป็นต้น สำหรับบางไอโซเลท มีการพัฒนาเป็นแผลจุดในระยะแรก ต่อมาอาการแผลจุดพัฒนาเป็นแผลไหม้ ทั้งนี้พบว่าไอโซเลท 1675 พืชไม่แสดงอาการโรคใด ๆ (ตารางที่ 4) ในการพิสูจน์จำแนกชนิด *X. campestris* pv.*campestris* และ *X. campestris* pv. *armoraciae* Zhao et al. (2000) รายงานว่าไอโซเลทที่ทำให้เกิดอาการแผลไหม้ที่ลำต้นของกะหล่ำปลี เกิดอาการใบจุดแผลยุบตัวสีดำบริเวณก้านใบของผักกาด และแสดงอาการใบจุดบนมะเขือเทศ จำแนกเป็น *X. campestris* pv.*armoraciae*

สรุปผลการทดลอง

โรคของพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาดจากเชื้อ *Xanthomonas campestris* 2 แบบ คือ

1. อาการแผลไหม้ (รูปตัววี และแผลไหม้จากกลางใบ) ซึ่งเป็นอาการของโรคเน่าดำ หรือโรคขอบใบทอง พืชอาศัยที่พบการเกิดโรคขอบใบทอง ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ ผักกาดขาว และคะน้า

2. อาการแผลจุด ลักษณะแผลจุดเล็กขนาด 1-3 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลแห้งลุกลามติดกันพบลักษณะแผลจุดเป็นสะเก็ดนูนดำ พืชอาศัยที่พบอาการแผลจุด คือ คะน้า และกะหล่ำดอก

ในการจำแนกเชื้อเบื้องต้นพบว่าเชื้อสาเหตุโรคเน่าดำ และใบจุดมีความแตกต่างกันในการใช้แหล่งคาร์บอน แต่จะทำการศึกษาลักษณะอื่น ๆ เพื่อการจำแนกถึงระดับ pathovar ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน ธนวัฒน์ กำแหงฤทธิรงค์ วิรัช ชูบำรุง และ อุบล คือประโคน. 2537. ดรรชนีโรคพืชในประเทศไทย. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร หจก. โรงพิมพ์ยูไนเต็ด โปรดักชั่น บางรัก กรุงเทพฯ. 285 หน้า.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุมโรค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. จตุจักร กรุงเทพฯ. 173 หน้า.

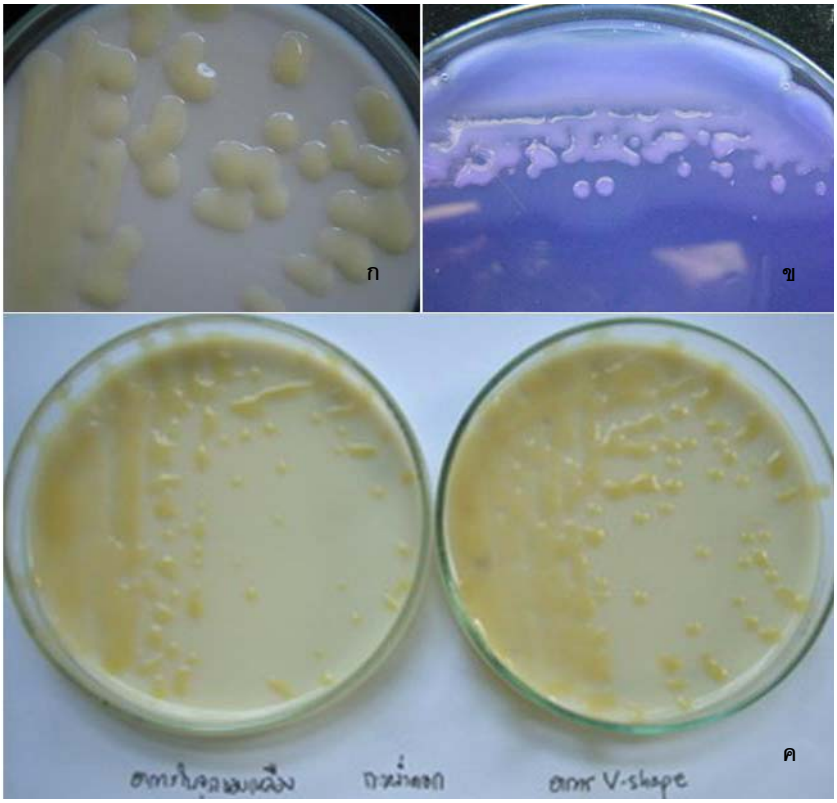
Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd edition. APS Press St. Paul, Minnesota. 373 p.

Tamura, K., Takikawa, Y., Tsuyumu, S., and Goto, M. 1994. Bacterial spot of crucifers caused by *Xanthomonas campestris* pv.*raphani*. Ann. Phytopath. Soc. Japan 60:281-287.

Vicente, J. G., Conway, J., Roverts, S. J. and Taylor, J. D. 2001. Identification and origin of *Xanthomonas campestris* pv.*campestris* races and related pathovars. Phytopathology 91:492-499.

Zhao, Y., Damicone, J. P., Demezas, D. H., and Bender, C. L. 2000. Bacterial leaf spot diseases of leafy crucifers in Oklahoma caused by pathovars of *Xanthomonas campestris*. Plant Dis. 84:1008-1014.

ภาพที่ 1 ลักษณะอาการโรคพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาดจากเชื้อแบคทีเรีย
ก อาการโรคเน่าดำ หรือขอบใบทอง แผลไหม้จากขอบใบหรือกลางใบ ใน กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก คะน้า และบร็อคโคลี่
ข อาการโรคใบจุด บนใบคะน้า อาการแผลจุดมีวงสีเหลืองล้อมรอบ และอาการแผลจุดนูนสะเก็ดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนี ของแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pathovars

ก เจริญบนอาหาร Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ อายุ 36 ชั่วโมง

ข เจริญบนอาหาร SX agar

ค ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย แยกจากอาการแผลจุดและแผลไหม้

ตารางที่ 1 ไอโซเลทของเชื้อแบคทีเรีย ลักษณะอาการ และแหล่งปลูก

ไอโซเลทเชื้อ	พืชอาศัย	ลักษณะอาการ	แหล่งปลูก
1675	คะน้า	แผลไหม้ตัววี	อ. ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี
P 022	กะหล่ำดอก	แผลไหม้ตัววี	อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
P 023	คะน้า	แผลไหม้ตัววี	อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
P 046	กะหล่ำดอก	แผลไหม้ตัววี	อ. ท่ายาง จ. เพชรบุรี
P 063	กะหล่ำปลี	แผลไหม้	อ. นครชัย จ. เพชรบูรณ์
P 081	คะน้า	แผลไหม้ตัววี	อ. บางกรวย จ. นนทบุรี
P 100	กะหล่ำดอก	แผลไหม้	อ. วังไคร้ จ. เพชรบุรี
P 127	บร็อคโคลี่	แผลไหม้ตัววี	อ. เมือง จ. เชียงใหม่
P 218	กะหล่ำดอก	แผลไหม้ตัววี	อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี
P 211	กะหล่ำดอก	แผลไหม้ตัววี	อ. จอมบึง จ. ราชบุรี
P 225	กะหล่ำปลี	แผลไหม้ตัววี	อ. อุ้มผาง จ. ตาก
P 226	กะหล่ำปลี	แผลไหม้ตัววี	อ. อุ้มผาง จ. ตาก
P 233	คะน้า	แผลไหม้ตัววี	อ. เมือง จ. กาญจนบุรี
P 237	คะน้า	แผลไหม้ตัววี	อ. ท่ายาง จ. เพชรบุรี
P 273	กะหล่ำดอก	แผลไหม้ตัววี	อ. ท่ายาง จ. เพชรบุรี
P 230	ผักกาดขาว	แผลไหม้	อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
P 029	คะน้า	ใบจุด	อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี
P 219	กะหล่ำดอก	ใบจุดขอบเหลือง	อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี
P 238	คะน้า	ใบจุดดำ	อ. ไทรโยค จ. กาญจนบุรี
P 254	คะน้า	ใบจุดเล็กดำ	อ. ท่าม่วง จ .กาญจนบุรี

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

คุณสมบัติชีวเคมี	สายพันธุ์เชื้อ	
	XC	P233
Mucoid growth on nutrient agar 5% glucose	+	+
Xanthomonadins produced	+	Nd
Hydrolysis of: Gelatin	D	+
Esculin	+	nd
Starch	D	-
Growth on nutrient agar:	+	+
Growth rate in culture: Moderate	+	+
Slow to very slow	-	-
Catalase	+	+
Nitrate reductase	-	-
Utilization of: Acetate	+	+
Citrate	+	+
Succinate	+	+
Benzoate	-	-
Arabinose	+	+
Galactose	+	+
Trehalose	+	+
Acid production on Dye's medium C from:		
Fructose	+	nd
Maltose	d	+
Xylose	d	+
Ribose	d	+
Raffinose	d	+
Melezitose	d	+
Dextrin	d	+
Glycerol	d	+
Mannitol	-	-
Rhamnose	-	+

[a]สายพันธุ์เชื้อ XC= *Xanthomonas campestris* จาก Bergey's manual of systematic bacteriology (Krieg และ Holt, 1984),

d= 11-89% ผลการทดสอบเป็นบวก, nd= ไม่ได้ทดสอบ

ตารางที่ 3 การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแบคทีเรีย ทดสอบด้วย Biolog® system

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**	
	P 233	P 254
Water	-	-
∝-cyclodextrin	-	-
Dextrin	+	+
Glycogen	+	+
Tween-40	-	-
Tween-80	-	-
N-acetyl-D-galactosamine	-	-
N-acetyl-D-glucosamine	+	+
Adonitol	-	-
L-arabinose	-	+
D-arabitol	-	-
D-cellobiose	+	+
L-erythritol	-	-
D-fructose	+	+
L-fucose	-	+
D-galactose	-	+
Gentiobiose	+	+
∝-D-glucose	+	+
M-inositol	-	+
∝-D-lactose	-	+
Lactulose	-	+
Maltose	+	+
D-mannitol	-	+
D-mannose	+	+
D-melibiose	+	+
ß-methy-D-glucoside	-	+
D-psicose	+	+
D-raffinose	-	+
L-rhamnose	-	+
D-sorbitol	-	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**	
	P 233	P 254
Sucrose	+	+
D-trehalose	+	+
Turanose	-	-
Xylitol	-	-
Pyruvic-acid-methyl ester	+	+
Succinic acid monoethyl ester	+	+
Acetic acid	-	-
Cis-aconitic acid	-	-
Citric-acid	+	+
Formic-acid	-	-
D-galactonic-acid lactone	-	+
D-galacturonic acid	-	+
D-gluconic acid	-	-
D-glucosaminic acid	-	-
D-glucoronic acid	-	-
∝-hydroxybutyric acid	-	-
ß-hydroxybutyric acid	-	-
ɣ-hydroxybutyric acid	-	-
P-hydroxy-phynyl acetic acid	-	-
Itaconic acid	-	-
∝-Keto Butyric acid	-	-
∝-Keto glutaric acid	+	+
∝-Keto valeric acid	-	-
D,L-lactic acid	-	-
Malonic acid	-	-
Propionic acid	-	-
Quinic acid	-	-
D-saccharic acid	+	+
Sebacic acid	-	-
Succinic acid	+	+

ตารางที่ 3 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**	
	P 233	P 254
Bromosuccinic acid	+	+
Succinamic acid	-	-
Glucuronamide	-	-
L-alanimamide	-	-
D-alanine	-	-
L-alanine	-	-
L-alanyl glycine	+	-
L-asparagine	-	+
L-aspartic acid	-	+
L-glutamic acid	-	+
Glycyl-L-aspartic acid	-	-
Glycyl-L-glutamic acid	-	-
L-histidine	-	-
Hydroxy-L-proline	-	-
L-leucine	-	-
L-ornithine	-	-
L-Phynylalanine	-	-
L-proline	-	-
L-pyroglutamic acid	-	-
D-serine	-	-
L-serine	+	+
L-threoine	-	-
D-L-carnitine	-	-
ɣ-amino-butyric acid	-	-
Urocanic acid	-	-
Inosine	-	-
Uridine	-	-
Thymidine	-	-
Phenyethyl-amine	-	-
Putrescine	-	-
2-aminocethanol	-	-

ตารางที่ 3 **(ต่อ)**

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**	
	P 233	P 254
2-3-butanediol	-	-
Glycerol	-	+
D-L-∝-glycerol-phosphate	-	+
∝-D-glucose-1-phosphate	-	-
D-glucose-6-phosphate	-	+

หมายเหตุ: +, สามารถใช้คาร์บอนได้ ; -, ไม่สามารถใช้คาร์บอนได้

P233 แยกเชื้อจากอาการเน่าดำ V-shape; P254 แยกเชื้อจากอาการแผลจุด

ตารางที่ 4 การประเมินการเกิดโรคของเชื้อ *Xanthomonas* sp. บนต้นคะน้า

ไอโซเลท	**จำนวนต้นที่แสดงอาการใบไหม้**	**เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค**	**จำนวนต้นที่แสดงอาการใบจุด**	**เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค**
P022	1	20	0	0
P029	4	80	0	0
P046	4	80	1	20
P127	4	80	0	0
P063	3	60	0	0
P081	0	0	2	40
P100	2	40	0	0
P211	5	100	0	0
P219	3	60	0	0
P225	3	60	0	0
P226	5	100	0	0
P230	2	40	4	80
P237	3	60	0	0
P238	4	80	1	20
P254	2	40	2	40
1675	0	0	0	0
Control	0	0	0	0

สำรวจ และจำแนกเชื้อไวรอยด์ในพืชตระกูลส้ม

Surveying and identification of Viroid in Citrus group

นภสร ปุญญพิทักษ์ เยาวภา ตันติวานิช
บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจและรวบรวมเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้มโดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชตระกูลส้มที่แสดงอาการ ใบบิดเบี้ยว ต้นโทรม ต้นแคระแกรน จากสวนเกษตรกรตามจังหวัดต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ จำนวน 30 ตัวอย่างแล้วนำมาตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค RT-PCR ผลปรากฏว่าตรวจไม่พบเชื้อไวรอยด์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาวะของปฏิกิริยายังไม่เหมาะสม ดังนั้นจำเป็นต้องหาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกริยาเพิ่มเติมในปีถัดไป

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-32-51

คำนำ

ส้มหรือพืชตระกูลส้ม (Citrus spp.) เป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการผลิตและการส่งออก รวมทั้งการบริโภคภายในประเทศ คาดการณ์กันว่าพื้นที่ปลูกส้มในปี 2547 มีมากกว่า 500,000 ไร่ และมีมูลค่าการซื้อขายผลิตประมาณ 3 หมื่นล้านบาท (กรมวิชาการเกษตร,2547) โรคและแมลงเป็นปัญหาสำคัญในการปลูกส้ม แมลงที่สำคัญได้แก่ เพลี้ยไก่แจ้ส้ม เพลี้ยอ่อน และ เพลี้ยไฟ โรคที่สำคัญ ได้แก่ โรคกรีนนิ่ง ทริสเทซ่า และแคงเคอร์ และในต่างประเทศยังมีรายงานโรคเกิดจากเชื้อไวรอยด์ซึ่งเป็น low molecular weight RNAs ที่มีขนาดเล็ก ไม่มีโปรตีนห่อหุ้ม เช่น โรค Citrus exocortis โรค Cachexia และโรค Citrus bent leaf viroid ลักษณะอาการของโรค ใบบิดเบี้ยว ต้นแคระแกรน ต้นตอมีอาการเปลือกแตกรอยต่อระหว่างยอดพันธุ์กับต้นตอไม่สามารถเชื่อมต่อกันได้ (สมบูรณ์,2545) โรคที่เกิดจากเชื้อไวรอยด์แพร่ระบาดไปเกือบทั่วทุกประเทศทั่วโลกที่ปลูกส้มเพื่อการค้า เช่น สหรัฐอเมริกา บราซิล สเปน อิสราเอล ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และสามารถเป็นได้กับส้มทุกพันธุ์ (ไมตรี,2540 ; Diener,1987; Singh and Dhar, 1998 ; Hull, 2002) การแพร่ระบาดและการถ่ายทอดโรคไวรอยด์ส่วนใหญ่ปนเปื้อนไปกับท่อนพันธุ์ ทำให้การแพร่ระบาดของโรคเป็นไปอย่างรวดเร็ว (ดารุณี,2547) เนื่องจากการขยายพันธุ์ส้มในประเทศไทยใช้การติดตา ตอนกิ่ง ทาบกิ่ง หากมีเชื้อไวรอยด์ติดไปกับท่อนพันธุ์จะเป็นการแพร่ระบาดของเชื้อไวรอยด์ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้มีการนำพันธุ์ส้มจากต่างประเทศเข้ามาปลูกเพื่อการค้าอาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีการเกิดโรคไวรอยด์ในประเทศไทย (ไมตรี, 2540) การศึกษาไวรอยด์ในพืชตระกูลส้มในประเทศไทยสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการป้องกันกำจัดโรค และ ใช้เป็นดัชนีการของโรคในประเทศไทยต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Thermal cycler
2. Gel Documentation UV-transilluminator
3. Gel electrophoresis
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง
5. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดอาร์เอ็นเอ
6. เอ็นไซม์ต่างๆ ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูลลักษณะอาการผิดปกติของต้นส้มเมื่อถูกเชื้อไวรอยด์ เข้าทำลายและทำการออกแบบไพร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อไวรอยด์ที่เข้าทำลายพืชตระกูลส้ม

2. สำรวจและเก็บตัวอย่างส้มโชกุน ส้มโอ มะนาว จากสวนเกษตรกรในจังหวัด ตาก กาญจนบุรี เพชรบุรี ตราด นครศรีธรรมราช

3. ทดสอบวิธีการสกัด อาร์เอ็นเอ ของเชื้อไวรอยด์ จากใบส้ม ซึ่งการสกัดอาร์เอ็นเอจากใบส้มใช้ High Pure RNA Tissue Kit (Roche Applied Science)

4. ตรวสอบหาเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) พร้อมทั้งหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์และพิ่มปริมาณอาร์เอ็นเอ

5. ผลผลิตจากปฏิกิริยา RT-PCR ถูกนำมาวิเคราะห์ โดยใช้ 2% agarose gel ใน 0.5X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลล์ นาน 30 นาที นำมาย้อมด้วย 0.1% ethidium bromide 5 นาที แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator

6. นำ PCR product ที่ได้ไป clone ด้วย pGEM-T easy vector

7. วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนิ่งในพืชตระกูลส้ม

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553
สถานที่	กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช สวนส้มของเกษตรกร ใน ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉลียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสืบค้นข้อมูลของเชื้อไวรอยด์ที่เข้าทำลายพืชตระกูลส้มพบว่าเมื่อส้มถูกเชื้อไวรอยด์เข้าทำลายจะมีลักษณะใบบิดเบี้ยว ต้นแคระแกรน ต้นโทรม ต้นตอมีอาการเปลือกแตก รอยต่อระหว่างยอดพันธุ์กับต้นตอไม่สามารถเชื่อมต่อกันได้ จากนั้นทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชตระส้มจากจังหวัดต่างๆ ต่างๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ ได้แก่ ตาก กาญจนบุรี เพชรบุรี สมุทรสงคราม ตราด และ นครศรีธรรมราช จำนวน -30 ตัวอย่าง แล้วนำมาตรวจสอบหาเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค RT-PCR ผลปรากฏว่าตรวจไม่พบเชื้อไวรอยด์ทั้งนี้อาจองมาจากสภาวะของปฏิกิริยายังไม่เหมาะสมหรือในประเทศไทยยังไม่มีการเข้าทำลายของเชื้อไวรอยด์ ดังนั้นจำเป็นต้องหาสภาวะที่เหมาะสมของปฏิกริยาเพิ่มเติมในปีถัดไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจ และรวบรวมเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้มในจังหวัดต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย สามารถเก็บตัวอย่างได้จำนวน 30 อย่าง และเมื่อนำมาตรวจสอบหาเชื้อไววรอยด์ ผลปรากฏว่ายังตรวจไม่พบเชื้อไวรอยด์

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกาตร. 2547. รายงานสรุปผลการสัมมนาอนาคตส้มไทย. การสัมมนาอนาคตพืชสวนไทยสดใสแน่หรือ โดยกรมวิชาการเกษตร และสมาคมพืชสวนแห่งประเทศไทย 25-26 พฤศจิกายน 2547. ณ. ห้องประชุมมนตรีรุมาคม อาคารเฉลิมพระเกียรติ 6 รอบ พระชนม์พรรษา กรมวิชาการเกษตร 50 หน้า

ดารุณี ปุญญพิทักษ์. 2547. การแยกเชื้อและตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ในมะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 82 หน้า

สมบูรณ์ พรหมมา. 2545. การตรวจสอบเชื้อไวรอยด์ในมะนาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 94 หน้า

ไมตรี พรหมมินทร์ 2540. ไวรัสและโรคคล้ายไวรัสและต้นพันธุ์ส้มปลอดโรค น.1 — 25 ในการฝึกอบรมหลักสูตรวิทยาการส้ม : ทางเลือกปัจจุบันสู่อนาคต รุ่นที่ 2 วันที่ 7 — 11 ก.ค. 2540

Diener, T.O. 1987. The viroids and viroid disease. John Wiley&Son, Inc., New York. 252 p.

Hull. R. 2002. Matthew ' s Plant Virology. 4 th ed. Acdemic Press.

Singh, R.P. and A.K. Dhar. 1998. Detection and management of plant viroid. pp. 428-447 in A. Hadidi, R.K. Khetarpal and H. Koganezawa, eds. Plant virus disease control. APS. Press. Paul. Minisota

สำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งในประเทศไทยด้วยเทคนิคทางอนูชีววิทยา

Surveying and Identification Greening like-organism in Thailand
by Molecularbiology Technic

นภสร ปุญญพิทักษ์ เยาวภา ตันติวานิช
บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคกรีนนิ่งหรือโรคใบเหลืองต้นโทรมเป็นโรคที่สำคัญของพืชตระกูลส้ม ได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มสายน้ำผึ้งส้มโอ ส้มเช้ง ส้มตรา มะนาว และ มะกรูด ต้นส้มที่ได้รับเชื้อแสดงอาการรใบเล็กเหลือง ชี้ตั้ง คล้ายกับอาการขาดธาตุอาหาร ทำให้การวินิจฉัยโรคด้วยสายตาไม่สามารถยืนยันการเป็นโรคได้ แต่เมื่อนำเทคนิคทางด้านอนูชีววิทยาโดยเฉพาะ PCR นอกจากจะใช้ในการตรวจสอบโรคแล้วยังสามารถใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อโรคกรีนนิ่งได้อีกด้วย ซึ่งจากการสำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งจากแหล่งปลูกส้มตามภาคต่างๆในประเทศไทย ได้ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างส้มโชกุน ส้มโอ และมะนาวที่แสดงอาการโรคกรีนินิ่ง จำนวน 24 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบหาเชื้อโรคกรีนนิ่งด้วยเทคนิค PCR ผลปรากฏว่าตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่ง จากตัวอย่างส้มโชกุน ส้มโอ และมะนาว จำนวน 14 ตัวอย่าง และกำลังอยู่ในขั้นตอนการคัดการคัดเลือกแถบดีเอ็นเอที่ได้เพื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์และจัดจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งในปีถัดไป

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-33-51

คำนำ

โรคกรีนนิ่งหรือโรคใบเหลืองต้นโทรมเป็นโรคที่สำคัญที่สุดของพืชตระกูลส้ม กำลังสร้างปัญหาและความเสียหายให้กับหลาย ๆ ประเทศที่ปลูกส้มอย่างมากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศที่อยู่ในแถบทวีปเอเชียมากถึง 16 ประเทศด้วยกัน เช่น จีน ไต้หวัน พม่า ลาว เวียดนาม กัมพูชา มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ อินเดีย เนปาล ศรีลังกา บังคลาเทศ ปากีสถาน ซาอุดิอาระเบีย และรวมถึงประเทศไทยด้วย (Garnier and Bove, 1995) เชื้อสาเหตุของโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในท่ออาหาร ซึ่งมีแมลงเพลี้ยไก่แจ้ส้มเป็นพาหะนำโรค เป็นโรคที่มีความสำคัญของพืชตระกูลส้ม เช่น ส้มเขียวหวาน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโอ ส้มเช้ง ส้มตรา มะนาว และมะกรูด ต้นส้มที่ได้รับเชื้อแสดงอาการใบเล็กเหลือง ชี้ตั้ง คล้ายกับอาการขาดธาตุอาหาร ผลผลิตลดลงไม่มีคุณภาพ และมักจะร่วงก่อนอายุการ เก็บเกี่ยว ต้นส้มจะแสดงอาการทรงกับทรุดอยู่หลายปีสุดท้ายก็จะตายไปในที่สุด (ไมตรี 2534, 2544) เนื่องจากอาการของโรคคล้ายอาการขาดธาตุอาหารทำให้การวินิจฉัยโรคด้วยสายตาไม่สามารถยืนยันการเป็นโรคได้ ดังนั้นการนำเทคนิคทางด้านอนูชีววิทยาโดยเฉพาะ PCR นอกจากจะใช้ในการตรวจสอบโรคแล้วยังสามารถใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อโรคกรีนนิ่งโดยเฉพาะ primer ส่วน 16S rDNA และ 16S/23S intergenic region (Jagoueix *et al*,1994) ปัจจุบัน พบว่า เชื้อโรคกรีนนิ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ *Candidatus* Liberibacter asiaticus *Candidatus* Liberibacter africanum และ *Candidatus* Liberibacter americanus (Coletta-Filho *et al*,2004) สำหรับประเทศไทยเชื้อโรค กรีนนิ่งอยู่ในกลุ่ม *Candidatus* Liberibacter asiaticus (Ohtsu,1998) แต่เนื่องจากพืชตระกูลส้มในประเทศไทยมีความหลากหลาย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องสำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งภายในประเทศไทยว่าอยู่ในกลุ่ม asiaticus เพียงกลุ่มเดียวหรือไม่ และเพื่อหา strain ของเชื้อโรคกรีนนิ่งในประเทศไทย เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการหาพันธุ์ต้านทานโรคต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Thermal cycler
2. Gel Documentation UV-transilluminator
3. Gel electrophoresis
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง
5. สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ
6. เอ็นไซม์ต่างๆ ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

วิธีการ

1. สืบค้นการจัดจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่ง ซึ่งพบว่า ไพร์เมอร์ในช่วง 16S rDNA และ 16S / 23S rDNA ซึ่งเป็นไพร์เมอร์ที่เหมาะสมที่สามารถจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่ง จาก strain asiaticus africanum และ americanus จากนั้นสังเคราะห์ไพร์เมอร์จำนวน 2 เส้น

2. สำรวจและเก็บตัวอย่างส้มโชกุน ส้มโอ มะนาว ที่แสดงอาการโรคกรีนนิ่งจากจังหวัดตาก ลำปาง กาญจนบุรี เพชรบุรี ตราด สมุทรสงคราม และ นครศรีธรรมราช จำนวน 24 ตัวอย่าง

3. สกัดดีเอ็นเอ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Jagoueix *et al.* (1994) และ Nakashima *et al.* (1996) โดยนำเส้นกลางใบของส้มโอ 0.5 กรัม บดในโกร่งกับไนโตรเจนเหลวจนเป็นผงละเอียด จากนั้นเติมสารละลาย 2% CTAB buffer 1 มิลลิลิตร (2% CTAB,1.4M NaCl, 20mM EDTA, 1% Polyvinylpyrrolidone (40,000)) ดูดสารละลายใส่ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดของเหลวส่วนบนปริมาณ 500 ไมโครลิตรใส่ในหลอดใหม่ แล้วเติมสารละลาย Chloroform/isoamyl alcohol (24:1) 1 เท่าตัวเขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที จากนั้นดูดเอาสารละลายส่วนบนที่เป็นของเหลวใสและไม่มีสีเขียวปริมาณ 100 ไมโครลิตร ใส่หลอดใหม่เติมสารละลาย isopropanol 1 เท่า เขย่าให้เข้ากันแล้ว แช่ในตู้เย็น -20 °C นาน 15-30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เก็บตะกอนที่ได้ คือ ตะกอนดีเอ็นเอ ทำการล้างตะกอน ดีเอ็นเอด้วยแอลกอฮอล์ 70 % นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที เทสารละลายแอลกอฮอล์ทิ้งนำไป ทำให้แห้งและละลายตะกอนดีเอ็นเอ ด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 30ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C

4. ตรวจหาเชื้อโรคกรีนนิ่งและเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR และหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจสอบและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ถูกนำมาวิเคราะห์ โดยใช้ 1.5 % agarose gel ใน 0.5X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลล์ นาน 30 นาที นำมาย้อมด้วย 0.1% ethidium bromide 5 นาที แล้วตรวจดูแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Gel Documentation UV-transilluminator

5. นำ PCR product ที่ได้ไป clone ด้วย pGEM-T easy vector

6. วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนนิ่งในพืชตระกูลส้ม

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
สวนส้มของเกษตรกร จากจังหวัดต่างๆใน ภาคเหนือ ภาคกลาง
ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉลียงเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างส้มโชกุน ส้มโอ มะนาว ที่แสดงอาการของโรคกรีนนิ่ง จากจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ ได้แก่ ลำปาง ตาก กาญจนบุรี เพชรบุรี สมุทรสงคราม ตราด และ นครศรีธรรมราช จำนวน 24 ตัวอย่าง แล้วนำมาตรวจสอบหาเชื้อโรคกรีนนิ่งด้วยเทคนิค PCR ผลปรากฏว่าตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่ง จากตัวอย่างส้มโชกุน ส้มโอ มะนาว จำนวน 14 ตัวอย่าง และกำลังอยู่ในขั้นตอนคัดเลือกแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ของส้มโชกุน ส้มโอ มะนาว ไป clone ด้วย pGEM-T easy vector เพื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้ม ซึ่งได้แก่ ส้มโชกุน ส้มโอ มะนาว จากจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ จำนวน 24 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่งจำนวน 14 ตัวอย่าง และกำลังทำการคัดเลือกแถบดีเอ็นเอที่ได้เพื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการจัดจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งในปีถัดไป

เอกสารอ้างอิง

ไมตรี พรหมมินทร์. 2534. โรคทริสเทซ่าและโรคใบเหลืองต้นโทรมหรือโรคกรีนนิ่ง. เอกสารเทคโนโลยีป้องกันและกำจัดโรคส้ม กองป้องกันและกำจัดศัตรูพืช กรมส่งเสริมการเกษตร. หน้า 41-47.

ไมตรี พรหมมินทร์. 2544. โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของส้ม. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การจัดการโรคและแมลงศัตรูส้ม วันที่ 17 ธันวาคม 2544 ณ ห้องประชุม 220 อาคารสุโขทัย สโมสร มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช หน้า 1-18.

Coletta-Filho, H.D., M.L.P.N. Targon, M.A. Takita, J.D. De Negri, J. Jr. Pompeu, M.A. Machado, A.M. do Amaral, and G.W. Muller. 2004. First report of the causal agent of Huanglongbing ("*Candidatus* Liberibacter asiaticus") in Brazil. Plant Disease 88: 1382

Garnier, M., N. Danel and J.M. Bove. 1984. The greening organism is a gram negative. In. Proc. 9th Conf. IOCV, Riverside. p.115-124.

Jagoueix, S., J.M. Bove, and M. Garnier. 1994. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the subdivision of the Proteobacteria. Curr. Microbiol. 44: 379-386.

Nakashima, K., M. Prommintara, and Y. Ohtsu. 1996. Detection of 16 Sr DNA of Thai Isolateof Bacterium-like organisms Associated with Greening Disease of Citrus. JIRCAS JournalNo. 3: 1-8.

Ohtsu, Y. Nakashima, K., M. Prommintara and Y. Tomiyasu. 1998. Typical Symptoms of Citrus Greening on Mandarin Trees in Nepal, Supported by Detection and Characterization of Ribosomal DNA of the Causal Organism. Annals of the Phytopathological Society of Japan. Vol. 64, No. 3 p.153-159.

ฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection

Database of plant pathogenic fungi in Culture Collection

ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการวิเคราะห์ข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เก็บใน Culture Collection เพื่อทำการออกแบบโครงสร้างฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection ระหว่างตุลาคม 2550-กันยายน 2551 สามารถสร้างโครงสร้างเบื้องต้นของฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection ที่มีข้อมูลประมาณ 30 ไอโซเลท ที่ป้อนไว้เพื่อทดสอบความสัมพันธ์ต่างๆ เช่น การแสดงผล การป้อนข้อมูล

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม มีการปลูกพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ข้าว อ้อย มัน สำปะหลัง กล้วยไม้ ลิ้นจี่ ลำไย มะม่วง หน่อไม้ฝรั่ง กระเจี๊ยบเขียว ฯลฯ ปัญหาสำคัญในการผลิตอย่างหนึ่งคือปัญหาด้านโรคพืช พบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด ทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไส้เดือนฝอย เป็นต้น มีการศึกษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชหลายชนิดในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญต่างๆ ดังกล่าวมานาน มีการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และตัวอย่างแห้งอาการของโรคที่ปรากฏบนพืช แต่ยังขาดการจัดเก็บอย่างเป็นระบบ ทำให้การสืบค้นทำได้ลำบาก เสียเวลาและบุคลากรในการสืบค้นมาก บางครั้งเกิดการสูญหาย หรือบกพร่องของข้อมูล ปัจจุบันหลายหน่วยงานได้ให้ความสำคัญกับการจัดเก็บข้อมูลที่เป็นระบบ ทั้งในด้านการศึกษา เช่น ฐานข้อมูลวิทยานิพนธ์ ด้านการปกครอง เช่น ฐานข้อมูลสำมะโนประชากร ด้านสาธารณสุข เช่น ฐานข้อมูลผู้ป่วย ด้านการเจ้าหน้าที่ เช่น ฐานข้อมูลบุคคลากร เป็นต้น

กิตติ และ จำลอง (2545) กล่าวว่า ในอดีต องค์กรต่างๆ มักจัดเก็บเอกสารไว้ในแฟ้มต่างๆ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องด้านข้อมูลน้อย หรืออาจไม่มีเลย ต่อมาองค์กรมีขนาดใหญ่ขึ้น จากเดิมที่สามารถค้นหาเอกสารจากแฟ้มเอกสารเพียงแฟ้มเดียว ก็เริ่มต้องหาเอกสารจากแฟ้มเอกสารต่างๆ จำนวนมากขึ้น ส่งผลให้งานค้นหาเอกสารเป็นงานที่ต้องใช้เวลา และมีความยากลำบากมากขึ้น การจัดเก็บเอกสารในคอมพิวเตอร์จึงถูกนำมาใช้แทนการจัดเก็บรูปแบบเดิม โดยเริ่มแรกเป็นการจัดเก็บโดยนำเอกสารต่างๆ ในแต่ละแฟ้มเอกสาร จัดเก็บในรูปแฟ้มข้อมูล เมื่อมีแฟ้มข้อมูลมากขึ้นก็มีการรวบรวมแฟ้มเหล่านี้เข้าเป็นระบบแฟ้มข้อมูล แต่ยังมีปัญหาด้านการจัดเก็บข้อมูลที่ซ้ำซ้อน เช่น ข้อมูลชุดเดียวกันถูกจัดเก็บใน 2 แฟ้มข้อมูล ในกรณีมีการเปลี่ยนแปลงข้อมูล ก็อาจเกิดการแก้ไขไม่ครบถ้วน อันเนื่องจากข้อมูลชุดเดียวกันจัดเก็บใน 2 แฟ้มดังกล่าว จากปัญหาต่างๆ จึงเกิดการจัดเก็บข้อมูลต่างๆ ที่มีความสัมพันธ์กัน ซึ่งแต่เดิมจัดเก็บอยู่ในแต่ละแฟ้มข้อมูลมาจัดเก็บไว้ในที่เดียวกัน เรียกว่า “ฐานข้อมูล”

http://thesis.tiac.or.th/ (2547) ศูนย์บริการสารสนเทศทางเทคโนโลยี (ศสท.) มีการจัดเก็บบทคัดย่อวิทยานิพนธ์จากมหาวิทยาลัยต่างๆ จำนวน 35 แห่ง มีข้อมูลประมาณ 56,147 รายการ ปัจจุบันปี 2549 มีสถาบันเพิ่มเติมรวมเป็น 38 แห่ง มีข้อมูล 63,892 รายการ

http://www.nstda.or.th/grants/ (2547) รัฐบาลเห็นว่าประเทศไทยสมควรมีแหล่งข้อมูลที่รวบรวมผลงานวิจัยของประเทศ เพื่อเผยแพร่แก่ประชาชนรวมทั้งให้บริการสืบค้นทางอินเทอร์เน็ต สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ร่วมกับ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข และสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ จึงจัดทำโครงการนำร่อง ระบบฐานข้อมูลงานวิจัยของแต่ละสถาบัน ซึ่งเผยแพร่แล้วทางอินเทอร์เน็ต

ให้สามารถบริการสืบค้นฐานข้อมูลต่างระบบได้จากจุดเดียว โดยเริ่มบริการโครงการนำร่องสำหรับการสืบค้นฐานข้อมูลงานวิจัยของประเทศไทยทางอินเทอร์เน็ต ตั้งแต่ กันยายน 2544 ดังนั้นจึงควรที่จะได้มีการจัดทำฐานข้อมูลเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และฐานข้อมูลตัวอย่างแห้งโรคพืช เพื่อจัดเก็บข้อมูลเป็นระบบ สะดวกในการสืบค้น การใช้งานที่ง่ายและประหยัดเวลา และง่ายต่อการปรับปรุงข้อมูล อันจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ใช้งาน เช่น นักวิชาการ นิสิต นักศึกษา เกษตรกร และผู้สนใจทั่วไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์
2. เอกสารอ้างอิงทั้งในและต่างประเทศ
3. คอมพิวเตอร์ และอุปกรณ์ต่อพ่วงอื่นๆ เช่น เครื่องพิมพ์ ฯ

วิธีการ

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. รวบรวมข้อมูลเชื้อราสาเหตุรคพืชที่มีการจัดเก็บอยู่ใน Culture Collection
2. ดำเนินการออกแบบโครงสร้างฐานข้อมูล
3. ทดสอบป้อนข้อมูล
4. ทดสอบการใช้งานเบื้องต้น
5. ปรับปรุงโครงสร้างฐานข้อมูลเบื้องต้น
6. ทดสอบป้อนข้อมูลหลังปรับปรุงโครงสร้าง
7. ป้อนข้อมูลหลังปรับปรุงโครงสร้าง
8. ทดสอบการใช้งาน
9. ปรับปรุงแก้ไขฐานข้อมูล
10. นำไปใช้งาน

การเก็บข้อมูล

1. ทำการจัดเก็บข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่จัดเก็บไว้ใน Culture collection เช่น ชื่อสกุล ชนิด ของเชื้อ ชื่อโรค สถานที่เก็บ วันที่ และชนิดของพืชที่เก็บตัวอย่าง เข้าสู่ฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืช

เวลาและสถานที่

ดำเนินงานที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ตุลาคม 2550 - กันยายน 2553 รวม 3 ปี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการศึกษาและออกแบบ Table ที่จะเก็บข้อมูลต่างๆ ได้แก่ Table เชื้อราที่จัดเก็บ Table พืช Table สถานที่เก็บเชื้อ Table วิธีการเก็บเชื้อ เป็นต้น ออกแบบ Table ที่จะเก็บข้อมูลต่างๆ ว่าแต่ละ Table ควรมี Field ใดบ้าง เช่น Table พืช มีชื่อพืชภาษาไทย อังกฤษ Table เชื้อ มีชื่อ Genus Species ชื่อโรค รหัสเชื้อ Table วิธีเก็บเชื้อ มีชื่อวิธีการต่างๆ รหัสวิธีการ เป็นต้น และสร้างแบบฟอร์มป้อนข้อมูลในตารางต่างๆ เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่าง Table ต่างๆ ที่ได้ออกแบบเบื้องต้นไว้ และทดสอบการแสดงผลของข้อมูลแต่ละ Table จากการทดสอบการเชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่าง Table ต่างๆ ที่ได้ออกแบบเบื้องต้นไว้ พบว่าสามารถทำงานได้ในระดับหนึ่ง และทดสอบการแสดงผลของข้อมูลแต่ละ Table พบว่ายังมีปัญหาในการแสดงผลให้เข้าใจได้ง่าย ซึ่งจะต้องปรับปรุงต่อไป ทำการปรับปรุงในส่วน table ของการป้อนข้อมูล เพื่อให้สามารถป้อนข้อมูลได้ง่ายและไม่สับสนในการเพิ่มเติมข้อมูล และการแก้ไขข้อมูลให้เป็นปัจจุบัน ทำการปรับปรุงในส่วนของการ sortข้อมูล เพื่อให้สามารถป้อนข้อมูลได้ง่ายและไม่สับสนในการเพิ่มเติมข้อมูล และการแก้ไขข้อมูลให้เป็นปัจจุบัน โดยไม่ต้องคำนึงถึงลำดับ แต่เมื่อรายงานผลการคัดเลือกข้อมูลเวลาสืบค้นจะทำการเรียงลำดับให้ ทำการป้อนข้อมูลในตารางชื่อพืช ส่วนของชื่อพืชอาศัยของเชื้อราที่เก็บรักษา พบว่ามีปัญหาในส่วนของชื่อที่อาจซ้ำกัน ซึ่งทำการแก้ไขการออกแบบให้สามารถซ้ำกันได้ในชื่อสามัญภาษาอังกฤษ แต่ภาษาไทยไม่ให้ซ้ำกัน เพื่อสะดวกต่อการป้อนข้อมูล การสืบค้นข้อมูล ต่อไปจะได้ทดลองป้อนข้อมูลในส่วนของเชื้อราที่เก็บรักษาใน Culture Collection ทำการปรับปรุงแก้ไขในส่วนของตารางเก็บข้อมูลพืชอาศัย ปรับปรุงแก้ไขตารางการเก็บรักษาเชื้อรา ให้สามารถเข้าใจได้ง่ายขึ้นในส่วนของตัวย่อวิธีการเก็บรักษา และปรับปรุงฟอร์มการสืบค้นข้อมูลเพิ่มเติมส่วนสืบค้นเชื้อรา ต่อไปจะได้ทดลองป้อนข้อมูลในส่วนต่างๆที่แก้ไข ทำการทดสอบป้อนข้อมูลต่างๆ ของเชื้อ จำนวน 30 ไอโซเลท ได้แก่ข้อมูลเชื้อ ข้อมูลการเก็บรักษาในวิธีต่างๆ สถานที่ที่ได้เชื้อนั้นๆ มา เป็นต้น และทำการทดสอบการสืบค้นข้อมูล ได้ผลดีในระดับหนึ่ง ต่อไปจะได้ทดสอบการป้อนข้อมูลเพิ่มมากขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้โครงสร้างเบื้องต้นของฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection ที่มีข้อมูลประมาณ 30 ไอโซเลท ที่ป้อนไว้เพื่อทดสอบความสัมพันธ์ต่างๆ เช่น การแสดงผล การป้อนข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

กิตติ ภักดีวัฒนะกุล และ จำลอง ครูอุตสาหะ. 2545. คัมภีร์ระบบฐานข้อมูล. บริษัท เคทีพี คอมพ์ แอนด์ คอนซัลท์ จำกัด. 525 หน้า.

ศูนย์บริการสารสนเทศทางเทคโนโลยี. 2547. ฐานข้อมูลวิทยานิพนธ์ไทยOnline. Available Source: http://thesis.tiac.or.th/. 2547. ปรับปรุงข้อมูลล่าสุด 10 มกราคม 2548.

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 2547. ฐานข้อมูลงานวิจัยของประเทศไทย. Available Source: http://www.nstda.or.th/grants/. 2547.

การคัดเลือก และทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
เพลินพิศ สงสังข์ วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

คัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จาก Culture collection และแยกแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่เจริญครอบคลุมบริเวณผิวใบหน้าวัว จากแหล่งปลูกต่าง ๆ คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* บนอาหาร Nutrient glucose agar ด้วยเทคนิค paper disc diffusion เลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค โดยเกิดบริเวณยับยั้งเป็นวงใส (clear zone) รัศมีการยับยั้งเป็นบริเวณกว้าง จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ 20w1, 1g7, 20w4, 2g24 และ 772 ทดสอบการควบคุมโรค บนต้นหน้าวัวพันธุ์อ่อนแอ 2 พันธุ์ คือ โรเซตตา และทรอปิคอล ด้วยวิธีการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 treatment 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการใช้ *Bacillus* sp. การค้า 1 ชนิด และการทดลองเปรียบเทียบไม่พ่นสาร ผลการควบคุมโรคพบว่าการทดลองที่พ่นด้วย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ 1G7 และ 1G7+P772 ให้ผลในการควบคุมโรคได้ค่อนข้างดี

คำนำ

โรคใบไหม้หน้าวัว เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* จากการสำรวจในสวนเกษตรกรในพื้นที่ต่าง ๆ ส่วนมากพบอาการเข้าทำลายที่ใบอ่อน ถึงใบกลาง ๆ ของลำต้น อาการเป็นแผลจุดช้ำฉ่ำน้ำ บริเวณใกล้ขอบใบ ที่มีต่อมคายน้ำ ซึ่งเป็นจุดที่เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเข้าทำลายได้ง่าย ทั้งนี้อาการแผลจุดช้ำสังเกตได้ชัดเจนจากด้านใต้ใบหน้าวัว ต่อมาเนื้อเยื่อใบบริเวณที่ถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลายจะเป็นสีเหลือง เมื่อจุดช้ำฉ่ำน้ำเจริญเชื่อมต่อกันทำให้เกิดอาการแผลไหม้จากบริเวณขอบใบ หรือบางครั้งอาจพบอาการไหม้บริเวณกลางใบ เชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายพืชเจริญเพิ่มปริมาณ แล้วเคลื่อนย้ายไปยังบริเวณท่อ

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-16-49

ลำเลียงของก้านใบพืชและลำต้น โดยเชื้อแบคทีเรียจะไปทำลายเซลล์พืชและอุดตันขัดขวางการเคลื่อนย้ายอาหารและน้ำ ทำให้ต้นหน้าวัวเกิดอาการขาดน้ำ ใบแก่ของหน้าวัวที่อยู่ด้านล่างเนื้อใบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ลำต้นหลักของหน้าวัวที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย จะเน่าช้ำเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ทำให้บริเวณจุดเจริญเสียไป ใบหลุดร่วงจากต้นหน้าวัว เมื่อพืชไม่สามารถลำเลียงน้ำและอาหารไปเลี้ยงลำต้นได้ ต้นหน้าวัวจะแสดงอาการเหี่ยวหรือเน่าตายในที่สุด หากจานรองดอกของหน้าวัวที่มีรูปทรงคล้ายหัวใจถูกเชื้อแบคทีเรียเข้าทำลาย เรียกว่าอาการดอกไหม้ นอกจากนี้อาจพบการเข้าทำลายของแบคทีเรียทางปากใบ ทำให้เกิดอาการเป็นจุดวงฉ่ำน้ำรอบแผลเป็นสีน้ำตาล (ปิยรัตน์, 2548; ปิยรัตน์ และคณะ, 2550)

เนื่องจากยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค แนวทางการควบคุมโรคด้วยเชื้อปฏิปักษ์ได้มีการศึกษากันมาบ้าง โดยเสมอใจ และคณะ (2548) ได้ศึกษาการควบคุมโรคไหม้ของหน้าวัวด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยชีววิธีในพื้นที่ปลูกภาคใต้ โดยรวบรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากวัสดุปลูก ใบพืชที่เป็นโรค และใบพืชปกติ ด้วยวิธี dilution plate บนอาหาร King's B และ Nutrient agar เก็บเชื้อแบคทีเรียไว้ทั้งหมด จำนวน 1,387 ไอโซเลท ทดสอบปฏิกิริยายับยั้งเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* คัดเลือกได้เชื้อแบคทีเรีย 18 ไอโซเลท จำแนกเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคโดยใช้กลุ่มเชื้อ 3 ไอโซเลท โดยกลุ่มเชื้อ B1128, B1317 และ B1348 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ดีที่สุด โดยจะดำเนินการทดสอบในโรงเรือนต่อไป นอกจากนี้ Fernandez *et al.* (1989) แยกเชื้อจากเนื้อเยื่อด้านในของก้านใบหน้าวัว นำมาทดสอบพบว่า สามารถควบคุมโรคใบไหม้ได้ ต่อมารายงานของ Fernandez *et al.* (1990, 1991) พบว่าการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัวยังมีความผันแปรของประสิทธิภาพในการควบคุม ซึ่งต้องมีการวิจัยเพื่อปรับใช้ต่อไป

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ที่มีการรวบรวมไว้ใน culture collection และเก็บรวบรวมเชื้อจากแหล่งปลูกหน้าวัวและไม้ดอกไม้ประดับอื่น เพื่อพัฒนาสำหรับควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัว

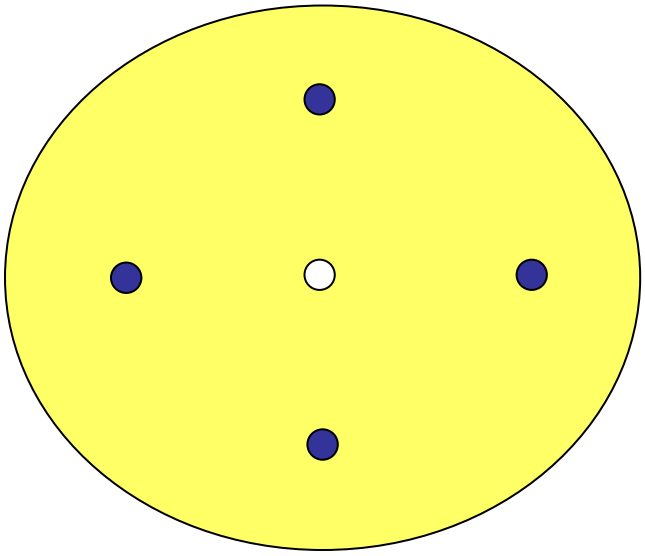
อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียจาก culture collection จำนวน 67 ไอโซเลท และแยกเก็บเชื้อจากบริเวณผิวใบ และในท่อลำเลียงน้ำอาหารบริเวณก้านใบของหน้าวัวและกล้วยไม้ แยกเก็บเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ด้วยวิธี dilution spread plate บนอาหาร Nutrient glucose agar (NGA) เก็บรักษาแบคทีเรียบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทบนอาหารเอียงเททับด้วยพาราฟินเหลว

2. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพ

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ด้วยวิธี paper disc diffusion โดยผสมเซลล์แขวนลอยเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ในอาหาร NGA โดยใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อ 5 มล. เติมลงในอาหาร 100 มล. ผสมให้เข้ากัน แล้วเทบนจานอาหาร NGA ที่เทรองพื้นไว้บาง ๆ ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง (ประมาณ 2-3 ชั่วโมง) จึงวางกระดาษตาปลาที่หยดเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Bacillus* spp. 5 ไมโครลิตร วางกระดาษตาปลา 4 จุดต่อจานเลี้ยงเชื้อ ตรงกลางวางกระดาษตาปลาที่หยดน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อเป็นการทดลองควบคุม (ภาพแสดงการวางกระดาษตาปลา)



บ่มจานเลี้ยงเชื้อในถุงพลาสติก ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจผลหลังการทดสอบ 24, 48, 72 และหลังการทดสอบ 7 วัน โดยวัดความกว้างรัศมีบริเวณส่วนใส และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางหลังการทดสอบ 7 วัน

3. การทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัวในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

ทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือนปลูกพืชทดลองโดยใช้หน้าวัวพันธุ์อ่อนแอ 2 พันธุ์ คือ โรเซตตา และทรอปิคอล วางแผนการทดลองแบบ CRD เป็น 10 treatment โดยใช้ *Bacillus* sp. ไอโซเลทเดียว และผสม 2 ไอโซเลท โดยเลือกไอโซเลทจาก collection ผสมกับ *Bacillus* sp. ที่แยกจากใบหน้าวัว เปรียบเทียบกับการใช้*Bacillus* sp. การค้า 1 ชนิด และการทดลองเปรียบเทียบไม่พ่นสาร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จาก Culture collection และแยกแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่เจริญครอบคลุมบริเวณผิวใบหน้าวัว จากแหล่งปลูกต่าง ๆ จำนวน 68 ไอโซเลท ทำการทดสอบคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ไอโซเลท P139 พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จำนวน 52 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* มีบริเวณส่วนใสกว้างเฉลี่ย 0.05 -0.9 มม. โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้ง ได้แก่ 20W24, Antหางหมู2, 1G7, 20W1, 2G24, 20W4, Ant-an1, P772, 20W17, 20W18

3. การทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัวในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

เลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเกิดบริเวณส่วนใสกว้าง 5 ไอโซเลท ได้แก่ 20W1, 1G7, 20W4, 2G24 และไอโซเลท P772 ทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง กรรมวิธีที่พ่นด้วย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ 1G7 และ 1G7 +P 772 ให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ

Fukui *et al.* (1999) แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* จากน้ำ sap ที่อยู่บริเวณท่อลำเลียง และจากน้ำที่พืชคายออกมาจากต่อมคายน้ำ พบว่าการใช้กลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากน้ำที่พืชคายออกมาจากต่อมคายน้ำ มีประสิทธิภาพในการควบคุมอาการโรคที่เกิดทางใบได้ ติดตามการเข้าทำลายพืชด้วยสายพันธุ์ bioluminescent พบว่าหลังพ่นเซลล์แขวนลอยของกลุ่มเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถลดความรุนแรง ของการเข้าทำลายจากเชื้อบริเวณต่อมคายน้ำของพืชได้ และเมื่อพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนบาดแผล สามารถยับยั้งการเข้าทำลายพืชทางบาดแผลได้ แต่เมื่อทดสอบการใช้เชื้อแต่ละชนิดเดี่ยว ๆ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *X. axonopodis* pv.*dieffenbachiae* ได้ Alvarez and Mizumoto (2001) จำแนกชนิดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้หน้าวัวที่แยกเชื้อจากผิวใบพืช ประกอบด้วย *Sphingomonas chlorophenolica, Microbacterium testaceum, Brevundimonas veslcularis* และ *Herbaspirillum rubrisulbalbicans* ซึ่งจุลินทรีย์ทั้งสี่ชนิดสามารถมีชีวิตรอดเจริญบนผิวใบพืชได้นานถึงสองเดือน ช่วยปกป้องพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค โดยการพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทุกสัปดาห์ พบสามารถควบคุมโรคได้ 75 เปอร์เซ็นต์ Fujii *et al.* (2002) ทดสอบการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคร่วมกับการใช้พันธุ์พืชต้านทานจากการดัดแปลงพันธุกรรม พบว่าต้นหน้าวัวที่ดัดแปลงพันธุกรรมมีการปลดปล่อย

สารเคมีเป็นโปรตีนที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย แต่ไม่มีผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิด โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ช่วยให้ต้นหน้าวัวมีระบบรากที่สมบูรณ์แข็งแรง ต้นพืชแข็งแรง ออกดอกเร็ว ต้นโตสูง จำนวนใบ และขนาดของใบใหญ่ขึ้น ทั้งนี้จากการศึกษารายงานต่าง ๆ การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เป็นแนวทางในการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัวที่ดีมีประสิทธิภาพ ซึ่งในอนาคตอาจจะมีการผลิตเป็นการค้า

สรุป

พบแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ได้ดี มีเส้นผ่านศูนย์กลางความกว้างของส่วนใสบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 1.5-2.5 เซนติเมตร จำนวน 10 ไอโซเลท คัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (ภาพที่ 1) จากแหล่งปลูกต่างกัน 3 แหล่ง เลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเกิดบริเวณส่วนใสกว้าง จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ 20W1, 1G7, 20W4, 2G24 เป็นเชื้อแบคทีเรียจาก culture collection และ P772 แยกจากใบหน้าวัว (ยังไม่ได้จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์) ทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือนปลูกพืชทดลองโดยใช้หน้าวัวพันธุ์อ่อนแอ 2 พันธุ์ พบว่าการทดลองที่พ่นด้วย *Bacillus* sp. ทุก 7 วัน จำนวน 5 ครั้ง สายพันธุ์ 1G7 ให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำสุด เท่ากับ 2.3 รองลงมาคือ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ 2G24 และ 20W1 ความรุนแรงในการเกิดโรคเท่ากัน คือ 2.6 โดยการทดลองเปรียบเทียบมีความรุนแรงในการเกิดโรคในระดับ 3.2 (ภาพที่ 2) แต่จะทำการทดสอบซ้ำ เพื่อยืนยันผลการทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2548. โรคใบไหม้!! ปัญหาใหญ่ของหน้าวัว. ข่าวอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. ปีที่ 1 ฉบับที่ 7 กันยายน 2548. หน้า 2.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วงศ์ บุญสืบสกุล. 2550. สำรวจ รวบรวม จำแนกและประเมินความรุนแรงของแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว. ผลงานวิจัยเรื่องเต็มการประชุม สัมมนาวิชาการอารักขาพืชเพื่อการผลิตสู้วิกฤตโลกร้อน. 21-23 สิงหาคม 2550.

เสมอใจ ชื่นจิตต์ วสันต์ เพชรรัตน์ และพรศิลป์ จันทวีเมือง. 2548. การประเมินการควบคุมโรคใบไหม้ของหน้าวัวด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์. รายงานก้าวหน้า การประเมินผลศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืช และวัชพืชทางการเกษตรและสาธารณสุขที่สำคัญในประเทศไทย.

http://conf.agi.nu.ac.th/nhc7/upload/abstract/abstract%20หน้าวัว1.doc (15-11-2551)

Alvarez, A. and C. Mizumoto. 2001. Bioprotection and stimulation of aroids with phylloplane bacteria. Phytopathology. 91:S3.

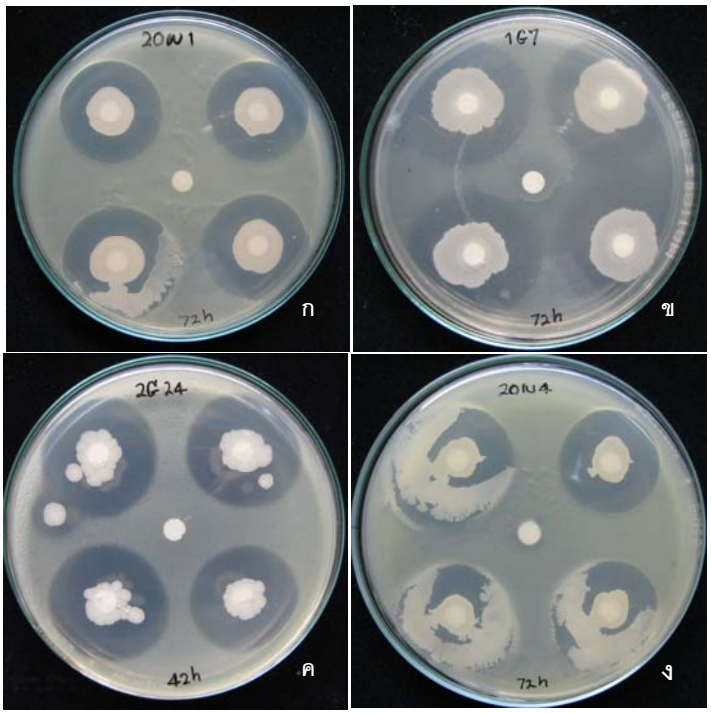
Fernandez, J. A., M. J. Tanabe, P. Moriyasu and B. Duffy. 1989. Biological control. Pages 27-29 in: Proc. Anthurium Blight Conf., 2nd. J.A. Fernandez and T. Nishijima, eds. Hawaii Inst. Trop. Agric. Human Res., University of Hawaii, Honolulu.

Fernandez, J. A., M. J. Tanabe, P. Moriyasu and W. J. Wolff. 1990. Biological control. Pages 41-43 in: Proc. Anthurium Blight Conf., 3rd. A. M. Alvarez, ed. Hawaii Inst. Trop. Agric. Human Res., University of Hawaii, Honolulu.

Fernandez, J. A., M. J. Tanabe, W. J. Wolff and P. Moriyasu. 1991. Biological control. Pages 28-30 in: Proc. Anthurium Blight Conf., 4th. A. M. Alvarez, D. C. Deardorff, and K. B. Wadsworth, eds. Hawaii Inst. Trop. Agric. Human Res., University of Hawaii, Honolulu.

Fukui, R., H. Fukui and A. M. Alvarez. 1999a. Comparisons of single versus multiple bacterial species on biological control of anthurium blight. Phytopathology. 89:366-373.

Fukui, R., H. Fukui and A. M. Alvarez. 1999b. Suppression of bacterial blight by a community isolated from the futtation fluids of anthuriums. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1020-1028.



ภาพที่ 1 บริเวณวงใส (clear zone) จากการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์

(ก) *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W1

(ข) *Bacillus* sp. ไอโซเลท 1G7

(ค) *Bacillus* sp. ไอโซเลท 2G24

(ง) *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W4

ภาพที่ 2 ผลการควบคุมโรคใบไหม้หน้าวัว ด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

(ก) การทดลองเปรียบเทียบ

(ข) แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลท 1G7

(ค) แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W4

(ง) แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W1

อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในสบู่ดำ

Taxonomy of Insect Pests found on Physic nut

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

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและรวบรวมแมลงศัตรูสบู่ดำ physic nut : *Jatropha curcas* Linnaeus ในแหล่งปลูกสบู่ดำ จังหวัดนครราชสีมา เชียงใหม่ กาญจนบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้ไปศึกษาด้านอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบแมลงศัตรูเข้าทำลายสบู่ดำ 2 ชนิด ได้แก่ *Chrysocoria grandis* Thub. วงศ์ Scutelleridae อันดับ Hemiptera และ *Terrisia virgata* (Cockerell) วงศ์ Pseudococcidae อันดับ Homoptera การวิจัยเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2552

คำนำ

วิกฤตการณ์น้ำมันเชื้อเพลิงที่มีราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้รัฐบาลมีนโยบายส่งเสริมการปลูกพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน สบู่ดำ physic nut, purging nut : *Jatropha curcas* Linnaeus วงศ์ Euphorbiaceae เป็นพืชชนิดหนึ่งที่เมล็ดมีปริมาณน้ำมันถึงร้อยละ 30–35 ของน้ำหนักเมล็ด น้ำมันที่ได้ใช้ได้ดีกับเครื่องยนต์ดีเซลโดยไม่ต้องผสมกับน้ำมันเครื่องชนิดอื่น ดังนั้นในปี 2549 – 2555 รัฐบาลจึงเริ่มโครงการส่งเสริมการปลูกสบู่ดำ ในช่วงปีแรกๆ ได้ผลผลิตเพียง 300 –500 กิโลกรัม/ไร่/ปี ซึ่งไม่เพียงพอเพื่อผลิตทดแทนพลังงานระดับอุตสาหกรรมที่ต้องการผลผลิตถึง 1,500 กิโลกรัม/ไร่/ปี ในการผลิตสบู่ดำเพื่อให้ได้ผลผลิตตามที่ต้องการ นอกจากจะต้องเร่งพัฒนาเรื่องพันธุ์และการปลูกเป็นสำคัญแล้ว แมลงศัตรูสบู่ดำก็เป็นปัจจัยหลักที่เข้าทำลายทำให้ผลผลิตของสบู่ดำลดลง สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับแมลงศัตรูสบู่ดำ เตือนจิตต์และคณะ(2525) ได้รายงานถึงกลุ่มแมลงศัตรูสบู่ดำ ซึ่งมีทั้งประเภทปากกัดและปากดูด แต่ไม่มีรายงานการศึกษาถึงชนิด (species) ในด้านอนุกรมวิธาน ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานแมลงที่เข้าทำลายสบู่ดำในครั้งนี้ ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างมาก ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการจัดการแมลงศัตรูสบู่ดำที่ถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-35-51

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1) ตัวอย่างแมลงทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัยที่รวบรวมได้จากแปลงปลูกสบู่ดำ

2) อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ สวิงตาข่าย ขวดฆ่า ซองกระดาษรูปสามเหลี่ยม ขวดดองตัวอย่างแมลง alcohol พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ถังแช่เย็น ฯลฯ

3) อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชื้น ตู้อบแมลง ฯลฯ

4) อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น AGA, sodium hydroxide, potassium hydroxide, alcohol, hydrochloric acid, glacial acetic acid, xylene, carbolic acid, acid fuchsin, N-butyl alcohol, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เตาไฟฟ้า (hot plate) ตู้อบแผ่นสไลด์แก้ว แผ่นสไลด์แก้วและแผ่นแก้วปิดสไลด์

5) กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพแมลงศัตรูสบู่ดำที่พบ และกล้องถ่ายภาพ

6) อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ

7) เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลงอันดับต่างๆ

วิธีการ

1) สำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูที่พบในแปลงปลูกสบู่ดำในภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีวิธีเก็บรวบรวมแตกต่างกันในแต่ละชนิด เช่น

- ใช้สวิงโฉบ (ผีเสื้อ ด้วงปีกแข็ง ฯลฯ) ใช้มือจับ (หนอนผีเสื้อ หนอนด้วง ฯลฯ) หรือใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่แมลงเหล่านี้เข้าทำลาย

- ใช้วิธีการเคาะจากต้นพืช (เพลี้ยไฟ) ตัดกิ่งพืชที่มีแมลงติดอยู่ (เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน) นำดองในแอลกอฮอล์ หรือน้ำยาที่ใช้ดองเฉพาะชนิด เช่น AGA ใช้ดองเพลี้ยไฟ รวมทั้งเก็บตัวอย่างที่มีชีวิตด้วย

2) นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ

- ตัวอย่างหนอนหรือตัวอ่อนแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโต ตัวเต็มวัย นำไปจัดรูปร่าง และอบให้แห้ง

- เพลี้ยไฟ เพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน นำไปทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของแต่ละชนิด ส่วนแมลงที่ยังมีชีวิตนำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาการเจริญเติบโต และพฤติกรรมต่างๆ

3) นำแมลงที่จัดรูปร่าง และอบแห้ง หรือทำสไลด์เรียบร้อยแล้วไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลง

4) จัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดของแมลง พร้อมวาดภาพลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของแมลงที่ได้ศึกษา

5) บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่าง

6) นำเก็บเข้าพิพิธภัณฑ์แมลง

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2550 – เดือนกันยายน 2553

สถานที่: 1) แหล่งปลูกสบู่ดำ ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พบแมลงศัตรู 2 ชนิด ได้แก่ มวนหลังแข็งสบู่ดำ : physic nut bug ; *Chrysocoris grandis* Thub. วงศ์ Scutelleridae อันดับ Hemiptera เข้าทำลายโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ยอดอ่อน ช่อดอกและผล และเพลี้ยแป้งลาย : striped mealybug : *Ferrisia virgata* (Cockerell) ดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ และยอดอ่อน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงศัตรูสบู่ดำ ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 ในแหล่งปลูกสบู่ดำ จังหวัดนครราชสีมา เชียงใหม่ กาญจนบุรี พบแมลงศัตรู 2 ชนิด ได้แก่ มวนหลังแข็งสบู่ดำ : physic nut bug ; *Chrysocoris grandis* Thub. และเพลี้ยแป้งลาย : striped mealybug : *Ferrisia virgata* (Cockerell)

เอกสารอ้างอิง

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุฑธ์, วรจิต ผาภูมิ, พิสิษฐ์ เสพสวัสดิ์, ศรีสมร พิทักษ์, เรณู สุวรรณพรสกุล และปัญญา ปุญญถาวร. 2525. การสำรวจและรวบรวมแมลงศัตรูสบู่ดำ. น.17 – 20 ***ใน*** รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2525. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae

Taxonomy of Aphids Subfamily Aphininae

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

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae ที่มีอยู่ในประเทศไทย จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 5 สกุล คือ *Rhopalosiphum*, *Aphis*, *Macrosiphum*, *Toxoptera* และ *Myzus* การวิจัยยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2552

คำนำ

เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงปากดูดขนาดเล็ก ในอันดับ Homoptera วงศ์ Aphididae แมลงวงศ์นี้มีลักษณะพิเศษ คือตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งแบบใช้เพศและแบบไม่ใช้เพศ (parthenogenesis) ทำให้เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้งมีมดบางชนิดอาศัยร่วมอยู่ด้วยและเป็นตัวช่วยกระจายเพลี้ยอ่อนจากส่วนหนึ่งของพืชไปยังอีกส่วนหนึ่ง หรือจากพืชต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่ง เพลี้ยอ่อนทำลายพืชโดยดูดน้ำเลี้ยงอยู่ใต้ใบพืช ส่วนอ่อน ๆ ของพืช เช่น ยอดอ่อน ดอกอ่อนและผลอ่อน ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบย่น ผลบิดเบี้ยว ใบและผลที่ถูกทำลายจะแห้งและร่วงไปในที่สุด ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ชะงักการเจริญเติบโต หรือบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยอ่อนยังขับถ่ายของเหลวมีลักษณะเป็นน้ำเหนียว ๆ เรียกว่า มูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็นอาหารของราดำ ทำให้ราดำเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ปกคลุมใบและผล ใบจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ สำหรับผลจะสกปรกเนื่องจากมูลน้ำหวานและราดำ ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ เพลี้ยอ่อนนอกจากจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากพืชแล้วยังเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืชบางชนิด เช่น โรคใบหงิกในฝ้าย โดยเพลี้ยอ่อนที่ดูดกินน้ำเลี้ยงต้นพืชที่เป็นโรค เชื้อไวรัสจากต้นพืชจะเข้าไปอยู่ในตัว

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-02-03

เพลี้ยอ่อน เมื่อเพลี้ยอ่อนไปดูดกินพืชต้นอื่นเชื้อไวรัสจะถูกถ่ายไปกับน้ำลายทำให้พืชต้นนั้นเป็นโรคด้วย

เพลี้ยอ่อนวงศ์ Aphididae แบ่งออกเป็น 8 วงศ์ย่อย (Blackman and Eastop, 2000) และจากรายงานของ Sirikajornjaru, 2002 ซึ่งสำรวจเพลี้ยอ่อนในภาคเหนือของประเทศไทยพบเพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae 32 ชนิด ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่รวบรวมได้
2. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อน ได้แก่ ขวดเก็บตัวอย่าง น้ำยาดอง พู่กันและกล่องพลาสติกขนาดต่าง ๆ
3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่าง ๆ เช่น potassium hydroxide, alcohol, lactic acid, glacial acetic acid, xylene, clove oil และ canada balsam บีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิเมตร เตาไฟฟ้า (hot plate) ตู้อบแผ่นสไลด์แก้ว แผ่นสไลด์แก้วและ cover slip
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope อุปกรณ์กล้องถ่ายภาพ และฟิล์ม
5. อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ดินสอ ยางลบ กระดาษกราฟ ปากกา Rotring และกระดาษเขียนแบบ
6. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดเพลี้ยอ่อน

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ ใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบางส่วนใส่ขวดดองตัวอย่างแมลงที่บรรจุน้ำยาสำหรับดองเพลี้ยอ่อนซึ่งประกอบด้วย alcohal 80% และ lactic acid 75% อัตรา 2 : 1 บันทึกสถานที่ วัน เดือน ปีที่เก็บตัวอย่าง ชนิดของพืชและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บตัวอย่างบนกระดาษไขเขียนแบบใส่ลงในขวดดองตัวอย่างแมลงแต่ละขวด เก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนอีกส่วนหนึ่งรวมทั้งพืชอาหารใส่ในกล่องพลาสติกใสที่ฝากล่องบุด้วยลวดตาข่ายตาถี่ พร้อมกับบันทึกรายละเอียดปิดไว้ที่กล่องพลาสติกเช่นเดียวกับที่ใส่ลงในขวดดองตัวอย่างเพลี้ยอ่อน ถ่ายภาพลักษณะอาการของพืชที่ถูกทำลายในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อจำแนกชนิดเบื้องต้น

2. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากข้อ 1. มาตรวจลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่าง ๆ เช่น รูปร่าง ขนาด และสี เป็นต้น

3. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนมาทำสไลด์ถาวร โดยวิธีการของ Blackman and Eastop (1994) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.1 นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนออกจากขวดดอง ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบน และรีดเอาของเหลวภายในตัวออก ระวังอย่าให้ส่วนของปากเสียหาย

3.2 นำเพลี้ยอ่อนที่เจาะแล้วใส่ในหลอดแก้วที่มีแอลกอฮอล์ 95% นำไปต้มใน water bath นาน 1 – 2 นาที

3.3 ดูดแอลกอฮอล์ออก เติมสารละลาย KOH 10% สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 3 – 5 นาที

3.4 ดูด KOH ออก ล้างตัวอย่างโดยเติมน้ำกลั่นแล้วดูดออก ทำซ้ำ 5 – 6 ครั้ง แล้วแช่ทิ้งไว้อีก 5 นาที

3.5 ดูดน้ำกลั่นออก เติม glacial acetic สูงประมาณ 1 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 2 – 3 นาที แล้วดูดออก ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง

3.6 เติม clove oil ลงไปเพื่อทำให้ตัวอย่างใส ทิ้งไว้ 10 – 20 นาที หรือจนตัวอย่างใส

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

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

5. วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิดบนกระดาษกราฟ และลอกลงกระดาษไขเขียนแบบ

6. บันทึกชื่อสกุล และชนิดของเพลี้ยอ่อน พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย และแมลงศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยอ่อนแต่ละชนิด

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2550 - เดือนกันยายน 2551

สถานที่ : 1. แหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลการทดลองและวิจารณ์

เพลี้ยอ่อนเป็นแมลงในอันดับ Hemiptera วงศ์ Aphididae วงศ์ย่อย Aphidinae เป็นแมลงที่มีขนาดตัวเล็ก (ประมาณ 1 มิลลิเมตร) รูปร่างคล้ายผลฝรั่ง เพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae มีหนวดเรียวยาว ยาวมากกว่า 0.3 เท่าของลำตัว ส่วนหัวและอกแยกออกจากกัน ตาเป็นตารวมประกอบด้วยเซลล์ตา (facet) หลายเซลล์ (multifacets) ร่องหนวดมีทั้งที่ไม่พัฒนา พัฒนาน้อย จนถึงพัฒนาดี จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร จากการตรวจวิเคราะห์เบื้องต้นพบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 5 สกุล คือ *Rhopalosiphum*, *Aphis, Macrosiphum, Toxoptera* และ *Myzus* ขณะนี้อยู่ระหว่างการทำสไลด์ถาวรเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 5 สกุล คือ *Rhopalosiphum*, *Aphis, Macrosiphum, Toxoptera* และ *Myzus*

เอกสารอ้างอิง

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

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

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์

Study on the Rare and Endangered Insect Species

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

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550-ตุลาคม 2551 โดยการออกสำรวจแมลงหายาก จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ ในประเทศไทย สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ เช่น นครปฐมเพชรบุรี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ชัยภูมิ แม่ฮ่องสอน และเชียงใหม่ พบแมลงหายากจำนวน ได้ตัวอย่างแมลงหายากทั้งหมด 11 ชนิด ในอันดับ Coleopera 3 ชนิด ได้แก่หิ่งห้อย *Vetta* sp.(วงศ์ Lymphylidae) หิ่งห้อยเทียม *Duliticola* sp. (วงศ์ Lycidae) และด้วงกว่างดาว *Cheirotonus parryi* Gray (วงศ์ Carabidae) อันดับ Hymenoptera พบ 1 ชนิด คือ ชันโรงสิรินธร *Trigona sirindhornae* Michener & Boongird (วงศ์ Apidae) อันดับ Orthoptera พบ 1 ชนิด คือ จิ้งหรีดเขา *Paraloxoblemmus* sp. (วงศ์ Gryllidae) แมลงในอันดับ Lepidoptera พบ 6 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อปารีส *Papilio paris paris* Linnaeus (วงศ์ Papilionidae) ผีเสื้อถุงทอง *Troides aeacus aeacus* (Felder & Felder) (วงศ์ Papilionidae) ผีเสื้อหางติ่งมหาเทพ *Papilio mahadeva* Moore (วงศ์ Papilionidae) ผีเสื้อม้าลาย *Graphium* sp. (วงศ์ Papilionidae) ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก *Actias maenas* Doubleday (วงศ์ Saturniidae) ผีเสื้อค้างคาว *Lyssa zampa* (Butler) (วงศ์ Uraniidae)

คำนำ

ประเทศไทยมีความหลากหลายทางด้านแมลงสูงทั้งด้านจำนวนชนิดและปริมาณ แมลงบางชนิดมีรูปร่างแปลกและสวยงามเป็นที่ต้องการและแสวงหาเพื่อสะสมไว้เป็นสมบัติส่วนตัวหรือซื้อขายแลกเปลี่ยน จึงมีการล่าจับแมลงกันมากเพื่อประโยชน์ทางการค้า จากการที่มีธุรกิจค้าแมลงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วนี้ ทำให้น่าเป็นห่วงว่าแมลงจะถูกจับไปเป็นจำนวนมาก อาจทำให้แมลงบางชนิดที่มี

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-41-51

ปริมาณน้อยอยู่แล้วในธรรมชาติสูญพันธุ์ไปได้ ดังนั้นจึงได้ดำเนินการศึกษาชนิดของแมลงอนุรักษ์โดยเฉพาะแมลงที่สวยงามและหายาก ซึ่งมีการล่า การค้ามากรวมทั้งแหล่งที่อยู่อาศัยของแมลงหายากยากชนิดต่างๆ นั้น ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ให้สามารถดำรงอยู่ในธรรมชาติได้อย่างยั่งยืนดั่งความหมายหนึ่งของคำว่า อนุรักษ์ คือ การสงวนสิ่งหายากให้คงอยู่เดิม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างแมลงที่สวยงามและหายาก
2. เครื่องมือจับแมลง เช่น สวิง ปากคีบ
3. กับดักแสงไฟ
4. เครื่องมือจัดรูปร่างแมลง

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการ

1. รวบรวมตัวอย่างแมลงทุกชนิดจากสภาพธรรมชาติ ซึ่งในสภาพธรรมชาติสามารถรวบรวมได้โดยวิธีการต่อไปนี้

- ใช้สวิงโฉบ (ผีเสื้อ ด้วงปีกแข็ง ฯลฯ) ใช้มือจับ (หนอนผีเสื้อ หนอนด้วง ฯลฯ) หรือใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่สัตว์เหล่านี้เข้าทำลาย
- นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการ
- ตัวอย่างหนอนหรือตัวอ่อนแมลง นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาพฤติกรรมและการเจริญเติบโต เมื่อหนอนหรือตัวอ่อนแมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัย นำไปจัดรูปร่างและอบให้แห้ง
- นำแมลง ที่จัดรูปร่าง และอบแห้ง หรือทำสไลด์เรียบร้อยแล้วไป

2. ตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลงแต่ละชนิด

- บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง และบันทึกรายละเอียดข้อมูลสำคัญของแมลงและชนิดของพืชที่พบตัวอย่าง ถ่ายภาพ แมลงที่ได้ศึกษา

3. จัดเก็บแมลงในพิพิธภัณฑ์

- นำตัวอย่างแมลง จัดใส่กล่อง เก็บเรียงใส่ในลิ้นชักและเรียงตามลำดับตัวอักษรภาษาอังกฤษ

4. การดูแลรักษาตัวอย่างแมลง

- ใส่สารป้องกันแมลง (การบูรหรือลูกเหม็น) เพื่อป้องกันแมลงขนาดเล็กที่สามารถเข้า

ทำลายตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ได้ทั้งในหีบไม้และในแต่ละลิ้นชักของแต่ละตู้เก็บ และเติมสารป้องกันแมลงเข้าทำลายตัวอย่างทุก 1 – 2 เดือน

- รมสารป้องกันกำจัดแมลง เช่น เมทิลโบร์ไมด์ (methyl bromide) ทุก 6 เดือน

วิธีการ

สำรวจและรวบรวมตัวอย่างแมลงตามสถานที่ต่างๆ โดยเฉพาะในเขตป่าอนุรักษ์ นำแมลงที่มีสีสันสวยงามหรือรูปร่างแปลกมาจำแนกชนิด ศึกษาข้อมูลของชนิดเหล่านั้นในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร โดยดูปริมาณที่มีในพิพิธภัณฑ์ ปีที่จับได้ครั้งสุดท้าย ศึกษาค้นคว้าข้อมูลจากเอกสารต่างๆ ถึงสถานะภาพความมากน้อยของแมลงเหล่านี้ เช่น พบทั่วไปหรือหายาก รวมทั้งข้อมูลจากผู้ค้าแมลงทั้งในและต่างประเทศ บันทึกข้อมูลวันที่จับ สถานที่จับ ชื่อวิทยาศาสตร์

เวลาและสถานที่ เดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551

สำรวจตามพื้นที่ป่าไม้ อุทยานแห่งชาติ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าในจังหวัดต่างๆ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจรวบรวมแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ที่กำหนดไว้ตาม พ.ร.บ. สงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 ตามพื้นที่ป่าไม้ เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าในจังหวัดต่างๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 พบแมลงหายากจำนวน ได้ตัวอย่างแมลงหายากทั้งหมด 11 ชนิด ในอันดับ Coleopera 3 ชนิด ได้แก่หิ่งห้อย *Vetta* sp.(วงศ์ Lymphylidae) หิ่งห้อยเทียม *Duliticola* sp. (วงศ์ Lycidae) และด้วงกว่างดาว *Cheirotonus parryi* Gray (วงศ์ Carabidae) อันดับ Hymenoptera พบ 1 ชนิด คือ ชันโรงสิรินธร *Trigona sirindhornae* Michener & Boongird (วงศ์ Apidae) อันดับ Orthoptera พบ 1 ชนิด คือ จิ้งหรีดเขา *Paraloxoblemmus* sp. (วงศ์ Gryllidae) แมลงในอันดับ Lepidoptera พบ 6 ชนิด ได้แก่ ผีเสื้อปารีส *Papilio paris paris* Linnaeus (วงศ์ Papilionidae) ผีเสื้อถุงทอง *Troides aeacus aeacus* (Felder & Felder) (วงศ์ Papilionidae) ผีเสื้อหางติ่งมหาเทพ *Papilio mahadeva* Moore (วงศ์ Papilionidae) ผีเสื้อม้าลาย *Graphium* sp. (วงศ์ Papilionidae) ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก *Actias maenas* Doubleday (วงศ์ Saturniidae) ผีเสื้อค้างคาว *Lyssa zampa* (Butler) (วงศ์ Uraniidae ตามรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. อันดับ Coleoptera

พบแมลงในกลุ่มด้วง 3 ชนิด จำนวน 9 ตัวอย่าง แบ่งเป็น

วงศ์ Carabaeidae สำรวจพบ

- ด้วงกว่างดาว *Cheirotonus parryi* Gray (ภาพที่ 1)

  สถานที่พบ : อำเภอคอนสาร จังหวัดชัยภูมิ

จำนวนที่สำรวจพบ 7 ตัวอย่าง

วงศ์ Lycidae สำรวจพบ (ภาพที่ 2)

- หิ่งห้อยเทียม *Duliticola* sp.

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดตรัง

จำนวนที่สำรวจพบ 1 ตัวอย่าง

วงศ์ Lymphylidae สำรวจพบ

- หิ่งห้อย *Vetta* sp.

สถานที่พบ : อำเภอแจ้ห่ม จังหวัดลำปาง

จำนวนที่สำรวจพบ 1 ตัวอย่าง

2. **อันดับ** Hymenoptera **พบ 1 ชนิด คือ**

วงศ์ Apidae สำรวจพบ (ภาพที่ 3)

- ชันโรงสิรินธร *Trigona sirindhornae* Michener & Boongird

สถานที่พบ : อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี

จำนวนที่สำรวจพบ 20 ตัวอย่าง

3. **อันดับ** Orthoptera **พบ 1 ชนิด คือ**

วงศ์ Gryllidae (ภาพที่ 4)

- จิ้งหรีดเขา *Paraloxoblemmus* sp.

สถานที่พบ : อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

4. **อันดับ** Lepidoptera

พบแมลงในกลุ่มผีเสื้อ 6 ชนิด จำนวน 29 ตัวอย่าง แบ่งเป็น

4.1 ผีเสื้อกลางวัน (butterfly) 1 วงศ์ (family) จำนวน 4 ชนิด ได้แก่

วงศ์ Papilionidae สำรวจพบ

- ผีเสื้อถุงทอง *Troides aeacus aeacus* (Felder & Felder) (Godfrey, 1916) (ภาพที่ 5)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ จำนวนที่สำรวจพบ 3 ตัวอย่าง

สถานที่พบ : อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

- ผีเสื้อหางติ่งปารีส *Papilio paris paris* Linnaeus (Godfrey, 1927) (ภาพที่ 6)

สถานที่พบ : อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

สถานที่พบ : สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อ. วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา

จำนวนที่สำรวจพบ 3 ตัวอย่าง

- ผีเสื้อหางติ่งมหาเทพ *Papilio mahadeva* Moore (Pinratana and Eliot, 1992) (ภาพที่ 7)

สถานที่พบ : อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

- ผีเสื้อม้าลาย *Graphium* sp. (ภาพที่ 8)

สถานที่พบ : อำเภอแก่งกระจาน จังหวัดเพชรบุรี จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

4.2 ผีเสื้อกลางคืน (moth) 2 วงศ์ จำนวน 2 ชนิด ได้แก่

วงศ์ Saturniidae สำรวจพบ

- ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก *Actias maenas* (Pinratna and Lampe, 1990) (ภาพที่ 9)

สถานที่พบ : อำเภอวังชิ้น จังหวัดตาก จำนวนที่สำรวจพบ 3 ตัวอย่าง

วงศ์ Uraniidae สำรวจพบ

- ผีเสื้อค้างคาว *Lyssa zampa* Butler (Hampson, 1892) (ภาพที่ 10)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวนที่สำรวจพบ 10 ตัวอย่าง
อำเภอเทพสถิต จังหวัดชัยภูมิ จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550-ตุลาคม 2551 โดยการออกสำรวจแมลงหายาก จากบริเวณเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าและอุทยานแห่งชาติต่างๆ ในประเทศไทย สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช และจากบริเวณที่มีป่าไม้อุดมสมบูรณ์ในจังหวัดต่างๆ เช่น นครปฐมเพชรบุรี นครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง ชัยภูมิ แม่ฮ่องสอน และเชียงใหม่ พบแมลงหายากจำนวน ได้ตัวอย่างแมลงหายากทั้งหมด 11 ชนิด ในอันดับ Coleopera 3 ชนิด อันดับ Hymenoptera พบ 1 ชนิด อันดับ Orthoptera พบ 1 ชนิด อันดับ Lepidoptera พบ 6 ชนิด

จากการสำรวจพบเพียงตัวเต็มวัยของแมลงเหล่านี้ ซึ่งในการอนุรักษ์แมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ ควรมีการศึกษาเรื่องพืชอาหารและระบบนิเวศที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ไปด้วย ซึ่งยังขาดข้อมูลด้านนี้อยู่มากจึงจะสามารถอนุรักษ์แมลงที่หายากและใกล้สูญพันธุ์ได้ ให้คงอยู่ในธรรมชาติอย่างยั่งยืนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Barlow, H.S. 1982. *An Introduction to the Moths of South East Asia.* Kuala Lumpur: the author.

Godfrey, E.J. 1916. The butterflies of Siam. Jour. Nat. Hist. Soc. Siam. 2(2):106-147.

Godfrey, E.J. 1927. A list of butterflies collected in northern Siam by Mr. M.B. Tennent. Jour. Siam Soc. Nat. Hist. Suppl. 7(2):119-127.

Hampson, G.F. (1892). Moths vol. 1. *The Fauna of British India including Ceylon and Burma.* London: Taylor & Francis.

Pinratana, A. and Eliot, J.N. 1992. Butterflies in Thailand. Vol. 7 Papilionidae and Danaidae. (3rd revised edition). Bosco offset. Bangkok.

Pinratna, A. and Lampe, R.E.S. 1990. Moths of Thailand. Vol.1 Saturniidae. Bosco Offset. Bangkok.

ภาพที่ 1 ด้วงกว่างดาว *Cheirotonus parryi* Gray

ภาพที่ 2 หิ่งห้อยเทียม *Duliticola* sp.

ภาพที่ 3 ชันโรงสิรินธร *Trigona sirindhornae*

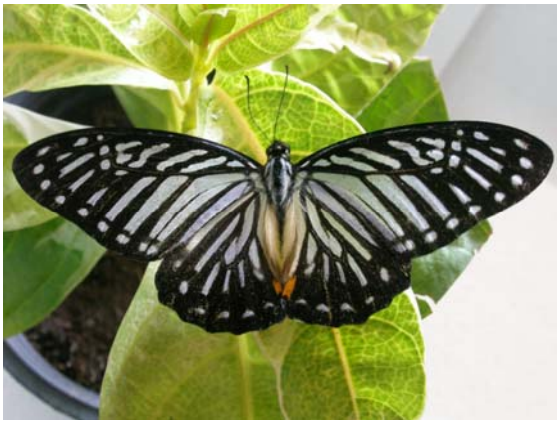
ภาพที่ 4 จิ้งหรีดเขา *Paraloxoblemmus* sp.

ภาพที่ 5 ผีเสื้อหางติ่งปารีส *Papilio paris paris* Linnaeus

เพศผู้

เพศเมีย

ภาพที่ 6 ผีเสื้อถุงทอง *Troides aeacus aeacus* (Felder & Felder) และเพศเมีย



ภาพที่ 7 ผีเสื้อหางติ่งมหาเทพ *Papilio mahadeva*

ภาพที่ 8 ผีเสื้อม้าลาย *Graphium* sp.

เพศผู้

เพศเมีย

ภาพที่ 9 ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก *Actias maenas* Doubleday

ภาพที่ 10 ผีเสื้อค้างคาว *Lyssa zampa* (Butler)

ศึกษาชนิดและความแปรปรวนประชากรของเพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้งในกระเพราและโหระพาเพื่อการส่งออก

Study on Species and Fluctuation of Thrips, Leafminer, Whitefly and Mealybug on Holy basil and Sweet basil for Exported

สัญญาณี ศรีคชา ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา บุษบง มนัสมั่นคง ศิริณี พูนไชยศรี
ชลิดา อุณหวุฒิ อุราพร หนูนารถ ยุวรินทร์ บุญทบ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจเพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้ง ในกระเพราและโหระพา พบว่าในแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร ที่อำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี พบว่ามีประชากรเพลี้ยไฟมากที่สุด และพบทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช รองลงมาเป็น หนอนชอนใบ โดยพบมากในช่วงที่ย้ายกล้าปลูกใหม่ถึงอายุหนึ่งเดือน ส่วนแมลงหวี่ขาวพบว่ามีประชากรน้อยเป็นลำดับที่ 3 และจะพบมากในช่วงที่กระเพราและโหระพาออกดอก เพลี้ยแป้งพบน้อยมากและพบเพียงครั้งเดียว ส่วนแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี พบว่ามีประชากรเพลี้ยไฟมากที่สุด และพบทุกระยะการเจริญเติบโตของพืชซึ่งก็มีลักษณะคล้ายคลึงกับในแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร ที่อำเภอลาดหลุมแก้ว รองลงมาเป็นหนอนชอนใบ ซึ่งก็พบมากในช่วงที่ย้ายกล้าปลูกใหม่ถึงอายุหนึ่งเดือนแต่มีปริมาณมากกว่าในแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร ที่อำเภอลาดหลุมแก้ว ส่วนแมลงหวี่ขาวพบว่ามีประชากรน้อยเป็นลำดับที่ 3 และจะพบมากในช่วงที่กระเพราและโหระพาออกดอก ส่วนเพลี้ยแป้งไม่พบ

คำนำ

กระเพราและโหระพาเป็นพืชผักสวนครัวในอดีตปลูกเพื่อการบริโภคภายในประเทศเท่านั้น แต่ปัจจุบันมีการส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศ เช่น ในประเทศญี่ปุ่นมีการนำเข้าพืชผักสวนครัวจากประเทศไทยมากกว่า 200 ตันต่อปี นอกจากนี้ยังส่งไปจำหน่ายยังประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป หรือ EU อีกด้วย แต่พบว่าเคยรายงานจากสำนักที่ปรึกษาการเกษตรต่างประเทศประจำสหภาพยุโรป เกี่ยวกับปัญหาการนำเข้าเครื่องปรุงและพืชสมุนไพรจากประเทศไทย ในช่วงเดือนสิงหาคม 2545 ถึงพฤษภาคม 2546 มีการตรวจยึด/ปฏิเสธการนำเข้า/ทำลายสินค้า จากประเทศเดนมาร์ก เนื่องจากพบหนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.) ในโหระพา และแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*

รหัสโครงการ 09-02-49-01

Gennadius) ในผักชีสด จำนวน 11 รายการ จาก 124 รายการ หรือคิดเป็นร้อยละ 8.87 ของสินค้าทั้งหมด ที่ถูกกัก/ทำลาย และจากการสุ่มตรวจศัตรูพืชในสินค้าเกษตรก่อนการส่งออก ณ ท่าอากาศยานกรุงเทพฯ ของสำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืชในปี 2548 พบว่าจากตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด 154,948 ตัวอย่าง แบ่งเป็นสินค้าประเภทพืชผัก ผลไม้ และไม้ดอกไม้ประดับ 67.9 13.2 และ 18.9 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ตรวจพบศัตรูพืช 6,108 ตัวอย่างต่อเดือน หรือคิดเป็นร้อยละ 3.94 ต่อเดือน โดยพบศัตรูพืชในสินค้าประเภทพืชผักสูงถึง 78.2 เปอร์เซ็นต์ ผลไม้และไม้ดอกไม้ประดับ 10.8 และ 11.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนชนิดของศัตรูพืชที่พบบ่อย คือ ตัวอ่อนแมลงหวี่ขาว เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน หนอนชอนใบ ด้วยพบในกระเพรา โหระพา ผักชีฝรั่ง คื่นฉ่าย และใบแมงลัก นอกจากนี้จากการรายงานการสำรวจชนิดแมลงศัตรูและความเสียหายของกระเพรา โหระพา และผักชีฝรั่ง ในแหล่งปลูกจังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี และนครปฐม ในปี 2547 พบแมลงศัตรูหลายชนิด คือ หนอนม้วนใบ (*Ophanostigma abruptalis* (Walker)) หนอนชอนใบ (*Liriomyza* sp.) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* (Fabricius)) หนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hubner) หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera* (Hubner)) เพลี้ยไฟ (*Dorcadothrips* sp.) มวนปีกแก้ว (*Monanthia globulifera* Walk.) ไรแดง(*Tetranychus tumidus* Banks) เพลี้ยอ่อน และเพลี้ยแป้ง (เตือนจิตต์และคณะ ,2548) และ Polboon (1965) รายงานว่าในประเทศไทยพบแมลงศัตรูกัดกินใบกระเพราคือ *Borbo beyani* Moor (Lepidoptera : Hesperiidae) เพียงชนิดเดียวเท่านั้น

จากการเปิดเสรีการค้าภายใต้องค์การการค้าโลก โดยยกเลิกมาตรการกีดกันทางภาษี และให้ใช้มาตรการทางสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) ทดแทน เพื่อให้ประเทศสมาชิกปกป้องตนเองมิให้ศัตรูพืชที่อาจจะติดไปกับสินค้าพืชจากประเทศหนึ่งไปสู่อีกประเทศหนึ่งได้ ประเทศไทยซึ่งอยู่ในสถานะเป็นทั้งผู้นำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตรต้องดำเนินการหลายๆ ด้านเพื่อป้องกันและปกป้องตนเองจากมาตรการต่างๆ เพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้ง เป็นแมลงที่มีขนาดเล็กและมักติดไปกับสินค้าประเภทพืชผักสดส่งออก เช่น โหระพา กระเพรา แมงลัก ผักชีฝรั่ง โดยสินค้าเหล่านี้จะถูกนำไปใช้ในกิจการร้านอาหารไทยในต่างประเทศ ซึ่งก็เป็นการสนับสนุนนโยบาย “ครัวไทยสู่ครัวโลก” ฉะนั้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิด และปริมาณความแปรปรวนประชากรของศัตรูพืชทั้งสี่ชนิด ในกระเพราและโหระพา ซึ่งเป็นพืชผักส่งออกจึงมีความสำคัญยิ่ง อีกทั้งยังพบว่ามีการรายงานที่ไม่ถูกต้องจากประเทศคู่ค้าเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูพืชที่ติดไปกับพืชผักส่งออกจากประเทศไทย ทำให้ประเทศไทยเสียโอกาสในการส่งออก ดังนั้นข้อมูลทางด้านชนิด และปริมาณประชากรศัตรูพืชของเพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้ง ในโหระพาและกระเพรา จึงเป็นข้อมูลสำคัญในการช่วยปกป้องทางการค้าสินค้าเกษตรเพื่อนำไปใช้ใน

การจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช อันเป็นประโยชน์ในการอ้างอิงและเป็นข้อมูลของประเทศผู้นำเข้าตลอดจนปกป้องการส่งออกสินค้าเกษตรของประเทศไทยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กล่องพลาสติกขนาด 21x15x8 เซนติเมตร และกล่องพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.00 เซนติเมตร สูง 5.00 เซนติเมตร
2. กรงเลี้ยงแมลงขนาด 35x35x50 เซนติเมตร
3. Petri dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร
4. กล้องจุลทรรศน์ และแว่นขยาย
5. มีด, ถุงพลาสติก, สำลี, แอลกอฮอล์

วิธีการ

การสำรวจ/การเก็บตัวอย่างและเก็บข้อมูลความแปรปรวนประชากรของ เพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้ง ในกระเพราและโหระพา ดำเนินการสุ่มตัวอย่างเพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้ง ในพื้นที่ 800 ตารางเมตรโดยมีขนาดการสุ่ม 100 ต้น ทุก 15 วัน โดย

เพลี้ยไฟ : สุ่มตัวอย่างโดยเดินเป็นแนวสลับฟันปลาบนร่องปลูก เคาะยอดของกระเพราและโหระพา 5 ครั้งบนกระดาษแข็ง ตรวจนับจำนวนประชากรและเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟ โดยใช้เครื่องดูดแมลง เพื่อนำไปวินิจฉัยชนิด

หนอนชอนใบ : สุ่มตัวอย่างโดยเดินเป็นแนวสลับฟันปลาบนร่องปลูก ตรวจดูรอยทำลายของหนอนชอนใบบนใบแก่ของกระเพราและโหระพาทั้งต้น ตรวจนับจำนวนหนอนที่มีชีวิต รอยทำลาย และเก็บตัวอย่างหนอนชอนใบ นำมาเลี้ยงต่อให้เป็นตัวเต็มวัยในห้องปฏิบัติการ และนำตัวเต็มวัยไปวินิจฉัยชนิด

แมลงหวี่ขาว : สุ่มตัวอย่างโดยเดินเป็นแนวสลับฟันปลาบนร่องปลูก ตรวจดูแมลงหวี่ขาวบนใบของกระเพราและโหระพาทั้งต้น ตรวจนับจำนวนแมลงหวี่ขาว ตัวเต็มวัย ตัวอ่อน และดักแด้ แล้วเก็บตัวอย่างใบที่มีแมลงเพื่อนำไปวินิจฉัยชนิด

เพลี้ยแป้ง : สุ่มตัวอย่างโดยเดินเป็นแนวสลับฟันปลาบนร่องปลูก ตรวจดูเพลี้ยแป้งจากกระเพราและโหระพาทั้งต้น ตรวจนับจำนวนเพลี้ยแป้ง และเก็บตัวอย่างใบที่มีแมลงเพื่อนำไปนำมาเลี้ยงต่อให้เป็นตัวเต็มวัยในห้องปฏิบัติการ และวินิจฉัยชนิด

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2550 – กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช แปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร อำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี แปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจเพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้ง ในกระเพราและโหระพา พบว่าในแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร ที่อำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี พบว่ามีประชากรเพลี้ยไฟมากที่สุด และพบทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช รองลงมาเป็น หนอนชอนใบ โดยพบมากในช่วงที่ย้ายกล้าปลูกใหม่ถึงอายุหนึ่งเดือน ส่วนแมลงหวี่ขาวพบว่ามีประชากรน้อยเป็นลำดับที่ 3 และจะพบมากในช่วงที่กระเพราและโหระพาออกดอก เพลี้ยแป้งพบน้อยมากและพบเพียงครั้งเดียว ส่วนแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี พบว่ามีประชากรเพลี้ยไฟมากที่สุด และพบทุกระยะการเจริญเติบโตของพืชซึ่งก็มีลักษณะคล้ายคลึงกับในแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร ที่อำเภอลาดหลุมแก้ว รองลงมาเป็นหนอนชอนใบ ซึ่งก็พบมากในช่วงที่ย้ายกล้าปลูกใหม่ถึงอายุหนึ่งเดือนแต่มีปริมาณมากกว่าในแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร ที่อำเภอลาดหลุมแก้ว ส่วนแมลงหวี่ขาวพบว่ามีประชากรน้อยเป็นลำดับที่ 3 และจะพบมากในช่วงที่กระเพราและโหระพาออกดอก ส่วนเพลี้ยแป้งไม่พบ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจเพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ แมลงหวี่ขาว และเพลี้ยแป้ง ในกระเพราและโหระพา พบว่าในแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร ที่อำเภอลาดหลุมแก้ว จังหวัดปทุมธานี พบว่ามีประชากรเพลี้ยไฟมากที่สุด และพบทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช รองลงมาเป็น หนอนชอนใบ โดยพบมากในช่วงที่ย้ายกล้าปลูกใหม่ถึงอายุหนึ่งเดือน ส่วนแมลงหวี่ขาวพบว่ามีประชากรน้อยเป็นลำดับที่ 3 และจะพบมากในช่วงที่กระเพราและโหระพาออกดอก เพลี้ยแป้งพบน้อยมากและพบเพียงครั้งเดียว ส่วนแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี พบว่ามีประชากรเพลี้ยไฟมากที่สุด และพบทุกระยะการเจริญเติบโตของพืชซึ่งก็มีลักษณะคล้ายคลึงกับในแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร ที่อำเภอลาดหลุมแก้ว รองลงมาเป็นหนอนชอนใบ ซึ่งก็พบมากในช่วงที่ย้ายกล้าปลูกใหม่ถึงอายุหนึ่งเดือนแต่มีปริมาณมากกว่าในแปลงกระเพรา-โหระพาของเกษตรกร ที่อำเภอลาดหลุมแก้ว ส่วนแมลงหวี่ขาวพบว่ามีประชากรน้อยเป็นลำดับที่ 3 และจะพบมากในช่วงที่กระเพราและโหระพาออกดอก ส่วนเพลี้ยแป้งไม่พบ

เอกสารอ้างอิง

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธ์, ไพศาล รัตนเสถียร, อัจฉรา หวังอาษา และวรจิต ผาภูมิ. 2548. แมลงศัตรูของ พืชผักสวนครัวส่งออกบางชนิดและการป้องกันกำจัด. 175-189. *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7, 2-4 พฤศจิกายน 2548, เชียงใหม่.

Polboon, P. 1965. A Host List of the Insect of Thailand. Department of Agriculture, Royal Thai Government and the United States Operations Mission, Bangkok, Thailand. 149 p.

อนุกรมวิธานไรศัตรูในโรงเก็บของประเทศไทย

Taxonomic study on Storage mite pest in Thailand

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน
เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บ ได้แก่ รำข้าวและข้าวสารตามซอกมุมของโรงสีข้าว อาหารสัตว์จากโรงงานอาหารสัตว์ และในผลิตผลทางการเกษตรได้แก่ หางปลาอินทรีย์ ปลากรอบตัวเล็ก ปลาเค็มแห้ง ปลาหมึกแห้งและกระเทียม ตั้งแต่เดือน ต.ค. 2550. มี.ค. 2552 บนพื้นที่ 5 จังหวัด โดยใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญเช่นลักษณะของ pedipalps การมีหรือไม่มีเส้นแบ่งขวางลำตัวระหว่าง propodosoma และ hysterosoma ลักษณะลายที่พบบนผิวลำตัว ลักษณะเล็บ ความยาวของขนบนลำตัวด้านสันหลัง ตำแหน่งของขน ve (vertical setae) ความยาวของขน sci และ sce ลักษณะของขน supracoxal setae ที่ตั้งอยู่เหนือปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 1 ลักษณะของหนามที่ปลายขาและลักษณะอื่น ๆ อีกหลายลักษณพบไรรวมทั้งสิ้น 10 ชนิด 5 วงศ์ เป็นไรศัตรูในโรงเก็บและผลิตผลทางการเกษตร รวมทั้งสิ้น 10 ชนิด 5 วงศ์ เป็นไรศัตรูในโรงเก็บและผลิตผลทางการเกษตรรวมทั้งสิ้น 8 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Anoetidae 1 ชนิด วงศ์ วงศ์ Glycypahgidae 1 ชนิด และวงศ์ Acaridae พบ 6 ชนิดคือ *Suidasia pontifica* (Oudeman) *Suidasia* sp. *Lardoglyphus konoi* (Sasa and Asanuma) *Sancassania berlesei* (Michael) *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) และอีกชนิดไม่สามารถจำแนกได้เนื่องจากพบแต่ตัวอ่อน ส่วนที่เหลืออีก 2 ชนิด 2 วงศ์เป็นไรศัตรูธรรมชาติได้แก่ *Cheyletus* sp. วงศ์ Cheyletidae และวงศ์ Ascidae

.

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ผลผลิตทางการเกษตรหลายชนิดในระหว่างการรอการจำหน่ายหรือส่งออก มีการเก็บรักษาไว้ในยุ้งฉางของเกษตรกร บ้านเรือนหรือในโกดัง โรงสีต่าง ๆ มักประสบปัญหาในการเก็บรักษาเนื่องจากมี แมลง ไร แบคทีเรีย เชื้อรา นกและหนู เข้าทำลาย โดยเฉพาะไรศัตรูในโรงเก็บนับเป็นศัตรูที่มีความสำคัญ เนื่องจากมีขนาดเล็ก ยากแก่การสังเกตเห็นด้วยตาเปล่า แพร่ระบาดและขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งไรศัตรูในโรงเก็บในต่างประเทศได้มีผู้ทำการศึกษาและวิจัย เกี่ยวกับไรในโรงเก็บไว้อย่างกว้างขวาง เช่น Zachvatkin (1936, 1941) ได้ทำการศึกษาและวิจัยไรศัตรูในโรงเก็บในประเทศสหภาพโซเวียต ส่วน Hughes (1976) ได้สำรวจและเก็บรวบรวมไรที่พบบนผลผลิตในโรงเก็บจำพวกแป้ง อาหารสัตว์ ธัญพืช ไว้ 54 ชนิด ในผลไม้แห้งขนม 3 ชนิด ในเนื้อแห้ง ปลาแห้ง อาหารปลา กระดูกสัตว์ และเขาสัตว์ 4 ชนิด ในเนยแข็ง มะพร้าวแห้ง เมล็ดฝ้ายและถั่วลิสง 17 ชนิด ส่วนไรศัตรูพืชจากผลผลิตทางการเกษตรได้แก่กระเทียมที่นำเข้าจากประเทศจีนเข้าในประเทศนิวซีแลนด์ มีรายงานพบไรหลายชนิดได้แก่ *Rhizoglyphus setosus* Manson, *Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze and Robin), *Rhizoglyphus robini* Claparède, *Tyrophagus longior* (Gervais), *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) และ *Tetranychus urticae* Koch (Pearson , 2006A) สำหรับในประเทศไทยยังมีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับไรศัตรูในโรงเก็บไว้น้อยมาก โดยการศึกษาอนุกรมวิธานไรศัตรูในผลผลิตทางเกษตรในประเทศไทยทั้งในสภาพไร่และสภาพการเก็บรักษาไว้หลังการเก็บเกี่ยว Suthasanee *et al* (1980) ได้จำแนกไรศัตรูกระเทียมที่พบในประเทศไทยไว้ 5 ชนิด คือ *Aceria tulipae* (Keifer), *Rhizoglyphu* sp., *Suidasia* sp., *Tyrophagus* sp. และ *Caloglyphus* sp. นอกจากนี้วัฒนา และคณะ (2546) รายงานการพบไรศัตรูผลผลิตทางการเกษตรของประเทศไทย ตั้งแต่ตุลาคม 2543-กันยายน 2546 ไว้ 10 ชนิด ด้วยกัน ได้แก่ *Lardoglyphus konoi* (Sasa and Asanuma), *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), *Sancassania berlesei* (Michael), *Sancassania* sp. , *Suidasia pontifica* Oudemans, *Rhizoglyphus echinopus* (Fumouze and Robin), *Aleuroglyphus* sp. , *Austroglycyphagus geniculatus* (Vizhum), *Histiostoma* sp.และ *Aceia tulipae* (Keijer)

นอกจากเข้าทำลายผลผลิตที่เก็บในโรงเก็บทำให้เมล็ดพันธุ์หลายชนิดสูญเสียความงอกแล้ว ไรยังเป็นตัวแพร่เชื้อราและแบคทีเรียสร้างความเสียหายให้กับผลผลิตในโรงเก็บเป็นวงกว้าง โดยเฉพาะมีผลกระทบกับผลผลิตในโรงเก็บที่รอจำหน่ายไปยังต่างประเทศ ซึ่งเป็นเป็นปัญหาในการส่งออกสินค้าเกษตร ทำให้มีการกีดกันทางการค้า ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการสำรวจและจำแนกชนิดไรศัตรูในโรงเก็บที่พบในประเทศไทยนับว่ามีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง ซึ่งจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ช่วยในการป้องกันกำจัดไรทำให้ทราบวิธีการเก็บรักษาผลผลิตในโรงเก็บอย่างถูกวิธี เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตผลทางการเกษตร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

2. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการจำแนกชนิด ได้แก่ แผ่น สไลด์, แผ่นปิดสไลด์, Hoyer's solution เข็มเขี่ยปลายแหลม พู่กันเบอร์ 0 ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตู้อบ ยาทาเล็บ และกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereomicroscope ติดกล้องสำหรับใช้ถ่ายภาพไร

3. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการตรวจจำแนกชนิดของไร ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound microscope และ key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรศัตรูพืชและไรศัตรูธรรมชาติ

4. อุปกรณ์สำหรับการจัดทำรายงานผลการวิจัย ได้แก่ computer พร้อมแผ่นแม่เหล็กจัดเก็บข้อมูล หมึกพิมพ์สำหรับใช้กับเครื่อง computer

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บ

1.1 เก็บตัวอย่างไรศัตรูพืชในโรงเก็บต่าง ๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทยโดยเริ่มจากภาคกลางเป็นอันดับแรก นำตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บที่รวบรวมได้ใส่ถุงกระดาษและห่อด้วยถุงพลาสติกอีกชั้นหนึ่งแล้วรัดปากถุงด้วยยางบันทึกข้อมูลจากตัวอย่างไรที่เก็บได้ เช่นชื่อพืช ชื่อผู้เก็บ สถานที่ วันที่เก็บ จากนั้นนำตัวอย่างไปแช่ในน้ำกล่องน้ำแข็งเพื่อรักษาไม่ให้ตัวอย่างเสื่อมสภาพเร็ว หรือเก็บโดยเขี่ยไรที่พบในโรงเก็บใส่แอลกอฮอล์ 70 % หากตัวอย่างไรที่ได้สามารถเก็บรักษานาน เช่น หอมและกระเทียม ไม่ต้องแช่ในกล่องน้ำแข็งให้นำตัวอย่างใส่ถุงกระดาษพับปากถุง แล้วนำตัวอย่างที่ได้ทั้งหมดกลับมาทำสไลด์ต่อที่ห้องปฏิบัติการ

1.2. นำตัวอย่างมาทำสไลด์ถาวร ด้วยน้ำยา Hoyer's solution ด้วยการหยดน้ำยา Hoyer's solution ลงบนสไลด์ ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงวางลงบนน้ำยา จากนั้นกดตัวไรให้จมลงในน้ำยา จัดตัวไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วนต่าง ๆ ได้อย่างชัดเจน ด้วยเข็มเขี่ยขนาดเล็ก ปิดตัวอย่างด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ (coverglass) นำสไลด์ไปอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อน เพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ของไรยืดออกเต็มที่ และเพื่อไล่ฟองอากาศ เขียนหมายเลขรหัสของตัวอย่างที่ทำเสร็จเรียบร้อยลงบนสไลด์ บันทึกรายละเอียดที่สำคัญของตัวไรลงบนสมุดบันทึก จากนั้น นำตัวอย่างที่ทำเสร็จแล้วเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน จากนั้นนำสไลด์ที่ได้มาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ จึงผนึกขอบสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บ

1.3. นำสไลด์ถาวรที่เสร็จเรียบร้อยแล้วมาจำแนกชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ปิดป้ายบันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับสถานที่ วันที่ที่เก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บ และชื่อพืชไว้ด้านซ้ายของแผ่นสไลด์ ส่วน ชื่อวิทยาศาสตร์ไรที่จำแนกได้ไว้ด้านขวาของสไลด์

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรศัตรูในโรงเก็บ

2.1 นำตัวอย่างไรที่ทำสไลด์ถาวรแล้วมาศึกษาลักษณทางอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง compound microscope จำแนก ชนิด จากตำราต่าง ๆ ทีเกี่ยวข้อง วาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดพร้อมทั้งทำ key สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของไรศัตรูในโรงเก็บ ประเทศไทย

2.2 นำสไลด์เก็บในกล่องเก็บสไลด์และเรียงในพิพิธภัณฑ์ตามระบบสากลต่อไป

เวลาและสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน ตุลาคม 2550-มี.ค. 2552 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างบนพื้นที่ จังหวัดได้แก่ สมุทรปราการปทุมธานี นนทบุรี นครปฐม และ สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บ

จากการเก็บตัวอย่างไรศัตรูในโรงเก็บ ได้แก่ รำข้าวและข้าวสารตามซอกมุมของโรงสีข้าว อาหารสัตว์จากโรงงานอาหารสัตว์ และในผลิตผลทางการเกษตรได้แก่ หางปลาอินทรีย์ ปลากรอบตัวเล็ก ปลาเค็มแห้ง ปลาหมึกแห้งและกระเทียม ตั้งแต่เดือน ต.ค. 2550. มี.ค. 2552 บนพื้นที่ 5 จังหวัด รวมทั้งสิ้น 10 ชนิด 5 วงศ์ เป็นไรศัตรูในโรงเก็บและผลิตผลทางการเกษตรรวมทั้งสิ้น 8 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Anoetidae 1 ชนิด วงศ์ วงศ์ Glycypahgidae 1 ชนิด และวงศ์ Acaridae พบ 6 ชนิดคือ *Suidasia pontifica* (Oudeman) *Suidasia* sp. *Lardoglyphus konoi* (Sasa and Asanuma) *Sancassania berlesei* (Michael) *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) และอีก ชนิดไม่สามารถจำแนกได้เนื่องจากพบแต่ตัวอ่อน ส่วนที่เหลืออีก 2 ชนิด 2 วงศ์เป็นไรศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ *Cheyletus* sp. วงศ์ Cheyletidae และวงศ์ Ascidae

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรศัตรูในโรงเก็บ

จากการศึกษาอนุกรมวิธานโดยใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานคือลักษณะของ pedipalps การมีหรือไม่มีเส้นแบ่งขวางลำตัวระหว่าง propodosoma และ hysterosoma, ลักษณะลายที่พบบนผิวลำตัว ลักษณะเล็บ ความยาวของขนบนลำตัวด้านสันหลัง ตำแหน่งของขน ve (vertical setae) ความยาวของขน sci และ sce ลักษณะของขน supracoxal setae ที่ตั้งอยู่เหนือปล้อง coxa ของขาคู่ที่ 1 ลักษณะของหนามที่ปลายขาและลักษณะอื่น ๆ ที่สำคัญทำให้สามารถจำแนก

ชนิดไรได้รวมทั้งสิ้น 10 ชนิด 5 วงศ์ เป็นไรศัตรูในโรงเก็บและผลิตผลทางการเกษตรรวมทั้งสิ้น 8 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Anoetidae 1 ชนิด วงศ์ วงศ์ Glycypahgidae 1 ชนิด และวงศ์ Acaridae พบ 6 ชนิดคือ *Suidasia pontifica* (Oudeman) *Suidasia* sp. *Lardoglyphus konoi* (Sasa and Asanuma) *Sancassania berlesei* (Michael) *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) และอีก ชนิดไม่สามารถจำแนกได้เนื่องจากพบแต่ตัวอ่อน ส่วนที่เหลืออีก 2 ชนิด 2 วงศ์เป็นไรศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ *Cheyletus* sp. วงศ์ Cheyletidae และวงศ์ Ascidae ในการเก็บตัวอย่างไรจากโรงเก็บและไรที่พบบนผลิตผลทางการเกษตรหากตัวอย่างที่ได้มีแต่ตัวอ่อนจะไม่สามารถจำแนกชนิดได้ เนื่องจากตัวอ่อนอวัยวะต่าง ๆ ที่ใช้ในการจำแนกชนิดโดยเฉพาะอวัยวะสืบพันธุ์ยังไม่พัฒนา

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2548. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพ. 150 น.

วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสินและ เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์. 2546 . อนุกรมวิธานของไรบนผลผลิตทางการเกษตร น. 792-801. *ใน* รายงาน ผลงานวิจัยเรื่องเต็มปี 2546 ครั้งที่ 2. สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Hughes, A. M. 1976. The Mites of Stored Food and Housed. Ministry of Agriculture Fisheries and Food Technical Bulletin no. 9. (Second edition) (Her Mijesty's Stationery Office), London. 400 pp.

Pearson, D. . 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/garlic pro.pdf.[2006,February 20]

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.

Zachvatkin, A. A. 1936. A short key to the Granary Mite. 2 nd. Ed. (In Russia) Abst. In Rev. Appt. Entomolo. A 36-95.

Zachvatkin, A. A. 1941. Fauna of the U.S.S.R. Arachoidea.VI, no. 1. Tyroglyphoidea Acari. [Trans by A. Ratcliffe and A.M. Hughes. 1959. A.I.B.S. (Washington, D.C.) 57

การศึกษาอนุกรมวิธานไร แมงมุมในสกุล Oligonychus

Taxonomic Study on Spider mite in Genera Oligonychus

พลอยชมพู กรวิภาสเรือง มานิตา คงชื่นสิน
เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจและจำแนกชนิดไรในสกุล *Oligonychus* ของประเทศไทยบนใบพืชชนิดต่าง ๆ รวมทั้งสิ้น 6 ชนิดได้แก่ ข้าว ฝรั่ง ตะแบก น้อยหน่า และ พุทรา ตั้งแต่เดือน ต.ค. 2550-มี.ค. 2552 บนพื้นที่ 5 จังหวัด โดยใช้ลักษณะทาง เช่น ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะลายบนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 ลักษณะการเรียงตัวของขน duplex setae ลักษณะของหนามแหลมที่อยู่เหนือ Proximovental hair (empodial spur) ฯลฯ พบไรในสกุล *Oligonychus* ทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Oligonychus biharensis* Hirst *O. mangiferus* (Rahman and Sapra) และ *O. modestus* (Banks) สำหรับไรศัตรูธรรมชาติ พบรวมทั้งสิ้น 4 ชนิด 3 วงศ์ ได้แก่ วงศ์ Phytoseiidae 2 ชนิดคือ *Amblyseius* sp. และ *Phytoseius* sp.ส่วนอีก 2 ชนิดอยู่ในวงศ์ Cunaxidae และวงศ์ Stigmaeidae

---

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ซึ่งปัจจุบันได้ประสบปัญหากับศัตรูพืชหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นโรค แมลง และไร ไรจัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งและเนื่องจากมีขนาดเล็ก ยากแก่การมองเห็นด้วยตาเปล่า อาการที่เข้าทำลายในระยะแรกมักสังเกตได้ยาก เมื่อพบการระบาดรุนแรงจะทำให้ยากแก่การกำจัด โดยเฉพาะไรในวงศ์ Tetranychidae ซึ่งจัดเป็นกลุ่มไรที่มีความสำคัญระบาดทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด โดยไรจะเข้าทำลายพืชด้วยการดูดกินน้ำเลี้ยง จากใบ ลำต้น ผล และดอก ไรจะอยู่เป็นกลุ่ม และสร้างเส้นใยขึ้นคลุมไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย บริเวณที่ถูกไรดูดกินจะมีลักษณะเป็นจุดปะ ขาวซีด และแผ่ขยายเป็นปื้นเหลือง หรือสีขาว เมื่อระบาดรุนแรงจะทำให้ใบร่วง พืชหยุดชะงักการเจริญเติบโต และมีผลกระทบต่อผลผลิต ไรที่พบในประเทศไทยมีอยู่หลายสกุลเช่น *Eutetranychus, Eotetranychus, Schizotetranychus, Tetranychus* และ *Oligonychus* โดยเฉพาะไรในสกุล *Oligonychus* ซึ่งจัดเป็นกลุ่มไรที่มีความสำคัญ เข้าทำลายพืชปลูกได้กว้างหลากหลายชนิด เช่น Fleschner *et al*. (1956) ; wanibushi and Saito (1983) ไรจัดเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งเนื่องจากมีขนาดเล็ก ไรสามารถเคลื่อนย้ายและแพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็ว เช่นโดยการเดิน อาศัยลมพัดพาไป เช่น ไรแมงมุมชนิด *Panonychus citri* McGregor, *Oligonychus punicae* (Hirst) , *O. ununges* (Jacobi) และ *Eotetranychus sexmaculatus* (Rley) ในปี 1975 Jeppson และคณะ พบไรแดงมะม่วงในนอินเดีย ฮาวาย เปรู มอริเชียส และอียิปต์

ปี 2004 Cranshaw และ Sclar พบไรสองจุด twospotted spider mite (*Tetranychus urticae*) เข้าทำลายพืชปลูกได้จำนวนมากประกอบด้วยพืชตระกูลผักแช่น ถั่ว มะเขือม่วง ในไม้ผลเช่น เรสเบอรี่ ลูกเกต ลูกสาลี่ และในไม้ดอก นอกจากนี้ยังพบไร *Oligonychus ununguis* ในพืชจำพวกสน และไร *O. subnudus* ในสับปะรด นอกจากนี้ยังมีรายงานพบไรในสกุลนี้คือ *Oligonychus perseae* เป็นศัตรูที่สำคัญของอาโวกาโดที่ประเทศไอแลนด์ โดยพบร่วมกับ *Tetraleurodes perseae* (European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2004) ซึ่งไร *O. perseae* เป็นไรที่มีความสำคัญโดย EPPO ได้ขึ้นบัญชีรายชื่อไร ให้เป็นศัตรูที่สำคัญของการส่งออก โดยพบไร *O. perseae* ครั้งแรกในปี 1975 ที่ประเทศแมกซิโก ในด่านกักกันพืช ที่แทกซัส ประเทศสหรัฐอเมริกา และพบต่อมาตรวจพบไรชนิดนี้ในกล้วยไม้ที่แคลิฟลอเนียในปี 1990 และเป็นศัตรูที่สำคัญในลาตินอเมริกา

สำหรับในประเทศไทยวัฒนาและคณะ (2544) ได้รายงานพบไรในสกุล *Tetranychus* อีกหลากหลายชนิดเช่นไรสองจุด ไรแดงกระเจี๊ยบ ไรแดงหม่อน ฯ และไรในสกุล *Oligonychus* เช่น ไรแดงชา *O. coffeae* ระบาดรุนแรงในสภาพอากาศแห้งแล้ง ไรแดงมะม่วง *O. mangiferus* มักพบระบาดค่อนข้างสูงประมาณเดือนธันวาคม-กุมภาพันธ์และจะลดต่ำสุดในช่วงที่มีฝนตกชุกในเดือน

กรกฎาคม-กันยายน นอกจากนี้ยังพบไรในสกุล *Oligonychus* อีกหลากหลายชนิดเช่น *O. simus* ข้าวฟ่างและ อ้อย ไร *O. biharensis* เข้าทำลาย ชมพู่ ส้ม ลิ้นจี่ พุทรา ฝรั่ง ฯ

เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีใครได้รวบรวมชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย ของไรใน สกุลนี้อย่างแท้จริง ดังนั้นในการศึกษาอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Oligonychus* จึงนับว่าเป็นประโยชน์ในการทราบถึงพืชอาศัยได้กว้างขึ้น และเป็นความรู้พื้นฐานในการป้องกันกำจัดต่อไป

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 ติดอุปกรณ์วาดภาพ (camera lucida) key สำหรับใช้จำแนกชนิดของไรศัตรูในโรงเก็บ และไรตัวห้ำในวงศ์ต่าง ๆ

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

5. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเก็บตัวอย่างไร ได้แก่ ถุงกระดาษ ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ แอลกอฮอล์ 95% และสารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง

6. อุปกรณ์สำหรับใช้ในการเตรียมตัวอย่างไร เพื่อการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน ได้แก่ แผ่นสไลด์ แผ่นปิดสไลด์ ปากกาเขียนกระจก กระดาษบันทึก กล่องใส่สไลด์ สารเคมี สำหรับใช้เตรียมน้ำยาเมาท์สไลด์ สำลี น้ำยาสำหรับผนึกขอบสไลด์

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างไรแมงมุม ในสกุล *Oligonychus*

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

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

1.3. การทำสไลด์ถาวรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereomicroscope หยด Hoyer's solution ลงบนสไลด์ 1 หยด ใช้พู่กันเขี่ยตัวไรลงบนหยดน้ำยาจัดตัวอย่างไรให้อยู่ในสภาพที่เห็นส่วน ต่าง ๆ ได้ชัดเจน ส่วนไรตัวผู้ให้จัดท่าทางในลักษณะตะแคงข้าง เพื่อตรวจดูลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ จากนั้นปิดสไลด์ด้วย แผ่นปิดสไลด์ นำสไลด์ขึ้นอังบนตะเกียงแอลกอฮอล์พอร้อนเพื่อให้อวัยวะส่วนต่าง ๆ ยืดออก และเพื่อไล่ฟองอากาศ นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ผนึกขอบ แผ่นปิดสไลด์ ด้วยน้ำยา ทาเล็บ และปิดป้ายบันทึกข้อมูลเกี่ยวกับ สถานที่เก็บ วันที่ ชื่อผู้เก็บและพืชอาศัยที่ด้านขวามือของแผ่นสไลด์

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Oligonychus*

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

เวลาและสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน ต.ค. 2550-มี.ค. 2552 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างบนพื้นที่ 5 จังหวัด ได้แก่ นครปฐม เพชรบุรี กรุงเทพ สระบุรีและ กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างไรแมงมุม ในสกุล *Oligonychus*

ผลจากการสำรวจและจำแนกชนิดไรในสกุล *Oligonychus* ของประเทศไทยบนใบพืชชนิดต่าง ๆ รวมทั้งสิ้น 6 ชนิดได้แก่ ข้าว ฝรั่ง ตะแบก น้อยหน่า และ พุทรา ตั้งแต่เดือน ต.ค. 2550-มี.ค. 2552 บนพื้นที่ 5 จังหวัด พบไรศัตรูพืชในสกุล *Oligonychus* ทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Oligonychus biharensis* Hirst *O. mangiferus* (Rahman and Sapra) และ *O. modestus* (Banks) สำหรับไรศัตรูธรรมชาติ พบรวมทั้งสิ้น 4 ชนิด 3 วงศ์ได้แก่ วงศ์ Phytoseiidae 2 ชนิดคือ *Amblyseius* sp. และ *Phytoseius* sp.ส่วนอีก 2 ชนิดอยู่ในวงศ์ Cunaxidae และวงศ์ Stigmaeidae

2. การศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Oligonychus*

จากการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานของไรในสกุล *Oligonychus* เพื่อนำมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ลักษณะที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะลายบนผิวของลำตัวด้านสันหลัง ระหว่างขน e1 และ f1 ลักษณะการเรียงตัวของขน duplex setae ลักษณะของหนามแหลมที่อยู่เหนือ Proximovental hair (empodial spur) ฯลฯ พบไรในสกุล *Oligonychus* ทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ *Oligonychus biharensis* Hirst *O. mangiferus* (Rahman and Sapra) และ *O. modestus* (Banks) สำหรับไรศัตรูธรรมชาติ พบรวมทั้งสิ้น 4 ชนิด 3 วงศ์ได้แก่ วงศ์ Phytoseiidae 2 ชนิดคือ *Amblyseius* sp. และ *Phytoseius* sp.ส่วนอีก 2 ชนิด อยู่ในวงศ์ Cunaxidae และวงศ์ Stigmaeidae

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

เอกสารอ้างอิง

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

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

European and Mediterranean Plant Protection Organization(2004). *Oligonychus perseae* (Acari: Tetranychidae). Available: http://www.eppo.org/QUARANTINE/Alert_List/insects/oligonych.htm[2004,Nov30]

Fleschner, C.A., M.E. Badgley, D. W. Richer, and J.C. Hall. 1956. Air drift of spider mite. J. Econ. Entomol. 49 : 624-627

Jeppson, L. R., H.H. Keifer, and E. W. Baker. 1975. Mites Injurious to Economic Plants. University of California Press, Berkeley. 614 pp.

Wanibushi, K. and Y. saito. 1983. The process of population increase and patterns of resource utilization of two spider mites, Oligonychus ununguis (Jacobi) and Panonychus citri (McGregor) under experimental conditions (Acari: Tetranychidae). Res. Popul. Ecol. 25 :116-129.

ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่

Biological studies of Land snail *Prosopeas walkeri* (Benson)

ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ได้ทำการสำรวจแปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร ในจังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดสมุทรสาครที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่ จึงเก็บตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่ จำนวน 200 ตัว มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาพฤติกรรมและชีววิทยาด้านต่างๆ โดยนำหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติในกล่องพลาสติกใสที่รองด้วยขุยมะพร้าวผสมดินและรดน้ำให้ชุ่มอยู่เสมอ ให้แตงกวา ผักกาดขาว ผักกาดหอมและอาหารปลาเป็นอาหาร พบว่าหอยสามารถปรับตัวและกินอาหารได้ดี หอยเจดีย์ใหญ่ที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการชอบหลบแสงอยู่ตามใต้เศษไม้ใบไม้ ใบผักอาหาร และวางไข่ไว้ตามบริเวณที่หลบแสงตามซอกดินที่มีรอยแตก หอยเจดีย์ใหญ่มีไข่อยู่ในตัว 2-7ฟอง ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โดยวางทีละฟองจนหมดครอกใช้เวลา 2-3 วัน ไข่หอยมีขนาด1-1.5มม.มีเปลือกแข็งหุ้ม ไข่หอยเริ่มฟักใช้เวลา 2-4วันจึงเป็นตัวอ่อนและเริ่มกัดกินใบผักหรือพืชอาหารได้ทันที การศึกษายังไม่สิ้นสุด

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

หอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopeas walkeri* (Benson) เป็นหอยทากบก(Land snail) ที่มีขนาดเล็ก ทักษิณและคณะ(2532) ได้สำรวจชนิดหอยทากและทากในพืชชนิดต่างๆ พบหอยทาก 11 ชนิด ที่เป็นศัตรูพืช ซึ่งมีหอยเจดีย์ใหญ่ด้วย หอยเจดีย์ใหญ่มีลักษณะเหมือนหอยเจดีย์เล็กมากแต่ต่างกันที่ขนาด หอยเจดีย์ใหญ่พบได้ทั้งในแปลงผัก แปลงไม้ดอก สวนกล้วยไม้ และสวนผลไม้ เป็นต้น ทำความเสียหายแก่เกษตรกรเป็นอย่างมาก โดยกัดรากและต้นอ่อนกล้วยไม้บางแปลงทำให้เสียหายได้ถึง100% โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีความชุ่มชื้นสูงจะพบหอยเจดีย์ใหญ่กัดกินทำลายต้นพืชทั้งลำต้น ใบ ดอก และราก ชมพูนุท(2532) รายงานว่าพบหอยเจดีย์ในแปลงผักกางมุ้งทำความเสียหายแก่เกษตรกรเป็นอย่างมากในแปลงผักที่มีความชื้นสูง เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีการปลูกพืชเพื่อการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก อาจทำให้เกิดปัญหาตามมาหากพบหอยเจดีย์ใหญ่ติดไปกับพืชส่งออก จึงได้ศึกษาชีววิทยาของหอยเจดีย์ใหญ่เพื่อเป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หอยเจดีย์ใหญ่
2. กล่องพลาสติกสำหรับเลี้ยงหอย
3. ขุยมะพร้าว
4. สเปรย์ฉีดน้ำ
5. แว่นขยาย
6. forcep
7. อาหารปลา ผักสด
8. วัสดุอื่นๆ เช่นกระดาษทิชชู

วิธีการ

1. สำรวจและค้นหาแหล่งที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่
2. เก็บรวบรวมหอยเจดีย์ใหญ่จากสวนกล้วยไม้และสวนผักของเกษตรกรมาศึกษาในห้องห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร
3. นำตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในบ่อพักที่เตรียมไว้
4. คัดเลือกหอยที่แข็งแรงไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกที่รองด้วยขุยมะพร้าวและรดน้ำจนชุ่ม

5.ให้อาหารปลาและผักสดเป็นอาหาร

6. สังเกต และบันทึกข้อมูล

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2553 รวม 5 ปี

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เกษตรกลาง บางเขน กรุงเทพฯ

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ. 2532. หอยเจดีย์ระบาดในแปลงผักกางมุ้ง. กสิกร 62(1). หน้า 57-60.

ชมพูนุท จรรยาเพศ , ทักษิณ อาชวาคม , ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และเกษม ทองทวี. 2537. หอยทากในประเทศไทย. การประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ครั้งที่ 9. 21-24 มิถุนายน 2537 โรงแรม แกรนด์ จอมเทียนพาเลซ จังหวัดชลบุรี. หน้า 495-522.

ชมพูนุท จรรยาเพศ , ปราสาททอง พรหมเกิด , ปิยาณี หนูกาฬ และธีรเดช เจริญรักษ์. 2542.การป้องกันกำจัดหอยทากศัตรูกล้วยไม้. รายงานผลการวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ. หน้า 244

ความหลากชนิดของหอยทากและทากในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช

Biodiversity of Land Snail and Slug in Sakaerat Biosphere Reserve

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด
ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจหอยทากและทากในบริเวณป่าดิบแล้ง.ในปี 2551 พบหอยทาก (snail) เพิ่มเติมจากปี 2549 และ 2550 อีกจำนวน 2 species รวมเป็น 22 species แยกเป็น หอยทาก (snail) 20 ชนิด และทาก (slug) 2 ชนิด รวม 7 family ทั้งนี้หอยทากที่สำรวจพบจัดอยู่ในพวกหอยทากกินเนื้อ (carnivorus snail) 1 species และทากกินเนื้อ 1 species นอกจากนี้ยังพบหอยทากที่จำแนกชนิดไม่ได้อีกอย่างน้อย 4 species

คำนำ

โครงการวิจัยและพัฒนาเพื่อการอนุรักษ์ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ เป็นโครงการวิจัยเกี่ยวกับงานด้านอนุกรมวิธาน ที่หมายรวมถึงการสำรวจ เก็บรวบรวม จำแนก ตรวจวิเคราะห์ชนิด ตลอดจนการศึกษาด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา พืชและสัตว์อาศัย รวมทั้งการเก็บรักษา ไว้ในพิพิธภัณฑ์ เพื่อเป็นแหล่งสืบค้นอ้างอิง ลักษณะงานดังกล่าวนี้เป็นงานวิจัยพื้นฐานที่สำคัญอย่างยิ่งต่องานที่เกี่ยวข้องกับเทคโนโลยีการผลิตพืชและการอารักขาพืช โดยเฉพาะด้านการจัดการศัตรูพืช ชมพูนุท (2537) ได้สำรวจหอยทากและทากที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย พบว่า ได้แก่ หอยทากยักษ์อาฟริกา Giant African Snail, *Achatina fulica* (Bowdich) หอยเจดีย์ *Prosopeas walkeri* (Benson) หอยสาริกา *Sarika* spp. หอยทากซัคซิเนีย Amber Snail *(Succinea* spp.) หอยดักดาน *Cryptozona siamensis* , *Cyclotropis bedaliensis*, *Euconulus* sp. หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ทาก *Parmarion pupilaris* และทากฟ้า *(Semperula siamensis*) และพบหอยทากที่ไม่ใช่ศัตรูพืชอีกเป็นจำนวนมาก ที่อาศัยอยู่ตามลำต้นหรือใบพืช ตามพื้นดินในสวนไม้ผลต่างๆ ดังนั้นจึงสมควรศึกษาชนิดอื่นๆในแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช (Sakaerat Biosphere Reserve) ซึ่งเป็นแหล่งสงวนชีวมณฑลของโลกโดยได้รับการรับรองจากองค์การยูเนสโก เป็นแหล่ง

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-46-51

สงวนหนึ่งในสามแห่งในประเทศไทย ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง โดยมีชนิดพันธุ์พืชจำนวนมาก ทั้งมีป่า 2 ชนิด ได้แก่ ป่าดิบแล้ง ต่อกับป่าเต็งรังอย่างกลมกลืน ซึ่งนับวันก็จะถูกบุกรุกทำลายกลายเป็นชุมชน ป่าลดน้อยลง พันธุ์พืชสัตว์ก็จะค่อยสูญสิ้นไป จึงสมควรสำรวจและศึกษาชนิดพันธุ์หอยทากไว้เสียก่อน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ตู้กระจก
- กล่องและถุงพลาสติกขนาดต่างๆ
- เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์
- เวอร์เนียร์ คาลิปเปอร์
- กระดาษเช็ดมือ(paper towel)
- ดินขุยมะพร้าว
- แว่นขยาย (hand lens)
- กล้องจุลทรรศน์
- กล้องถ่ายภาพ

วิธีการ

สำรวจชนิดทากและหอยทากในบริเวณป่าดิบแล้ง และป่าเต็งรัง โดยแบ่งพื้นที่แต่ละป่าแห่งละ 3 ตารางกิโลเมตร จำนวน 4 พื้นที่ ถ่ายภาพและเก็บตัวอย่างหอยที่มีชีวิตเพื่อนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ และศึกษาชีววิทยาบางประการ ศึกษาและจำแนกชนิด รวมทั้งเก็บตัวอย่างเปลือกหอย นำมาทำความสะอาดและจัดเก็บเป็นหมวดหมู่ในตู้เก็บตัวอย่างหอยทาก

บันทึกภาพหอยทากขณะยังมีชีวิตและเปลือกหอย บันทึกข้อมูลนิเวศวิทยาบริเวณแหล่งที่เก็บ และวันที่ ความกว้าง ยาวเปลือกหอย ลักษณะรูปร่างเปลือก ความกว้างยาวและลักษณะรูปร่าง mouth ลักษณะรูปร่าง lip ผิวของเปลือกหอย จำนวนวงเปลือก(whorl)

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2553

แหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช นครราชสีมา

ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจและศึกษาชนิดของทากและหอยทาก ในปี 2551 เก็บตัวอย่างเปลือกหอยได้ 200 ตัวอย่าง ได้ชนิดเพิ่มเติมจากในปี 2550 จำนวน 2 ชนิด รวมทั้งสิ้นเป็น 22 ชนิด (species) แบ่งเป็น หอยทาก(snail) 20 ชนิด และ ทาก (slug) 2 ชนิด ดังนี้

Subclass Pulmonata

Order Stylommatophora

Superfamily Camaenoidea

Family Camaenidae

หอยนกขมิ้น *Amphidromus* (*Amphidromus*) *shomburgki* (L.)

หอยนกขมิ้นลาย *Amphidromus* spp.

Ganesella acris (Benson)

Family Bradybaenidae

Pseudobuliminus siamensis (Redfield)

Superfamily Streptaxoidea

Family Streptaxidae

Oophana sp.

Perrottetia siamensis

Superfamily Helicarionnoidea

Family Arionphantidae

หอยดักดาน *Cryptozona simensis* (Tomlin)

Cryptozona sp.

หอยเดื่อ *Hemiplecta distincta* (Pfeiffer)

Hemiplecta sakaya (de Morgan)

หอยทากเปลือกส้ม *Quantula weinkauffiana* Crosse & Fisher

ทาก *Cryptustenia gadinodromica* Solem

หอยสาริกา *Sarika resplendens*

หอยขัดเปลือก *Macrochlamys* sp.

Superorder Systellommatophora

Order Soleofifera

Family Rathouisiidae

ทากนักล่า *Atopos sarasini* (Collinge).

Family Veronicellidae

ทากฟ้า *Semperula siamensis* (Martens)

Subclass Prosobranchia

Superfamily Cyclophoroidaea

Family Cyclophoridae

หอยหอม *Cyclophorus speciosus* (Philippi)

Cyclophorus sp.

หอยเปลือกไข่ *Rhiostoma housei* (Haines)

Cyclotus setosus (Moelendorff)

Leptopoma aspirans (Benson)

Leptopoma vitriem (Lesso)

Panha S. (1996) กล่าวถึงหอยทากบกกลุ่ม pulmonate snail ในประเทศไทยว่ามีจำนวน 137 species 50 genera อยู่ใน 15 families กลุ่มนี้เป็นหอยทากที่มีหนวด 2 คู่ ตา 1 คู่อยู่ที่ปลายหนวดคู่หลัง บางชนิดไม่มีเปลือก เพศแยก พวกที่มีเปลือกจะไม่มีฝาปิด(operculum) มีเพศรวม ตัวอย่างได้แก่ ทากบก(land slug) หอยเดื่อ หอยดักดาน เป็นต้น อีกกลุ่มหนึ่งคือ กลุ่ม Prosobranchia กลุ่มนี้ มีหนวด 1 คู่ ตาอยู่ที่โคนหนวด เปลือกมีฝาปิด (operculum) ยึดติดแน่นกับด้านบนของส่วนท้าย (tail) และปิดสนิทเมื่อหอยหดตัวเข้าในเปลือก หอยทากกลุ่มนี้มีเพศแยก ตัวอย่างเช่นหอยหอม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษายังไม่เสร็จสิ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนายทักษิณ อาชวาคม ผู้อำนวยการสถานีวิจัย และแหล่งสงวนชีวมณฑลสะแกราช ตำบลอุดมทรัพย์ อำเภอวังน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา ที่อนุเคราะห์เจ้าหน้าที่มาช่วยนำทางในการสำรวจทุกครั้ง รวมทั้งให้ความสะดวกในด้านยานพาหนะเดินทางภายในบริเวณสถานีวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ, ทักษิณ อาชวาคม, ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และเกษม ทองทวี. 2537. หอยทากในประเทศไทย. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2537 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 9 ณ โรงแรมแกรนด์จอมเทียนพาเลซ ชลบุรี 21-24 มิถุนายน 2537. หน้า 495-522.

ชมพูนุท จรรยาเพศ . 2538 . หอยทากศัตรูพืช . เอกสารประกอบการบรรยายการฝึกอบรมหลักสูตรอารักขาพืช สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด ณ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 19-29 มิถุนายน 2538. 11 หน้า

ชมพูนุท จรรยาเพศ . 2542. หอยทากศัตรูกล้วยไม้. เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จังหวัดราชบุรี. สำนักงานเกษตรจังหวัดราชบุรี, 3 มิถุนายน 2542. 5 หน้า.

Gordon , David G. 1994. Field guide to the Slugs. Western Society of Malacologists. Sasguatch Books , Seattle USA. 48 pp.

Kerney , M.P. and R.A.D. Cameron. 1987. A Field Guide to the Land Snail of Britain and North-West Europe. Collins, London. 288 pp.

Panha, Somsak . 1996. A checklist and Classification of the Terrestrial Pulmonate Snails of Thailand. Walkerana, 1995 – 1996, 8(19) : 31 – 40 .

Solem Alan. 1966. Some Non-Marine Mollusks from Thailand, with Notes on Classification of the Helicarionidae. Spolia Zool. Mus. Haun., Copen.

สำรวจและศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่

Exploration and Studies on Rat Species in Oil Palm Plantations Ecosystem

กรแก้ว เสือสะอาด พวงทอง บุญทรง เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและศึกษาความหลากชนิดสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ1-3 ปีระหว่าง เดือนตุลาคม2550–กันยายน 2551ในเขตจังหวัดปทุมธานี จังหวัดสระแก้ว และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยวิธีการดักหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ที่ทำการสำรวจ ตัวอย่างหนูที่ดักได้นำมาจำแนกชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์พร้อมสต๊าฟตัวอย่างไว้ในห้องเก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา จากการสำรวจพบว่าในเขต ตำบลศาลาคร อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี รวบรวมตัวอย่างหนูได้ 1 ชนิด คือ หนูพุกใหญ่ ในเขตตำบลไทยอุดม อำเภอคลองหาด ตำบลแซร์ออ อำเภอวัฒนานคร ตำบลผ่านศึก และ ตำบลทับพริก อำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว รวบรวมตัวอย่างหนูได้ 5 ชนิด คือหนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูท้องขาวบ้าน หนูหริ่งนาหางสั้น และหนูหริ่งนาหางยาว ในเขต ตำบลศาลาลัย อำเภอสามร้อยยอด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวบรวมตัวอย่างหนูได้ 2 ชนิด คือ หนูพุกใหญ่และหนูท้องขาวบ้าน ในเขตตำบลศิลาลอย อำเภอสามร้อยยอด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวบรวมตัวอย่างหนูได้1ชนิดคือหนูท้องขาวบ้าน ในเขตตำบลหนองพลับ อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวบรวมตัวอย่างหนูได้1ชนิด คือ หนูพุกใหญ่ ในเขตตำบลกุยบุรี อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวบรวมตัวอย่างหนูได้ 1 ชนิด คือ หนูพุกใหญ่ ในเขต ตำบลบ่อนอก อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวบรวมตัวอย่างหนูนำมาจำแนกชนิดได้ 3 ชนิดคือ หนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก และหนูท้องขาวบ้านในเขต ตำบลบางสะพาน อำเภอบางสะพานน้อย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ดักหนูและเก็บรวบรวมตัวอย่างหนูได้ 4 ชนิดคือ หนูพุกใหญ่ หนูท้องขาวบ้าน หนูหริ่งนาหางยาว และหนูหริ่งนาหางสั้น

สภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ปลูกปาล์มใหม่ของเกษตรกรที่ดักหนูได้มีทั้งพื้นที่เดิมเคยปลูกส้ม ปลูกพืชหลายชนิดร่วมกับปาล์มน้ำมัน เช่น ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มันสำปะหลัง มะเขือเทศ กระเจี๊ยบ กล้วย ปลูกปาล์มน้ำมันร่วมกับสับปะรด หรือพื้นที่เคยเป็นนาข้าวมาก่อน ซึ่งการสำรวจยังไม่เสร็จ

รหัสโครงการ 09-02-49-01

สิ้นดังนั้นจึงได้ทำการสำรวจความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคอื่นๆ เพิ่มเติมต่อไปในปี 2552

คำนำ

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

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. กรงดักหนู(Live trap) 100 กรง กรงเลี้ยงหนู อาหารเลี้ยงหนู

2. เหยื่อดักหนู เช่น ขี้ไต้ ข้าวโพดหวาน

3. สวนปาล์มน้ำมันปลูกใหม่ของเกษตรกรในเขตภาคตะวันออกและภาคกลางและภาคใต้

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

5. สารเคมี เช่น แอลกอฮอล์ ฟอร์มาลิน ไดเอททิลอีเทอร์ ไดอ็อกแซน เป็นต้น

6. อุปกรณ์สำหรับสตั๊ฟสัตว์ เช่น ใบมีดผ่าตัด กรรไกรตัดกระดูก ผงบอแร็ก ลวด สำลี

7. กล้องจุลทรรศน์ แว่นขยาย กล้องถ่ายรูป ฟิลม์สี และฟิลม์สไลด์

8 ตู้เก็บตัวอย่างสัตว์

แบบและวิธีการทดลอง

1.แผนการทดลอง(Experimental Design): -

2. กรรมวิธี(Treatment) -

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง (Methods or cultural Practice)

1) สำรวจ รวบรวม เก็บตัวอย่างหนูและสัตว์ศัตรูพืชในพื้นที่ปลูกปาล์มที่เลือก โดยทำการดักหนูและสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออกเช่น จังหวัดสระแก้ว และในเขตภาคกลาง เช่น จังหวัดปทุมธานี ประจวบคีรีขันธ์ โดยสุ่มวางกรงดักหนู 100 กรงบริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมัน ต้นละ 1 กรง 2 เดือนต่อครั้งๆละ3 วัน ทำการตรวจกรงทุกวัน บันทึกระบบนิเวศของพื้นที่นั้น อายุปาล์มน้ำมันและจำนวนหนูที่ดักได้ หนูที่ดักได้นำมาจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ

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

3) สตั๊ฟหนู และสัตว์ที่ดักได้ จัดเก็บเป็นตัวอย่าง พร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้น ไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชเพื่อใช้เป็นข้อมูลฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป

การบันทึกข้อมูล(Observation or Measurements)

1. บันทึกสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ทำการสำรวจ
2. บันทึกลักษณะความเสียหายของปาล์มน้ำมันที่ถูกหนูทำลายในพื้นที่ทำการสำรวจ
3. บันทึกจำนวน ชนิด เพศ น้ำหนัก ลักษณะสีขน ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวตีนหลัง ความยาวใบหู ของหนูที่ดักได้
4. บันทึกลักษณะสำคัญของตัวอย่าง ที่เก็บรวบรวมมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ เช่น ลักษณะกะโหลก ฟัน สีขน ความยาวอวัยวะต่างๆ สภาพนิเวศวิทยาพื้นที่ที่ดักหนูได้ เพื่อจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ ถูกต้อง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2553 รวม 5 ปี

สถานที่ดำเนินการ : สวนปาล์มน้ำมันในเขตจังหวัดปทุมธานี จังหวัดสระแก้ว จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

สำรวจและศึกษาชนิดหนูศัตรูปาล์มน้ำมันในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ1-3ปีระหว่างเดือนตุลาคม2550–กันยายน 2551ในเขตจังหวัดปทุมธานี จังหวัดสระแก้ว และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยวิธีการดักหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ที่ทำการสำรวจ ตัวอย่างหนูที่ดักได้นำมาจำแนกชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์พร้อมสต๊าฟตัวอย่างไว้ในห้องเก็บตัวอย่างสัตว์ของ กลุ่มงานสัตววิทยา การเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา จากการสำรวจชนิดพบว่าในเขต ตำบลศาลาคร อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี รวบรวมตัวอย่างหนูได้ 1 ชนิด คือ หนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*) ในเขตตำบลไทยอุดม อำเภอคลองหาด ตำบลแซร์ออ อำเภอวัฒนานคร ตำบลผ่านศึก และ ตำบลทับพริก อำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว รวบรวมตัวอย่างหนูได้ 5 ชนิด คือหนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) หนูพุกเล็ก(*Bandicota savilei*) หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) หนูหริ่งนาหางสั้น(*Mus cervicolor*) และหนูหริ่งนาหางยาว(*Mus caroli*) ในเขตตำบลศาลาลัย อำเภอสามร้อยยอด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวบรวมตัวอย่างหนูได้ 2 ชนิด คือ หนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*)และหนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) ในเขตตำบลศิลาลอย อำเภอสามร้อยยอด จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวบรวมตัวอย่างหนูได้1ชนิดคือหนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) ในเขตตำบลหนองพลับ อำเภอหัว

หิน จังหวัดประจวบคีรีขันธุ์ รวบรวมตัวอย่างหนูได้1ชนิด คือ หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) ในเขตตำบลกุยบุรี อำเภอกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ รวบรวมตัวอย่างหนูได้ 1 ชนิด คือ หนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*) ในเขต ตำบลบ่อนอก อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธุ์ รวบรวมตัวอย่างหนูนำมาจำแนกชนิดได้ 3 ชนิดคือ หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) หนูพุกเล็ก (*Bandicota savilei*) และ หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) ในเขต ตำบลบางสะพาน อำเภอบางสะพานน้อย จังหวัดประจวบคีรีขันธุ์ ดักหนูและเก็บรวบรวมตัวอย่างหนูได้ 4 ชนิดคือ หนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*) หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) หนูหริ่งนาหางยาว1 ตัว(*Mus caroli*) และหนูหริ่งนาหางสั้น(*Mus cervicolor*)

จากการสำรวจสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ปลูกปาล์มใหม่ของเกษตรกรที่ดักหนูได้ในปี2551 ในเขตอำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี สภาพพื้นที่เดิมเคยปลูกส้มมาก่อน พื้นที่จึงเป็นเหมือนร่องปลูกผัก พื้นที่รอบแปลงเป็นป่ารกพบรูและร่องรอยการกัดทำลายวัชพืช ในเขตอำเภอคลองหาด อำเภอวัฒนานครและอำเภออรัญประเทศ จังหวัดสระแก้ว อายุปาล์มประมาณ2-3 ปีสภาพพื้นที่มีปลูกพืชหลายชนิดร่วมกับปาล์มน้ำมัน เช่น ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มันสำปะหลัง มะเขือเทศ กระเจี๊ยบกล้วย เป็นพื้นที่ที่พบรูหนู ร่องรอยการทำลายปาล์มน้ำมัน รูหนูใต้ต้นกล้วย และในพื้นที่ที่ปลูก มีหญ้าขึ้นรก ในเขตอำเภอหัวหิน อำเภอกุยบุรี อำเภอเมือง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ อายุปาล์มประมาณ 1-2 ปี เป็นพื้นที่เคยปลูกสับปะรดมาก่อน จึงมีการปลูกปาล์มน้ำมัน ในแปลงร่วมกับสับปะรด พบรูหนูในและรอบแปลง มีร่องรอยกัดแทะลูกสับปะรดสุก และ หน่อสับปะรด มาก ในขณะที่ปาล์มยังไม่ออกผลผลิต ในเขตพื้นที่อำเภอบางสะพานน้อย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เป็นพื้นที่เคยเป็นนาข้าวมาก่อน พบร่องรอยกัดปาล์ม ปลูกใหม่มาก พบรูหนูในแปลง รอยกัดกินหอยและหญ้า มาก เมื่อมีการปลูกปาล์มน้ำมัน ในแปลงร่วม กับสับปะรด จึงพบรูหนูในและรอบแปลง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

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

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ กรแก้ว เสือสะอาดและพวงทอง บุญทรง.2532. การสำรวจชนิดและปริมาณของหนูศัตรูถั่วเขียว. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2532 กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 72-86.

Corbet, G.B. and J.E. Hill. 1992. The mammals of the Indomalayan region : a systematic review. Oxford university press, New York.488 p.

Duckett, J. E. and S., Karuppiah. 1989. A guide to the planter in utilizing barn owls(*Tyto alba*) as a effective biological control of rats in mature oil palm plantations. Proceeding 1989 PORIM International palm oil, development conference 5 -9 September, 1989. Kuala Lumpur, Malaysia. 15 p.

Lekakul, B. and J.A. McNeedley. 1977. Mammals of Thailand. Association for the conservation of wildlife,Bangkok. Kurusapha press, Bangkok. 758 p.

Lekunze, L.M., A.U. Ezealor, T. Aken Ova. 2001. Prey groups in the pellets of the barn owls *Tyto alba* (Scopoli) in the Nigerian savanna. East Africa wildlife society. Afr. J. Ecol. 39 : 38-44.

Miura, S., M.Yasuda and Louis C. Ratnam. 1997. Who steals the fruits? Monitoring frugivory of mammals in a tropical rain forest. Malayan Nature Journal. 50 : 183-198.

Smal,C.M. 1990. Research on the use of barn owls *Tyto alba* for biological control of rats in oil palm plantation. Proceedings of 1989 International palm oil development conference agriculture. Palm oil research institute of Malaysia, Kuala Lumpur. 588 p.

ชีววิทยาหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude)

Biological Studies of Terrestrial Snail *Ovachlamys fulgens* (Gude)

ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ ปิยาณี หนูกาฬ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บข้อมูลการระบาดของหอยทากศัตรูพืชชนิดต่างๆ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนสิงหาคม 2550 ในสวนกล้วยไม้ จังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี จำนวน 4 สวน พบการระบาดของหอยทากบกศัตรูกล้วยไม้ 4 ชนิด คือ หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) หอยซัคซิเนีย (*Succinea* sp.) หอยเจดีย์เล็ก (*Lamellaxis* sp.) และหอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopeas walkeri* (Benson) จึงเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่ง *O. fulgens* (Gude) มาเลี้ยงเพื่อศึกษาชีววิทยา ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร โดยการสังเกต บันทึก วาดภาพ และถ่ายภาพ จากการศึกษา พบว่าหอยเลขหนึ่งไม่ชอบแสง ต้องการความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 60 % ขึ้นไป มีวงจรชีวิตตั้งแต่ฟักออกจากไข่ จนถึงสามารถผสมพันธุ์และวางไข่ 48.7 วัน ตัวเต็มวัยอายุโดยเฉลี่ย 38 วัน (34-43 วัน; n=17) ซึ่งตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย มีการผสมพันธุ์ข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืนหรือในสภาพที่มีความชื้นสูง วางไข่เป็นกลุ่มใต้กาบมะพร้าวหรือรอยแยกของดินที่มีความชุ่มชื้น จำนวน 2-10 ฟอง/กลุ่ม ไข่มีลักษณะเป็น gelatinous egg ซึ่งจะพัฒนาเป็นเปลือกไข่สีขาวที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ ไม่มีวุ้นใสปกคลุมกลุ่มไข่ ขนาดของไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1.22-1.78 มิลลิเมตร (n=39) เปอร์เซ็นต์การฟักในสภาพห้องปฏิบัติการ 32.05 (n=47) และระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ ที่อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส ในห้องปฏิบัติการ 10.7 วันโดยเฉลี่ย

รหัสโครงการ 09-02-49-01

คำนำ

ประเทศไทยจัดได้ว่าเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง เนื่องจากมีลักษณะทางภูมิประเทศและภูมิอากาศที่หลากหลาย อุดมสมบูรณ์ แต่การศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตในหลายๆชนิด โดยเฉพาะสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในประเทศไทยนั้นมีน้อยมาก และส่วนใหญ่มีการศึกษาอยู่ในวงแคบๆ เพียงบางกลุ่ม โดยมักจะเน้นศึกษาในกลุ่มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและทางการแพทย์เท่านั้น ในขณะที่ข้อมูลเกี่ยวกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังชนิดอื่นๆ โดยเฉพาะหอยทากบก (land snail) กลับพบว่าข้อมูลทั้งด้านชนิด ชีววิทยา อนุกรมวิธาน ขอบเขตการแพร่กระจาย ข้อมูลในด้านทำลายพืช และนิเวศวิทยาของหอยทากในประเทศไทยยังมีน้อยมาก เนื่องจากยังขาดแคลนบุคลากรที่จะศึกษาอย่างจริงจัง ทั้งที่สัตว์กลุ่มนี้เป็นสัตว์ที่มีวิวัฒนาการร่วมกับมนุษย์มายาวนาน และยังสามารถพบเห็นได้ทั่วไป ทั้งตามแหล่งเกษตรกรรม สถานที่ท่องเที่ยวตามธรรมชาติ ป่าไม้ หรือแม้กระทั่งตามบ้านเรือน

ปัจจุบัน ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้เมืองร้อนที่สำคัญ มีการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกเป็นอันดับ 1 ของโลก มูลค่าการส่งออกกล้วยไม้ในปัจจุบันไม่ต่ำกว่า 3,000 ล้านบาท ตามสถิติการส่งออกกล้วยไม้ ปี 2549 ประเทศไทยมีการส่งออกกล้วยไม้ไปยังประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนมากที่สุด รองลงมาได้แก่ ประเทศญี่ปุ่นและอิตาลี โดยมีมูลค่าถึง 705,483,305 บาท 521,048,936 บาท และ 280,433,756 บาท ตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร,2549) จึงนับได้ว่ากล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง และได้ถูกจัดให้เป็น 1 ใน 4 ของพืช product champion ซึ่งในปี 2550 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ มีนโยบายให้เร่งผลักดันการส่งออกกล้วยไม้ โดยเน้นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต เพิ่มขีดความสามารถด้านการตลาดและปรับระบบการบริหารจัดการ เพื่อให้ประเทศไทยสามารถส่งออกกล้วยไม้ให้ได้มูลค่า 10,000 ล้านบาทภายในปี 2555 และเพื่อเป็นการสนับสนุนเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้เพื่อการส่งออกให้ปลอดศัตรูพืชและเพื่อแก้ปัญหาอุปสรรคในการส่งออก กรมวิชาการเกษตรได้มีการวิจัยด้านศัตรูพืชกักกันทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยสนับสนุนให้เกษตรกรรวมกลุ่ม เพื่อพัฒนาการผลิต และมีโครงการรับรองสวนเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agriculture Practice : GAP) และเพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานสากล กรมวิชาการเกษตรได้มีข้อกำหนดเรื่องคุณภาพขั้นต่ำของกล้วยไม้ส่งออกของประเทศไทย ซึ่งกล้วยไม้ทุกชั้นมาตรฐานต้องมีคุณภาพดังต่อไปนี้ คือ สด สะอาด ไม่มีรอยตำหนิที่เด่นชัด ก้านช่อดอกแข็งแรงและ**ไม่พบศัตรูพืช** เว้นแต่จะมีข้อกำหนดของแต่ละชั้นและเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนที่ยอมให้มีได้ แมลงและสัตว์ที่พบว่ามี

การทำลายกล้วยไม้มีด้วยกันหลายชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟ บั่วกล้วยไม้ หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์เล็กและหอยเจดีย์ใหญ่ หอยทากยักษ์อาฟริกา เป็นต้น

สำหรับการศึกษาชนิดหอยทากบกในประเทศไทย เริ่มมีรายงานมาตั้งแต่ทศวรรษที่ 19 โดยในปี ค.ศ.1860 Martens ได้รายงานว่าในประเทศไทยมีหอยทากบกกลุ่มที่ไม่มีฝาปิด หรือหอยทากกลุ่มพัลโมเนท (pulmonate snail) จำนวน 17 ชนิด (species) จากการศึกษาของ Panha (1996) พบว่าปัจจุบันประเทศไทยมีหอยทากบกกลุ่มที่ไม่มีฝาปิด มากถึง 15 ครอบครัว (family) 50 สกุล (genus) และมีจำนวนมากกว่า 136 ชนิด มีทั้งชนิดที่อยู่ตามพื้นและชนิดที่อยู่บนต้นไม้

ชมพูนุท และคณะ (2542) พบว่าหอยทาก ชนิดที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย มีอยู่ 6 ชนิด ซึ่งมีหลายชนิดที่พบเป็นศัตรูกล้วยไม้ ได้แก่หอยทากยักษ์อาฟริกา (*Achatina fulica*) หอยดักดาน *(Cryptozona siamensis*) หอยทากสาริกา (*Sarika* sp.) นอกจากนั้นยังมีหอยทากขนาดเล็ก ได้แก่ หอยเจดีย์เล็ก (*Lamellaxis gracilis*) หอยอำพันหรือหอยเล็บ, (*Succinea* sp.) และหอยเลขหนึ่ง *(Ovachlamys fulgens*)

ทักษิณและคณะ (2532) สำรวจชนิดหอยทากและทากในพืชชนิดต่างๆ พบหอยทาก 11 ชนิด ที่จัดเป็นศัตรูพืช

Burch (1962) กล่าวว่าหอยทากซัคซิเนียมีการแพร่กระจายกว้างขวาง พบเกือบทุกทวีป สำหรับในประเทศสหรัฐอเมริกาพบ 2 ชนิด ในยุโรปตะวันตกเฉียงเหนือและสหราชอาณาจักรมี 2 ชนิด คือ *Succinea putris* และ *S. oblonga* ซึ่งมีเขตการแพร่กระจายกว้างขวางมากกว่า และอาจพบในไซบีเรีย (Kerney และ Cameron, 1979)

จะเห็นได้ว่าแม้ประเทศไทยจะมีขีดความสามารถสูงด้านเทคโนโลยีการผลิตพืชส่งออก แต่ขีดความสามารถทางการศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับศัตรูพืชกักกัน โดยเฉพาะกลุ่มของหอยทากศัตรูพืชยังมีน้อยมาก ทั้งที่ในปัจจุบันสัตว์กลุ่มนี้จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญอันดับต้นๆ ในสวนไม้ผล พืชผักและสวนกล้วยไม้ พืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทยดังที่กล่าวมา ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องเร่งทำการศึกษาเพื่อให้รู้ถึงข้อมูลพื้นฐานต่างๆของหอยทาก เช่น ข้อมูลทางด้านชีววิทยา นิเวศวิทยา รวมไปถึงการแพร่กระจาย ระยะเวลาการระบาดในสภาพพื้นที่นั้นๆ เพื่อประโยชน์ในการเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลและเป็นแนวทางในการนำไปใช้วางแผนการจัดการหอยทากศัตรูพืช ไม่ให้เกิดการระบาดรุนแรง รวมไปถึงการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้ประเทศไทยมีขีดความสามารถทั้งในด้านเทคโนโลยีการผลิตพืช และเทคโนโลยีการจัดการคุณภาพ GAP ซึ่งเป็นมาตรฐานสากลของการค้าโลกต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างหอย ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาดต่างๆ สเปรย์ฉีดน้ำ ถุงมือแพทย์ คีมคีบ พู่กัน ไฟฉาย+ ถ่านไฟฉาย กระดาษทิชชูอเนกประสงค์
- อุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงหอย ได้แก่ ตู้กระจก ขนาด กว้างxยาวxสูง = 25x40x26 เซนติเมตร และวัสดุสำหรับรองตู้กระจก เช่น กาบมะพร้าว ขุยมะพร้าว และดิน อัตราส่วน 1:1
- อุปกรณ์สำหรับแยกหอยเพื่อศึกษาชีววิทยา ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร และขนาด 6.5x9.5x2 เซนติเมตร พร้อมกระป๋องฉีดน้ำ
- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลายี่ห้อซากุระ ผักสดชนิดต่างๆ
- สารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง ไว้ศึกษาอวัยวะภายใน ได้แก่ ethyl alcohol 95% และ formaldehyde 40% เป็นต้น
- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น thermometer, forceps , beaker , vial, Petri-dish
- อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ ได้แก่ ฟิล์มสี และกระดาษเช็ดเลนส์กล้องจุลทรรศน์
- อุปกรณ์สำหรับวัดขนาด ได้แก่ เวอร์เนียร์ ไม้บรรทัด
- เอกสารประกอบการศึกษาชีววิทยาหอยทาก

วิธีการ

1. <u>การสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่ง</u>

สำรวจ และเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่งจากสวนกล้วยไม้ ในเขตภาคกลาง และภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี นำมาเลี้ยงเพื่อให้หอยเลขหนึ่งปรับสภาพในตู้กระจกของห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร

2. <u>การเตรียมสถานที่สำหรับเพาะเลี้ยงหอยเลขหนึ่งเพื่อศึกษาชีววิทยา</u>

โดยใช้ตู้กระจก ขนาด กว้างxยาวxสูง เท่ากับ 25x40x26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจก ด้วยดินผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 โดยประมาณ ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร และวางกาบมะพร้าวไว้ในตู้กระจกสำหรับให้หอยเลขหนึ่งวางไข่ ให้ความชื้นโดยฉีดพ่นน้ำอย่างสม่ำเสมอ วันละ 1 ครั้ง

3. <u>การศึกษาชนิด และสัณฐานวิทยาของหอยเลขหนึ่ง</u>

3.1 ศึกษาชนิด โดยการสืบค้นเอกสารหอยทากบกทั้งในและต่างประเทศ

3.2 ศึกษาสัณฐานวิทยา โดยการสังเกต เปรียบเทียบ ถ่ายภาพและวาดภาพ

4. การศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ และการวางไข่ของหอยเลขหนึ่ง

4.1 ศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของหอยเลขหนึ่ง โดยสุ่มเลือกหอยตัวเต็มวัย มาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 15.5x22x7 เซนติเมตร 10 ตัว/ กล่อง จำนวน 5 กล่อง โดยให้อาหารปลายี่ห้อซากุระ หรือผักสดเป็นอาหาร และฉีดพ่นน้ำเพื่อให้ความชื้น สังเกตผลการทดลองทุกวัน

4.2 ศึกษาการวางไข่ของหอยเลขหนึ่ง โดยเลือกหอยตัวเต็มวัย มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5x9.5x2 เซนติเมตร 1 ตัว/ กล่อง จำนวน 5 กล่อง โดยให้อาหารปลายี่ห้อซากุระ หรือผักสดเป็นอาหาร และฉีดพ่นน้ำเพื่อให้ความชื้น สังเกตและบันทึกผลการทดลองทุกวันจนได้ระยะไข่ วัดขนาดไข่ ขนาดของกลุ่มไข่ บันทึกจำนวน และลักษณะของไข่หอยเลขหนึ่ง พร้อมถ่ายภาพไข่หอยภายใต้กล้อง stereo microscope

4.3 ศึกษาระยะเวลาการฟักจากไข่ของหอยเลขหนึ่ง โดยแยกไข่หอยแต่ละกลุ่มมาเลี้ยงในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5 x 9.5 x 2 เซนติเมตร ที่รองด้วยดินผสมขุยมะพร้าวอัตรา 1:1 สูง 1.5 เซนติเมตร ฉีดพ่นน้ำ เพื่อให้ความชื้น บันทึกระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ วัดขนาดลูกหอยและถ่ายภาพภายใต้กล้อง stereo microscope

5. การศึกษาวงจรชีวิต (life cycle) ของหอยเลขหนึ่ง

วงจรชีวิต : บันทึกวันที่เริ่มต้น เห็นระยะไข่ → เก็บกลุ่มไข่หอยรุ่น F1 มาแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 15.5 x 22 x 7 เซนติเมตร → บันทึกวัน ที่ลูกหอยรุ่น F1 ฟักออกมาจากไข่วัดขนาดลูกหอย → บันทึกอายุ และวัดขนาดของตัวเต็มวัย (รุ่นF1)→ บันทึกวัน ที่เริ่มเห็นกลุ่มไข่ รอบใหม่ (รุ่น F2)

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร และที่สวนกล้วยไม้ของเกษตรกร ที่จังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 - กันยายน 2551 รวม 3 ปี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่ง

ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนสิงหาคม 2550 ได้ดำเนินการสำรวจและค้นหาแหล่งที่มีหอยเลขหนึ่ง พร้อมเก็บข้อมูลการระบาดของหอยทากศัตรูพืช ในสวนกล้วยไม้ในเขตจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี จำนวน 4 สวน พบว่ามีการระบาดของหอยทากบก 4 ชนิด คือ หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) หอยซัคซิเนีย (*Succinea* sp.) หอยเจดีย์เล็ก (*Lamellaxis* sp.) และหอยเจดีย์ใหญ่ *Prosopeas walkeri* (Benson) โดยพบการระบาดตลอดทั้งปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงเดือนมิถุนายน ถึงเดือนกันยายน จึงได้เก็บตัวอย่างหอยเลขหนึ่งจากสวน

กล้วยไม้เกษตรกรมาเพาะเลี้ยง เพื่อให้หอยเลขหนึ่งปรับสภาพ ในตู้กระจกของห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร

2. <u>การเตรียมสถานที่สำหรับเพาะเลี้ยงหอยเลขหนึ่งเพื่อศึกษาชีววิทยา</u>

หอยเลขหนึ่งที่ถูกเพาะเลี้ยงในตู้กระจกใส ขนาด 25x40x26 เซนติเมตร รองพื้นตู้กระจกด้วยดินผสมขุยมะพร้าว ให้สูงจากพื้นตู้กระจกประมาณ 5 เซนติเมตร สามารถปรับสภาพและผสมพันธุ์ได้ ซึ่งในปี 2549 สามารถเพาะขยายพันธุ์หอยเลขหนึ่งได้สำเร็จ 1 รุ่น โดยอยู่รอดไม่น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นคัดหอยเลขหนึ่งที่แข็งแรง มาปรับสภาพในที่อยู่ใหม่ซึ่งเป็นกล่องพลาสติกขนาดต่างๆ เพื่อศึกษาชีววิทยาต่อไป

3. <u>การศึกษาชนิดและการศึกษาสัณฐานวิทยาหอยเลขหนึ่ง</u>

จากการศึกษาชนิด โดยการสืบค้นเอกสาร ของ Gude (1903b และ 1903c) และ Solem (1966) พบว่าหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) เป็นหอยทากบก ที่จัดอยู่ในวงศ์ (Family) Helicarionidae อันดับ (Order) Stylommatophora ชั้นย่อย (Subclass) Pulmonata ชั้น (Class) Gastropoda ลักษณะทางสันฐานวิทยาของหอยเลขหนึ่งประกอบด้วย 2 ส่วน คือ

- ส่วนเปลือก มีแคลเซียมคาร์บอเนตเป็นองค์ประกอบ ประกอบด้วย ส่วนของยอดเปลือก (apex) ฐานเปลือก (base) เปลือกหอยจะมีการขดวนจากส่วนยอดเปลือกวนเป็นชั้นๆเรียกว่าเวิร์ล (whorl) ชั้นของขดหอยจากยอดเปลือกถึงเวิร์ลรองสุดท้ายเรียกว่า สไปร์เวิร์ล (spire whorl) และเวิร์ลสุดท้ายเรียกว่าบอดี้เวิร์ล (body whorl) บริเวณที่แต่ละเวิร์ลมาแตะกันเรียกว่าซูเชอร์ (suture) เปลือกหอยเลขหนึ่ง มีรูปทรงขดแบน (planispiral) เปลือกมีการขดวนแบบตามเข็มนาฬิกาหรือวนขวา เรียกว่าเด็กซ์ทรัล (dextral) เปลือกไม่มีฝาปิด (operculum)(ภาพที่ 1ก- 1ข)
- ส่วนลำตัว ประกอบด้วยโครงสร้างภายนอกลำตัว ได้แก่ ส่วนหัว(head) และแผ่นเท้า (foot) และโครงสร้างภายในได้แก่ ระบบลำเลียง ระบบขับถ่าย มีระบบสืบพันธุ์แบบเพศรวม (มีทั้งระบบสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียในตัวเดียวกัน) มีอวัยวะรับสัมผัสคือ ตาและหนวด (tentacle) 2 คู่ (ภาพที่ 1ค)

4. <u>การศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ และการวางไข่ของหอยเลขหนึ่ง</u>

จากการสังเกตเบื้องต้น พบว่าหอยเลขหนึ่งไม่ชอบแสง และต้องการความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 60 % ขึ้นไป ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของหอยในอันดับ Stylommatophora (Tompa,1984) ไม่พบการแสดงพฤติกรรมก่อนการผสมพันธุ์ เช่น การขึ้นขี่บนเปลือกของคู่ผสม ซึ่งลักษณะดังกล่าวสามารถพบได้ในกลุ่มหอยซัคซิเนีย (amber snail, *Succinea* sp.) และหอยเชอรี่ (apple snail, *Canaliculata* sp.)

เป็นต้น หอยเลขหนึ่งมีการผสมพันธุ์ข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืน หรือในสภาพที่มีความชื้นสูง ซึ่งหอยจะวางไข่เป็นกลุ่ม ๆ ตั้งแต่ 2-10 ฟอง (ภาพที่ 2ก) โดยหอยจะวางไข่วันละ 1-2 ฟอง จนครบจำนวนใต้วัสดุปลูกหรือรอยแยกของดินที่มีความชุ่มชื้น โดยไม่มีวุ้นใสปกคลุมกลุ่มไข่ ซึ่งลักษณะดังกล่าวแตกต่างจากหอยซัคซิเนีย ไข่หอยที่เกิดใหม่มีรูปร่างรีๆ ค่อนข้างใส เรียกว่า gelatinous egg หรือ semi-hydrated egg (ภาพที่ 2ข) ซึ่งหลังจากนั้นไข่หอยจะมีการดูดความชื้นจากสภาพแวดล้อม รูปร่างของไข่ระยะนี้จะค่อนข้างกลมและมีขนาดใหญ่ขึ้น จึงเรียกไข่หอยระยะนี้ว่า hydrated egg สามารถมองเห็นเปลือกไข่มีการเปลี่ยนจากใสเป็นสีขาวขุ่นขึ้น ซึ่งTompa (1984) ได้รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงดังกล่าว เนื่องจากเปลือกไข่มีการพัฒนาโดยดึงแคลเซียมจากสภาพแวดล้อมมาเป็นองค์ประกอบ ขนาดของไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1.22-1.78 มิลลิเมตร (เฉลี่ย 1.40 มม.) และระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ (eclosion time) ที่อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส ในห้องปฏิบัติการ 10.7 วัน โดยเฉลี่ย (ตารางที่1) เปอร์เซ็นต์การฟักในสภาพห้องปฏิบัติการ เฉลี่ย 32.05 (n=47)

และจากตารางเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างความกว้างของเปลือกหอยตัวเต็มวัย และขนาดของไข่หอย ของหอยใน Order Stylommatophora พบว่าหอยที่มีขนาดเล็ก เช่น *Ovachlamys fulgens* และ *Punctum pygmaeum* มีขนาดของไข่ค่อนข้างใหญ่เมื่อเทียบกับความกว้างของหอยตัวเต็มวัย และมักจะวางไข่ปริมาณน้อยต่อครั้ง ซึ่งต่างจากหอยที่มีขนาดใหญ่มักจะวางไข่ปริมาณมากต่อครั้ง จึงทำให้ต้องวางไข่ที่มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับขนาดเปลือกของตัวเต็มวัย (ตารางที่ 2) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเหตุผลเกี่ยวกับวิวัฒนาการ เพื่อให้ไข่หอยสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ซึ่งต้องหาข้อมูลและค้นคว้าต่อไป

5. <u>การศึกษาวงจรชีวิต (life cycle) ของหอยเลขหนึ่ง</u>

จากการบันทึกวันที่ ที่เริ่มสังเกตเห็นระยะไข่ พบว่าไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1.22-1.78 มิลลิเมตร (เฉลี่ย=1.40 มิลลิเมตร) → ระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ ที่อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส ในห้องปฏิบัติการ คือ 11 วัน โดยประมาณ → ลูกหอยที่เพิ่งฟักมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย แต่มีขนาดเล็กและมีวงขด (whorl) น้อยกว่า ขนาดของลูกหอยเกิดใหม่ใกล้เคียงกับขนาดของไข่คือประมาณ 1 มิลลิเมตร สีเปลือกค่อนข้างใสจนถึงสีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 3ก) → ตัวเต็มวัยมีอายุโดยเฉลี่ย 38 วัน (34-43 วัน; n=17) มีขนาดประมาณ 2.51 มิลลิเมตร (ภาพที่ 3ข) จึงสามารถจับคู่ผสมพันธุ์ได้ วงจรชีวิตของหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ตั้งแต่ระยะไข่ →ระยะลูกหอย →ระยะตัวเต็มวัย มีอายุโดยเฉลี่ย 48.7 วัน (ภาพที่ 4)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) เป็นหอยทากบกที่จัดอยู่ในวงศ์ Helicarionidae อันดับ Stylommatophora ชั้นย่อย Pulmonata ชั้น Gastropoda ลักษณะทางสันฐานวิทยาของหอยเลขหนึ่งประกอบด้วยสองส่วนคือ ส่วนเปลือกและส่วนลำตัว จากการเพาะเลี้ยงหอยเลขหนึ่ง ในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร สามารถเพาะขยายพันธุ์หอยเลขหนึ่งได้สำเร็จ 1 รุ่น โดยสามารถเลี้ยงให้อยู่รอดไม่น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำมาศึกษาชีววิทยา โดยการสังเกตุ จดบันทึกทุกสัปดาห์ และถ่ายภาพ ผลการศึกษา พบว่าหอยเลขหนึ่งไม่ชอบแสง และต้องการความชื้นสัมพัทธ์ มากกว่า 60 % ขึ้นไป ตัวเต็มวัยแต่ละตัวสามารถสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย ไม่พบการแสดงพฤติกรรมก่อนการผสมพันธุ์ มีการผสมพันธุ์ข้ามตัวในช่วงเวลากลางคืนหรือในสภาพที่มีความชื้นสูง และหอยจะวางไข่เป็นกลุ่ม ๆ ใต้กาบมะพร้าวหรือรอยแยกของดินที่มีความชุ่มชื้น จำนวนตั้งแต่ 2-10 ฟอง วันละ 1-2 ฟองจนครบจำนวน โดยไม่มีวุ้นใสปกคลุมกลุ่มไข่ ซึ่งลักษณะดังกล่าวแตกต่างจากหอยซัคซิเนีย ไข่หอยที่เกิดใหม่มีรูปร่างรีๆ ค่อนข้างใส เรียกว่า gelatinous egg หรือ semi-hydrated egg ซึ่งจากนั้นไข่หอยจะดูดความชื้นจากดินและขุยมะพร้าว รูปร่างของไข่ระยะนี้จะค่อนข้างกลมและมีขนาดใหญ่ขึ้น เรียกไข่หอยระยะนี้ว่า hydrated egg สามารถมองเห็นเปลือกไข่มีการเปลี่ยนจากใสเป็นสีขาวขุ่นขึ้น เนื่องจากเปลือกไข่มีการพัฒนาโดยดึงแคลเซียมจากสภาพแวดล้อมมาเป็นองค์ประกอบ ขนาดของไข่หอยมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1.22-1.78 มิลลิเมตร (เฉลี่ย1.40 มิลลิเมตร) และระยะเวลาที่ลูกหอยฟักออกจากไข่ ที่อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส ในห้องปฏิบัติการ 10.7 วัน โดยเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์การฟักในสภาพห้องปฏิบัติการ 32.05 (n=47) ลูกหอยที่เพิ่งฟักมีลักษณะเหมือนตัวเต็มวัย แต่มีขนาดเล็กและมีวงขดน้อยกว่า ขนาดของลูกหอยที่เกิดใหม่ใกล้เคียงกับขนาดของไข่ คือประมาณ 1 มิลลิเมตร สีเปลือกค่อนข้างใสจนถึงสีน้ำตาลอ่อน ตัวเต็มวัยมีอายุโดยเฉลี่ย 38 วัน (34-43 วัน; n=17) มีขนาดประมาณ 2.51 มิลลิเมตร หอยเลขหนึ่ง มีวงจรชีวิตโดยเฉลี่ย 48.7 วัน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นายสมพงษ์ ทวีสุข ผู้ประกอบการสวนกล้วยไม้ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี และนายอนันต์สิริ เจ้าของสวนกล้วยไม้อำเภอบ้านแพ้ว จังหวัดสมุทรสาคร ที่ให้ความร่วมมือและอนุญาตให้คณะวิจัยเข้าไปสำรวจการแพร่ระบาด พร้อมทั้งอนุญาตให้เก็บตัวอย่างหอยทากศัตรูพืชชนิดต่างๆ และขอขอบคุณนายสมเกียรติ กล้าแข็ง พนักงานราชการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร ที่ช่วยเก็บตัวอย่างและช่วยบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของหอยเลขหนึ่ง จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

ชมพูนุท จรรยาเพศ.2538. หอยทากศัตรูพืช. *ใน* เอกสารประกอบการบรรยายการฝึกอบรมหลักสูตรอารักขาพืช สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 11 หน้า.

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ธีรเดช เจริญรักษ์ เสริมศักดิ์ หงส์นาค และปิยาณี หนูกาฬ์.2542. ชีววิทยา การแพร่กระจายและการป้องกันกำจัดหอยทากและทากในไม้ผลส่งออก. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าวิจัยประจำปี 2542 . กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ชมพูนุท จรรยาเพศ. 2542. หอยทากศัตรูกล้วยไม้. *ใน* เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ จังหวัดราชบุรี สำนักงานเกษตรจังหวัดราชบุรี. 3 มิถุนายน 2542. 5 หน้า.

ทักษิณ อาชวาคม ชมพูนุท จรรยาเพศ ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐและ เกษม ทองทวี. 2532. สำรวจชนิดหอยทากศัตรูพืช. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 101-114.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2549. สถิติการส่งออกกล้วยไม้ ปี 2549. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพมหานคร. 218 หน้า .

Burch, J.B. 1962. How to Know the Eastern Land Snail. W.M.C. Brown Company Publisher, Dubuque Iowa, U.S.A. 214 pp.

Barrientos,Z. 1998. Life History of the Terrestrial Snail *Ovachlamys fulgens* (Stylommatophora:Helicarionidae) Under Laboratory Conditions. Rev. Biol. Trop. Vol. 46.

Farnesi, R.M.,Tei,S. and Panella,F. 1984. Relation Between Gametogenesis and Size Individuals in *Helix aspersa*. Ann. Agrar.Univ.Stud.Perugia. Vol. 38 : pp. 41-52.

Gude, G.K. 1903b. A Classified List of the Helocoid Land Shells of Asia. J.of Malacol. 10(1): pp. 5-16.

Gude, G.K. 1903c. A Classified List of the Helocoid Land Shells of Asia. J.of Malacol. 10(2): pp. 45-62.

Kerney, M.P. and Cameron, R.A.D. 1979. A Field Guide to the Land Snail of Britain and Northwest Europe. Collins,St. James 's Place, London. 288 pp.

Martens,E.V. 1860. Die Preussische Expedition nach Ost-Asian. Zool. Theil. pp.66-68.

Panha, S. 1996. A Checklist and Classification of the Terrestrial Pulmonate Snails of Thailand. Walkerana. 8 (19): pp. 11-64.

Purchon, R.D.1977. The Biology of the Mollusca. 2nd edition. Pergamon Press, Oxford.

Solem, A. 1966.Some Non- Marine Mollusks from Thailand ,with Notes on Classification of the Helicarionidae. Spolia Zoologia Musei Hauniansis. pp.24 -114.

Tompa, A.S. 1979. Localized Egg Shell Dissolution During Development in Stenotrema Leai (Pulmonata: Polygyridae) Nautilus 94(4): pp.136-137.

Tompa, A.S. 1984. Land Snails (Stylommatophora). In The Mollusca, Vol. 7: pp. 48-140.

ตารางที่ 1 ตารางแสดงค่าทางสถิติ ของไข่หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ที่ศึกษาในสภาพห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 27±3 องศาเซลเซียส (°c)

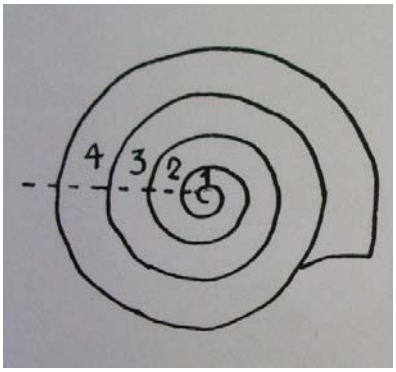
ค่า Variable	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไข่หอย (มิลลิเมตร)		ระยะเวลาที่หอยฟักจากไข่ (วัน)	จำนวนไข่/กลุ่ม (ฟอง)
	ระยะ Semi-hydrated (วัดทันที)	ระยะ Hydrated (วัดหลัง 24 ชม.)		
ค่าต่ำสุด	0.96	1.22	9	2
ค่าสูงสุด	1.34	1.78	15	10
ค่าเฉลี่ย	1.08	1.40	10.7	4
N (จำนวนตัวอย่าง)	33	39	23	38

ตารางที่ 2 ตารางเปรียบเทียบขนาดของของไข่หอยและขนาดของเปลือกหอยตัวเต็มวัย ในหอยทาก ที่อยู่ในอันดับ Stylommatophora บางชนิด

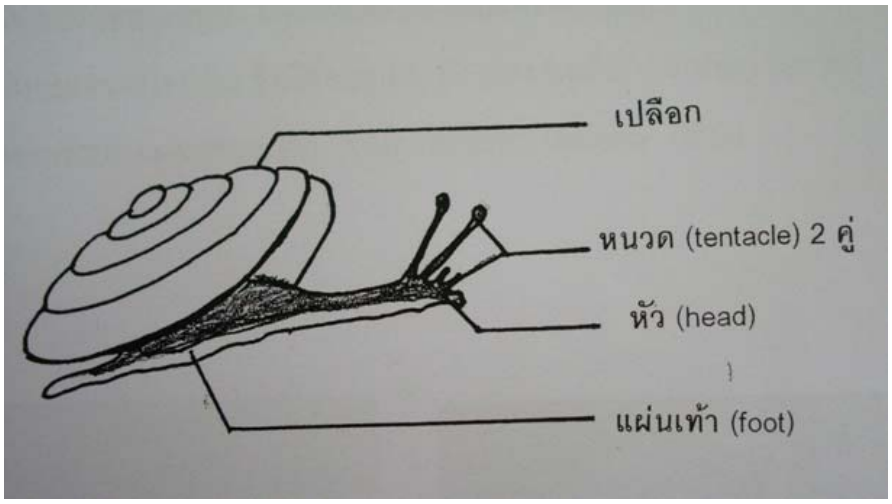
	ขนาด ø ของไข่หอย (มิลลิเมตร)	ขนาด ø ของเปลือกตัวเต็มวัย (มิลลิเมตร)	อัตราส่วนระหว่างเปลือกหอย / ไข่หอย
Helix aspersa	3.2	28.0	1/9
Anguispira alternata	2.8	20.0	1/7
Arianta arbustorum	2.7	18.5	1/7
Polymata muscarum muscarum	2.7	17.0	1/6
Ovachlamys fulgens (Barrientos,1998)	1.75	5.12	1/3
*Ovachlamys fulgens**	1.4*	4.46*	1/3*
Punctum pygmaeum	0.44	1.39	1/3

ที่มา : จาก Barrientos (1998) และ Farnesi *et. al.* (1984)

หมายเหตุ : * เป็นค่าวัดที่ได้จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ



ก. **ข.**



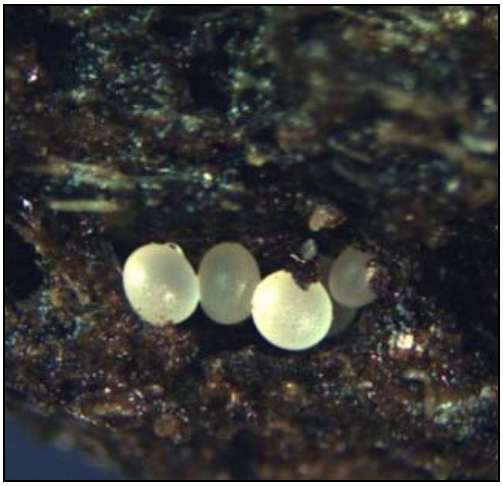
ค.

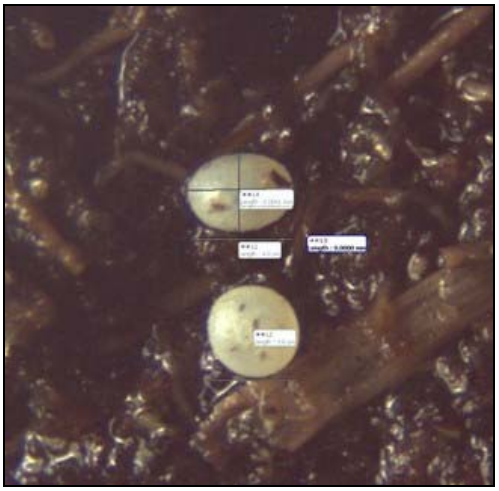
ภาพที่ 1 สัณฐานวิทยาหอยเลขหนึ่ง Ovachlamys fulgens (Gude)

ก. แสดงทิศทางการขดวนของเปลือกหอย ซึ่งมีการขดวนแบบเวียนขวา (dextral)

ข. แสดงโครงสร้างส่วนเปลือกของหอยเลขหนึ่ง และแสดงรูปทรงของเปลือกหอยที่มีลักษณะขดแบน (planistral)

ค. แสดงโครงสร้างส่วนลำตัวของหอยเลขหนึ่ง ซึ่งประกอบด้วยส่วนหัวและแผ่นเท้า





ก **ข**

ภาพที่ 2 แสดงระยะไข่ ของหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ;

ก : จำนวนไข่หอยเลขหนึ่ง/กลุ่ม ซึ่งมีจำนวน 2-10 ฟอง (เฉลี่ย = 4 ฟอง) (n=38)

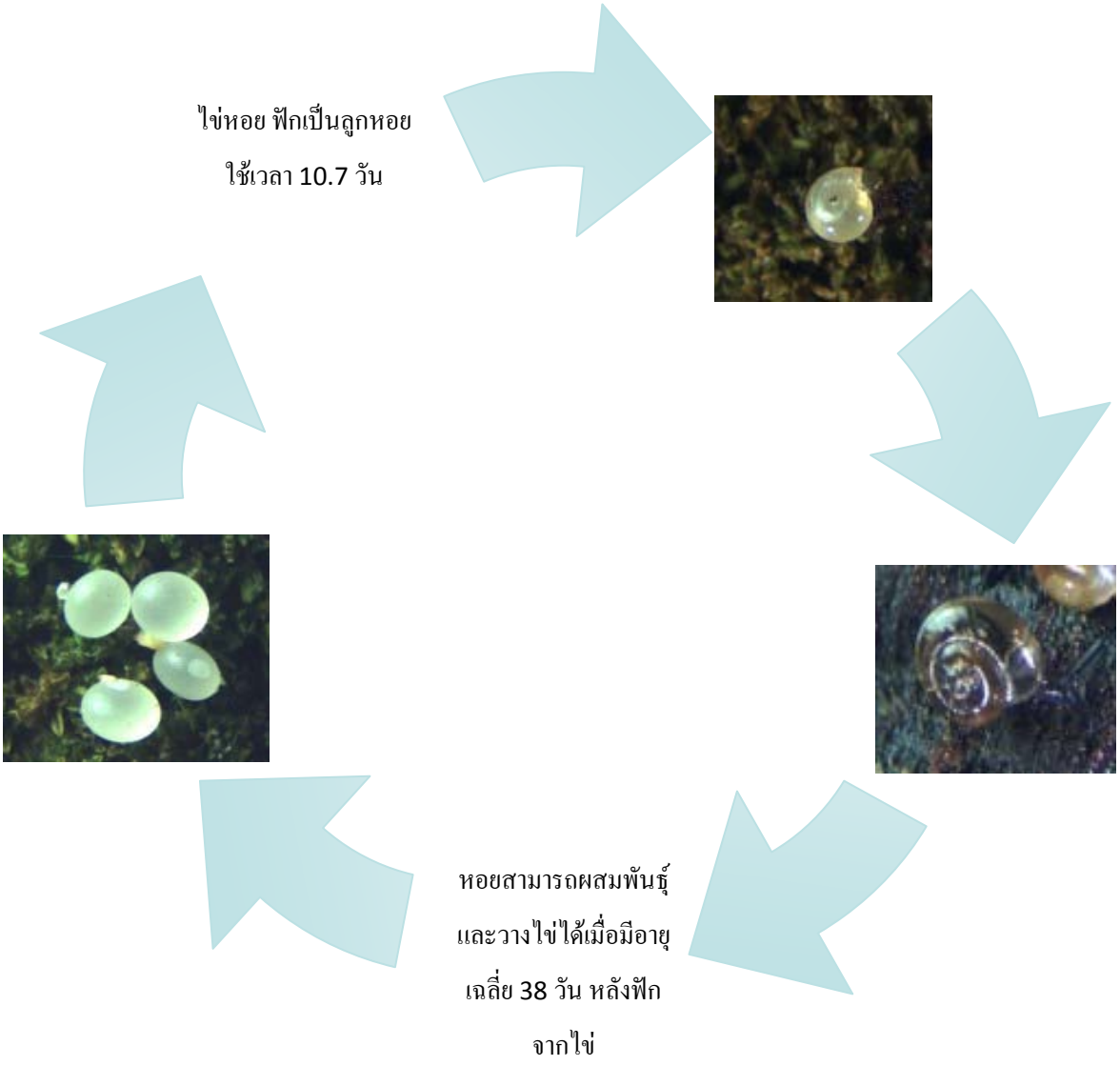
ข : รูปร่างไข่หอยระยะ semi-hydrate (บน) และระยะ hydrate (ล่าง)

ก **ข**

ภาพที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบขนาดของหอยเลขหนึ่ง *O.fulgens* (Gude) ระยะต่างๆ

ก : เปรียบเทียบขนาด ระยะไข่หอยและลูกหอยที่เพิ่งฟัก

ข : เปรียบเทียบขนาดของลูกหอยที่เพิ่งฟัก และขนาดตัวเต็มวัย



ภาพที่ 4 วงจรชีวิตของหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude)
ตั้งแต่ระยะไข่ →ระยะลูกหอย →ระยะตัวเต็มวัย อายุโดยเฉลี่ย 48.7 วัน

การปรับปรุงพริกขี้หนูผลใหญ่เพื่อต้านทานโรคแอนแทรคโนส

ศิริพงษ์ คุ้มภัย* นรินทร์ พูนเพิ่ม รักชัย คุรุบรรเจิดจิต ****
ณรงค์ แดงเปี่ยม อภิรัชต์ สมฤทธิ์* ธารทิพย ภาสบุตร***
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช *
ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรที่ 2**

บทคัดย่อ

ได้คัดสายพันธุ์ (isolate) ที่รุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆที่พบระบาดในประเทศไทย โดยทดสอบความความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนส และได้ตัวแทนของเชื้อรา *Colletotrichum* 2 สายพันธุ์ (isolate) เป็นตัวแทนของ 2 species ที่ระบาดในแปลงปลูกพริก *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* และได้ทดสอบพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริก จำนวน 20 สายพันธุ์ ทั้งสายพันธุ์ในประเทศ และต่างประเทศ ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. capsici* ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรค พบพริกสายพันธุ์ PBC 81 และ PBC 932 มีปฏิกิริยาต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสได้ดีทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ เพื่อถ่ายลักษณะต้านทานโรคจากสายพันธุ์ต้านโรคแอนแทรคโนสให้กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ ผลการทดลองในสภาพโรงเรือน พบว่าสามารถกระทำได้เฉพาะสายพันธุ์ PBC 932 และได้จัดสร้างลูกผสม F1 โดยใช้สายพันธุ์ พิจิตร 007เป็นสายพันธุ์แม่ของสายพันธุ์ทั้งสอง และนำมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคแอนแทรกโนส พบว่าประชากรของ F1 ที่ได้อ่อนแอต่อโรค เหมือนสายพันธุ์แม่ และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อที่ต้านทาน สามารถประเมินว่ายีนที่ควบคุมความต้านทานเป็นยีนด้อย ได้ทำการผสมกลับ (back cross) กับลูกผสม F1 ครั้งที่ 1 และ 2 (BC1 และ BC2) และได้คัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางเกษตรที่ดี (agronomic traits) ของลูกผสม BC2F2, BC2F3, โดยได้ทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสในแต่ละชั่วการเจริญเติบโต ต้นที่ไม่เป็นโรค ได้ปลูกที่แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อคัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางเกษตรที่ดี ในชั่วการเจริญเติบโต BC2F3

รหัสโครงการ 01-16-49-01

คำนำ

ในปัจจุบันพันธุ์พริกที่ปลูกในประเทศไทย สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พริกรับประทานฝักสด และพริกที่ใช้ในอุตสาหกรรม และเนื่องจากการผลิตพริกต้องประสบกับศัตรูพืชหลากหลายชนิดทำให้จำเป็นต้องมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพริกทั้งโรคและแมลงในปริมาณที่สูงมาก ซึ่งสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจะมีผลตกค้างกับผลผลิตพริก สามารถที่จะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporoides* และ *Colletotrichum capsici* เป็นโรคที่สำคัญที่ทำความเสียหายอย่างมากกับการปลูกพริก และได้มีการใช้สารเคมีหลากหลายชนิด และในสภาพที่โรคระบาด สภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูงทำให้สารเคมีที่ใช้ในป้องกันกำจัด ไม่สามารถป้องกันกำจัดได้ การสร้างหรือพัฒนาพันธุ์พริกที่สามารถต้านทานโรคได้นั้น นอกจากจะเป็นวิธีการที่ปลอดภัยทั้งกับกสิกรผู้ปลูก และผู้บริโภคลดปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพริกให้ลดลง ยังสามารถที่จะลดต้นทุนการผลิตของผู้ผลิตอีกด้วย และการนำวิธีการทั้งการใช้พันธุ์ต้านทานโรคเข้าร่วมผสมผสานกับการใช้วิธีการอื่นๆ สามารถที่จะจัดการบริหารโรคโรคแอนแทรคโนสที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพต่อไป

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์
2. สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และให้ผลผลิตสูง 1 สายพันธุ์
3. อุปกรณ์ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส
4. เชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. Gloeosporioides และ C. Capsici* มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง
5. วัสดุปลูกพริก และเพาะกล้าพริก
6. พาชนะปลูก และถาดหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า
7. อุปกรณ์ ผสมดอก
8. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์
9. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

วิธีการ

1. การทดลองเพื่อคัดสายพันธุ์ isolate ที่รุนแรงของเชื้อสาเหตุ โรคแอนแทรกโนส

คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีการระบาดรุนแรงทำความเสียหายในแปลงปลูกพริก 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* เพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนส โดยทดสอบใช้ พริกสายพันธุ์ พิจิตร 06 ซึ่งพบในเบื้องต้นพบว่ามีความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนส *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ตามลำดับ จำนวน เพื่อใช้ในการทดลอง โดยวิธีการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ต่างๆ ที่มี ใน collectionปลูกพริกบนฝักพริก ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดลองเพื่อคัดสายพันธุ์พริก ที่ต้านทานโรคแอนแทรกโนส

2.1 ปลูกสายพันธุ์พริกที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

2.2. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

2.3. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริก บนฝักพริกที่ได้จากข้อ 2 จำนวน 20 สายพันธุ์ (ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

2.4. ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) ซ้ำ อีก 1 ครั้งเพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรค เพื่อยืนยันและลดความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้น

2.5. คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่แสดงอาการ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส เป็นผลจากการทดลองข้อที่ 4 และ5

3. การทดสอบการผสมข้ามสายพันธุ์พริกที่ต้านทานโรคแอนแทรกโนส และสร้างลูกผสม

3.1. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี โดยให้พันธุ์ที่ต้านทานแอนแทรคโนส จากข้อ 5 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำเป็นสายพันธุ์แม่

3.2. สายพันธุ์ที่สามารถผสมข้ามได้ จะนำมาใช้ในโครงการ โดยลูกสมที่ได้ จากข้อ 6 จะเป็นชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1

3.3. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้าที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3.4. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

3.5 ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริกบนฝักพริกที่ได้จากต้น ข้อที่ 9 (ใช้วิธีการทดสอบ และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

4. การสร้างลูกผสม BC1

4.1. ผสมกลับ (back cross) สำหรับ ลูกผสม BC1 โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม F1 ข้อ 3.3

4.2. ปลูกพริกที่ได้จากข้อ 4.1 และคลุมดอก และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร

5. การสร้างลูกผสม BC2

5.1. สร้างลูกผสม ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC2 โดยใช้แม่พันธุ์พริกพิจิตร 007 เพื่อสร้าง BC2 โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1 จากข้อ 4.2

5.2. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝักที่อยู่ในชั่วการเจริญเติบโต BC2F1

5.3. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F1 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝักที่อยู่ในชั่วการเจริญเติบโต BC2F2

5.4 ได้ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F2 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต และให้ผสมตัวเอง

5.5 ปลูกพริกจากดอกที่ผสมตัวเอง เป็นชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F3 ข้อ 5.4 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก ที่อยู่ในชั่วการเจริญเติบโต BC2F3

5.6 ปลูกพริกจากดอกที่ผสมตัวเอง เป็นชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F3 ข้อ 5.4 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก ที่อยู่ในชั่วการเจริญเติบโต BC2F4

6. คัดเลือกลูกผสมในลักษณะทางเกษตรที่ดีและทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคแอนแทรกโนส

6.1. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F2 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ และนำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสของลูกผสม ตามกรรมวิธี จาก 2.3

6.2. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F3 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ และนำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสของลูกผสม ตามกรรมวิธี จาก 2.3

6.3 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F4 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ และนำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสของลูกผสม ตามกรรมวิธี จาก 2.3

6.5 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F4 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ ตัดสินและนำเมล็ดที่ได้จากต้นที่ผ่านการคัดเลือก มาทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสของลูกผสม ตามกรรมวิธี 1.2 เมื่อกล้าที่มีอายุ 1 เดือน

7. กำหนดลักษณะประจำสายพันธุ์ (line)

7.1 ปลูกเมล็ดจากสายพันธุ์ที่ได้จาก 6.12 และย้ายปลูก เมื่ออายุได้ 1 เดือน เพื่อบันทึกลักษณะของสายพันธุ์ ในลักษณะทางเกษตรแต่ละสายพันธุ์ ที่คัดเลือกเพื่อกำหนดลักษณะสายพันธุ์ที่ได้

1. บันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความสูง เส้นผ่าศูนย์กลางทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนงและก้านที่แตกออกจากลำต้นหลัก
2. บันทึกวันดอกเริ่มบานหลังปลูก บันทึกจำนวนดอกต่อช่อ
3. สีผล สีของผลสดโดยใช้แผ่นเทียบสี
4. บันทึกผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิตและคุณภาพของพริกสดและแห้ง
   จำนวนผลต่อช่อ จำนวนผลต่อต้น
   น้ำหนักผลสดต่อต้น น้ำหนักผลแห้งต่อต้น

ความยาวผลสด ความกว้างบริเวณกลางผลสด

ความยาวก้านผลสด

7.2. กำหนดให้มีการผสมตัวเอง โดยการคลุมต้น

8. ทดลองหาความสามารถในการปรับตัว ในสภาพพื้นที่ปลูกต่าง ๆ performance location trials **ในพื้นที่ปลูกพริกต่าง ๆ**

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา การดำเนินการ ตุลาคม 2549-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีความรุนแรง 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่ระบาดในพื้นที่ปลูกพริกเพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนสเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรกโนส ที่ทดสอบโดยใช้ สายพันธุ์พิจิตร 06 (ซึ่งพบในการทดสอบเบื้องต้นว่าอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสอย่างมาก) เป็นสายพันธุ์ทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุ ผลการทดลองพบว่า isolate ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคเป็นตัวแทนของเชื้อราสาเหตุ *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดลองเพื่อหาทดสอบปฏิกิริยาของพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริกจากสายพันธุ์ที่ได้เป็นพันธุ์แนะนำที่มีในประทศและ สายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ ประเทศไต้หวัน (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์แนะนำที่มีในประทศ. พิจิตร 06, พิจิตร 05, พิจิตร 1, พิจิตร 007, 05-13-4-5-7, 17-6-10-3-3, 8-6-10-1-2, 14-6-4-4-4, 10-2-8-8-10, สายพันธุ์จาก AVRDC ประกอบด้วย BC3F6, CM 334, PBC 137, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 201232, PI 1201234, PI 1201238 PI 189550, CNPH 703 กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* (C60) *และ C. Capsici* (C56) ที่มีความรุนแรง ที่ได้จาก 1.1โดยใช้กรรมวิธีการประเมินความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริกในสภาพห้องปฏิบัติการ และทดลองซ้ำ 2 ครั้ง และเพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองพบว่ามี 2 สายพันธุ์ “PBC 932 และ PBC 81” ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส (ตารางที่ 2) สายพันธุ์ดังกล่าวได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)

3. ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทาน “PBC 932 และ PBC 81” กับ สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นพันธุ์แนะนำ ซึ่งใช้เป็นแม่พันธุ์ คือ พิจิตร 007 พบว่า PBC 932 เท่านั้นสามารถกระทำได้ และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับ พิจิตร 007

4. การทดสอบลูกผสม F1 ที่ได้จาก 1.3 ที่ได้ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ได้ผลพริก เพื่อใช้ในการทดสอบปฏิกิริยากับโรคแอนแทรคโนส 2 isolates ที่รุนแรง *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ของลูกผสม F1 จากการทดลองพบว่า พริกในช่วงการเจริญเติบโต F1 ไม่มีพริกต้นใดในช่วงการเจริญเติบโตนี้ แสดงคุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate เมื่อเปรียบเทียบกับ สายพันธุ์ พ่อ PBC 932 ผลการทดลอง ตามตารางที่ 3

5. การสร้างลูกผสม BC1 โดยผสมข้ามโดยใช้สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 007 ผสมกลับกับสายพันธุ์พริกลูกผสม F1 ที่ได้ เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่ พิจิตร 007 ลงในลูกผสม และปลูกลูกผสม BC1F1

6. การสร้างลูกผสม BC2 โดยผสมข้ามโดยใช้สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 007 ผสมกลับกับสายพันธุ์พริกลูกผสม BC1F1ที่ได้ เพื่อเพิ่มคุณสมบัติทาง agronomic เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 007 และได้ขยายพันธุ์ ลูกผสม BC2 ที่ได้ BC2F1 และผสมตัวเอง เพื่อให้ได้ BC2F2

7. ได้ปลูกลูกผสมใน ชั่ว BC2F2 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

8. เมล็ดจากต้นที่คัดเลือกที่ผ่านการผสมตัวเองได้นำมาปลูกเพื่อเป็นชั่วที่ BC2F3 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

9. ได้ปลูกลูกผสมใน ชั่ว BC2F3 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

10. ได้ปลูกลูกผสมใน ชั่ว BC2F4 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีความรุนแรง 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่ระบาดในพื้นที่ปลูกพริกเพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนสเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรกโนส ที่ทดสอบโดยใช้ สายพันธุ์พิจิตร 06 (ซึ่งพบในการทดสอบเบื้องต้นว่าอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสอย่างมาก) เป็นสายพันธุ์ทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุ ผลการทดลองพบว่า isolate ที่คัดเลือกมีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคเป็นตัวแทนของเชื้อราสาเหตุ *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. ได้สายพันธุ์พริกที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส เพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์ในการถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคแอนแทรคโนสสู่สายพันธุ์ที่ดี คือ สายพันธุ์ PBC 932 และ PBC 81 แต่จากการทดลองความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคเพื่อสร้างลูกผสมนั้น พบว่า PBC 932 เพียงสายพันธุ์เดียว ที่สามารถผสมข้ามได้ และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับ สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 007

3. จากการทดสอบคุณสมบัติในการต้านทานต่อ โรคแอนแทรคโนส กับ ลูกผสม F1 พบว่า ไม่พบลูกผสมต้นใดใน ชั่วการเจริญเติบโต F1 แสดงอาการต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส ซึ่งในเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่า ลักษณะต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ควรจะควบคุมด้วยยีนด้อย ซึ่งจะเป็นแนวทางในความเข้าใจการทำงานของระบบของพันธุกรรมได้ และเป็นแนวทางในการดำเนินงานในงานวิจัยต่อไป

4. ลูกผสม BC1 เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่เข้าไปในลูกผสม นอกเหนือจากที่ได้ถ่ายทอดลักษณะต้านทาน และจะทำการคัดเลือกทั้งลักษณะต้นและผลลิต เปรียบเทียบกับ สายพันธุ์แม่ และ ความต้านทานโรคแอนแทรกโนส เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อ

5. ได้คัดเลือกลูกผสม BC2F2 ถึง BC2F3 ต่อเนื่อง ทั้งลักษณะทางเกษตร และต้านทานโรคแอนแทรกโนส ทำให้ได้ลักษณะทางเกษตรที่ดี และจะต้องทำการคัดเลือกอีก อย่างน้อย 2 ช่วงของการเจริญเติบโต

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส isolate ต่างๆ กับสายพันธุ์ พิจิตร 06 หลังบ่มไว้ 5 วัน

	หมายเลขเชื้อ	Species identify	สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบความรุนแรงของเชื้อสาเหตุ	ความสามารถในการทำให้เกิดโรค*
1	C1101	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
2	C1241	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
3	C1240	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
4	C 1185	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.2
5	C 60	*C. gleosporoides*	**พิจิตร** 06	2.6
6	C 065	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.9
7	C 1113	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
8	C 1088	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
9	C 082	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	1.0
10	C 1181	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
11	C56/1	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
12	C 024	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
13	C 078	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
14	C 56	*C. capsici*	**พิจิตร** 06	2.1
15	C 1184	*C. capsici*	พิจิตร 06	0.5

* ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ตารางที่ 2 ปฏิกิริยาตอบสนองของสายพันธุ์พริก ในการทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยใช้ฝักพริก กับ เชื้อราสาเหตุ *Colletotrichum. capsici* และ *C. gloeosporioides*

สายพันธุ์		*C. capsici*	*C. gloeosporioides*	แหล่งที่มาของสายพันธุ์
		C-56	C-60	
1	พิจิตร 06	1.7	2.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
2	พิจิตร 05	1.4	1.6	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
3	พิจิตร 1	2.3	1.9	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
4	พิจิตร 007	1.9	2.0	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
5	05-13-4-5-7	0.5	1.1	กาญจนบุรี
6	17-6-10-3-3	0.7	1.3	กาญจนบุรี
7	8-6-10-1-2	0.4	0.9	กาญจนบุรี
8	14-6-4-4-4	0.6	0.6	กาญจนบุรี
9	10-2-8-8-10	0.8	1.2	กาญจนบุรี
10	BC3F6	0.3	0.5	AVRDC
11	CM 334	0.6	0.8	AVRDC
12	PBC 137	1.9	1.8	AVRDC
13	PI 201232	1.8	1.2	AVRDC
14	PBC 81	0.1	0.1	AVRDC
15	PI 1201234	0.5	0.9	AVRDC
16	PM 331	1.2	1.5	AVRDC
17	PI 189550	1.2	1.4	AVRDC
18	PBC 932	0.1	0.2	AVRDC
19	PI 1201238	0.8	0.5	AVRDC
20	CNPH 703	0.6	0.8	AVRDC

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. * ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง

(ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส isolate และ ของพริกในช่วงการเจริญเติบโต F1

ต้นที่	F1 (พิจิตร 007x PBC 932)		PBC 932		พิจิตร 06		พิจิตร 007	
	C-56 cap	C-60	C-56	C-60	C-56	C-60	C-56	C-60
1	2.0	1.6	0.1	0.2	1.9	2.3	1.9	2.0
2	1.9	1.8	0.3	0.4	1.1	0.6	1.0	2.3
3	1.8	1.9	0.1	0.6	0.7	0.8	1.0	1.8
4	2.2	0.5	0.2	0.3	0.5	1.0	1.8	1.5
5	1.3	1.0	0	0.2	0.8	1.2	1.5	2.0
6	1.2	0.9	0.3	0.5	1.1	1.5	1.6	2.2
7	0.6	1.5	0.1	0.5	1.2	1.8	1.8	2.0
8	1.0	1.4	0.2	0.3	0.7	0.9	1.3	1.8
9	0.8	1.0	0.2	0.3	0.6	1.0	1.7	1.5
10	0.5	0.9	0.1	0.3	1.1	1.0	2.0	1.7
11	0.7	1.1	0.2	0.5	0.9	0.8	2.1	1.3
12	1.4	1.8	0	0.4	1.1	1.7	1.7	2.1
13	0.8	1.2	0.2	0.5	0.5	1.2	0.9	0.8
14	0.9	1.8	0.3	0.6	0.8	1.0	0.9	1.2
15	0.8	1.7	0	0.3	1.2	1.7	1.4	1.3
16	0.9	1.2	0.3	0.3	1.0	1.5	1.6	1.5
17	0.8	0.9	0	0.1	1.2	1.6	1.1	1.0
18	1.0	1.5	0.1	0.3	0.8	1.1	1.0	2.1
19	1.5	1.6	0	0	0.9	1.0	0.9	1.2
20	0.8	2.0	0.1	0.1	1.5	2.0	0.5	1.8

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. * ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง

(ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

คำขอบคุณ

การทดลองได้รับความร่วมมืออย่างดีในการให้คำแนะนำ สายพันธุ์ต้านทานโรค เทคนิค และเครื่องมือ ในการวิจัย และความช่วยเหลือแนะนำในการทดลองจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. บุญญวดี จิระวุฒิ 2540. การให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริกและการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช 66 หน้า
2. ใสมศิริ จิ๋วสกุล 2521. เซรุ่มวิทยา การถ่ายทอดทางเมล็ดของโรคแอนแทรคโนสของพริกและประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมโรคบนใบ
3. อรพรรณ วิเศษสังข์ จุมพล สาระนาค วิชิต จรัสเจษฎาและ ลักษณา วรรณภีร์ 2525. ปฏิกิริยาของพริกบางพันธุ์ต่อโรคแอนแทรคโนส รายงานผลการทดลอง สาขาโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร
4. Gniffke P. 2003 Host resistance to antracnose, AVRDC. Progress Report 2002. Shanhua, Taiwan: AVRDC – the World Vegetable Center. pp. 29–30
5. Jae Bok Yoon 2003 Identification of Genetics Resources, Interspecific Hybridization and Inheritance Analysis for Breeding Pepper (*Capsicum annum*). Dessertation , Graduate School Seoul National University.
6. Pakdeevaraporn P., S. Wasee, P. W. J. Taylor, O. Mongkolporn 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in Capsicum Plant Breeding 124 (2), 206–208.

การปรับปรุงพริกขี้หนูผลใหญ่เพื่อต้านทานโรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย

ศิริพงษ์ คุ้มภัย* นรินทร์ พูนเพิ่ม รักชัย คุรุบรรเจิดจิต ****
ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล* ณรงค์ แดงเปี่ยม**
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช *
ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรที่ 2**

บทคัดย่อ

สายพันธุ์พริก จำนวน 20 สายพันธุ์ จากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) และสายพันธุ์พริกในประเทศ ได้ทดสอบความต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของพริกจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ จำนวน 3 isolates คือ 1178 และ 1563 จาก collection ของกลุ่มแบคทีเรีย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และisolate RSS (แบคที่เรียที่ได้จากพื้นที่ปลูกพริกจาก จ. เชียงใหม่) ในสภาพเรือนปลูกทดลอง ผลการทดลองพบว่าเพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์ในโครงการต้านทานโรคเหี่ยวกับกล้าพริกอายุ 1 เดือน โดยทดสอบปลูก สายพันธุ์ PBC 384 มีความต้านทานต่อ isolate 1178 และ 1563 ส่วนแบคทีเรีย isolate (RSS) มีความรุนแรงสูงนั้น พบสายพันธุ์ PBC 384 พบว่ามีต้นที่รอดเพียง 2 ต้น จากต้นทดสอบทั้งหมด 200 ต้น และหลังได้ทดสอบซ้ำ ได้ใช้สายพันธุ์ PBC384 เป็นสายพันธุ์พ่อในโครงการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยว และได้ผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่สายพันธุ์ “พิจิตร 007” ซึ่งใช้เป็นแม่พันธุ์ และได้สร้างลูกผสม F1 โดยส่วนหนึ่งได้ผสมตัวเอง เพื่อให้ได้ F2 เมื่อได้ทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคเหี่ยวพบว่าการกระจายตัวในลักษณะต้านทานโรคเป็นผลจาก “ยีน” ด้อย ต้นจาก F1 ได้ผสมกลับ (back cross) ครั้งที่ 1 และ 2 (BC1 และ BC2) และได้คัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางเกษตรที่ดี (agronomic traits) ของลูกผสม BC2F2, เพื่อปลูกแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และได้ทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อโรคเหี่ยว ต้นที่ไม่เป็นโรค ได้เพาะกล้าและนำปลูกที่แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อคัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางเกษตรที่ดี ในชั่วการเจริญเติบโต BC2F3 และได้นำต้นที่คัดเลือกมาทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคเหี่ยวที่เรือนทดลอง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และได้คัดเลือกต้นที่ไม่เป็นโรคเพื่อปลูกที่แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร

รหัสโครงการ 01-16-49-01

คำนำ

โรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* เป็นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวที่มีความสำคัญ เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคมีพืชอาศัยกว้างกับพืชมากกว่า 200 ชนิด ใน 44 วงศ์ ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืช ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลาย สภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ของเชื้อ (strain) ซึ่งในพื้นที่หนึ่งๆอาจพบสายพันธุ์ของเชื้อมีมากกว่า 1 สายพันธุ์ (strains) (Okabe and Goto,1952) แต่ละสายพันธุ์มีระดับความรุนแรงเฉพาะตัวต่างกัน (Digat,1968) และเนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถที่จะสามารถมีชีวิตอยู่ในดินได้เป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง และที่สำคัญคือไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคนี้ ทำให้การป้องกันกำจัดโรคนี้กระทำได้ยาก การปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรคเหี่ยวควรจะเป็นเป็นวิธีหนึ่ง แต่จากรายงานผลงานวิจัยบางส่วนพบว่ามีความยุ่งยากและมีรายงานบางครั้งไม่ให้ผลดีในการควบคุมโรค ซึ่งเหตุผลเนื่องจากพืชพันธุ์ที่ต้านทานคัดเลือกมาจากแหล่งใดแหล่งหนึ่งเพียงแหล่งเดียว อาจจะไม่แสดงความต้านทานเมื่อนำไปปลูกในแหล่งอื่น ซึ่งเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุเป็นคนละสายพันธุ์ (Grimsley และ Wang, 1998) นอกจากนี้ยังพบปรากฏการของพริกที่แสดงปฏิกิริยาว่าต้านทานต่อโรคแต่จริงเป็นการทนโรค (tolerance) กล่าวคือเชื้อแบคทีเรียสาเหตุสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณในพืชได้ แต่ไม่ทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยว (นิพนธ์และคณะ,2542) ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์พืชให้ต้านทานต่อโรคเหี่ยวจะต้องเพิ่มความเข้าใจและความร่วมมือกันในการทดลองทุกขั้นตอนระหว่างนักวิจัยในสาขาวิชาต่างๆ

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรคเหี่ยวทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ PBC743, PBC535, PBC1347 PBC204, PBC473, PBC1367, PBC385, PBC375, PBC66, PBC631-A CA 8, PBC631-B CA8, PBC384, PBC67 , พิจิตร 0015, พิจิตร 0019 พิจิตร 0047,พิจิตร 007, พิจิตร 05, พิจิตร 06, ,พิจิตร 26-1-1-, พิจิตร 127-2-1-1
2. สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และให้ผลผลิตสูง 1 สายพันธุ์ (พิจิตร 007)
3. เชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยว *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง 3 สายพันธุ์ (isolates) ซึ่ง สายพันธุ์ 1178 เก็บจากแปลงปลูก จ.กาญจนบุรี, สายพันธุ์ 1563 เก็บจากแปลงปลูก จ.ศรีษะเกษ และ สายพันธุ์ RSS เก็บจากแปลงปลูก จ.เชียงใหม่

4. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว และอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

5. อุปกรณ์ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว

6 วัสดุปลูก และเฉพาะสำหรับเพาะต้นกล้า

7พาชนะปลูก ถาดหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

8. อุปกรณ์ ผสมดอก

9. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์

10. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

วิธีการ

1. ทดสอบสายพันธุ์พริกเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์พ่อ เพื่อใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์

1.1ปลูกพันธุ์พริกในประเทศ จากแหล่งพันธุกรรมพริกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร สถานีทดลองพืชสวนกาญจนบุรี และศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ จำนวน 7 สายพันธุ์ และจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 15 สายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกะบะหลุม (50 หลุม/กะบะ) ที่ใช้ในการเพาะกล้าพริก

1.2 ปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* 3 สายพันธุ์ (isolates) 1178, 1563 และ RSS ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวระบาดในพื้นที่ปลูกพริก โดยปลูกเชื้อในดินรอบๆหลังทำแผลที่ราก และปลูกเชื้อโดยวิธีตัดใบด้วยกรรไกรชุบเชื้อแบคทีเรีย กับกล้าพริก อายุ 1 เดือน จากข้อที่ 1.1 ทั้ง 22 สายพันธุ์ ตามวิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในสภาพโรงปลูกทดลอง

1.3 ตรวจผลการทดลอง บันทึกจำนวนต้านที่ตาย

1.4 ทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวทั้ง 3 สายพันธุ์ (isolates) ซ้ำ กับพันธุ์พริกทั้ง 20 สายพันธุ์อีก 2 ครั้ง (ตามข้อ 1.1-1.3) เพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคเหี่ยวของพริก ทั้ง 20 สายพันธุ์ เพื่อยืนยันผลการทดลอง และลดความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้น

1.5 คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่แสดงไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยวที่ผ่านการทดสอบ ทั้ง 3 ครั้ง โดยดูจากอาการเหี่ยวที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบกับพันธุ์ที่อ่อนแอตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรคเหี่ยว

2. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่

ผสมข้าม สายพันธุ์ที่พบว่าต้านทานจากข้อ 1.5 กับสายพันธุ์แนะนำ (พิจิตร 007) ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี โดยให้พันธุ์ที่ต้านทานโรคเหี่ยว ที่ได้จากข้อ 1.5 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ พิจิตร 007 เป็นสายพันธุ์แม่

3. สร้างลูกผสม F1 และ F2

3.1 ปลูกเมล็ดที่ได้จาลูกผสมของสายพันธุ์ต้านทานกับ สายพันธุ์ พิจิตร 007 จาก 2 จะเป็นชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1

3.2 ผสมตัวเองดอกของ ต้นลูกผสม F1 เพื่อสร้างชั่วของการเจริญเติบโตที่ 2 หรือ (F2)

4. การทดสอบเบื้องต้นทางพันธุกรรมกับ " ยีน" ที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรค

แบ่งพริกที่ได้จากการผสม ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 เป็น 3 ส่วน โดยปลูกในถาดหลุมที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

4.1 เพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคเหี่ยวของพริกหลังกล้าอายุ 1 เดือน ตามวิธีการตามข้อ 1.2 เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นทางพันธุกรรม โดยเก็บข้อมูลต้นตาย / ต่อต้นรอด

4.2 ให้ผสมตัวเอง เพื่อให้ได้ชั่วของการเจริญเติบโตที่ 2 หรือ F2 และเพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรคเหี่ยวของพริกหลังกล้าอายุ 1 เดือน ตามวิธีการตามข้อ 1.2 เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นทางพันธุกรรม โดยเก็บข้อมูลต้นตาย / ต่อต้นรอด

4.3 ปลูกพริกจากเมล็ดพริก F1 เพื่อสร้างลูกผสม BC1

5. สร้างลูกผสมพริกผสมกลับที่1 (BC1) และ BC2

5.1. เพาะเมล็ดที่ได้จาก 4.3 ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

5.3. ย้ายกล้า F1 ที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูก หรือกระถาง

5.4. ผสมกับแม่พันธุ์ (พิจิตร 007) ให้ได้เป็นลูกผสม BC1F1

5.2. ปลูกพริกลูกผสม BC1F1 ในกะบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

5.3. ย้ายกล้า BC1F1 ที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูก และกระถาง

5.4. ผสมกลับที่ 2 (back cross 2) เพื่อสร้างลูกผสม BC2 โดยใช้แม่พันธุ์ (พิจิตร 007) ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1F1 จากข้อ 5.3

5.5. ปลูกลูกผสม BC2F1 จากข้อ 5.4 ในกะบะทดลองก่อนย้ายลงแปลงที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เมื่ออายุได้ 1 เดือน

5.6 .ให้ผสมตัวเอง เพื่อให้ได้ชั่วของการเจริญเติบโตที่ 2 หรือ BC2F2

5.7 ปลูกลูกผสม BC2F2 จากข้อ 5.4 ในกะบะทดลองก่อนย้ายลงแปลงที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เมื่ออายุได้ 1 เดือน และทำการคัดเลือกลักษณะทางเกษตรที่ดี ข้อ 6

6. คัดเลือกลูกผสมในลักษณะทางเกษตรที่ดีและทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคเหี่ยว

6.4. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F2 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี จาก 5.7 โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ ตัดสินและนำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวของลูกผสม ตามกรรมวิธี 1.2 กล้าที่มีอายุ 1 เดือน

6.5. นำกล้าพริกที่รอดจากการทดสอบโรคหลังรออาการชองโรคที่จะแสดงออก 1 เดือน ปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และให้ผสมตัวเองเป็นชั่วเพื่อพัฒนาเป็นของการเจริญเติบโตที่ (BC2F3)

6.6 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F2 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี จาก 5.7 โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ ตัดสินและนำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวของลูกผสม ตามกรรมวิธี 1.2 กล้าที่มีอายุ 1 เดือน

คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F3 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ ตัดสินและนำเมล็ดที่ได้จากต้นที่ผ่านการคัดเลือก มาทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวของลูกผสม ตามกรรมวิธี 1.2 เมื่อกล้าที่มีอายุ 1 เดือน

6.7 ต้นนำกล้าพริกที่รอดจากการทดสอบโรค 4.6 ปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และให้ผสมตัวเอง (BC3F4)

6.8 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F4 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ ตัดสินและนำเมล็ดที่ได้จากต้นที่ผ่านการคัดเลือก มาทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยวของลูกผสม ตามกรรมวิธี 1.2 เมื่อกล้าที่มีอายุ 1 เดือน

6.9 ต้นที่รอดตายจากการทดลอง 4.8 นำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และให้ผสมตัวเอง

6.10 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัวลักษณะทางเกษตรที่ดี ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F5 ใน โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ตัดสินและให้ผสมตัวเอง

6.11. ต้นที่รอดตายจากการทดลอง BC2F5 นำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และให้ผสมตัวเอง

6.12 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัวที่มีลักษณะทางเกษตรที่ดี ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F5 ใน โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 007 แม่เป็นเกณฑ์ตัดสิน การคัดเลือกในชั่วการเจริญเติบโต BC2F5คัดเลือกลักษณะ ของสายพันธุ์ที่มีความสม่ำเสมอ (uniformity) และให้ผสมตัวเองการคลุมต้น เพื่อปลูกคัดเลือกเป็นสายพันธุ์

7. กำหนดลักษณะประจำสายพันธุ์ (line)

7.1 ปลูกเมล็ดจากสายพันธุ์ที่ได้จาก 6.12 และย้ายปลูก เมื่ออายุได้ 1 เดือน เพื่อบันทึกลักษณะของสายพันธุ์ ในลักษณะทางเกษตรแต่ละสายพันธุ์ ที่คัดเลือกเพื่อกำหนดลักษณะสายพันธุ์ที่ได้

1. บันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความสูง เส้นผ่าศูนย์กลางทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนงและก้านที่แตกออกจากลำต้นหลัก
2. บันทึกวันดอกเริ่มบานหลังปลูก บันทึกจำนวนดอกต่อช่อ
3. สีผล สีของผลสดโดยใช้แผ่นเทียบสี
4. บันทึกผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิตและคุณภาพของพริกสดและแห้ง
   จำนวนผลต่อช่อ จำนวนผลต่อต้น
   น้ำหนักผลสดต่อต้น น้ำหนักผลแห้งต่อต้น
   ความยาวผลสด ความกว้างบริเวณกลางผลสด
   ความยาวก้านผลสด

7.2. กำหนดให้มีการผสมตัวเอง โดยการคลุมต้น

8. ทดลองหาความสามารถในการปรับตัว ในสภาพพื้นที่ปลูกต่าง ๆ performance location trials **ในพื้นที่ปลูกพริกต่าง ๆ**

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา การดำเนินการ ตุลาคม 2549-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1. ทดสอบสายพันธุ์พริกเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์พ่อ เพื่อใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์

ได้ทดสอบต้นกล้าพริกจากสายพันธุ์พริกต่างๆ จำนวน 20 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ในประเทศไทย 7 สายพันธุ์ ประกอบด้วย พิจิตร 05, พิจิตร 06, พิจิตร 0015, พิจิตร 0019,พิจิตร 0047, พิจิตร 26-1-1-1, พิจิตร 27-2-1-1 และสายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากต่างประเทศ จำนวน 13 สายพันธุ์ โดยได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักระหว่างประเทศ (AVRDC) PBC743, PBC535, PBC1347, PBC204, PBC473, PBC1367, PBC385, PBC375, PBC66, PBC631-A CA 8, PBC631-B CA8, PBC384, PBC67 ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โดยทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ จำนวน 3 isolates (1178, 1563 และ R-SS) กับกล้าอายุ 1 เดือน ในสภาพเรือนปลูกทดลอง ผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรีย isolate (R-SS) ที่ได้ทดสอบแล้วว่าความรุนแรงสูงมาก และยังไม่พบสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทาน isolate

ดังกล่าวได้เก็บมาจากพื้นที่ปลูกพริก จ. เชียงใหม่ isolate 1178 และ isolate 1563 ซึ่งเป็น isolate พื้นฐาน พบมีสายพันธุ์ 1 สายพันธุ์ ที่แสดงอาการต้านทาน คือสายพันธุ์ PBC384 ซึ่งได้ปลูก และทดสอบอีก 2 ครั้ง พบว่าไม่แสดงอาการเหี่ยว (ตารางที่ .1)และได้ใช้สายพันธุ์ PBC384 เพื่อใช้เป็นสายพันธุ์พ่อในการถ่ายทอดพันธุกรรมต้านทานโรค ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยว

2. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่

ความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC 384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ เพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานสู่สายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ สายพันธุ์ พจ 007 และการทดลองความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC 384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ สามารถกระทำได้โดยสามารถทำให้ติดเมล็ด

3. สร้างลูกผสม F1 และ F2

ได้สร้างลูกผสม F1 จากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC 384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ (พจ 007) และเพาะกล้าลูกผสมที่ได้ปลูกที่โรงเรือนทดลองที่สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และนำไป

ปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และให้ผสมตัวเองเพื่อ นำมาปลูกเป็นลูกผสมชั่วที่ 2 (F2)

4. การทดสอบเบื้องต้นทางพันธุกรรมกับ “ ยีน” ที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรค

4.1 พริกลูกผสม F1 มาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ทั้งสาม isolates 1178, 1563 และ RSS พบว่าไม่มีต้นใดแสดงอาการต้านทานต่อโรค แสดงให้เห็นว่ายีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคควรเป็นผลจากยีนด้อย

4.2 พริกลูกผสม F2 ที่มีประชากรที่มีการกระจายตัว ได้นำเมล็ดมาเพื่อทดสอบคุณสมบัติของความต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ของกล้าพริกลูกผสมที่คัดเลือกในสภาพโรงเรือนทดลอง ที่ห้องปฏิบัติการทดลอง อาคารปลูกทดลอง ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผลการทดลองพบว่าปริมาณต้นที่ทดสอบ มีต้นที่ไม่แสดงอาการเหี่ยวหลังทดสอบพบ 10, 15 และ .2. ต้น ในแต่ละสายพันธุ์ ของเชื้อแบคทีเรียทั้งสาม isolates 1178, 1563 และ RSS จากประชากรทดสอบทั้งหมด 250 ต้น ของแต่ละสายพันธุ์เป็นการยืนยันว่า ยีน ที่ควบคุมลักษณะที่ต้านทานโรคเหี่ยวเป็นยีนด้อย โดยถ้าเป็นยีนเด่นอัตราส่วนของต้นที่ต้านทาน ต่อ ต้นอ่อนแอควรจะมีปริมาณที่มากกว่า 50 %

5.สร้างลูกผสมพริกผสมกลับที่1 (BC1) และ BC2

5.1 ลูกผสมกลับ (back cross) สำหรับชั่วการเจริญเติบโตของ BC1 ที่ใช้สายพันธุ์ พจ 007 ผสมกลับไปหาลูกผสม F1 ที่ได้จาก ข้อ 4.1.

5.2 ลูกผสมกลับ (back cross) สำหรับชั่วการเจริญเติบโตของ BC2 ที่ใช้สายพันธุ์ พจ 007 ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1F1 เพื่อให้ได้ ชั่วการเจริญเติบโต BC2F1 และได้นำเมล็ดที่ได้ไปขยายเพื่อให้ได้เป็น ลูกผสม BC2F2 และคัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะทางเกษตรที่ดี

6. คัดเลือกลูกผสมในลักษณะทางเกษตรที่ดีและทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคเหี่ยว

6.1ได้นำเมล็ดของลูกผสมที่ผสมตัวเองที่คัดเลือกจาก BC2F2 (ข้อ 5.2) นำมาทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อโรค จำนวน 56 ต้น มาทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยว และมีต้นรอดตาย เพื่อนำไปปลูก ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร 120 ต้น

6.2 BC2F3 เมล็ดลูกผสมจาก 6.1 ที่รอดตายจากการทดสอบ ปลูกเพื่อคัดเลือกลักษณะทางการเกษตร และนำเมล็ดจากต้นที่คัดเลือกไปทดสอบปฏิกิริยาต่อโรค และมีต้นที่ผ่านการทดสอบ จำนวน 82ต้น เพื่อนำไปปลูก ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร 120 ต้น เพื่อคัดเลือก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบใช้เชื้อแบคทีเรีย isolate 1178, 1563 และ RS-S ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคเหี่ยวของพริก การทดลองพบว่า PBC384 สามารถต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย isolate 1178และ 1563 ได้ดี ส่วนเชื้อ isolate RSS ไม่พบเชื้อพันธุกรรมพริกสายพันธุ์ใดที่แสดงลักษณะต้านทานอย่างเด่นชัด ยกเว้นสายพันธุ์ที่ได้รับจาก AVRDC คือสายพันธุ์ PBC 384 ที่มีต้นรอด เพียง 5 ต้น ซึ่งได้ทดสอบอีก 2 ครั้ง จากเมล็ดต้นที่รอด isolate ดังกล่าวได้เก็บมาจากพื้นที่ปลูกพริก จ. เชียงใหม่เชื้อเชื้อพันธุกรรมพริก isolate ดังกล่าวมีความเฉพาะพื้นที่สูงมาก ถ้านำมาใช้ในการทดลองอาจจะทำให้ศูนย์เสีย germplasm ได้ง่าย สำหรับ isolate 1178 และ isolate 1563 ซึ่งเป็น isolate พื้นฐาน แต่พบมีสายพันธุ์ 1 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ PBC384 และจากการทดลองพบว่าสามารถผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ได้ ได้ทำการสร้างลูกผสม F1 จากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ PBC384 กับสายพันธุ์พริกขี้หนูใหญ่ซึ่งได้ใช้สายพันธุ์ พิจิตร 007 โดยปลูกที่โรงเรือนทดลอง ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช และนำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และพบว่ากล้าพริกที่ได้จากพริกลูกผสม F1 จากการผสมตัวเองมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย พบว่ามีต้นกล้าทั้งหมดที่ทดสอบ 200 ต้น เป็นโรค แต่ในประชากร F2 พบว่า มีต้นที่รอดตาย น้อยกว่า 50% จากประชากรทดสอบ 250 ต้นในแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อ แสดงให้เห็นว่าลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมความต้านทานโรคเหี่ยว น่าจะเป็นลักษณะด้อย และได้ใช้ BC384 เป็นพ่อพันธุ์ ในการผสมกลับ (back cross) ทั้ง BC1 และ BC2 และได้ทำการคัดเลือก ลักษณะที่ดีทางการเกษตรในแต่ละชั่วของการเจริญเติบโต และผ่านการ ทดสอบโรคในแต่ละชั่วควบคู่กันเพื่อให้ได้ลักษณะที่ดีทงการเกษตรและต้านทานโรค

คำขอบคุณ

การทดลองได้รับความร่วมมืออย่างดีในการให้คำแนะนำ สายพันธุ์ต้านทานโรค เทคนิคในการวิจัย และความช่วยเหลือในการทดลองจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) เป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Dr Paul Kniffe

เอกสารอ้างอิง

นิพนธ์ ทวีชัย,วิชัย โฆสิตรัตน และ ชลิดา เล็กสมบูรณ์ . 2542. ความต้านทานโรคต้นเหี่ยวของพริกและการเข้าทำลายพริกของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* น.45. *ใน* รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่37 สาขาพืช,3-5 กุมภาพันธ์ 2542. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วนิดา ฐิตะฐาน. 2542 . โรคต้นเหี่ยวของพืชที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* . กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ศุทธนา คล้ายมงคล 2543. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในประเทศไทย จากลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค REP-PCR. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตร์ศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Bassett, M. J. 1986. Breeding Vegetable Crops. AVI Pub. 584pp. Vegetable Breeding

Buddenhagen, I. W., T.A. Elsasser. 1962. An insect-spread bacterial wilt epiphytotic of Bluggoe banana. Nature . 194:164-165.

Cláudia S. da C. Ribeiro1; Osvaldo B. de Souza 2; Daíse Lopes3; Francisco J. B. Reifschneidr, 2002. *Capsicum* Breeding at The Embrapa's Natinnal Research Center for Vegetable Crops Brazil. Proceedings of the 16th International Pepper Conference Tampico, Tamaulipas, Mexico. November 10 –12, 2002

Cook, D., E. Barlow, and L. Sequiera. 1989. Genetic Diversity of *Pseudomonas solanacearum* : detection of restriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and hypersensititive response. Mol Plant-Microbe Inter 2:113-121.

Cook, D., E. Barlow, and L. Sequiera. 1991. DNA probes as tools for the study of host pathogen evolution: the example of *Pseudomonas solanacearum*. In:

Hennecke H. and D.P. Verma. (eds) Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions, Vol.1. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 103-108.

Digat, B. 1968. Why and how to distuguish the *Pseudomonas solanacearum* strins, causal agent of the bacterial wilt of Solanaceous and Musaceous crops in the caribbean Zone.6 th Ann. Conf. Caribbean Food Crops. Soc. 1968. Cited in Lum,K.Y. 1973. Cross binoculation studies of *Pseudomonas solanacearum* ginger. MARDI Research Bulletin. 1(1): 15-21.

Grimsley,N. and J.F. Wang. 1998. Chair's Perspective:host Resistance, pp. 197-199. *In* P.H.Prior, C. Allen and J. Elphinstone (eds.).Bacterial wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects . Springer-verlag, Germany.

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

Hayward, A.C. 1994. Sytemics and phylogeny of *Pseudmonas solanacearum* and related bacteria, pp. 123-135. *In* A.C. Hayward and G.L. Hartman (eds.) .Bacterial Wilt; The Disease and Its Causative Agent, *Pseudmonas solanacearum* . CAB international , Wallingford, United Kingdom.

He, L.Y., L. Sequiera and A. Kelman. 1983. Characteristics of strains of *Pseudmonas solanacearum* from China. Plnt Disease. 67: 1357-1361.

Jaunet,T.X., J.F. Wang. 1999. Variation in genotype and aggressiveness of repetitive elements in the genome of Escherichia coli, Salmonella typhimurium and other eubacteria. Mol. Mocribiolol. 59:925-934.

Nelson,R.R.1977. Breeding Plant for Disease Resistance. Pennsylvania State University.398 pp.

Okabe, N. and M. Goto. 1952. Studies on *Bacterium solanacearum* with special reference to the kinds of strains and their classification and with special reference to the pathogenicity of strain, pp. 203-230. *In*, I. W . Buddenhagen and A. Kelman. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudmonas solanacearum* . Ann. Revev. Of Phytopath.2:203-230.

Russell, G. E. 1978. Plant Breeding for Pest and Disease Resistance. Butterworths and co. 485pp.

Welsh,J., M. McClelland. 1991. Genomic fingerprints produced by PCR with consensus t RNA gene primers. Nucleic Acids Res. 19:846-866.

Woese, C.R. 1987. Bacterial Evolution . Microbiological Reviews. 5: 221-271.

ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาตอบสนองของสายพันธุ์พริก ในการทดสอบความต้านทานต่อโรคเหี่ยว กับเชื้อสาเหตุ *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* 3 isolates เพื่อคัดเลือกเป็นพ่อพันธุ์

		สายพันธุ์ *R solanacearum* ที่ใช้ทดสอบ			
	สายพันธุ์พริก	1178	1563	RS-S	แหล่งที่มาของสายพันธุ์
1	พิจิตร 05	1.6	2.3	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
2	พิจิตร 0019	2.2	1.4	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
3	พิจิตร 0015	3.2	1.6	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
4	พิจิตร 0047	2.4	2.0	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
5	พิจิตร 06	2.7	1.8	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
6	พิจิตร 27-2-1-1	1.5	1.0	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
7	พิจิตร 26-1-1-1	1.1	1.4	5	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
8	PBC743	2.1	1.4	5	AVRDC
9	PBC535	2	1.5	5	AVRDC
10	PBC1347	1.2	1	5	AVRDC
11	PBC204	1.8	1.1	5	AVRDC
12	PBC473	1.5	1.5	5	AVRDC
13	PBC1367	3.5	3.6	5	AVRDC
14	PBC385	1.2	1	5	AVRDC
15	PBC375	2	1.9	5	AVRDC
16	PBC66	1.7	1	5	AVRDC
17	PBC631- A CA 8	1.8	1.2	5	AVRDC
18	PBC631-B CA 8	2.6	1.3	5	AVRDC
19	PBC384	3.9	4	4.5	AVRDC
20	PBC67	1.6	1.4	5	AVRDC

Note: . วิธีการประเมินการเป็นโรค ใช้ระบบการ rating :ของ AVRDC

ตารางที่ 2 ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ที่ทดสอบต่อโรคเหี่ยว (จำนวนต้นที่ตาย ตรวจในระยะเวลา/ วัน) F2

สายพันธุ์ที่ทดสอบ	จำนวนวัน ที่ตรวจอาการของโรคหลังปลูกเชื้อ				
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	25 วัน	30 วัน
พิจิตร 05	1.6	2.3	5		
พิจิตร 0019	2.2	1.4	5		
พิจิตร 0015	3.2	1.6	5		
พิจิตร 0047	2.4	2.0	5		
พิจิตร 06	2.7	1.8	5		
พิจิตร 27-2-1-1	1.5	1.0	5		
พิจิตร 26-1-1-1	1.1	1.4	5		
PBC743	2.1	1.4	5		
PBC535	2	1.5	5		
PBC1347	1.2	1	5		
PBC204	1.8	1.1	5		
PBC473	1.5	1.5	5		
PBC1367	3.5	3.6	5		
PBC385	1.2	1	5		
PBC375	2	1.9	5		
PBC66	1.7	1	5		
PBC631- A CA 8	1.8	1.2	5		
PBC631-B CA 8	2.6	1.3	5		
PBC384	3.9	4	4.5		
PBC67	1.6	1.4	5		

การปรับปรุงพันธุ์พริกชี้ฟ้าเพื่อต้านทานโรคแอนแทรคโนส

ศิริพงษ์ คุ้มภัย* นรินทร์ พูนเพิ่ม รักชัย คุรุบรรเจิดจิต ****
ณรงค์ แดงเปี่ยม อภิรัชต์ สมฤทธิ์* ธารทิพย ภาสบุตร***
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช *
ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร สถาบันวิจัยพืชไร่ **

บทคัดย่อ

ได้คัดสายพันธุ์ (isolate) ที่รุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆที่พบระบาดในประเทศไทย โดยทดสอบความความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนส และได้ตัวแทนของเชื้อรา *Colletotrichum* 2 สายพันธุ์ (isolate) เป็นตัวแทนของ 2 species ที่ระบาดในแปลงปลูกพริก *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* และได้ทดสอบพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริก จำนวน 20 สายพันธุ์ ทั้งสายพันธุ์ในประเทศ และต่างประเทศ ที่มีแนวโน้มที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. capsici* ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรค พบพริกสายพันธุ์ PBC 81 และ PBC 932 มีปฏิกิริยาต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสได้ดีทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามกับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ เพื่อถ่ายลักษณะต้านทานโรคจากสายพันธุ์ต้านโรคแอนแทรคโนสให้กับสายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ ผลการทดลองในสภาพโรงเรือน พบว่าสามารถกระทำได้เฉพาะสายพันธุ์ PBC 932 และได้จัดสร้างลูกผสม F1 โดยใช้สายพันธุ์ พิจิตร 06 เป็นสายพันธุ์แม่ของสายพันธุ์ทั้งสอง และนำมาทดสอบปฏิกิริยาต้านทานโรคแอนแทรกโนส พบว่าประชากรของ F1 ที่ได้อ่อนแอต่อโรค เหมือนสายพันธุ์แม่ และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อที่ต้านทาน สามารถประเมินว่ายีนที่ควบคุมความต้านทานเป็นยีนด้อย ได้ทำการผสมกลับ (back cross) กับลูกผสม F1 ครั้งที่ 1 และ 2 (BC1 และ BC2) และได้คัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางเกษตรที่ดี (agronomic traits) ของลูกผสม BC2F2, BC2F3, โดยได้ทดสอบความสามารถในการต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสในแต่ละชั่วการเจริญเติบโต ต้นที่ไม่เป็นโรค ได้ปลูกที่แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อคัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางเกษตรที่ดี ในชั่วการเจริญเติบโต BC2F3

รหัสโครงการ 01-16-49-01

คำนำ

ในปัจจุบันพริกมีการปลูกพริกพันธุ์ต่างๆ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พริกรับประทานฝักสด และพริกที่ใช้ในอุตสาหกรรม และเนื่องจากการผลิตพริกต้องประสบกับศัตรูพืชหลากหลายชนิดทำให้จำเป็นต้องมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพริก ทั้งสารกำจัดแมลง โรคพืช และวัชพืช ในปริมาณสูงมาก ซึ่งนอกจากกสิกรจะเสียค่าใช้จ่ายที่สูงมาในการผลิต และยังมีผลตกค้างและเป็นอันตรายทั้งต่อผู้ผลิตและบริโภค โรคพืชโดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporoides* และ *Colletotrichum capsici* มีความสำคัญและทำความเสียหายอย่างมากกับผลลิตพริก ปัจจุบันมีการใช้สารเคมีหลากหลายชนิดในการป้องกันกำจัดและไม่ได้ผลอย่างเต็มที่ในการป้องกันกำจัด การสร้างหรือพัฒนาพันธุ์ที่สามารถต้านทานโรค นอกจากจะเป็นวิธีการที่ปลอดภัยและสามารถลดปริมาณการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดให้มีปริมาณลดลงแล้วยังสามารถที่จะลดต้นทุนการผลิตและเพื่อความปลอดภัย ลดอันตรายทั้งกับกสิกรปลูกพริก และผู้บริโภคอีกด้วย และถ้าจะนำวิธีการทั้งการใช้พันธุ์ต้านทานโรค ผสมผสานกับการใช้วิธีการบริหารโรควิธีอื่นๆที่เหมาะสม จะทำให้ได้เทคโนโลยีในการผลิตพริกที่สามารถแก้ปัญหาการผลิตของเกษตรกรได้ในที่สุด

วิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์ ที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ พิจิตร 1, พิจิตร 06, พิจิตร 007, พิจิตร 25-1-2-1, พิจิตร 15-1-1-1, พิจิตร 0015, พิจิตร 0019, พิจิตร 18-1-1-1, 14-10-7-4-4, 17-15-9-1-8, BC3F6, CM 334, PBC 137, PI 201232, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 1201234, PI 189550, และ PI 1201238
2. สายพันธุ์พริกชี้ฟ้า พันธุ์พิจิตร 05 ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และให้ผลผลิตสูง 1 สายพันธุ์
3. อุปกรณ์ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส
4. เชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง
5. วัสดุปลูกพริก และเพาะกล้าพริก
6. พาชนะปลูก กระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า
7. อุปกรณ์ ผสมดอก
8. ปุ๋ยเคมี และปุ๋ยอินทรีย์
9. สารเคมีใช้ป้องกันกำจัดแมลง

วิธีการ

1. การทดลองเพื่อคัดสายพันธุ์ isolate ที่รุนแรงของเชื้อสาเหตุ โรคแอนแทรกโนส

คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีการระบาดรุนแรงทำความเสียหายในแปลงปลูกพริก 2 species คือ *C. gloeosporioides และ C. Capsici* เพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนส โดยทดสอบใช้ พริกสายพันธุ์ พิจิตร 06 ซึ่งพบในเบื้องต้นพบว่ามีความอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนส *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ตามลำดับ จำนวน เพื่อใช้ในการทดลอง โดยวิธีการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส (isolates) *C. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ต่างๆ ที่มี ใน collectionปลูกพริกบนฝักพริก ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดลองเพื่อคัดสายพันธุ์พริก ที่ต้านทานโรคแอนแทรกโนส

2.1 ปลูกสายพันธุ์พริกที่มีประวัติต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ทั้งในประเทศ และต่างประเทศซึ่งได้รับความร่วมมือจาก ศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

2.2. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

2.3. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริก บนฝักพริกที่ได้จากข้อ 2 จำนวน 20 สายพันธุ์ (ใช้วิธีการของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

2.4. ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) ซ้ำ อีก 1 ครั้งเพื่อทดสอบปฏิกิริยาต่อโรค เพื่อยืนยันและลดความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้น

2.5. คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่แสดงอาการ ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยดูจากขนาดของแผล ตาม protocol ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) สำหรับโรค แอนแทรคโนส เป็นผลจากการทดลองข้อที่ 4 และ5

3. การทดสอบการผสมข้ามสายพันธุ์พริกที่ต้านทานโรคแอนแทรกโนส และสร้างลูกผสม

3.1. ทดสอบความสามารถในผสมข้าม ของสายพันธุ์ที่คัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค กับสายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ พิจิตร 05 ที่มีคุณสมบัติทางเกษตรที่ดี โดยให้พันธุ์ที่ต้านทานแอนแทรคโนส จากข้อ 5 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์พริกชี้ฟ้า พันธุ์พิจิตร 05 ที่เป็นสายพันธุ์แนะนำ เป็นสายพันธุ์แม่

3.2. สายพันธุ์ที่สามารถผสมข้ามได้ จะนำมาใช้ในโครงการ โดยลูกสมที่ได้ จากข้อ 6 จะเป็นชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1

3.3. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ 1 หรือ F1 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้าที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3.4. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ในโรงปลูกทดลองที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

3.5 ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ที่มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคที่รุนแรง ที่เป็นตัวแทนของเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสระบาดในพื้นที่ปลูกพริกบนฝักพริกที่ได้จากต้น ข้อที่ 9 (ใช้วิธีการทดสอบ และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

4. การสร้างลูกผสม BC1

4.1. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม F1

4.2. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในกระบะหลุมที่ใช้ในการเพาะกล้า

4.3. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

4.4. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์แม่เป็นเกณฑ์

4.5. ทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสของลูกผสม BC1 ที่คัดเลือกจาก ข้อ 14 โดยใช้เชื้อราสาเหตุ 2 สายพันธุ์ (isolates) ข้อที่ 13 (ใช้วิธีการทดสอบ ในการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก) และอ่านค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)] ในสภาพห้องปฏิบัติการ และอ่านผลการทดลองหลังปลูกเชื้อ 5 วัน

4.6. ปลูกพริกที่ได้คัดเลือกจากข้อ 13 และ 14 ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC1

4.7. ย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

5. การสร้างลูกผสม BC2

5.1. ผสมกลับ (back cross) ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก โดยใช้แม่พันธุ์พริกขี้หนูใหญ่เพื่อ สร้าง BC2โดยใช้แม่พันธุ์ผสมกลับไปหาลูกผสม BC1

5.2. ปลูกพริกชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2 และย้ายกล้าที่มีอายุ 1 เดือนลงแปลงปลูกทดลอง ที่แปลงปลูกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ต้นพริกเพื่อให้ต้นพริกเติบโต ดอกและสร้างฝัก

5.3. คัดเลือกต้นพริกลักษณะทางเกษตรที่แสดงลักษณะดี โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่

6. คัดเลือกลูกผสมในลักษณะทางเกษตรที่ดีและทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคแอนแทรกโนส

6.1. คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F2 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี จาก 5.7 โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 06 แม่เป็นเกณฑ์ ตัดสินและนำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสของลูกผสม ตามกรรมวิธี 1.2 กล้าที่มีอายุ 1 เดือน

6.2. นำกล้าพริกที่รอดจากการทดสอบโรคหลังรออาการชองโรคที่จะแสดงออก 1 เดือนปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และให้ผสมตัวเองเป็นชั่วเพื่อพัฒนาเป็นของการเจริญเติบโตที่ (BC2F3)

6.3 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F2 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี จาก 5.7 โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 06 แม่เป็นเกณฑ์ ตัดสินและนำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสของลูกผสม ตามกรรมวิธี 1.2 กล้าที่มีอายุ 1 เดือน

คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F3 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 06 แม่เป็นเกณฑ์ ตัดสินและนำเมล็ดที่ได้จากต้นที่ผ่านการคัดเลือก มาทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสของลูกผสม ตามกรรมวิธี 1.2 เมื่อกล้าที่มีอายุ 1 เดือน

6.4 ต้นนำกล้าพริกที่รอดจากการทดสอบโรค 4.6 ปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และให้ผสมตัวเอง (BC3F4)

6.5 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัว ในชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F4 ในลักษณะทางเกษตรที่ดี โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 06 แม่เป็นเกณฑ์ ตัดสินและนำเมล็ดที่ได้จากต้นที่ผ่านการคัดเลือก มาทดสอบความต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนสของลูกผสม ตามกรรมวิธี 1.2 เมื่อกล้าที่มีอายุ 1 เดือน

6.6 ต้นที่รอดตายจากการทดลอง 4.8 นำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และให้ผสมตัวเอง

6.7 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัวลักษณะทางเกษตรที่ดี ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F5 ใน โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 06 แม่เป็นเกณฑ์ตัดสินและให้ผสมตัวเอง

6.8. ต้นที่รอดตายจากการทดลอง BC2F5 นำไปปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร และให้ผสมตัวเอง

6.9 คัดเลือกต้นพริกจากการกระจายตัวที่มีลักษณะทางเกษตรที่ดี ชั่วของการเจริญเติบโตที่ BC2F5 ใน โดยใช้ลักษณะของสายพันธุ์ พิจิตร 06 แม่เป็นเกณฑ์ตัดสิน การคัดเลือกในชั่วการเจริญเติบโต BC2F5คัดเลือกลักษณะ ของสายพันธุ์ที่มีความสม่ำเสมอ (uniformity) และให้ผสมตัวเองการคลุมต้น เพื่อปลูกคัดเลือกเป็นสายพันธุ์

7. **กำหนดลักษณะประจำสายพันธุ์** (line)

7.1 ปลูกเมล็ดจากสายพันธุ์ที่ได้จาก 6.12 และย้ายปลูก เมื่ออายุได้ 1 เดือน เพื่อบันทึกลักษณะของสายพันธุ์ ในลักษณะทางเกษตรแต่ละสายพันธุ์ ที่คัดเลือกเพื่อกำหนดลักษณะสายพันธุ์ที่ได้

1. บันทึกการเจริญเติบโต โดยวัดความสูง เส้นผ่าศูนย์กลางทรงพุ่ม จำนวนกิ่งแขนงและก้านที่แตกออกจากลำต้นหลัก
2. บันทึกวันดอกเริ่มบานหลังปลูก บันทึกจำนวนดอกต่อช่อ
3. สีผล สีของผลสดโดยใช้แผ่นเทียบสี
4. บันทึกผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิตและคุณภาพของพริกสดและแห้ง
   จำนวนผลต่อช่อ จำนวนผลต่อต้น
   น้ำหนักผลสดต่อต้น น้ำหนักผลแห้งต่อต้น
   ความยาวผลสด ความกว้างบริเวณกลางผลสด
   ความยาวก้านผลสด

7.2. กำหนดให้มีการผสมตัวเอง โดยการคลุมต้น

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา การดำเนินการ ตุลาคม 2549-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ. พิจิตร

ผลและวิจารณ์การทดลอง

1 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีความรุนแรง 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่ระบาดในพื้นที่ปลูกพริกเพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนสเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรกโนส ที่ทดสอบโดยใช้ สายพันธุ์พิจิตร 06 (ซึ่งพบในการทดสอบเบื้องต้นว่าอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสอย่างมาก) เป็นสายพันธุ์ทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุ ผลการทดลองพบว่า isolate ที่มีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคเป็นตัวแทนของเชื้อราสาเหตุ *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดลองเพื่อหาทดสอบปฏิกิริยาของพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริกจากสายพันธุ์ที่ได้เป็นพันธุ์แนะนำที่มีในประทศและ สายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ ประเทศไต้หวัน (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์แนะนำที่มีในประทศ. พิจิตร 06, พิจิตร 05, พิจิตร 1, พิจิตร 007, 05-13-4-5-7, 17-6-10-3-3, 8-6-10-1-2, 14-6-4-4-4, 10-2-8-8-10, สายพันธุ์จาก AVRDC ประกอบด้วย BC3F6, CM 334, PBC 137, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 201232, PI 1201234, PI 1201238 PI 189550, CNPH 703 กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides* (C60) *และ C. Capsici* (C56) ที่มีความรุนแรง ที่ได้จาก 1.1โดยใช้กรรมวิธีการประเมินความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริกในสภาพห้องปฏิบัติการ และทดลองซ้ำ 2 ครั้ง และเพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองพบว่ามี 2 สายพันธุ์ “PBC 932 และ PBC 81” ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส (ตารางที่ 2) สายพันธุ์ดังกล่าวได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)

3. ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทาน “PBC 932 และ PBC 81” กับ สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ที่เป็นพันธุ์แนะนำ ซึ่งใช้เป็นแม่พันธุ์ คือ พิจิตร 06 พบว่า PBC 932 เท่านั้นสามารถกระทำได้ และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับ พิจิตร 06

4. การทดสอบลูกผสม F1 ที่ได้จาก 1.3 ที่ได้ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ได้ผลพริก เพื่อใช้ในการทดสอบปฏิกิริยากับโรคแอนแทรคโนส 2 isolates ที่รุนแรง *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ของลูกผสม F1 จากการทดลองพบว่า พริกในช่วงการเจริญเติบโต F1 ไม่มีพริกต้นใดในช่วงการเจริญเติบโตนี้ แสดงคุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate เมื่อเปรียบเทียบกับ สายพันธุ์ พ่อ PBC 932 ผลการทดลอง ตามตารางที่ 3

5. การสร้างลูกผสม BC1 โดยผสมข้ามโดยใช้สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 06 ผสมกลับกับสายพันธุ์พริกลูกผสม F1 ที่ได้ เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่ พิจิตร 06 ลงในลูกผสม และปลูกลูกผสม BC1F1

6. การสร้างลูกผสม BC2 โดยผสมข้ามโดยใช้สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 06 ผสมกลับกับสายพันธุ์พริกลูกผสม BC1F1ที่ได้ เพื่อเพิ่มคุณสมบัติทาง agronomic เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 06 และได้ขยายพันธุ์ ลูกผสม BC2 ที่ได้ BC2F1 และผสมตัวเอง เพื่อให้ได้ BC2F2

7. ได้ปลูกลูกผสมใน ชั่ว BC2F2 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

8. เมล็ดจากต้นที่คัดเลือกที่ผ่านการผสมตัวเองได้นำมาปลูกเพื่อเป็นชั่วที่ BC2F3 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

9. ได้ปลูกลูกผสมใน ชั่ว BC2F3 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

10. ได้ปลูกลูกผสมใน ชั่ว BC2F4 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีความรุนแรง 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่ระบาดในพื้นที่ปลูกพริกเพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนสเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรกโนส ที่ทดสอบโดยใช้ สายพันธุ์พิจิตร 06 (ซึ่งพบในการทดสอบเบื้องต้นว่าอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสอย่างมาก) เป็นสายพันธุ์ทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุ ผลการทดลองพบว่า isolate ที่คัดเลือกมีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคเป็นตัวแทนของเชื้อราสาเหตุ *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. การทดลองเพื่อหาพริกสายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งรวบรวมพันธุ์พริกจากสายพันธุ์ที่ได้เป็นพันธุ์แนะนำที่มีในประทศและ สายพันธุ์ที่ได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ ประเทศไต้หวัน (AVRDC) จำนวน 20 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์แนะนำที่มีในประทศ. พิจิตร 06, พิจิตร 05, พิจิตร 1, พิจิตร 007, 05-13-4-5-7, 17-6-10-3-3, 8-6-10-1-2, 14-6-4-4-4, 10-2-8-8-10, สายพันธุ์จาก AVRDC ประกอบด้วย BC3F6, CM 334, PBC 137, PBC 81, PBC 932, PM 331, PI 201232, PI 1201234, PI 1201238 PI 189550, CNPH 703 กับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส 2 สายพันธุ์ (isolates) *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่มีความรุนแรง ที่ได้จาก 1.1โดยใช้กรรมวิธีการประเมินความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ของศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) โดยการฉีดเชื้อราสาเหตุลงในผิวของผลพริก ในสภาพห้องปฏิบัติการ และทดลองซ้ำ 2 ครั้ง และเพื่อยืนยันผลการทดลองและลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองพบว่ามี 2

สายพันธุ์ “PBC 932 และ PBC 81” ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส (ตารางที่ 2) สายพันธุ์ดังกล่าวได้รับความร่วมมือจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC)

3. ได้ทดสอบความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทาน “PBC 932 และ PBC 81” กับ สายพันธุ์พริกชี้ฟ้า พันธุ์พิจิตร 05 ที่เป็นพันธุ์แนะนำ พบว่า PBC 932 เพียงสายพันธุเดียวที่สามารถผสมข้าม กับพิจิตร 06 และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับ พิจิตร 05

4. การทดสอบลูกผสม F1 ที่ได้จาก 1.3 ที่ได้ที่สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร เพื่อให้ได้ผลพริก เพื่อใช้ในการทดสอบปฏิกิริยากับโรคแอนแทรคโนส 2 isolates ที่รุนแรง *C. gloeosporioides และ C. Capsici* ของลูกผสม F1 จากการทดลองพบว่า พริกในช่วงการเจริญเติบโต F1 ไม่มีพริกต้นใดในช่วงการเจริญเติบโตนี้ แสดงคุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate เมื่อเปรียบเทียบกับ สายพันธุ์ พ่อ PBC 932 ผลการทดลอง ตามตารางที่ 3

5. การสร้างลูกผสม BC1 โดยผสมข้ามโดยใช้สายพันธุ์พริกชี้ฟ้า พันธุ์พิจิตร 05 ผสมกลับกับสายพันธุ์พริกลูกผสม F1 ที่ได้ เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่ พิจิตร 06 ลงในลูกผสม และปลูกลูกผสม BC1 ที่ได้ เพื่อให้เกิดการกระจายตัว และ ทำการคัดเลือกลูกผสม ในด้านคุณสมบัติทาง agronomic เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 05 และจะได้ทดสอบปฏิกิริยาของ ลูกผสม BC1 ที่คัดเลือก กับโรคแอนแทรกโนส ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดเลือกต้นที่มีคุณสมบัติ ต้านทานโรค และ ทีคุณสมบัติทาง agronomic เทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 05

6. การสร้างลูกผสม BC2 โดยผสมข้ามโดยใช้สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 06 ผสมกลับกับสายพันธุ์พริกลูกผสม BC1F1ที่ได้ เพื่อเพิ่มคุณสมบัติทาง agronomic เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ พิจิตร 06 และได้ขยายพันธุ์ ลูกผสม BC2 ที่ได้ BC2F1 และผสมตัวเอง เพื่อให้ได้ BC2F2

7. ได้ปลูกลูกผสมใน ชั่ว BC2F2 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

8. เมล็ดจากต้นที่คัดเลือกที่ผ่านการผสมตัวเองได้นำมาปลูกเพื่อเป็นชั่วที่ BC2F3 และทำการคัดเลือก ต้นที่มีคุณสมบัติ ทาง agronomic ที่ดี และต้านทานโรค แอนแทรกโนส ทั้ง 2 isolate

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1 คัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส *Colletotrichum* sp. ที่มีพบมีความรุนแรง 2 species คือ *Colletotrichum. gloeosporioides และ C. Capsici* ที่ระบาดในพื้นที่ปลูกพริกเพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทานโรคแอนแทรกโนสเชื้อราสาเหตุโรค แอนแทรกโนสที่ทดสอบโดยใช้ สายพันธุ์พิจิตร 06 (ซึ่งพบในการทดสอบเบื้องต้นว่าอ่อนแอต่อโรคแอนแทรกโนสอย่างมาก) เป็นสายพันธุ์ทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุ ผลการทดลองพบว่า isolate ที่

คัดเลือกมีความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคเป็นตัวแทนของเชื้อราสาเหตุ *C. gloeosporioides* และ *C. Capsici* ตามลำดับ เพื่อใช้ในการทดลอง ผลการทดลอง ตามตารางที่ 1

2. ได้สายพันธุ์พริกที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส เพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์ในการถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคแอนแทรคโนสสู่สายพันธุ์ที่ดี คือ สายพันธุ์ PBC 932 และ PBC 81 แต่จากการทดลองความสามารถในการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคเพื่อสร้างลูกผสมนั้น พบว่า PBC 932 เพียงสายพันธุ์เดียว ที่สามารถผสมข้ามได้ และได้สร้างลูกผสม F1 ของ PBC 932 กับ สายพันธุ์พริกขี้หนูผลใหญ่ พิจิตร 007

3. จากการทดสอบคุณสมบัติในการต้านทานต่อ โรคแอนแทรคโนส กับ ลูกผสม F1 พบว่า ไม่พบลูกผสมต้นใดใน ชั่วการเจริญเติบโต F1 แสดงอาการต้านทานต่อโรคแอนแทรกโนส ซึ่งในเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่า ลักษณะต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ควรจะควบคุมด้วยยีนด้อย ซึ่งจะเป็นแนวทางในความเข้าใจการทำงานของระบบของพันธุกรรมได้ และเป็นแนวทางในการดำเนินงานในงานวิจัยต่อไป

4. ลูกผสม BC1 เพื่อเพิ่มลักษณะของสายพันธุ์แม่เข้าไปในลูกผสม นอกเหนือจากที่ได้ถ่ายทอดลักษณะต้านทาน และจะทำการคัดเลือกทั้งลักษณะต้นและผลลิต เปรียบเทียบกับ สายพันธุ์แม่ และ ความต้านทานโรคแอนแทรกโนส เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อ

5. ได้คัดเลือกลูกผสม BC2F2 ถึง BC2F3 ต่อเนื่อง ทั้งลักษณะทางเกษตร และต้านทานโรคแอนแทรกโนส ทำให้ได้ลักษณะทางเกษตรที่ดี และจะต้องทำการคัดเลือกอีก อย่างน้อย 2 ช่วงของการเจริญเติบโต

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส isolate ต่างๆ กับสายพันธุ์ พิจิตร 06 หลังบ่มไว้ 5 วัน

	หมายเลขเชื้อ	Species identify	สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบความรุนแรงของเชื้อสาเหตุ	ความสามารถในการทำให้เกิดโรค*
1	C1101	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
2	C1241	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
3	C1240	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
4	C 1185	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.2
5	C 60	*C. gleosporoides*	**พิจิตร** 06	2.6
6	C 065	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.9
7	C 1113	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.8
8	C 1088	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
9	C 082	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	1.0
10	C 1181	*C. gleosporoides*	พิจิตร 06	0.5
11	C56/1	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
12	C 024	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
13	C 078	*C. capsici*	พิจิตร 06	1.2
14	C 56	*C. capsici*	**พิจิตร** 06	2.1
15	C 1184	*C. capsici*	พิจิตร 06	0.5

* ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ตารางที่ 2 ปฏิกิริยาตอบสนองของสายพันธุ์พริก ในการทดสอบความต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส โดยใช้ฝักเขียว กับ เชื้อราสาเหตุ *Colletotrichum. capsici* และ *C. gloeosporioides*

สายพันธุ์		*C. capsici*	*C. gloeosporioides*	Sources
		C56	C60	
1	พิจิตร 06	1.7	2.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
2	พิจิตร 1	2.3	1.9	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
3	พิจิตร 007	1.9	1.6	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
4	พิจิตร 25-1-2-1	0.8	1.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
5	พิจิตร 15-1-1-1	1.2	1.4	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
6	พิจิตร 0015	1.5	0.9	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
7	พิจิตร 0019	1.2	0.3	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
8	พิจิตร 18-1-1-1	1.5	2.2	ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
9	14-10-7-4-4	0.9	0.7	พืชสวนกาญจนบุรี
10	17-15-9-1-8	0.9	1.3	พืชสวนกาญจนบุรี
11	BC3F6	0.9	1.3	AVRDC
12	CM 334	0.1	0.9	AVRDC
13	PBC 137	1.9	1.8	AVRDC
14	PI 201232	1.8	1.2	AVRDC
15	PBC 81	1.1	0.96	AVRDC
16	PM 331	1.4	0.8	AVRDC
17	PI 1201234	1.6	0.9	AVRDC
18	PI 189550	1.2	1.3	AVRDC
19	PI 1201238	1.5	1.2	AVRDC
20	PBC 932	0.3	0.2	AVRDC

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. ผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ยของแผลของโรคที่เกิดจากการปลูกเชื้อจาก การทดลองซ้ำ 2 ครั้ง (ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติต้านทานต่อโรค แอนแทรกโนส isolate และ ของสายพันธุ์พริก ที่ใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ และลูกผสมพริกในช่วงการเจริญเติบโต F1

ต้นที่	F1 (พิจิตร 05x PBC 932)		PBC 932		พิจิตร 06	
	C-56 cap	C-60	C-56	C-60	C-56	C-60
1	1.7	2.0	0. 3	0.1	2.1	2.5
2	2.0	2.0	0.1	0.4	1.6	2.0
3	1.7	2.0	0.2	0.1	1.6	1.8
4	1.9	2.0	0	0.2	1.4	2.0
5	1.9	2.5	0	0	1.7	2.0
6	2.0	1.8	0.1	0.2	1.2	1.9
7	1.8	2.2	0.1	0.3	1.9	2.6
8	2.0	2.4	0.2	0.4	1.5	1.2
9	1.8	1.5	0.1	0.1	1.3	2.0
10	2.6	1.9	0.1	0.3	1.7	1.6
11	1.8	2.0	0.1	0.2	1.0	1.8
12	2.5	2.5	0.2	0.1	2.2	1.9
13	2.2	2.1	0.1	0	2.4	2.0
14	1.7	2.0	0	0.2	1.8	1.5
15	2.4	2.5	0	0.1	1.7	1.9
16	1.8	1.6	0.1	0.4	2.0	2.5
17	1.7	2.0	0	0.3	1.4	1.6
18	2.2	2.5	0	0.1	1.2	1.5
19	0.9	2.0	0.2	0.1	0.9	1.5
20	1.6	2.4	0	0.1	1.1	2.0

1. ตรวจผลการทดลองหลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน)

2. * ผลเฉลี่ยขนาดของแผล จากการทดสอบ กับผลพริก 20 ผลต่อ 1 / replication (4 replications) จากการทดลอง 2 ครั้ง

(ขนาดแผลวัดเป็น ϕ CM.)

คำขอบคุณ

การทดลองได้รับความร่วมมืออย่างดีในการให้คำแนะนำ สายพันธุ์ต้านทานโรค เทคนิคในการวิจัย และความช่วยเหลือในการทดลองจากศูนย์พืชผักนานาชาติ (AVRDC) เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

บุญญวดี จิระวุฒิ 2540. การให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริกและการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ดและต้นกล้า ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช 66 หน้า

สมศิริ จิ๋วสกุล 2521. เซรุ่มวิทยา การถ่ายทอดทางเมล็ดของโรคแอนแทรคโนสของพริกและประสิทธิภาพของสารเคมีควบคุมโรคบนใบ

อรพรรณ วิเศษสังข์ จุมพล สาระนาค วิชิต จรัสเจษฎาและ ลักษณา วรรณภีร์ 2525. ปฏิกิริยาของพริก บางพันธุ์ต่อโรคแอนแทรคโนส รายงานผลการทดลอง สาขาโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

Gniffke P. 2003 Host resistance to antracnose , AVRDC. Progress Report 2002. Shanhua, Taiwan: AVRDC – the World Vegetable Center. pp. 29–30

Jae Bok Yoon 2003 Identification of Genetics Resources, Interspecific Hybridization and Inheritance Analysis for Breeding Pepper (*Capsicum annum*). Dessertation , Graduate School Seoul National University.

Pakdeevaraporn P., S. Wasee, P. W. J. Taylor, O. Mongkolporn 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum* Plant Breeding 124 (2), 206–208.

การแพร่ระบาดของโรครากปมและการประเมินความเสียหายในแหล่งปลูกพริก

Distribution of Root Gall Disease and Evaluation of Damage on Chilli Farming Area

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด[1/] อุดม คำชา[2/] ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์[2/]
พเยาว์ พรหมพันธุ์ใจ[2/] พิศวาส บัวรา[3/]
[1/]สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 4 [3/]สถาบันวิจัยพืชสวน

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการแพร่ระบาดและประเมินความเสียหายของโรครากปมในแปลงปลูกพริกของพื้นที่การระบาดเขต จ.อุบลราชธานี ในพริกอายุ 2 เดือน ของบ้านเดือยไก่ พบตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 180 ตัวต่อดิน 500 กรัม เสียหายร้อยละ 70 ต่อพื้นที่ 1 ไร่ และพืชอายุ 4 เดือน พบไส้เดือนฝอย 370 ตัวต่อดิน 500 กรัม เสียหายร้อยละ 90 ต่อพื้นที่ 1 ไร่ สำหรับบ้านโพนแพง ในพืชอายุ 2 เดือน พบไส้เดือนฝอยจำนวน 260 ตัว/ดิน 500 กรัม เสียหายร้อยละ 80 ต่อพื้นที่ 1 ไร่ และพืชอายุ 4 เดือน พบไส้เดือนฝอย 420 ตัว/ดิน 500 กรัม เสียหายร้อยละ 90 ต่อพื้นที่ 1 ไร่ และจากการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมในพื้นที่ปลูกพริก จ. อุบลราชธานี สามารถจำแนกได้เป็นไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949

รหัสโครงการ 01-16-49-01

คำนำ

โรครากปมพริก เกิดจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. โดยตัวอ่อนระยะที่ 2 หรือระยะเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยที่แพร่กระจายอยู่ในดินปลูกพืช เจาะไชเข้าสู่รากพริกบริเวณปลายราก เคลื่อนที่ต่อไปยังท่อน้ำท่ออาหารของพืชและหยุดนิ่ง จากนั้นเริ่มดูดกินน้ำเลี้ยงของพืช และมีการเจริญเติบโตด้วยวิธีการลอกคราบจากตัวอ่อนระยะที่ 2 เป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 และระยะที่ 4 ตามลำดับ จากนั้นพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัย (adult) มีทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยพบว่าพริกเป็นพืชอาหารที่ดี ไส้เดือนฝอยที่เข้าทำลายรากพริกจึงมีอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นเพศเมียสูงกว่าเพศผู้ในสัดส่วน 4 : 1 ของจำนวนไส้เดือนฝอยที่เข้าทำลาย เพศเมียสามารถสร้างไข่ที่มีลักษณะเป็นกลุ่ม (egg mass) ได้โดยไม่ต้องผสมพันธุ์กับเพศผู้ ซึ่ง 1 กลุ่มไข่ ประกอบด้วยไข่จำนวน 400-500 ฟอง หลังจากนั้นไข่พัฒนาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 และลอกคราบภายในไข่เป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 ไส้เดือนฝอยระยะนี้จะออกจากไข่ลงสู่ดินและเข้าทำลายรากพืชต่อเนื่อง โดยมีวงจรชีวิตจากตัวอ่อนระยะที่ 2 ถึงตัวอ่อนระยะที่ 2 อีกรุ่น ใช้เวลาเพียง 3-4 สัปดาห์เท่านั้น ดังนั้น การที่เชื้อสาเหตุแพร่พันธุ์ได้ง่ายและเพิ่มประชากรเชื้อในปริมาณมาก ความเสียหายของโรครากปมจึงมีความรุนแรง เพียงมีไส้เดือนฝอยเข้าสู่รากพริกในระยะกล้าเพียงตัวเดียว ภายในเวลาเพียง 20 วัน จะเพิ่มจำนวนประชากร 400-500 ตัว เข้าทำลายระบบรากและขยายพันธุ์ต่อเนื่องทันที เมื่อต้นพริกอายุ 3 เดือน ไส้เดือนฝอยจะมีวงจรชีวิตรวม 3 ชั่วอายุ (generation) เกิดความเสียหาย ต่อพืชและสูญเสียผลผลิตมากกว่า 50 % (นุชนารถ, 2550)

ลักษณะอาการของโรครากปม เมื่อถอนต้นพริกจะพบระบบรากเป็นปุ่มปม สาเหตุจากไส้เดือนฝอยดูดกินน้ำเลี้ยงของพืชบริเวณท่อน้ำ-ท่ออาหาร มีผลทำให้เซลล์ของพืชบริเวณที่ถูกทำลายแบ่งตัวผิดปกติ เกิดเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ (giant cell) ไปปิดกั้นทางเดินน้ำและแร่ธาตุอาหารจากรากไปเลี้ยงลำต้นส่วนเหนือดิน ทำให้พริกแสดงอาการเหี่ยวเฉา ต้นแคระแกร็นและทรุดโทรมหรือแห้งตายในที่สุด

การแพร่ระบาด ไส้เดือนฝอยสามารถแพร่ระบาดได้ดีในเนื้อดินชนิดร่วนปนทราย ไปกับระบบการให้น้ำหรือไหลไปกับน้ำฝน รวมทั้งติดไปกับดินเพาะกล้าพริกและติดไปกับเครื่องมือเกษตรต่างๆ เช่น ล้อรถไถ รองเท้าเกษตรกร และเครื่องมือเกษตรอื่นๆ

การควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมนั้น สามารถปฏิบัติได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับความสำคัญทางเศรษฐกิจของพืชชนิดนั้น ตลอดจนชนิด (species) ของไส้เดือนฝอย และปัจจัยทางสภาพแวดล้อมอื่นๆ (Schmitt and Sipes, 2004) โดยทั่วไปแล้ว ในพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ การควบคุมไส้เดือนฝอยที่นิยมปฏิบัติกันคือ การใช้พันธุ์ต้านทาน การปลูกพืชหมุนเวียน และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย (McSorley, 2001)

ในปี 2550 พบปัญหาการระบาดของโรคราก้ปมอย่างรุนแรงในเขต จ. อุบลราชธานี ครอบคลุมพื้นที่ปลูก 1,629 ไร่ ทำให้ผลผลิตและคุณภาพพริกลดลงตั้งแต่ 50-100 เปอร์เซ็นต์ ขณะนี้เกษตรกรในพื้นที่ไม่สามารถปลูกพริกได้ เนื่องจากในทุกพื้นที่ปลูกพริกมีการสะสมของประชากรไส้เดือนฝอยปริมาณมากและแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วในสภาพดินร่วนปนทราย ไส้เดือนฝอยไหลไปกับน้ำและ/หรือน้ำฝน ติดไปกับเครื่องมือเกษตร โดยเฉพาะดินที่มีไส้เดือนฝอยติดไปกับล้อรถไถจากแปลงหนึ่งสู่แปลงอื่นๆ และดินที่ติดไปกับต้นกล้าพริกสู่แปลงปลูก จึงเป็นเรื่องที่สำคัญและเร่งด่วนที่ต้องลงมือปฏิบัติอย่างจริงจังก่อนที่โรคจะระบาดในวงกว้างมากขึ้น โดยการทำงานแบบบูรณาการร่วมกันระหว่าง สวพ.4 กับนักวิชาการโรคพืชเฉพาะด้านไส้เดือนฝอย สอพ. รวมทั้งประสานงานกับกรมส่งเสริมการเกษตรในท้องที่ เพื่อทำการทดสอบเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช เพื่อแก้ปัญหาการระบาดโรคราก้ปมพริกอย่างเป็นระบบ ซึ่งมีความจำเป็นต้องดำเนินการทดสอบเทคโนโลยีที่เรามีอยู่ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่างที่มีความแตกต่างกันทั้งชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุ ชนิดของพืช เนื้อดิน และสภาพแวดล้อมอื่นๆ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการแพร่ระบาดของโรค ตลอดจนเทคโนโลยีนั้นๆ ต้องเหมาะสมกับสภาพพื้นที่และการยอมรับของเกษตรกรต่อไป

วัตถุประสงค์ เพื่อได้ข้อมูลการระบาดและความเสียหายในแหล่งปลูกพริก เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุ-อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างดิน ได้แก่ พลั่วมือ ถุงพลาสติก และปากกาเขียนถุง

2. วัสดุ-อุปกรณ์ในการแยกไส้เดือนฝอย ได้แก่ ตะแกรงหยาบ (20 mesh) และตะแกรงละเอียด (400 mesh) อ่างรับน้ำ กรวยแก้วต่อท่อสายยาง คลี๊ปหนีบ กระดาษทิชชู และตะแกรงลวด

3. กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope และ Compound microscope

4. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย

วิธีการ

1. การแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยสาเหตุโรคราก้ปม ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินและรากในแปลงปลูกพริก โดยเลือกแหล่งที่มีการระบาดของโรคราก้ปม จำนวน 2 พื้นที่ของ จ.อุบลราชธานี เก็บดินที่ระดับความลึกไม่เกิน 12 นิ้ว ในพื้นที่ 1 ไร่ สุ่มเก็บ 5 ตัวอย่างๆ ละ 10 จุด และสุ่มเก็บ 2

ครั้ง ครั้งที่ 1 พืชอายุ 2 เดือน และครั้งที่ 2 พืชอายุ 4 เดือน จากนั้นนำตัวอย่างดินและรากพริกมาทำการแยกและนับจำนวนประชากรไส้เดือนฝอยรากปมในดิน และจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยที่อยู่ภายในรากพืชในห้องปฏิบัติการ มีวิธีการดำเนินงานดังนี้

1.1 ขั้นตอนการแยกไส้เดือนฝอยจากดิน ชั่งดินน้ำหนัก 500 กรัม ขยำเนื้อดินให้ละเอียดในอ่างน้ำ กวนดินและทิ้งไว้ประมาณ 20 วินาที เพื่อให้เนื้อดินตกตะกอนบางส่วน จากนั้นเทผ่านตะแกรงหยาบ (20 mesh) เศษพืชหรือสิ่งอื่นๆ ที่มีขนาดใหญ่และไม่ต้องการจะติดบนตะแกรง ส่วนไส้เดือนฝอยทุกชนิดจะผ่านลงสู่อ่างรับน้ำ นำน้ำส่วนนี้ไปผ่านตะแกรงละเอียด (400 mesh) ไส้เดือนฝอยทั้งหมดจะติดอยู่บนตะแกรงนี้ ฉีดน้ำเบาๆ ไล่ไส้เดือนฝอยให้รวมอยู่ในตะแกรงด้านหนึ่งแล้วเทเก็บรวมไว้ในบีกเกอร์ จะได้ไส้เดือนฝอยอยู่ในน้ำขุ่น นำไส้เดือนฝอยที่ได้นี้ไปผ่านกระดาษทิชชูที่วางบนตะแกรงลวด ไส้เดือนฝอยทั้งหมดรวมทั้งเม็ดดินละเอียดจะติดอยู่บนกระดาษทิชชู จากนั้นนำไปตั้งบนกรวยแก้วบรรจุน้ำเต็มกรวยและที่ปลายก้านกรวยมีท่อสายยางสวมอยู่พร้อมคลิ๊ปหนีบ ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ไส้เดือนฝอยจะเคลื่อนที่ลงสู่ปลายกรวย เปิดคลิ๊ปไขน้ำใส่บีกเกอร์ประมาณ 50 มิลลิลิตร นำไปตรวจนับปริมาณภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope

1.2 การตรวจนับไส้เดือนฝอยรากปม นับปริมาณไส้เดือนฝอย กวนไส้เดือนฝอยในน้ำให้กระจายสม่ำเสมอ แล้วใช้ pipett ดูดน้ำที่มีไส้เดือนฝอย 5 มิลลิลิตร ใส่ใน Syracuse นำตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และเริ่มนับจำนวนไส้เดือนฝอยโดยกด counter นับที่ละตัวในทุกช่องตารางของ Syracuse จากนั้นจดบันทึกจำนวนตัว ดูดน้ำตรวจนับเช่นเดิมรวม 3 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ยจากการตรวจ 3 ครั้ง และสรุปจำนวนไส้เดือนฝอยต่อดิน 500 กรัม

2. การประเมินความเสียหายในแหล่งปลูกพริก สุ่มพืชเป็นโรครากปมในพืชที่ 1 ไร่ สุ่มถอนต้นพริกจำนวน 20 ต้น ที่อายุ 4 เดือน จาก 2 พื้นที่ (หมู่บ้าน) ที่มีการระบาดของโรครากปม และวัดดัชนีการเกิดปมที่รากตามวิธีของ Kinloch (1990) แบ่งเป็น 5 ระดับ ดังนี้ :- 0 = ไม่มีปม; 1 = มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย; 2 = เกิดปมน้อยกว่า 25%; 3 = เกิดปม 25-50%; 4 = เกิดปม 50-75%; และ 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก

3. การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากปม โดยวิธีการตัดริ้วรอยย่นส่วนก้นตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปม เขี่ยตัวเต็มวัยเพศเมียจากรากพริกลงในหยดน้ำเกลือ 1% ที่หยดบนแผ่นพลาสติกใสชนิดหนา ใช้ใบมีดผ่าตัดอย่างบางตัดบริเวณส่วนก้นของตัวเมียให้เป็นสี่เหลี่ยม เขี่ยเศษอวัยวะออกให้สะอาด นำชิ้นส่วนที่ตัดไปวางบนหยดกลีเซอรีนและปิดทับด้วย cover glass จากนั้นนำไปตรวจใต้กล้อง Compound microscope และจำแนกตาม key ของ Jepson (1987)

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2550 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2553

สถานที่

1. แปลงปลูกพริกในพื้นที่การแพร่ระบาดของโรครากปม จำนวน 2 หมู่บ้าน คือ หมู่บ้านเดือยไก่ และโพนแพน จ.อุบลราชธานี

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปม

จากการศึกษาการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. ในแหล่งปลูกพริกหมู่บ้านเดือยไก่ และโพนแพง อำเภอม่วงสามสิบ จังหวัดอุบลราชธานี โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินและรากพริกอายุปลูก 2 และ 4 เดือน จำนวนหมู่บ้านละ 5 ตัวอย่าง สุ่มเก็บ 10 จุดต่อ 1 ตัวอย่าง รวม 2 หมู่บ้าน เท่ากับ 100 จุด นำมาตรวจแยกไส้เดือนฝอยในห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจดินปลูกพริกอายุ 2 เดือน พบตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. จำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 180 และ 260 ตัวต่อดิน 500 กรัม ของบ้านเดือยไก่ และบ้านโพนแพง ตามลำดับ เมื่อทำการสุ่มเก็บดินและรากพริกอายุ 4 เดือน พบไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่ 2 จำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 370 และ 420 ตัวต่อดิน 500 กรัม ของบ้านเดือยไก่ และบ้านโพนแพง ตามลำดับ เมื่อนำตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปมมาจำแนกชนิดโดยพิจารณาริ้วรอยย่นส่วนก้น (perineal pattern) สามารถจำแนกชนิดได้เป็น *M. incognita*

2. การประเมินความเสียหายในแหล่งปลูกพริก

จากการประเมินความเสียหายในแปลงปลูกพริกอายุ 2 เดือน โดยการวัดดัชนีการเกิดปมที่รากพืช พบดัชนีการเกิดปมที่ระบบรากระดับ 4 และ 5 (4 = เกิดปม 50-75%; และ 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก) โดยพบต้นพริกเป็นโรครากปม 7 และ 8 ต้นเมื่อถอน 10 ต้นคิดเป็น 70 และ 80 % ของพื้นที่ปลูกของบ้านเดือยไก่และโพนแพง ตามลำดับ เมื่อทำการประเมินความเสียหายพริกอายุ 4 เดือน พบการแพร่ระบาดเพิ่มขึ้น คิดเป็น 80 และ 90 % ของพื้นที่ปลูกของบ้านเดือยไก่และโพนแพง ตามลำดับ

3. การจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยรากปม

จากการจัดจำแนกชนิดไส้เดือนฝอยในพื้นที่ปลูกพริกของ จ. อุบลราชธานี โดยการศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาบริเวณริ้วรอยย่นส่วนก้นของตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound microscope สามารถจำแนกในระดับชนิด (species) ได้คือ *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 โดยมีรายละเอียดรูปร่างลักษณะดังนี้

ลักษณะของริ้วรอยย่นส่วนก้นหรือ perineal pattern มีรูปร่างกลมรีคล้ายรูปไข่ ด้าน dorsal ยกสูง มีริ้วรอยเป็นเส้นหยัก (wavy striae) เส้นข้างลำตัว (lateral line) ปรากฏไม่ชัดเจน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่ 6 (oval with high squared dorsal arch) ตาม Key ของ Jepson (1987) ดังนั้น จึงจัดจำแนกไส้เดือนฝอยชนิดนี้เป็น *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาการแพร่ระบาดและประเมินความเสียหายของโรครากปมในแปลงปลูกพริกของพื้นที่การระบาดเขต จ.อุบลราชธานี ในพริกอายุ 2 เดือน ของบ้านเดือยไก่ พบตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปมจำนวน 180 ตัวต่อดิน 500 กรัม เสียหายร้อยละ 70 ต่อพื้นที่ 1 ไร่ และพืชอายุ 4 เดือน พบไส้เดือนฝอย 370 ตัวต่อดิน 500 กรัม เสียหายร้อยละ 90 ต่อพื้นที่ 1 ไร่ สำหรับบ้านโพนแพง ในพืชอายุ 2 เดือน พบไส้เดือนฝอยจำนวน 260 ตัว/ดิน 500 กรัม เสียหายร้อยละ 80 ต่อพื้นที่ 1 ไร่ และพืชอายุ 4 เดือน พบไส้เดือนฝอย 420 ตัว/ดิน 500 กรัม เสียหายร้อยละ 90 ต่อพื้นที่ 1 ไร่ และจากการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมในพื้นที่ปลูกพริก จ.อุบลราชธานี สามารถจำแนกได้เป็นไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949

เอกสารอ้างอิง

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2550. การควบคุมโรครากปมในพริก. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 4 น.

Jepson, S.B. 1987. Identification of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). C.A.B. International, The Cambrian News Ltd. Aberystwyth. 265 p.

McSorley, R. 2001. Multiple cropping systems for nematode management: A review. Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings 60:132-142.

Schmitt, D.P. and B.S. Sipes. 2004. Nematode management in crops grown in North American and Hawaii. Pp. 63-70 *In* R. Cook and D.J. Hunt, eds. Nematology Monographs and Perspectives Vol.2. Brill Leiden, Boston.

ศึกษาสาเหตุ และ แหล่งแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อนในการผลิตเชื้อเห็ด

Study on Causes and Distribution of Contaminating Moulds in Spawn Production

อภิรัชต์ สมฤทธิ์
อัจฉรา พยัพพานนท์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี ธารทิพย ภาสบุตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่างที่พบเชื้อราปนเปื้อนจากฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้าในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย จำนวน 15 อำเภอ ใน 10 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ ตาก นครนายก นครปฐม พัทลุง เพชรบุรี ราชบุรี สงขลา และอุดรธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550 มาแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีแยกสปอร์เดี่ยว (single spore technique) และจำแนกชนิด (species) โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA ของเชื้อรา สามารถจำแนกเชื้อราปนเปื้อนที่เก็บรวบรวมได้ 137 ไอโซเลท ออกเป็น 12 สกุล (genus) ได้แก่ *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. japonicus*, *A. niger* และ *A. parasiticus*) *Botryodiplodia*, *Cladosporium* (*Cladosporium cladosporioides*), *Curvularia* (*Curvularia lunata*), *Fusarium* (*Fusarium semitectum*), *Monilia* (*Neurospora*), *Mucor*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium* (*Penicillium citrinum*, *P. oxalicum* และ *Penicillium* sp.), *Rhizopus*, และ *Trichoderma* (*Trichoderma harzianum*, *T. koningii* และ *T. virens*) โดยเชื้อราทั้ง 12 สกุลจำแนกเป็นชนิดที่แตกต่างกันได้ 20 ชนิด (species) ในจำนวนเชื้อราปนเปื้อนที่รวบรวมได้ทั้งหมด 137 ไอโซเลท พบว่า เป็นเชื้อรา *P. citrinum* 27 ไอโซเลท และ *A. parasiticus* 26 ไอโซเลท หรือคิดเป็น 19.70 และ 18.98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งถือว่าพบมากและมีการแพร่กระจายมากกว่าเชื้อราชนิดอื่น เชื้อราปนเปื้อนทั้งหมดที่เก็บรวบรวมได้เป็นเชื้อราที่มีแหล่งอาศัยในดิน เมล็ดพืช อาหาร ขี้เลื่อย เศษซากอินทรีย์วัตถุ วัสดุที่มีความชื้น รวมทั้งวัสดุที่ใช้ในการเพาะและทำเชื้อเห็ด เชื้อราแพร่กระจายโดยการอาศัยสปอร์หรือสปอร์ปลิวกระจายไปตามลม น้ำ และติดไปกับวัสดุอุปกรณ์ในการผลิตเชื้อเห็ด การนึ่งฆ่าเชื้อด้วย

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-05-01-49

เทคนิคการฆ่าเชื้อไม่ถูกต้อง การปฏิบัติงานโดยขาดเทคนิคการปลอดเชื้อ และการไม่รักษาความสะอาดบริเวณฟาร์มเห็ด เป็นสาเหตุใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อราในอาหารวุ้นและในเมล็ดข้าวฟ่าง การประเมินความเสียหายจากเชื้อราปนเปื้อนในฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดในพื้นที่ต่าง ๆ ที่ได้ทำการเก็บตัวอย่าง พบว่าแต่ละฟาร์มมีระดับความเสียหายมีตั้งแต่ 5 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์

คำนำ

ประเทศไทยมีการผลิตเห็ดเป็นการค้า อาทิ เห็ดฟาง เห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดหอม ฯลฯ มานานหลายสิบปีแล้ว การเพาะเห็ดเพื่อการค้าเป็นการผลิตเห็ดในปริมาณมาก จำเป็นต้องอาศัยการดูแลจัดการอย่างดีทุกขั้นตอน ตั้งแต่ระยะเห็ดเป็นเส้นใย จนถึงระยะสร้างดอกเห็ด ความสะอาดเป็นสิ่งที่ผู้ผลิตเห็ดต้องใส่ใจอย่างยิ่งในทุกขั้นตอน โดยเฉพาะขั้นตอนการผลิตแม่เชื้อเห็ดหรือเชื้อขยาย ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ถือว่าเป็นหัวใจสำคัญของการผลิตเห็ด หากเกิดปัญหาการปนเปื้อนหรือการเข้าทำลายของแมลง ไร และเชื้อจุลินทรีย์ในเชื้อเห็ดทั้งในอาหารวุ้นหรือในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง ย่อมทำให้การเพาะเห็ดในขั้นตอนต่อไปไม่ประสบผลสำเร็จ การปนเปื้อนเนื่องจากเชื้อราถือว่าเป็นการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่สร้างปัญหาให้กับผู้ผลิตเชื้อเห็ดมากที่สุด เพราะนอกจากไม่สามารถนำเชื้อเห็ดที่เกิดการปนเปื้อนไปผลิตเห็ดหรือจำหน่ายให้แก่ผู้ผลิตดอกเห็ดได้แล้ว ยังสูญเสียเงินต้นทุนในการผลิตเชื้อเห็ดจำนวนมหาศาลอีกด้วย นอกจากนั้นหากผู้ผลิตเชื้อเห็ดหรือเกษตรกรผู้เพาะเห็ดไม่มีความรู้ความเข้าใจหรือรู้จักสังเกตการปนเปื้อนจากเชื้อรา เมื่อนำเชื้อเห็ดไปขยายต่อ ย่อมทำให้เกิดการสูญเสียในขั้นตอนการผลิตดอกเห็ดอย่างมากด้วยเช่นกัน แม้นักวิชาการหรือผู้ผลิตเห็ดรายใหญ่มีความเข้าใจถึงปัญหาดังกล่าวนี้เป็นอย่างดีแล้วก็ตาม แต่ระบบการปฏิบัติจริงเพื่อป้องกันและหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนทั้งจาก แมลง ไร หรือเชื้อจุลินทรีย์ในประเทศไทยยังคงไม่มีมาตรฐาน จึงทำให้การผลิตเชื้อเห็ดยังคงเกิดปัญหา และสูญเสียรายได้ซ้ำแล้วซ้ำอีก ดังเช่นเกษตรกรผู้ผลิตเห็ดในจังหวัดนครปฐม และ ราชบุรี ประสบมาตั้งแต่ตั้งแต่ต้นปี 2547 จากปัญหาดังกล่าวจึงได้ทำการวางแผนการศึกษาถึงแหล่งที่มาของเชื้อราปนเปื้อน สาเหตุการเกิด และการแพร่กระจาย รวมถึงชนิดของเชื้อราที่พบปนเปื้อนและทำความเสียหายให้กับเชื้อเห็ด เพื่อให้เกิดผลการศึกษาที่จะเป็นข้อมูลอันประโยชน์ในการวางแนวทางการป้องกันกำจัดเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดอย่างมีประสิทธิภาพ โดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญและคุณภาพของเชื้อเห็ด และใช้เป็นมาตรฐานในการผลิตเชื้อเห็ดที่มีคุณภาพปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อรา และ ศัตรูเห็ดชนิดต่าง ๆ ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อราปนเปื้อน

2. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติกขนาดใหญ่สำหรับใส่ขวดเชื้อเห็ดที่มีเชื้อราปนเปื้อน สมุดจดบันทึก ปากกา กล้องถ่ายภาพ

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น เข็มเขี่ย (needle) ลูป (loop) จานแก้วเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ (glass slide และ cover slip) และตะเกียงแอลกอฮอล์

4. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ PDA (Potato Dextrose Agar) และ WA (Water Agar 1.5%)

5. ตู้เขี่ยเชื้อระบบดูดอากาศ

6. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (compound microscope) และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์

7. เอกสารและตำราเกี่ยวกับการจำแนกชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อรา

วิธีการ

1. <u>การเก็บตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด</u>

เก็บตัวอย่างเชื้อเห็ดที่มีเชื้อราปนเปื้อนจากแหล่งผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้า ในพื้นที่จังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550 โดยเดินสำรวจและบันทึกภาพวิธีการผลิตเชื้อเห็ดตั้งแต่การเตรียมวัสดุอุปกรณ์ การแยกเชื้อเห็ด การเลี้ยงเชื้อ การถ่ายเชื้อ การบ่มเชื้อเห็ด สภาพแวดล้อมของฟาร์มและห้องผลิตเชื้อเห็ด สอบถามข้อมูลและปัญหาอุปสรรคที่ผู้ผลิตเห็ดและเกษตรกรผู้ซื้อเชื้อเห็ดประสบอยู่ บันทึกสถานที่ที่เก็บตัวอย่าง และชนิดของเชื้อเห็ดที่พบเชื้อราปนเปื้อน

2. <u>การแยกเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดและการจำแนกชนิด</u>

ใช้เข็มเขี่ย (needle) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยเชื้อราที่ปนเปื้อนในขวดเลี้ยงเชื้อเห็ด มาเลี้ยงในจานอาหาร PDA นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อราวางใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV (Near Ultraviolet) ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

2.1 <u>การแยกเชื้อราบริสุทธิ์โดยการใช้วิธี single spore technique</u>

ใช้เข็มเขี่ย เขี่ยกลุ่มเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ใส่ลงในขวดแก้ว (vial) ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เขย่าขวดแก้วให้เกิดสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ตรวจความหนาแน่นของสปอร์ โดยใช้ลูป (loop) แตะสปอร์แขวนลอย 1 หยด เกลี่ยบนแผ่นแก้วสไลด์ ตรวจดูสไลด์ภายใต้

กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ปรับจำนวนสปอร์ให้มีปริมาณ 10 สปอร์ ต่อพื้นที่การมองเห็น ใช้ลูปแตะสปอร์แขวนลอย 1 หยดมาลากเส้น (streak) บนผิวหน้าของอาหาร WA 1.5% (ภาพที่ 1) บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นใช้เข็มเขี่ยตักชิ้นวุ้นที่มีสปอร์เดี่ยวที่กำลังเริ่มงอกเส้นใย มาวางเลี้ยงบนอาหาร PDA บันทึกลักษณะการเจริญของโคโลนีเชื้อราบนอาหาร PDA

2.2. การจำแนกชนิด

2.2.1 การเตรียม Slide Culture

ใช้มีดผ่าตัดที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดชิ้นวุ้น PDA ให้มีขนาดประมาณ 1 x 1 เซนติเมตร แล้วใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตักชิ้นวุ้น PDA มาวางบนแผ่นแก้วสไลด์ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นใช้เข็มเขี่ยแตะสปอร์ของเชื้อราที่เจริญในจานอาหาร PDA มาแตะที่ด้านข้างของชิ้นวุ้น ปิดทับชิ้นวุ้นด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ นำแผ่นสไลด์ที่เตรียมเสร็จแล้ววางในจานแก้ว ที่มีน้ำเพื่อหล่อเลี้ยงให้เกิดความชื้นภายในจานแก้ว วางจานแก้วใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และ แสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5-7 วัน

2.2.2 ตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เมื่อเส้นใยเชื้อราเจริญแผ่บนแผ่นแก้วสไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์แล้ว จึงใช้เข็มเขี่ยแกะแผ่นแก้วปิดสไลด์ออก เขี่ยชิ้นวุ้น PDA ทิ้ง แล้วนำน้ำยาแลคโตฟีนอล (Lactophenol) หยดบนแผ่นแก้วสไลด์ในบริเวณที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญแผ่อยู่ 1 หยด ปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ ส่วนแผ่นแก้วปิดสไลด์ที่มีเส้นใยเชื้อราแผ่คลุมอยู่ ก็ใช้น้ำยาแลคโตฟีนอลหยดลงบริเวณที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญอยู่ 1 หยดเช่นเดียวกัน คว่ำแผ่นแก้วปิดสไลด์ลงบนแผ่นแก้วสไลด์ นำสไลด์เชื้อราที่ได้ มาตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง 400 เท่า จำแนกชนิดของเชื้อรา โดยเปรียบเทียบกับชนิดและภาพของเชื้อราในเอกสารการจำแนกชนิดเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่มีการศึกษามาแล้ว

3. การสืบค้นข้อมูลทางชีววิทยา และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด

สืบค้นข้อมูลทางชีววิทยา และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อราที่จำแนกชนิดได้ จากเอกสาร และข้อมูลทางอินเตอร์เน็ททั้งของไทยและของต่างประเทศที่มีการศึกษาไว้แล้ว เพื่อเป็นแนวทางการป้องกันเชื้อราปนเปื้อนในระบบการผลิตแม่เชื้อเห็ด ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาการป้องกันกำจัดเชื้อราปนเปื้อนในการผลิตเชื้อเห็ดอย่างมีประสิทธิต่อไป

เวลาและสถานที่ เริ่มต้น : ตุลาคม 2548 – สิ้นสุด : กันยายน 2551
แหล่งผลิตเชื้อเห็ดเพื่อการค้า
กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.การเก็บตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด

การเก็บตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดที่จะนำไปเพาะเลี้ยงเป็นดอกเห็ด จากแหล่งผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้า ในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550 ได้ดำเนินการใน 15 อำเภอ ของ 10 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ ตาก นครนายก นครปฐม พัทลุง เพชรบุรี ราชบุรี สงขลา และอุดรธานี พบว่า ฟาร์มที่ผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้าทุกแห่งทำการนึ่งฆ่าเชื้ออาหารวุ้น PDA เมล็ดข้าวฟ่าง โดยใช้หม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่ตั้งความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 ^{O}ซ เวลา 20 นาที สำหรับการฆ่าเชื้อในอาหารวุ้น ส่วนการนึ่งฆ่าเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่างนั้นใช้เวลา ตั้งแต่ 30 – 60 นาที เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อเสร็จตามกำหนดเวลาแล้ว จึงนำขวดอาหารออกมาจากหม้อนึ่งความดัน วางไว้ให้เย็น จากนั้นจึงนำเข้าตู้ย้ายเชื้อเห็ด ซึ่งเป็นตู้ไม้ปิดทึบ มีการทำความสะอาดฆ่าเชื้อภายในตู้เขี่ยเชื้อและอุปกรณ์ก่อนการย้ายหรือต่อเชื้อเห็ด แม่เชื้อเห็ดในอาหารวุ้นที่นำมาเลี้ยงต่อในเมล็ดข้าวฟ่างนั้น ส่วนใหญ่ผู้ผลิตเชื้อเห็ดจะซื้อมาจากศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ดแห่งประเทศไทย ของกรมวิชาการเกษตร แล้วนำมาย้ายเลี้ยงต่อในขวดเมล็ดข้าวฟ่าง เมื่อเชื้อเห็ดมีเส้นใยเจริญดี จึงย้ายลงเลี้ยงต่อในขวดเมล็ดข้าวฟ่างเพื่อเป็นเชื้อขยายในการผลิตดอกเห็ดต่อไป จากการประเมินระดับความเสียหายที่พบในฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดแต่ละแห่ง พบว่า ความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อราปนเปื้อนในแต่ละฟาร์มมีตั้งแต่ระดับ 5 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1 และตารางที่ 1 (ภาคผนวก))

ภาพที่ 1 ตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดที่เก็บรวบรวมได้จากฟาร์มผลิตเชื้อเห็ด

2. การแยกเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดและการจำแนกชนิด

การแยกตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อนในขวดเชื้อเห็ดที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่างจากฟาร์มผลิตเชื้อเห็ด ให้เป็นเชื้อราบริสุทธิ์ที่เจริญบนอาหาร PDA ทำให้ได้เชื้อราปนเปื้อน จำนวน 137 ไอโซเลท เมื่อจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะการเจริญของโคโลนีเชื้อราบนอาหาร PDA เปรียบเทียบกับข้อมูลในเอกสารการจำแนกชนิดเชื้อราของไทยและของต่างประเทศที่มีการศึกษาและรายงานไว้แล้ว สามารถจำแนกเชื้อราปนเปื้อนที่เก็บรวบรวมได้ทั้งหมด ออกเป็น

12 สกุล (genus) ได้แก่ *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. japonicus*, *A. niger* และ *A. parasiticus*) *Botryodiplodia*, *Cladosporium* (*Cladosporium cladosporioides*), *Curvularia* (*Curvularia lunata*), *Fusarium* (*Fusarium semitectum*), *Monilia* (*Neurospora*), *Mucor*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium* (*Penicillium citrinum*, *P. oxalicum* และ *Penicillium* sp.), *Rhizopus*, และ *Trichoderma* (*Trichoderma harzianum*, *T. koningii* และ *T. virens*) (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 2

ภาพที่ 2 เชื้อราปนเปื้อนที่แยกได้บนอาหาร PDA

เชื้อราที่พบปนเปื้อนในเชื้อเห็ดจำนวน 20 ชนิด มีรายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะของโคโลนีบนอาหาร PDA ลักษณะสัณฐานวิทยา แหล่งอาศัย และแหล่งแพร่กระจาย ดังนี้

Aspergillus flavus

เชื้อราเจริญบนอาหาร PDA ค่อนข้างเร็ว มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 5-6 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โคโลนีมีสีเขียวปนเหลือง เส้นใยเจริญในอาหารอย่างบางๆ ด้านใต้โคโลนีไม่มีสี กลุ่มของสปอร์รูปร่างกลม หรือแตกเป็นแฉกในแนวรัศมี หรือเป็นแท่งซึ่งมีสปอร์ (spore) เกาะกันอย่างหลวมๆ (loosely columnar) 2 แฉกหรือมากกว่า ความกว้าง 400-500 ไมครอน ก้านชูสปอร์ (conidiophore) มีผนังหนา และมีหนามขรุขระ ไม่มีสี ความยาว 750-1300 ไมครอน ส่วนใหญ่มีความยาวน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร เวสิเคิล (vesicle) รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-65 ไมครอน บริเวณใต้เวสิเคิลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-25 ไมครอน ผนังมีความหนา 1 ไมครอน สเตอริกมา (sterigma) มีทั้งแบบชั้นเดียว และ 2 ชั้น สเตอริกมาชั้นแรกขนาด 6-12 x 3-5 ไมครอน ชั้นที่สองมีขนาด 6-10 x 3-5 ไมครอน สปอร์รูปร่างกลม สีเขียวอ่อน ผนังมีหนามขรุขระ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-6 ไมครอน

เชื้อรานี้พบแพร่กระจายทั่วโลก พบในดินทั่วไป และดินเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกข้าวโพด ดินปลูกข้าวสาลี ดินปลูกถั่วพุ่ม ดินปลูกมันสำปะหลัง และดินปลูกอ้อย ในเศษซากพืชบนวัสดุและผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำมันสูง เช่น มะพร้าวแห้ง ปาล์มน้ำมัน บนเมล็ดพืช เช่น ข้าวโพด ถั่วลิสง ข้าว ฝ้าย ข้าวฟ่าง เดือย ถั่วต่างๆ เป็นต้น แม้แต่ในดินที่เปื้อนน้ำมัน นอกจากนี้ยังพบบนตัวอ่อนของแมลงบางชนิด ตัวอ่อนของผึ้ง ตั๊กแตน ปลวก และคราบของแมลง เชื้อรานี้สายพันธุ์สร้างสารอะฟลาท๊อกซิน (Aflatoxin B1 และ B2) และไซโครไพอะโซนิคแอซิด (cyclopiazonic

acid) และมีการศึกษาการติดเชื้อของเชื้อรานี้ในถั่วลิสง พบเชื้อรานี้ทั้งบนใบ ก้านใบ เข็ม (pegs) และบนฝัก ตั้งแต่ต้นถั่วลิสงมีอายุได้ 2 สัปดาห์ จนถึงระยะเก็บเกี่ยว (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Aspergillus fumugatus

เชื้อราเจริญบนอาหาร PDA ค่อนข้างเร็ว มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 5-6 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เชื้อราสร้างกลุ่มสปอร์สีเขียวปนน้ำเงิน กลุ่มของสปอร์รูปร่างเป็นแท่งยาว (columnar) มีสปอร์เกาะกันอยู่อย่างหนาแน่น ก้านชูสปอร์มีความยาว 135-280 ไมครอน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10.5-16.8 ไมครอน ผนังเรียบมีความหนา 0.5 ไมครอน มีสีเขียวอ่อนแล้วค่อยๆ เข้มขึ้นไปยังส่วนปลายจนถึงเวสิเคิล เวสิเคิลมีสีเขียว รูปร่างคล้ายขวดชมพู่ (flask-shape) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15-25 ไมครอน มีสเตอริกมาชั้นเดียว สีเขียวอ่อน ขนาด 5-7 x 1.5-2 ไมครอน เกิดคลุม 3 ใน 4 ของหัวเวสิเคิล สปอร์มีเซลล์เดียว รูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม ผนังขรุขระเล็กน้อย ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.8-3.2 ไมครอน เมื่ออยู่รวมกันเป็นกลุ่มจะมีสีเขียวชัดเจน

เชื้อรานี้พบแพร่กระจายทั่วโลก พบในดินทั่วไป เช่น ดินปลูกมันสำปะหลัง ดินปลูกงา และดินปลูกถั่วพุ่ม ในเศษซากพืช เมล็ดพืช ไม้ กองปุ๋ยหมัก เมล็ดพืชและฟ่างที่ผ่านการให้ความร้อนแล้ว น้ำมันเชื้อเพลิง น้ำมันเครื่อง พลาสติก ยางสังเคราะห์ เชื้อราสามารถผลิตสารเวอรูคิวโลเจน (verroculogen) ฟูมิตริมอร์จิน เอ และ บี (fumitremorgin A&B) ไกลโอท๊อกซิน (glyotoxin) ฟูมิท๊อกซิน (fumi-toxin) และทริบโตควิวาลีน (trytoqulivaline) เชื้อรานี้เป็นสาเหตุของโรคแอสเปอร์จิลโลซีส (aspergillosis) ในคนและสัตว์ โดยเชื้อราจะเข้าทำลายระบบหายใจ โรคฟาร์เมอร์ลังก์ดีสซีส (farmer's lung disease) โรคแอสเปอร์จิลโลมา (aspergilloma) และโรคไนวาซีนแอสเปอร์จิลโลซีส (nivasine aspergillosis) เชื้อราที่สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิสูง และปริมาณออกซิเจนต่ำ จึงจัดเป็นผู้ย่อยสลายที่ดี (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Aspergillus japonicus

เชื้อราเจริญบนอาหาร PDA ค่อนข้างเร็ว มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 5-6 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โคโลนีมีสีดำอมม่วง กลุ่มของสปอร์เกิดอย่างหนาแน่น รูปร่างกลมหรือแตกเป็นแฉกในแนวรัศมี (radiate) เมื่อแก่ ก้านชูสปอร์ (conidiophore) ยาว 500-1,000 ไมครอน ผนังเรียบ สีน้ำตาลจางๆ เวสิเคิลรูปร่างกลมหรือเกือบกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 17-25 ไมครอน เมื่อยังอ่อนมีรูปรี เมื่อแก่รูปร่างกลมหรือเกือบกลม สีเทาเข้ม หนังมีหนามขรุขระ

เชื้อรานี้พบแพร่กระจายทั่วโลก พบในดินทั่วไป ดินป่า และในดินเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกมันสำปะหลัง ดินปลูกปอแก้ว และดินปลูกอ้อย ในดินที่ติดกับผิวรากของข้าวสาลี และเฟิร์น

เศษซากของใบยูคาลิปตัส และโกโก้ ในประเทศไทยพบในดินบริเวณรอบๆ รากพืช เชื้อราชนิดนี้เป็นพวกย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Aspergillus niger

เชื้อราเจริญบนอาหาร PDA ค่อนข้างเร็ว มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 5-6 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวเจริญในอาหารและบนอาหารอย่างบางๆ กลุ่มของสปอร์รูปร่างกลมขนาดใหญ่ เมื่อแก่แตกเป็นแฉกในแนวรัศมี สีดำ น้ำตาลเข้มหรือดำหรือดำออกน้ำตาล ก้านชูสปอร์ สีน้ำตาลอ่อน มีความยาว 540 ไมครอนจนถึง 1 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-14 ไมครอน ผนังเรียบ ความหนาของผนัง 2.0 ไมครอน เวสิเคิลรูปร่างกลม สีน้ำตาลอ่อน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30-50 ไมครอน สเตอริกมามี 2 ชั้น ชั้นแรกมีขนาด 10-20 x 2.8-3.5 ไมครอน ชั้นที่สองมีขนาด 7-10 x 2.8-3.3 ไมครอน สปอร์มีเซลล์เดียว รูปร่างกลม สีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลเข้ม ผนังมีหนามขรุขระ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-4 ไมครอน

เชื้อรานี้พบแพร่กระจายทั่วโลก พบในดินทั่วไป เช่น ดินปลูกข้าวโพด ดินปลูกงา ดินปลูกถั่วพุ่ม ดินปลูกปอแก้ว ดินปลูกมันสำปะหลัง และดินปลูกอ้อย เป็นพวกย่อยสลายอินทรีย์วัตถุอยู่ในดินและในเศษซากพืช เชื้อราเป็นสาเหตุทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตทางการเกษตรในโรงเก็บ หรือผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว รานี้มีรายงานว่าทำให้เกิดโรคโคนเน่า หรือโรคเน่าขาดของถั่วลิสง และโรคราดำของหอมและกระเทียม (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Aspergillus parasiticus

เชื้อราเจริญบนอาหาร PDA มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 4-5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โคโลนีมีสีเขียวอมเหลือง กลุ่มของสปอร์ รูปร่างกลม หรือแตกออกเป็นแฉกในแนวรัศมี กว้าง 400-500 ไมครอน ก้านชูสปอร์ เกิดจากเส้นใยที่อยู่ในอาหาร ไม่มีสี ผนังมีหนามขรุขระ มีความยาวตั้งแต่ 200-1,000 ไมครอน ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 300-700 ไมครอน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-12 ไมครอน เวสิเคิลรูปร่างกลม ไม่มีสี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20-35 ไมครอน มีสเตอริกมาชั้นเดียว ไม่มีสี มีขนาด 7-9 x 3-4 ไมครอน สปอร์เมื่อยังอ่อนมีสีเขียว แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมเขียวเมื่อแก่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5-5.5 ไมครอน ผนังมีหนาม

เชื้อรานี้พบแพร่กระจายทั่วโลก พบทั้งในอากาศ ในดินทั่วไป และในดินเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกข้าวโพด และดินปลูกมันสำปะหลัง พบในเมล็ดข้าว ข้าวฟ่าง ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ทานตะวัน และฝ้าย เชื้อราสร้างสารพิษอะฟลาท๊อกซิน (aflatoxin B1 B2 G1 และ G2) โคจิคแอซิด (kojic acid) แอสพาราจิลลิคแอซิด (asparagillic acid) ไนโตรโพรพิโอนิคแอซิด (nitropropionic acid) และแอสเปอร์ท๊อกซิน (aspertoxin) (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Botryodiplodia sp. (*Lasiodiplodia* sp.)

เชื้อราเจริญเร็วบนอาหาร PDA มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 6-7 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โคโลนีระยะแรกเป็นเส้นใยสีขาว ต่อมาค่อยเปลี่ยนเป็นสีเทาเข้ม จนถึงดำ เมื่อโคโลนีอายุได้ 10 วัน เกิดการสร้างกลุ่มของส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า pycnidia กระจายอยู่บนโคโลนี ซึ่งภายในเป็นที่สร้างสปอร์สำหรับแพร่กระจายขยายพันธุ์จำนวนมาก เชื้อราสร้างสปอร์เซลล์เดียว รูปร่างรี หรือรูปไข่ค่อนข้างยาว ระยะแรกสปอร์มีลักษณะใส ไม่มีสี เมื่อมีอายุมากจะมี 2 เซลล์ สีน้ำตาลเข้ม มีผนังหนา รูปร่างยาวรี และมักมีขีดสีเข้มตามทางยาวของสปอร์ สปอร์มีขนาด 18-30 x 10-15 ไมครอน

เชื้อรานี้พบแพร่กระจายทั่วโลก โดยบางชนิดเป็นศัตรูของไม้ผลยืนต้น โดยอาจเป็นเชื้อโรคพืชที่เข้าทำลายซ้ำ (secondary pathogen) หรือแซพโพรไฟท์ (saprophyte) โดยเข้าทำลายภายในลำต้น ทำให้ต้นไม้แห้งหรือยืนต้นตาย สปอร์ของเชื้อราแพร่กระจายไปกับส่วนต่างๆ ของพืช เช่น เปลือกไม้ หัวและราก ผลไม้ ดอกไม้ ใบไม้ กิ่งก้าน และส่วนของเนื้อไม้ เชื้อรานี้ยังพบได้ในดิน (soil borne) ในเมล็ด (seed borne) และในอากาศ (air-borne) (CABI, 2005; Watanabe, 2002)

Cladosporium cladosporioides

เชื้อราเจริญค่อนข้างช้าบนอาหาร PDA โคโลนีมีขนาด 5-6 เซนติเมตร เมื่ออายุ 20 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โคโลนีมีลักษณะค่อนข้างนูน สีน้ำตาลเข้ม หรือน้ำตาลอมเขียวมะกอก ด้านใต้โคโลนีมีสีดำปนเขียวมะกอก ก้านชูสปอร์ตั้งตรง แตกกิ่งก้านที่ส่วนปลาย สีน้ำตาลอ่อน ผนังเรียบ ขนาด 350-400 x 2-6 ไมครอน สปอร์เป็นพวกบลาสโตสปอร์ (blastospore) ที่เกิดจากการแตกหน่อ (budding) มีสีดำหรือน้ำตาล มี 1-2 เซลล์ ส่วนใหญ่เป็นเซลล์เดียว ผนังเรียบ ขนาดต่างกัน รูปไข่ รูปรี หรือรูปร่างคล้ายมะนาว จนถึงเป็นเหลี่ยมไม่สม่ำเสมอ และมักจะมีรอยแผล (scar) ที่บริเวณหัวท้ายเซลล์หรือเฉพาะที่ส่วนฐานของเซลล์ ส่วนใหญ่มักจะพบสปอร์รูปคล้ายมะนาวต่อกันเป็นลูกโซ่ และลูกโซ่มีการแตกแขนงได้อีกเรื่อยๆ แขนงที่แตกออกจากก้านชูสปอร์มีลักษณะเป็นเซลล์ยาว สปอร์อยู่ปลายสุดของก้านชูสปอร์

เชื้อรานี้โดยทั่วไปเป็นพวกแซพโพรไฟท์ หรือเป็นเชื้อราฉวยโอกาสเข้าทำลายพืชเมื่อพืชเกิดบาดแผล หรือหลังจากที่พืชถูกเชื้ออื่นเข้าทำลายแล้ว (secondary invader) พบบนวัสดุหลายชนิด บนเศษซากพืช เมล็ดพืช ในดินทั่วไป รวมทั้งดินเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกงา และดินปลูกมันสำปะหลัง (นิยม, 2542; Watanabe, 2002)

Curvularia lunata

เชื้อราเจริญบนอาหาร PDA ค่อนข้างเร็ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-6 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โคโลนีมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ ก้านชูสปอร์สีน้ำตาล ขนาด 100-160 x 2.8-3.2 ไมครอน เกิดเดี่ยวๆ ไม่แตกกิ่งก้าน มีผนังกั้น สปอร์เกิดที่ส่วนปลายของก้านชูสปอร์ หลังจากให้กำเนิดสปอร์อันแรกแล้วก็มีการเจริญต่อไปได้อีก โดยเจริญออกทางด้านข้าง และเมื่อให้กำเนิดสปอร์อันที่สองแล้ว ก็จะเจริญต่อออกทางด้านข้างอีก ทำให้ส่วนปลายของก้านชูสปอร์มีลักษณะหักข้อศอกกลับไปกลับมา จึงมองเห็นสปอร์เกาะกันกับกระจุกอยู่ที่ปลายก้านชูสปอร์ สปอร์สีน้ำตาล มีลักษณะโค้งงอเล็กน้อย มี 4 เซลล์ เซลล์ตรงกลางสีเข้มกว่าเซลล์หัวท้าย ขนาด 20-25 x 9.5-10.5 ไมครอน มีรอยแผลที่ฐาน เมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้น มีการสร้างคลามายโดสปอร์ (chlamydospore) รูปร่างกลมถึงค่อนข้างกลม สีน้ำตาลเข้ม ผนังเรียบ เกิดเดี่ยวหรือต่อกันเป็นลูกโซ่อยู่ระหว่างเส้นใย

เชื้อรานี้พบบนวัสดุหลายชนิด พบในดินทั้งดินป่า ดินทุ้งหญ้า ดินทำเกษตรกรรม เช่นดินปลูกปอ ดินปลูกมันสำปะหลัง และดินปลูกอ้อย ดินป่าชายเลน และแม้แต่วัสดุที่อยู่ทะเล บนเมล็ดพืช และเศษซากพืช และยังเป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิด จัดเป็นพวก facultative parasite มีพืชอาศัยหลายชนิด โดยเฉพาะพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในเขตร้อน ทำให้เกิดโรคใบจุดและกล้าแห้ง และสามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้ มีรายงานว่าเป็นสาเหตุของโรคใบจุดของแกลดิโอลัส โรคผลเน่าของมะละกอ และโรคใบจุดและเมล็ดด่างของข้าว โรคใบจุดของข้าวฟ่าง และโรคผลเน่าของลิ้นจี่ (นิยม, 2542; Watanabe, 2002)

Fusarium semitectum

เชื้อราเจริญเร็วบนอาหาร PDA เส้นใยหนา ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 6-7 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ระยะแรกโคโลนีสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีครีม สีแทน หรือสีน้ำตาลอ่อน อาจสร้างสปอโรโดเชียม (sporodochium) หรือไม่ก็ได้ ถ้าสร้างจะมีสีส้มอ่อน เชื้อราไม่ค่อยสร้างไมโครสปอร์ (microspore) ส่วนใหญ่สร้างมาโครสปอร์ (macrospore) ซึ่งมี 2 แบบ แบบแรกเกิดบนเส้นใยเหนืออาหาร (aerial mycelium) รูปร่างคล้ายกระสวยตรงหรือโค้งเล็กน้อย เซลล์ที่ฐานมีส่วนยื่นแต่ไม่ใช่รูปเท้า (foot-shape) มาโครสปอร์อีกแบบคือเกิดบนสปอโรโดเชียม มีรูปร่างคล้ายเคียว โค้งเล็กน้อย เซลล์ที่ฐานมีลักษณะเป็นรูปเท้าชัดเจน ไฟอะไลด์ (phialide) มีทั้งแบบโมโนไฟอะไลด์ (monophialide) ที่แตกและไม่แตกแขนง และโพลีไฟอะไลด์ (polyphialide) เชื้อรานี้สร้างสปอร์ผนังหนาหรือคลามายโดสปอร์ (chlamydospore) ทำให้มีชีวิตอยู่รอดในดินได้นาน

เชื้อรานี้พบได้ในดินทั่วไป รวมทั้งดินเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกข้าวโพด ดินปลูกงา ดินปลูกถั่วพุ่ม ดินปลูกมันสำปะหลัง และดินปลูกอ้อย เชื้อราสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น

ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี ถั่วแขก ยูคาลิปตัส อะโวกาโด แพร่ ฝ้าย และหญ้าชนิดต่างๆ เป็นต้น จัดเป็นราพวกฉวยโอกาส เข้าทำลายพืชเมื่อพืชเกิดบาดแผลหรือหลังจากที่พืชถูกเชื้ออื่นเข้าทำลายแล้ว (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Monilia sp.

ราสีส้มมักเกิดเป็นกระจุกบริเวณปากถุง มีลักษณะเป็นผงสีชมพูอมส้ม หรือเป็นก้อนติดกันสีชมพู บางครั้งอาจพบที่ก้นถุง เชื้อรานี้เจริญอย่างรวดเร็วบนอาหาร PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร เมื่ออายุ 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ระยะแรกเชื้อราเจริญแผ่เส้นใยเล็กบางสีส้มชมพูอ่อนบนอาหาร ต่อมาเชื้อรากสร้างกลุ่มผงสีส้มบนเส้นใยที่แผ่ PDA กระจายปกคลุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อราสร้างเส้นใยใส ไม่มีสี สร้างก้านโคนิดิโอฟอร์ค่อนข้างสั้น หรือแทบมองไม่ชัดเจน สร้างสปอร์รูปรี หรือรีค่อนข้างกลม สีชมพูส้มต่อกันเป็นลูกโซ่ยาว สปอร์ขนาด 8.7-12.5 x 5.5-8 ไมครอน

เชื้อราในระยะนี้เป็นระยะที่สร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า สปอร์ และอยู่ใน anamorphic state ของเชื้อรา *Nuerospora* sp. มีชื่อว่า *Monilia* sp. พบแพร่กระจายทั่วไปในดินบนเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวฟ่าง และข้าวโพด การระบาดและการปนเปื้อนของราสีส้มทำให้เส้นใยเห็ดเจริญไม่ได้ เนื่องจากรานี้เจริญอย่างรวดเร็ว อาศัยปกคลุมวัสดุที่จะเป็นอาหารเห็ดเสียก่อน ทำให้เส้นใยเห็ดไม่สามารถใช้อาหารจากวัสดุเพาะเห็ดได้ (CABI, 2005; Stamets *et al*., 1996; Watanabe, 2002)

Mucor sp.

เชื้อราเจริญอย่างรวดเร็วบนอาหาร PDA ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร เมื่ออายุ 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โคโลนีจะเป็นลักษณะเส้นใยฟู สีขาวค่อนข้างใส ในระยะวันแรกๆ ต่อมาเส้นใยเริ่มเปลี่ยนเป็นสีขาวครีมเฉดเหลือง บริเวณเส้นใยมีเม็ดเล็กๆ สีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ เรียกว่า สปอร์แรงเจียม (sporangium) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 22.5-70 ไมครอน เกิดขึ้นบนก้านสปอร์แรงจิโอฟอร์ (sporangiophore) ลักษณะใส แตกกิ่งก้านบ้างเล็กน้อย ที่มีขนาด 3-5 มิลลิเมตร เม็ดสีน้ำตาลเหล่านี้กระจายอยู่ทั่วไปตามเส้นใยที่ฟู เมื่อสปอร์แรงเจียมมีสีเข้ม ผนังจะแตกขาดหรือย่อยสลายได้ง่ายด้วยน้ำ แล้วมีสปอร์ (sporangiospore) ลักษณะใสไม่มีสี กระจายออกมา สปอร์มีรูปร่างตั้งแต่ รูปกลม รูปไข่ หรือค่อนข้างเป็นทรงกระบอก ผนังสปอร์เรียบ สปอร์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 5-8.5 ไมครอน

เชื้อราชนิดนี้พบแพร่กระจายทั่วไป บางชนิด (species) เป็นพาราไซต์ของพืชชั้นสูงและสัตว์ พบได้ในเศษซากพืชที่เริ่มเน่าเปื่อย ในมูลสัตว์ จัดเป็นพวก “sugar fungi” โดยสามารถใช้สารประกอบคาร์โบไอเดรตชนิดง่ายๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เหลือสารพวกที่มีองค์ประกอบ

ซับซ้อนกว่า สำหรับให้จุลินทรีย์อื่นย่อยสลายต่อไป (นิยม, 2542; วิจัย, 2546; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Nigrospora sp.

เชื้อราเจริญอย่างรวดเร็วบนอาหาร PDA โคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 8-9 เซนติเมตร เมื่ออายุ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เส้นใยฟูไม่เป็นระเบียบ ระยะอ่อนอยู่มีสีขาวหรือเทา แล้วค่อยๆเข้มขึ้น จนถึงสีน้ำตาลหรือสีดำ ก้านชูสปอร์มีลักษณะตรงหรือโค้ง โครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์มีรูปร่างคล้ายผะอบ หรือขวดรูปชมพู่ สีน้ำตาล สปอร์เกิดเดี่ยวๆ รูปร่างแบนหรือเกือบกลม สีน้ำตาลเข้าจนถึงดำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15-18 ไมครอน ผนังเรียบ เกิดบนเวสิเคิลแบนๆ ไม่มีสี

เชื้อรานี้พบได้ทั่วไป โดยเฉพาะในเขตอบอุ่น พบในดินป่า ดินที่ทำเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกปอ ดินปลูกฝ้าย และดินปลูกอ้อย ดินที่ไม่ทำเกษตรกรรม ทุ่งหญ้า เศษซากพืช มูลสัตว์ และยังพบบนเมล็ดข้าวโพด และถั่วลิสง เชื้อราสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ ผลิตสารอพิดีโคลิน (apidicolin) ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) และกรดไขมันอิสระบางชนิด และมีรายงานว่า สารสกัดจากเส้นใย mycelium extract) มีคุณสมบัติเป็นพิษกับหนู (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Paecilomyces sp.

เชื้อราเจริญค่อนข้างช้าบนอาหาร PDA โคโลนีมีขนาด 4-4.5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โคโลนีสีม่วงอมชมพู ก้านชูสปอร์มีทั้งที่เกิดจากเส้นใยที่อยู่ในอาหารและเส้นใยที่อยู่เหนืออาหาร มีสีเหลืองหรือสีม่วง ผนังขรุขระ ตั้งตรง ความยาว 400-600 ไมครอน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-4 ไมครอน ส่วนปลายแตกกิ่งก้านเหมือนเชื้อรา *Penicillium* แต่ลักษณะของก้านค่อนข้างทำมุมองศามากกว่า และสามารถแตกกิ่งก้านได้หลายชั้นกว่า กิ่งก้านชั้นที่อยู่ด้านล่างเรียกว่าเมททูเลย์ (metulae) และชั้นที่อยู่ปลายสุดซึ่งเป็นที่เกิดของสปอร์เรียกว่าไฟอะไลด์ (phialide) สปอร์รูปรี หัวท้ายแหลม จนถึงรูปคล้ายกระสวย ผนังเรียบหรือขรุขระเล็กน้อย ขนาด 2.5-3 x 2-2.5 ไมครอน

เป็นเชื้อราที่พบได้ทั่วไปในดิน รวมถึงดินทำเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกข้าวโพด ดินปลูกถั่วพุ่ม ดินปลูกมันสำปะหลัง และดินปลูกอ้อย ในเศษซากพืช ในเขตร้อนจะพบบนแมลง พบบนเมล็ดหญ้า ข้าวโพด หัวมันเทศ หญ้าแห้ง เชื้อราสามารถสร้างกรดอินทรีย์ และกรดอะมิโนบางชนิดได้ สร้างเอนไซม์ที่ย่อยสลายเพนโตแซน (pentosans) กลูแคน (glucans) ไคติน (chitin) และเคอราติน (keratin) ได้ เป็นราที่ทนร้อน และชอบอากาศร้อน (Thermototerant and Thermophillic) สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้ (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Penicillium citirinum

เชื้อราเจริญช้าบนอาหาร PDA โคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5-3 เซนติเมตร เมื่ออายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ผิวหน้าโคโลนีเรียบคล้ายกำมะหยี่ เส้นใยเจริญฝังอยู่ในอาหาร โคโลนีสีเขียว เมื่อแก่สีเขียวปนเทา ด้านใต้โคโลนีมีสีเหลืองอ่อน ก้านชูสปอร์มีผนังเรียบ ไม่มีสี แตกกิ่งก้านชั้นเดียว กลุ่มของ เมทูเลย์ (metulae) ที่ส่วนปลายของก้านชูสปอร์ทำมุมองศาค่อนข้างกว้าง สปอร์รูปร่างกลมหรือเกือบกลม ผนังเรียบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่ถึง 3 ไมครอน

เชื้อรานี้พบได้ในดินเกือบทุกชนิด ทั้งดินป่า ดินทำเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกข้าวโพด ดินปลูกงา ดินปลูกถั่วพุ่ม ดินปลูกปอแก้ว ดินปลูกมันสำปะหลัง และดินปลูกอ้อย นอกจากนี้ยังพบในดินทุ่งหญ้า ดินเค็ม และดินทะเลทราย พบบนใบไม้ เศษซากพืช และกระดาษ พบบนเมล็ดข้าว สาลีทั้งเมล็ดในไร่และเมล็ดในโรคเก็บ บนเมล็ดข้าวโพด เมล็ดข้าวฟ่าง ฝ้าย ฝักและเมล็ดของถั่วลิสง องุ่น มันเทศ ถั่วและธัญพืชต่างๆ เป็นต้น เป็นราชอบอุณหภูมิสูงปานกลาง ลักษณะการปนเปื้อนเป็นหย่อมสีเขียวตองอ่อน สีเหลืองอ่อนปนเขียน สีเทาอ่อนคล้ายฝุ่นเกาะ (นิยม, 2542; Domsch et al., 1989; Watanabe, 2002)

Penicillium oxalicum

เชื้อราเจริญช้าบนอาหาร PDA โคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 3-4 เซนติเมตร เมื่ออายุ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง มีสีเขียวปนเทา ด้านใต้โคโลนีมีสีเหลืองอ่อนอมส้มอ่อนๆ ก้านชูสปอร์เกิดจากเส้นใยที่ฝังอยู่ในอาหาร ผนังเรียบ ขนาด 100-200 x 3.5-4.5 ไมครอน ที่ส่วนปลายแตกกิ่งก้าน 1 ชั้น เมทูเลย์ ผิวหน้าโคโลนีเรียบคล้ายกำมะหยี่ เส้นใยเจริญฝังอยู่ในอาหาร โคโลนีสีเขียว เมื่อแก่สีเขียวปนเทา ด้านใต้โคโลนีมีสีเหลืองอ่อน ก้านชูสปอร์มีผนังเรียบ ไม่มีสี แตกกิ่งก้านชั้นเดียว กลุ่มของเมททูเลย์มีกลุ่มละ 2-3 อัน มีขนาด 15-20 ป 3.3-3.8 ไมครอน บางครั้งไม่แตกกิ่งก้าน ไฟอะไลด์เกิดเป็นกลุ่มบนก้านชูสปอร์โดยตรง ไฟอะไลด์รูปทรงกระบอก ส่วนปลายคอดลง สปอร์เกิดต่อกันเป็นลูกโซ่และมักจะเกาะติดกันแน่นเป็นแท่ง มีความยาว 500 ไมครอน สปอร์รูปร่างรี ผนังเรียบ ไม่มีสี หรือสีน้ำตาลอ่อนๆ ขนาด 4.5-6.5 x 3-4 ไมครอน

เชื้อรานี้พบแพร่กระจายทั่วไป พบในดินเกือบทุกชนิดแม้แต่ในดินเค็ม และดินทะเลทราย ดินป่า ดินทำเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกข้าวโพด พบในเศษซากพืช และยังพบบนใบของฝ้าย เมล็ดข้าว ข้าวโพด ข้าวสาลี เครื่องเทศ และถั่วลิสง พบได้เสมอบนข้าวโพดทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Penicillium sp.

เชื้อราเจริญค่อนข้างช้าบนอาหาร PDA โคโลนีมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 4-5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง โคโลนีสีเขียวอมเทา สร้างสปอร์ต่อกันเป็นลูกโซ่ ก้านชู

สปอร์ตั้งตรง ผนังเรียบ ไม่มีสี ส่วนปลายมีการแตกแขนงหลายชั้น ไม่แน่นอนตั้งแต่ 1 - 4 ชั้น ไฟอะไลด์เกิดเป็นกลุ่มๆ ละ 3-5 อัน สปอร์รูปรี รูปไข่ จนถึงเกือบกลม ผนังเรียบ

เชื้อรานี้พบในดินเกือบทุกชนิด ทั้งดินป่า ดินทำเกษตรกรรม เช่น ดินปลูกข้าวโพด ดินปลูกงา ดินปลูกถั่วพุ่ม ดินปลูกปอแก้ว ดินปลูกมันสำปะหลัง และดินปลูกอ้อย (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Watanabe, 2002)

Rhizopus sp.

เชื้อราเจริญเร็วมากบนอาหาร PDA โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร เมื่ออายุ 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง วันแรกเส้นใยสีขาว วันที่ 2 เริ่มสร้างสปอร์แรงเจียมกระจายทั่วไป และโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีเทา วันที่ 3 โคโลนีสีเข้มขึ้น หลังจากวันที่ 5 โคโลนีมีลักษณะคงที่ กลุ่มเส้นใยโปร่ง สีน้ำตาลปนเทา จากนั้นโคโลนียุบตัวลง ก้านชูสปอร์แรงเจียม (sporangiophore) สีน้ำตาล รูปร่างเรียวยาว ตั้งตรง ผิวเรียบ ส่วนโคนสีเข้ม ส่วนปลายจะมีสีอ่อนกว่า ความยาว 20-870 ไมครอน เส้นผ่าศูนย์กลาง 10-16 ไมครอน เกิดเป็นกลุ่มๆ ละ 1-5 อัน บนสโตลอน (stolon) บางครั้งอาจแตกแขนงเป็น 2 ก้าน สปอร์แรงเจียมรูปร่างกลม สีดำ ผนังเรียบ เส้นผ่าศูนย์กลาง 62-476 ไมครอน คอลัมเมลลาร์ (columella) รูปร่างกลม ผิวเรียบ สีน้ำตาลอ่อน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 40-80 ไมครอน สปอร์เกิดอยู่ในถุงสปอร์แรงเจียมเรียกว่าสปอร์แรงจิโอสปอร์ (sporangiospore) รูปไข่ หรือรูปรี สีน้ำตาล ไม่มีลายขีด มีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 8.1-10.4 x 4.5-6.5 ไมครอน ไรซอยด์ (rhizoid) เจริญดี แตกแขนงคล้ายรากพืช สีน้ำตาล ผนังเรียบ สโตลอนสีน้ำตาล ผนังเรียบ มีการสร้างคลามายโดสปอร์รูปร่างกลม รูปเกือบกลม หรือรูปไข่ ไม่มีสีจนถึงสีน้ำตาลอ่อน ผนังเรียบ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10.3-25.8 ไมครอน เกิดเดี่ยวๆ หรือต่อกันเป็นโซ่สั้นๆ อยู่ระหว่างเส้นใย

เชื้อราชนิดนี้ส่วนใหญ่เป็นราที่ดำรงชีวิตโดยอาศัยซากพืช หรือเข้าทำลายพืชหลังจากพืชตายแล้ว (saprophyte) พบได้ในดินทั่วไป มูลสัตว์ และเศษซากพืชหรือสัตว์ที่ย่อยสลายแล้ว นอกจากนั้นยังพบเจริญบนขนมปัง ผลไม้ เมล็ดธัญพืช และเมล็ดพืชที่เก็บรักษาไว้ (Domsch *et al*., 1989; Stamets *et al*., 1996; Watanabe, 2002)

Trichoderma harzianum

เชื้อราเจริญเร็วมากบนอาหาร PDA วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตรภายใน 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ผิวหน้าโคโลนีมีเส้นใยเจริญหนา ฟู บริเวณที่สร้างโคโลนีระยะแรกมีสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน จนกลายเป็นสีเขียวเข้มเมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้น เนื่องจากมีการสร้างสปอร์จำนวนมาก เชื้อรามีเส้นใยผนังเรียบ ไม่มีสี คลาไมโดสปอร์รูปร่างกลม ผนังเรียบ ไม่มีสี

ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-12 ไมครอน ก้านชูสปอร์หรือไฟอะไลด์แตกกิ่งก้านจำนวนมากมีขนาด 3-3.5 x 5-7.5 ไมครอน ปลายด้านหนึ่งตัด ผนังเรียบ สีเขียวอ่อน ขนาด 2.5-2.8 x 2.8-3.2 ไมครอน

เชื้อรานี้มีแหล่งอาศัยอยู่ในดินปลูกพืชที่มีเศษซากอินทรียวัตถุ ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบในดินปลูกพืชไร่ ดินสวน และดินป่า เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด งา ถั่วพุ่ม ปอแก้ว มันสำปะหลัง อ้อ ส้ม ทุเรียน จามจุรี ในดินไร่ จังหวัดชลบุรี จันทบุรี ตราด ปราจีนบุรี ดินสวน จังหวัดปราจีนบุรี ปละดินป่าจังหวัดชลบุรี ระยอง และปราจีนบุรี ในต่างประเทศก็มีรายงานว่าพบในดินปลูกพืชในหลายประเทศ เช่น อังกฤษ สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ อิตาลี อินเดีย ลิเบีย แอฟริกา และไนจีเรีย (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Rifai, 1969; Watanabe, 2002)

Trichoderma koningii

เชื้อราเจริญอย่างเร็วมากบนอาหาร PDA มีเส้นใยหนาแน่น วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีได้ 9 เซนติเมตรภายในเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ระยะแรกโคโลนีมีสีขาว ต่อมาบริเสณที่มีการสร้างสปอร์จะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้มเมื่อมีอายุมากขึ้น เส้นใยไม่มีสี ขนาดกว้าง 2-10 ไมครอน ผนังเรียบ คลาไมโดสปอร์รูปร่างกลมหรือรี มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12-14 ไมครอน ก้านชูสปอร์หรือไฟอะไลด์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 ไมครอน มีการแตกกิ่งก้านขนาด 2.5-3.5 x 7-12 ไมครอน จำนวนมาก สปอร์รูปร่างรี เกือบเป็นรูปทรงกระบอก และปลายด้านหนึ่งตัดตรง ส่วนอีกด้านหนึ่งโค้งมนขนาด 1.9-2.9 x 3-4.8 ไมครอน ผนังเรียบ มีสีเขียวอ่อนจนถึงสีเขียวแก่

เชื้อรานี้มีแหล่งอาศัยเชื้อราอยู่ในดินปลูกพืชที่มีเศษซากอินทรียวัตถุ ในประเทศไทยมีรายงานว่าพบในดินปลูกพืชไร่ ดินสวน และดินป่า นอกจากนี้ยังเคยพบบริเวณรากส้ม และดินปลูกมะม่วงหิมพานต์ เชื้อรานี้ยังพบในดินหลายประเทศ เช่น นอร์เวย์ โปแลนด์ รัสเซีย ฝรั่งเศส เยอรมัน ออสเตรเลีย อิตาลี เวคโกสโลวาเกีย ยูโกสลาเวีย สเปน แคนาดา สหรัฐอเมริกา ชิลี ตุรกี ซีเรีย อิสราเอล จีน ญี่ปุ่น อินเดีย ปากีสถาน นิวซีแลนด์ ชาด และทะเลทรายซะฮารา (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Rifai, 1969; Watanabe, 2002)

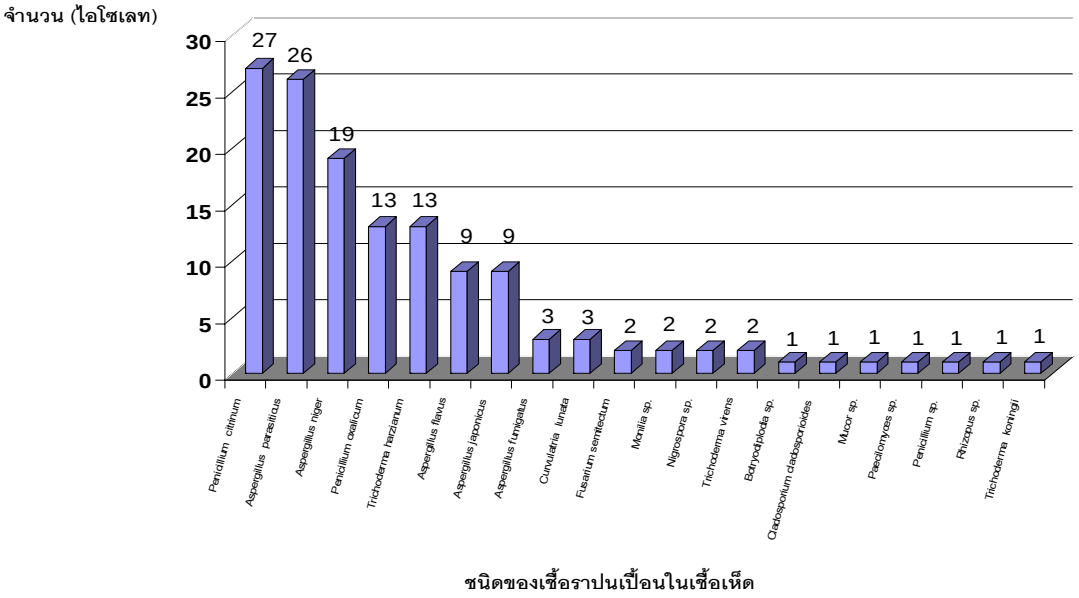
Trichoderma virens

เชื้อราเจริญเร็วบนอาหาร PDA มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร เมื่ออายุได้ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ระยะแรกโคโลนีมีสีขาว เมื่อมีอายุได้ 2 วัน เริ่มสร้างสปอร์เมื่อมีอายุมากขึ้นสร้างสปอร์สีเขียวอย่างหนาแน่น ทำให้โคโลนีมีสีเขียวปนเหลือง จนถึงเขียวเข้ม เชื้อราสร้างสปอร์เป็นกลุ่มเมือกสีเขียวที่ส่วนปลายของไฟอะไลด์ ก้านชูสปอร์มีลักษณะแตกกิ่งก้านน้อย ไฟอะไลด์ขนาดใหญ่เกิดชิดติดกันเป็นกลุ่ม ขนาด 3.5-4.5 x 7.5-11.6 ไมครอน สปอร์รูปไข่ หรือค่อนข้างยาวสีเขียว ผนังเรียบ ขนาด 4.5-6.0 x 3.5-4.0 ไมครอน เชื้อราสร้างคลาไมโดสปอร์รูปร่าง

กลม รูปไข่ รูปรี หรือค่อนข้างยาว ผนังหนา ไม่มีสี เกิดเดี่ยวๆ อยู่ระหว่างเส้นใยหรือปลายของเส้นใย

เชื้อรานี้มีแหล่งอาศัยเชื้อราอยู่ในดินทั่วไป ทั้งดินป่า ดินที่ทำการเกษตร เช่น ดินที่ปลูกข้าวโพด งา ถั่วพุ่ม ปอแก้ว มันสำปะหลัง และอ้อย บนกิ่งไม่ที่อยู่ตามพื้นดิน และยังพบในรากของสตรอเบอรี่ ทั้งที่เป็นรากปกติ และรากที่แสดงอาการของโรค (นิยม, 2542; Domsch *et al*., 1989; Rifai, 1969; Watanabe, 2002)

การจำแนกชนิดเชื้อราที่ปนเปื้อนในเชื้อเห็ดที่ได้จากสำรวจและเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550 จำนวน 137 ไอโซเลท ได้ 20 ชนิด (species) ทำให้ทราบว่าสัดส่วนจำนวนของไอโซเลทเชื้อราแต่ละชนิดที่พบมีมากน้อยแตกต่างกัน โดยเชื้อรา *P. citrinum* และ *A. parasiticus* มีการพบในเชื้อเห็ด 27 และ 26 ไอโซเลท จากจำนวนทั้งหมด 137 ไอโซเลท หรือคิดเป็น 19.70 และ 18.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน เชื้อรา *A. niger*, *P. oxalicum, T. harzianum*, *A. flavus, A. japonicus, A. fumigatus, Curvulatria lunata, F. semitectum*, *Monilia* sp., *Nigrospora* sp., *T. virens, Botryodiplodia* sp., *Cladosporium cladosporioides, Mucor* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., และ *T. koningii* มีการพบในเชื้อเห็ด 19, 13, 13, 9, 9, 3, 3, 2, 2, 2, 2, 1, 1, 1, 1, 1, 1 และ 1 ไอโซเลท หรือ คิดเป็น 13.87, 9.49, 9.49, 6.57, 6.57, 2.19, 2.19, 1.46, 1.46, 1.46, 1.46, 0.73, 0.73, 0.73, 0.73, 0.73, 0.73 และ 0.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างในงานทดลองนี้เชื้อรา *P. citrinum* และ *A. Parasiticus* เป็นเชื้อราที่พบมากหรือมีการแพร่กระจายได้มากกว่าเชื้อราชนิดอื่น ๆ ส่วนเชื้อราอีก 18 ชนิด มีการพบน้อยหรือมีการแพร่กระจายน้อยลงไปตามสัดส่วนของเปอร์เซ็นต์จำนวนไอโซเลทที่พบปนเปื้อนในเชื้อเห็ด (ภาพที่ 3) โดยพื้นที่ที่ได้ทำการเก็บตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อน ชนิดของเชื้อเห็ดที่พบการปนเปื้อน ชนิดของเชื้อราปนเปื้อนที่พบทำความเสียหายในแต่ละพื้นที่ จำนวนไอโซเลท และระดับความเสียหายจากการปนเปื้อนของเชื้อรา จากการสุ่มเก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2550 แสดงไว้ในตารางที่ 1 (ภาคผนวก)



<u>ภาพที่ 3</u> แสดงชนิด และจำนวนไอโซเลทของเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ดจำนวน 20 ชนิด (species) จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างจำนวน 137 ไอโซเลท ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550

3. <u>การสืบค้นข้อมูลทางชีววิทยา และแหล่งแพร่กระจายของเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อเห็ด</u>

เชื้อราทุกชนิดที่พบปนเปื้อนในเชื้อเห็ดเป็นเชื้อราที่มีแหล่งอาศัยตามในดิน เมล็ดพืช วัสดุเกษตร อาหาร ขี้เลื่อย ซากอินทรีย์วัตถุ วัสดุที่มีความชื้น รวมทั้งวัสดุที่ใช้ในการเพาะและทำเชื้อเห็ด ดิน เศษซากไม้ วัสดุที่มีความชื้น รวมทั้งขี้เลื่อยและวัสดุที่ใช้ในการเพาะและทำเชื้อเห็ด จากการรวบรวมข้อมูลจากเอกสารของประไพรศรี (2539, 2540 และ 2543) และ อภิรัชต์ (2544) สามารถสรุปถึงสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนจากเชื้อราได้ ดังนี้

1. <u>เทคนิคการนึ่งฆ่าเชื้อไม่ถูกต้อง</u>

การใช้หม้อนึ่งลูกทุ่ง (ถัง 200 ลิตร) หรือหม้อนึ่งที่ทำขึ้นเอง ถึงแม้มีปุ่มปรับความดันและเทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิติดที่ตัวหม้อนึ่ง แต่มักมีการรั่วของไอน้ำตามรอยต่อ เป็นเหตุให้ความดันไม่ถึง 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิไม่ถึง 121 องศาเซลเซียส ในช่วงเวลา 20 นาที สำหรับนึ่งอาหารวุ้น หรือเวลา 30 นาที สำหรับนึ่งข้าวฟ่าง ซึ่งเป็นการนึ่งฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลเซชัน (sterilization) ที่เหมาะสมสำหรับฆ่าเชื้อราหรือเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัสดุเลี้ยงเชื้อเห็ด ดังนั้นการนึ่งฆ่าเชื้ออาหารวุ้นหรือข้าวฟ่างสำหรับเลี้ยงเชื้อเห็ด ต้องใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่เรียกว่า ออโตเคลฟ (autoclave) จึงสามารถรักษาความดันไอน้ำให้อยู่ที่ระดับ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ตามระยะเวลาที่กำหนดได้ และควรใช้กระดาษหุ้มจุกสำลี

แล้วรัดด้วยยางรัด ป้องกันจุกสำลีเปียกชื้น ซึ่งเกิดจาก เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อเสร็จหรือปิดหม้อนึ่งแล้ว ความดันภายในหม้อนึ่งจะลดลง ขณะความดันลดลง ไอน้ำบางส่วนจะกลายเป็นหยดน้ำเกาะที่จุกสำลี จนจุกสำลีเปียก ทำให้เชื้อราที่อยู่ในอากาศตกลงมาบนสำลีแล้วเจริญงอกเส้นใยลุกลามไปปนเปื้อนที่ปากขวดได้

2. <u>การปฏิบัติงานย้ายเชื้อหรือต่อเชื้อขาดเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique)</u>

การย้ายเชื้อเห็ดต้องปฏิบัติงานด้วยเทคนิคการปลอดเชื้อ โดยเริ่มตั้งแต่ การเตรียมสถานที่เป็นห้องที่ปิดมิดชิด ไม่มีลมพัดผ่าน การทำความสะอาดห้องย้ายเชื้อให้สะอาดปราศฝุ่นผง หรือเศษวัสดุ หรือขยะที่เป็นแหล่งอาศัยของเชื้อราปนเปื้อน การใช้เอธิลแอลกอฮอล์ 70% ทำความสะอาดพื้นผิวตู้ย้ายเชื้อ การลนไฟฆ่าเชื้ออุปกรณ์ที่ใช้ในเลี้ยงเนื้อเยื่อเห็ดหรือการย้ายเชื้อเห็ด นอกจากนั้นเมื่อนำแม่เชื้อหรือเชื้อเห็ดในวุ้นมาขยายในเมล็ดข้าวฟ่าง ควรตรวจสอบดูว่าไม่มีเชื้ออื่นปนเปื้อน เมื่อถ่ายเชื้อเห็ดลงในข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ถ้ายังพบเชื้อปนเปื้อนเกิดขึ้น ไม่ควรนำเชื้อเห็ดดังกล่าวมาเลี้ยงต่อ ซึ่งลักษณะที่เกิดขึ้นมีดังนี้

2.1 ถ้าเชื้อราเกิดที่ผิวเมล็ดข้าวฟ่างส่วนที่อยู่ด้านบนของขวด แสดงว่ามีเชื้อราตกลงไปในขวดขณะเขี่ยเชื้อ หรือเปิดขวดกว้างเกินไป หรือหายใจแรง หรือพูดคุยกันขณะเขี่ยเชื้อ

2.2 ถ้าเชื้อราเกิดที่ข้าวฟ่างกลางขวด แสดงว่าลนไฟฆ่าเชื้อที่เข็มเขี่ยไม่ดี เข็มเขี่ยไม่สะอาด หรือมีเชื้อราปนเปื้อนในเชื้อวุ้น

2.3 ถ้าเชื้อราเกิดที่จุกสำลี แล้วลามลงไปที่เมล็ดข้าวฟ่าง แสดงว่าจุกสำลีเปียก หรือปากขวดเปื้อนขณะกรอกเมล็ดใส่ขวด หรือ ไม่ได้ล้างมือให้สะอาดก่อนการถ่ายเชื้อ

2.4 ถ้าเชื้อทุกๆ ขวดเสีย แสดงว่าแม่เชื้อในวุ้นมีเชื้อปนเปื้อน

2.5 ถ้าก้นขวดมีสีขาวขุ่น แสดงว่าไม่ได้คัดเลือกเมล็ดข้าวฟ่างก่อนการต้ม อาจมีเมล็ดแตกปนอยู่ เมื่อต้มข้าวฟ่างนานเกินไป เมล็ดข้าวฟ่างจึงแตกและแฉะ ทำให้หลังจากนั้นมีเชื้อแบคทีเรียเกิดขึ้น และในที่สุดเมล็ดข้าวฟ่างเน่าทั้งหมด

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บตัวอย่างเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่างที่พบเชื้อราปนเปื้อนจากฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดเป็นการค้าในพื้นที่ 15 อำเภอ ใน 10 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ ตาก นครนายก นครปฐม พัทลุง เพชรบุรี ราชบุรี สงขลา และอุดรธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550 สามารถแยกเชื้อราปนเปื้อนได้ 137 ไอโซเลท ซึ่งจำแนกออกเป็น 12 สกุล (genus) ได้แก่ *Aspergillus* (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. japonicus*, *A. niger* และ *A. parasiticus*) *Botryodiplodia*, *Cladosporium* (*Cladosporium cladosporioides*), *Curvularia* (*Curvularia*

lunata), *Fusarium* (*Fusarium semitectum*), *Monilia* (*Neurospora*), *Mucor*, *Nigrospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium* (*Penicillium citrinum*, *P. oxalicum* และ *Penicillium* sp.), *Rhizopus*, และ *Trichoderma* (*Trichoderma harzianum*, *T. koningii* และ *T. virens*) โดยเชื้อราทั้ง 12 สกุลจำแนกเป็นชนิดที่แตกต่างกันได้ 20 ชนิด (species) ในจำนวนเชื้อราปนเปื้อนที่จำแนกเป็น 20 ชนิด พบว่าเชื้อรา *P. citrinum* และ *A. parasiticus* เป็นเชื้อราที่มีการแพร่กระจายมากกว่าเชื้อราชนิดอื่น เชื้อราปนเปื้อนทั้งหมดที่เก็บรวบรวมได้เป็นเชื้อราที่มีแหล่งอาศัยในดิน เมล็ดพืช อาหาร ขี้เลื่อย เศษซากอินทรีย์วัตถุ วัสดุที่มีความชื้น รวมทั้งวัสดุที่ใช้ในการเพาะและทำเชื้อเห็ด เชื้อราแพร่กระจายโดยการอาศัยสปอร์หรือสปอร์ปลิวกระจายไปตามลม น้ำ และติดไปกับวัสดุอุปกรณ์ในการผลิตเชื้อเห็ด

การนึ่งฆ่าเชื้อในวัสดุเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการและความร้อนไม่เหมาะสม หรือการไม่ทำความสะอาดบริเวณพื้นที่การผลิตเชื้อเห็ด เป็นสาเหตุหลักทำให้เกิดการปนเปื้อนทั้งในการเลี้ยงเชื้อเห็ดในอาหารวุ้นและการเลี้ยงเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง การประเมินความเสียหายจากเชื้อราปนเปื้อนในฟาร์มผลิตเชื้อเห็ดต่าง ๆ ที่ได้ทำการเก็บตัวอย่าง พบว่ามีระดับความเสียหายมีตั้งแต่ 5 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ในการผลิตเชื้อเห็ด ผู้ผลิตเชื้อเห็ดต้องคำนึงถึงความสะอาดและระมัดระวังเรื่องการเกิดปัญหาเชื้อราปนเปื้อนในทุก ๆ ขั้นตอน ตั้งแต่การคัดเลือกแม่เชื้อเห็ดในอาหารวุ้น และวิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ด การนึ่งฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด การถ่ายเชื้อ การบ่มเชื้อ ตลอดจนการขนส่งเชื้อเห็ดให้แก่เกษตรกรผู้นำเชื้อเห็ดไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นิยม สุดเพราะ. 2542. ความหลากหลายของราดินและราโรคพืชในดินปลูกพืชไร่จังหวัดสกลนคร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 321 หน้า.

ประไพรศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2539. เชื้อเห็ด. หน้า 5-14 ใน เห็ดไทย 2539. ชมรมถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร. กรุงเทพฯ.

_____. 2540. การปนเปื้อนของหัวเชื้อเห็ด. จดหมายข่าวเพื่อชาวฟาร์มเห็ด 6(10): 10-13.

_____. 2543. การปนเปื้อนของหัวเชื้อเห็ด. หน้า 57-62 ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การทำเชื้อเห็ด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. จ.นครปฐม.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2544. การปนเปื้อนของหัวเชื้อเห็ด. หน้า 57-63 ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การทำเชื้อเห็ด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

CABI. 2005. Compendium of Plant Pests. CABI Bioscience UK. www.cabi-bioscience.org.

Domsch, K.H., W. Gams and T.H. Anderson. 1989. Compendium of Soil Fungi. Vol. 1. 2nd ed. Academic Press. London. 859 p.

Rifai, M. A. 1969. A Revision of The Genus *Trichoderma*. Mycological Papers No. 116. Herbarium Bogoriensc. Bogor. Java. Indodesia. 56 p.

Stamets, P. and J.S. Chiton. 1996. The contaminants of mushroom culture. pp. 233-317 in The Mushroom Cultivator, A Practical Guide to Growing Mushrooms at Home. Agarikon Press. Olympia. Washington.

Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi : Morphologies of Cultured Fungi and Key to Specids. 2nd ed. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 486 p.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 แสดงสถานที่เก็บตัวอย่าง จำนวนตัวอย่าง ชนิดเชื้อเห็ด ชนิดเชื้อราปนเปื้อนที่พบ จำนวนไอโซเลท และระดับความเสียหายจากเชื้อราปนเปื้อน จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อราปนเปื้อน จำนวน 137 ไอโซเลท ระหว่างเดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2550

สถานที่	* จำนวนตัวอย่าง	เชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง	เชื้อราปนเปื้อน	จำนวน (ไอโซเลท)	**ระดับความเสียหาย (%)
อ.บ้านนา จ.นครนายก	3	เห็ดยานางิ	*Trichoderma harzianum*	2	5
			T. koningii	1	
อ.เมือง จ.นครปฐม	14	เชื้อเห็ดภูฏาน	*Aspergillus flavus*	2	15
			A. japonicus	2	
			A. niger	2	
			A. parasiticus	1	
			Penicillium citrinum	2	
		เชื้อเห็ดหูหนู	*A. flavus*	1	15
			A. parasiticus	2	
		เชื้อเห็ดขอนขาว	*A. fumigatus*	1	15
			Penicillium sp.	1	
อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี	19	เชื้อเห็ดนางรม	*A. niger*	2	15
			A. parasiticus	1	
			Curvularia lunata	1	
			Fusarium semitectum	1	
			Mucor sp.	1	
			Nigrospora sp.	1	
			Paecilomyces sp.	1	
			P. citrinum	3	
			T. harzianum	1	
		เชื้อเห็ดขอนขาว	*A. niger*	1	15
			A. parasiticus	1	
			Rhizopus sp.	1	
		เชื้อเห็ดยานางิ	*A. parasiticus*	1	15
อ.หนองหญ้าปล้อง จ.เพชรบุรี		เชื้อเห็ดเป๋าฮื้อญี่ปุ่น	*A. niger*	1	15
			P. citrinum	1	
			T. harzianum	1	

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สถานที่	* จำนวนตัวอย่าง	เชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่าง	เชื้อราปนเปื้อน	จำนวน (ไอโซเลท)	**ระดับความเสียหาย (%)
อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	15	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. flavus*	2	10
			A. fumigatus	1	
			A. niger	2	
			A. parasiticus	2	
			P. citrinum	2	
			P. oxalicum	3	
			T. harzianum	2	
			T. virens	1	
อ.โพธาราม จ.ราชบุรี	13	เชื้อเห็ดหูหนู	*A. parasiticus*	3	20
			P. citrinum	2	
			T. harzianum	1	
			Monilia sp.	1	
			Nigrospora sp.	1	
		เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*Curvularia lunata*	2	20
			P. citrinum	1	
			P. oxalicum	1	
			F. semitectum	1	
อ.บ้านบึง จ.ราชบุรี	10	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. flavus*	1	15
			A. fumigatus	1	
			A. niger	2	
			A. parasiticus	2	
			P. citrinum	4	
อ.บางแพ จ.ราชบุรี	25	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. japonicus*	3	10
			A. niger	3	
			A. parasiticus	6	
			P. citrinum	7	
			P. oxalicum	3	
			T. harzianum	3	
อ.เมือง จ.อุดรธานี	3	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. niger*	2	5
			A. parasiticus	1	

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สถานที่	* จำนวนตัวอย่าง	เชื้อเห็ดในเมล็ดข้างฟาง	เชื้อราปนเปื้อน	จำนวน (ไอโซเลท)	**ระดับความเสียหาย (%)
อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย	4	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. parasiticus*	2	5
			T. virens	1	
			P. oxalicum	1	
อ.ส้นทราย จ.เชียงใหม่	7	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. japonicus*	2	5
			A. niger	2	
			T. harzianum	1	
			P. oxalicum	2	
อ.แม่สอด จ.ตาก	4	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. flavus*	2	10
			P. citrinum	2	
อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา	7	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. niger*	1	15
			A. parasiticus	1	
			T. harzianum	2	
			P. oxalicum	2	
			Cladosporium cladosporioides	1	
อ.รัฐภูมิ จ.สงขลา	4	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. flavus*	1	10
			A. parasiticus	2	
			P. citrinum	1	
อ.บางแก้ว จ.พัทลุง	6	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. niger*	3	5
			P. citrinum	1	
			Botryodiplodia sp.	1	
			Monilia sp.	1	
อ.ควนขนุน จ.พัทลุง	3	เชื้อเห็ดสกุลนางรม	*A. parasiticus*	1	5
			P. citrinum	1	
			T. virens	1	

หมายเหตุ * จำนวนตัวอย่าง หมายถึง จำนวนขวดเชื้อเห็ดที่เลี้ยงขวดเมล็ดข้าวฟ่างซึ่งพบเชื้อราปนเปื้อน

** ระดับความเสียหาย (%) หมายถึง ร้อยละของขวดเชื้อเห็ดในเมล็ดข้าวฟ่างที่พบเชื้อราปนเปื้อนในวันที่ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่าง

ทดสอบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดเพื่อใช้เป็นพันธุ์การค้า

Researching on *Macrocybe crassum* Strains for the Commercial Use

อัจฉรา พยัพพานนท์ [1/]นันทินี ศรีจุมปา
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[1/]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

บทคัดย่อ

เห็ดตีนแรด เป็นอาหารของมนุษย์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีสรรพคุณทางยา สามารถจะส่งเสริมให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจ ที่มีความปลอดภัยสูงจากสารเคมีได้ แต่ปัจจุบันขาดแคลนเชื้อพันธุ์ที่จะนำไปใช้เป็นเชื้อขยาย ด้วยเชื้อเห็ดตีนแรดที่เหมาะสมแต่ละพื้นที่ ยังไม่มีบริการ จึงได้ทำการสำรวจ รวบรวม คัดเลือก เห็ดชนิดนี้จากที่ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติพร้อมทดสอบประสิทธิภาพการผลิตไประดับหนึ่งเมื่อปีพ.ศ. 2549-2550 ด้วยการเจริญเติบโตให้ผลผลิตของสายพันธุ์เห็ดตีนแรดจะขึ้นกับสภาพแวดล้อมโดยดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กทม. และที่ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพานอันเนื่องมาจากพระราชดำริจังหวัดสกลนคร ระยะเวลาระหว่าง ตุลาคม 2550- กันยายน 2551.

ผล การทดสอบเพาะเห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์ พบว่า เห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-7และ DOA-10 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตได้ดีทุกฤดูทั้งที่ สกลนครและกรุงเทพมหานคร

ส่วนน้ำใสเลี้ยงเส้นใยเห็ดตีนแรด สายพันธุ์ DOA-1, DOA-2, DOA-3, DOA-4และ DOA-5 เมื่อทดสอบปฏิกิริยาการเจริญของ จุลินทรีย์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรีย *Acidovorax avenae*

sub sp.citrulli, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* รวมทั้งเชื้อ *Salmonella* sp.และ *Escherichia coli.*

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-02-01-02-51

คำนำ

เห็ดตีนแรด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tricholoma crassum* (Berk.) sacc.ซึ่งปัจจุบันใช้ *Macrocybe crassum* เป็นเห็ดที่พบได้ทุกภาคของประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้านใกล้เคียง และได้มีการพัฒนาการเพาะเรื่อยมา (พันธุ์ทวี และคณะ, 2519, ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ, 2519) ทั้งภาครัฐและเอกชน (ปรีชา ลิ่มไชยฤกษ์, 2540) จนปัจจุบันจะมีการเพาะเห็ดตีนแรด ตามรายงานของพิมพ์กานต์ และคณะ (2529) เพาะเห็ดตีนแรดในถุงพลาสติกและใส่ตะกร้าแล้วกลบดินให้ผลผลิต 800 กรัม/ถุง/ 3 เดือน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 30°ซ ความชื้น 80-90% และเพาะเลี้ยงในแปลงเพาะโดยนำก้อนเชื้อที่เส้นใยเดินเต็มฝังลงในดินกลบดินหนา 2 นิ้ว เพาะพร้อมปลูกผัก เห็ดจะออกดอกหลังจาก 20-40 วัน ที่ฝังก้อน ได้ผลผลิตประมาณ 100-200 กรัม/ก้อน

T. gambosum และ *T. Matsutake* ว่ามีสารที่มีผลต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็ง, ควบคุมระบบการหมุนเวียนของโลหิต, ลดไข้ และอื่น ๆ (Saosong *etal* , 2003) อัจฉรา (2549) ได้รายงานว่าดอกเห็ดตีนแรดมีสาร ซีลีเนียม (Selenium - Se) อยู่ระหว่าง35 -180 ไมโครกรัม ต่อ ดอกเห็ด1 กิโลกรัม ซึ่ง ซีลีเนียมนี้สามารถป้องกันลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก เห็ดตีนแรดสามารถเก็บรักษาความสดไว้ที่อุณหภูมิ 20-24 °ซได้ไม่น้อยกว่า 10 วัน และคงให้คุณค่าทางโภชนาการไม่แตกต่างจากวันแรกที่เก็บ มีแนวโน้มเป็นเห็ดเมืองร้อนชนิดสามารถ เก็บรักษาไว้จำหน่ายสดได้ยาวนานกว่าเห็ดอื่นๆ ทั้งในประเทศและต่างประเทศ ดังนั้นแล้วเห็ดตีนแรดซึ่งเกิดมีอยู่ในประเทศไทยทั่วไปย่อมมีความหลากหลาย ตามสิ่งแวดล้อมหรือทางพันธุกรรม นับเป็นผลดี ต่อการวบรวมคัดเลือก เพื่อนำมาขยายให้เป็นประโยชน์กับองค์การต่าง ๆ วัตถุประสงค์ในการศึกษา เพื่อให้ได้พันธุ์เห็ดตีนแรดแนะนำที่เหมาะสมกับการเพาะในแต่ละพื้นที่และฤดูกาลที่ให้ผลผลิตสูง มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์โรคพืช และมีลักษณะตามความต้องการของตลาดไว้เป็นเชื้อพันธุ์บริการ และใช้ปรับปรุงพันธุ์ต่อไปรวมทั้ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด พีดีเอ อาหารเลี้ยงแบคทีเรีย

2 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ จานแก้ว หลอดแก้ว ไมโครไปเปต เครื่องปั่นผสม

3 วัสดุสำหรับใช้ในการเพาะเห็ดตีนแรดได้แก่ ฟางข้าว มูลสัตว์ ดิน ถุงพลาสติกทนร้อน ตะกร้าพลาสติก

4 หม้อนึ่งอัดความดัน หม้อนึ่งไม่อัดความดัน โรงเรือนเปิดดอก

วิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดดอกเห็ด

ศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะใน ฤดูหนาว ฤดูร้อนและ ฤดูฝน

1.1 เตรียม ก้อนอาหารเพาะ

สูตร ฟางข้าว : มูลวัว :รำละเอียด : ปูนขาว ในอัตราส่วน 100: 25 : 5 :1 โดยน้ำหนัก บรรจุถุงละ 800 กรัม เป็นก้อนอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ในหม้อนึ่งชนิดไม่อัดความดันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ใส่เชื้อเห็ด 10 สายพันธุ์ที่เลี้ยงอยู่ในเมล็ดข้าวฟ่าง

1.2 การเปิดดอก

1.2.1 เมื่อเส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าว ย้ายถุงก้อนเชื้อไปเปิดให้เกิดดอกโดยเปลือยถุงลงตะกร้า จำนวน 10 ก้อน/ตะกร้า และปิดหน้าก้อนเชื้อด้วยดิน ที่นึ่งด้วยความร้อน100°ซ นาน 2 ชั่วโมง ให้เกิดดอกใน โรงเรือนสภาพธรรมชาติ ที่ศูนย์ ศึกษาการพัฒนาภูพาน จังหวัดสกลนคร

1.2.2 เมื่อเส้นใยเจริญ เต็มก้อนอาหารฟางข้าว ย้ายถุงก้อนเชื้อไปเปิดให้เกิดดอกโดยเปิดปากถุงแล้วปิดหน้าก้อนเชื้อแต่ละถุงด้วยดินที่นึ่งด้วยความร้อน100°ซ นาน 2 ชั่วโมง ให้เกิดดอกในโรงเรือนสภาพธรรมชาติ กำหนดสายพันธุ์ ละ 50 ซ้ำ (ถุง) ที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร

วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 กรรมวิธี (เห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์)

2.วิเคราะห์ คุณค่าทางโภชนาการของดอกเห็ดตีนแรด

ดอกเห็ดตีนแรดสดที่เกิดจากการเพาะ 2 สายพันธุ์ ส่งวิเคราะห์ หาคุณค่าทางโภชนาการ อายุเก็บรักษาที่ 0 , 10 และ 80วัน เก็บไว้ที่ห้อง อุณหภูมิ 22-24°ซ โดยส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร (LCFA)

3.ทดสอบเห็ดตีนแรดต่อปฏิกิริยาของจุลินทรีย์

เตรียมเชื้อเห็ดตีนแรด บนอาหารพีดีเอและเลี้ยงเส้นใยในอาหารเหลว เก็บส่วนน้ำใส ทดสอบปฏิกิริยาการเจริญของเชื้อ จุลินทรีย์

เวลาและสถานที่: ตุลาคม 2550 - กันยายน 2552

: กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

: ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพานอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดสกลนคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดดอกเห็ด

ผลศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะในฤดูร้อน ฤดูฝน และ ฤดูหนาว

2.1 ดำเนินการที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพาน จ. สกลนคร ระหว่าง กรกฎาคม-พฤศจิกายน 2550

เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมัก ภายใน 60 วัน (ก.ค.-ก.ย. 2550) และเกิดดอกช่วง ตค-พ.ย.2550 ทั้ง10 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 124.63 -243.25 กรัมต่อถุงเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-4,DOA-5, DOA6 และDOA-7ให้ผลผลิตสูงระหว่าง 186.0-243.25 กรัมต่อถุง สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1)

2.2 ดำเนินการที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพาน จ. สกลนคร ระหว่าง มีนาคม- สิงหาคม 2551

เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมักภายใน 65-70 วัน เกิดดอกและเก็บผลผลิตได้ช่วง มิ.ย.-ส.ค. 2551 เห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-1,DOA-3,DOA-5, DOA7 และ DOA-10 ให้ผลผลิตระหว่าง 37.33-119.0 กรัมต่อถุง (ตารางที่1) ช่วงฤดูร้อน-ฝน ให้ผลผลิตลดลง กว่าเพาะช่วงฤดูฝน-ต้นฤดูหนาว แต่สายพันธุ์ DOA-3 ไม่ต่างกัน ทั้งฤดูร้อน-ฝน และ ฤดูฝน-ต้นหนาว

2.3 ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กทม. ระหว่างตุลาคม 2550-มกราคม2551 ซึ่งเส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมักภายใน 60 วัน ทั้ง10 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 63 -234.75 กรัมต่อถุง (ธ.ค.2550-ม.ค.2551) โดยสายพันธุ์ DOA-1 ให้ผลผลิต 234.75 กรัมต่อถุง สูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) รองลงมาได้แก่ DOA-7 และ DOA-5 ส่วน DOA-3 คงให้ ผลผลิตไม่ต่างกับการเพาะที่ สกลนคร แม้จะต่างฤดู

2.4ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กทม.ระหว่างมกราคม-มีนาคม 2551 ผลการทดสอบ 5 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 23.38 -76.88 กรัมต่อถุง โดยสายพันธุ์ DOA-6,DOA-7และ DOA-10ให้ผลผลิต 76.88-71.85 กรัมต่อถุง สูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) ส่วน DOA-3 ให้ผลผลิตลดลง

2.5 ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กทม.ระหว่างเมษายน-มิถุนายน 2551 ผลการทดสอบ 5 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 48.38-90.38 กรัมต่อถุง โดยสายพันธุ์ DOA-6,DOA-7และ DOA-10 ให้ผลผลิต 76.88-71.85 กรัมต่อถุง สูงกว่าสายพันธุ์อื่น (ตารางที่ 1)

2.6 ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืชสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชกทม.ระหว่างกรกฎาคม-สิงหาคม 2551 พบว่า สายพันธุ์ DOA-4,DOA-7และ DOA-10ให้ผลผลิตระหว่าง88-130กรัมต่อถุง สูงกว่าสายพันธุ์อื่น (ตารางที่ 1)

กล่าวได้ว่า เห็ดตีนแรดสายพันธุ์DOA-7และ DOA-10 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตได้ดีทุกฤดูทั้งที่สกลนครและกรุงเทพมหานคร

2.เปรียบเทียบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดต่อการเกิดดอก

เห็ดตีนแรด 10สายพันธุ์ เพาะที่ จ.สกลนครระหว่าง กรกฎาคม-พฤศจิกายน 2550 พบว่าสายพันธุ์ DOA-1, DOA-4 และ DOA-10 จัดเป็นเห็ดมีขนาดของก้านเล็ก เรียว ก้านป้อม สั้น และหมวกเล็ก น.น. ดอกเฉลี่ย 15-16กรัม ต่อดอก ส่วนสายพันธุ์ DOA-9 ดอกเห็ดจะมีขนาดใหญ่ น.น. ดอกเฉลี่ย 55.548 กรัม ต่อดอก (ตารางที่ 2)

3. ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการเห็ดตีนแรด ที่อายุเก็บรักษาต่างกัน

ผลการวิเคราะห์ ดอกเห็ดตีนแรดสดสายพันธุ์ DOA-9 มีปริมาณน้ำตาล 4.28 g/100g สูงกว่า DOA-10 ซึ่งมีอยู่ 2.02 g/100g แต่ DOA-10 มี โปรตีน เหล็ก และ แคลเซี่ยมสูงกว่าสายพันธุ์ DOA-9

ผลการ วิเคราะห์ ดอกเห็ดตีนแรดที่เก็บรักษาไว้นาน 10 วัน ณ อุณหภูมิ 22-24 ^{O}ซ ทั้งสายพันธุ์ DOA-9 และ DOA-10 พบว่า น้ำตาล แคลเซี่ยม และ เยื่อใย (Dietary Fiber)มีปริมาณเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3,4)

ผลการ วิเคราะห์ ดอกเห็ดตีนแรดที่เก็บรักษาไว้นาน 80 วัน ณ อุณหภูมิ 22-24 ^{O}ซ พบว่ามีโปรตีน4.49 g/100g แต่น้ำตาลมีเพียง0.58 g/100g ความชื้น 84.05 g/100g (ตารางที่ 5)

4. ผลการทดสอบปฏิกิริยาระหว่างสารจากสายพันธุ์เห็ดตีนแรด และแบคทีเรีย

จากการเลี้ยงเชื้อเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆในอาหารเหลว พบว่าส่วนน้ำใสในอาหารเหลวของสายพันธุ์ DOA-1, DOA-2, DOA-3, DOA-4และ DOA-5 เมื่อทดสอบปฏิกิริยาการเจริญของ จุลินทรีย์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของรา 2 ตัวอย่าง แบคทีเรีย *Acidovorax avenae* sub sp.citrulli, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* สาเหตุโรคพืช 3 ตัวอย่าง (ภาพที่ 1) รวมทั้งเชื้อ *Salmonella* sp. *Escherichia coli.*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากพันธุ์เห็ดตีนแรดที่ผ่านการคัดเลือกมาระดับหนึ่งระหว่าง ปีพ.ศ. 2549-2550 เมื่อนำมาทดสอบในปีพ.ศ.2551 ได้สายพันธุ์ที่สามารถนำไปใช้เพาะ ในพื้นที่ จ.สกลนคร และกรุงเทพมหานคร ทุกฤดู เป็น จำนวน ไม่น้อยกว่า 2 สายพันธุ์ สำหรับเป็นพันธุ์ แนะนำแก่เกษตรกร นอกจากนั้นมีสายพันธุ์ที่มีแนวโน้มสามารถใช้ควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ไม่น้อยกว่า 5ชนิด ไว้ใช้ประโยชน์

เอกสารอ้างอิง

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2519. การทดลองเพาะเห็ดตีนแรดในถุงพลาสติก. เห็ดวิทยา ปีที่ 1(1) : 1-25.

ปรีชา ลิ่มไชยฤกษ์. 2542. ปลูกผักสวนครัวแซมแปลงเห็ดตีนแรด เห็ดถั่งเช้า การถนอมอาหารเห็ดและการ แปรรูป. วันที่ 6 พฤศจิกายน 2542. กรมวิชาการเกษตร กทม. หน้า 1-16

พิมพ์กานต์ อร่ามพงษ์พันธุ์ สมพงษ์ อังโขรัมญ์ อุทัย ทองมี และพันธุ์ทวี ภักดีดินแดน. 2529. การเพาะ เห็ดตีนแรดในโรงเรือนและนอกโรงเรือน. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2529 กองโรคพืชและ จุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ . หน้า 140-145.

วสันณ์ เพชรรัตน์. 2522. 1.การศึกษาสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และการเพาะเห็ดตับเต่าขาว 2. ลักษณะการสืบพันธุ์ของเห็ดตับเต่าขาว วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

อัจฉรา พยัพพานนท์ 2549. ซีลีเนียม ในเห็ดป้องกัน มะเร็งต่อมลูกหมาก. ข่าวสารเพื่อเพาะผู้เห็ด. ปีที่ 11 ฉบับที่ 3 หน้า1-6.

Saosoong ,P. , S. Simma, W. Butlak and C. Pukahuta . 2003. Antioxidant activity of some Thai edible mushroom. p. 57. *In* Abstract Bio Thailand for life. 17-20 July 2003.

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบสายพันธุ์เห็ดตีนแรด ในการให้ผลผลิตเมื่อเพาะช่วงเวลาที่ต่างๆกันที่ [1/] จ.สกลนคร และกทม.

สายพันธุ์	ผลผลิตเฉลี่ยกรัม/ถุง(ขนาด 800กรัม)					
	[1/]ก.ค-พ.ย.50	ต.ค.-ม.ค.51	ม.ค.-มี.ค.51	[1/]มี.ค.-ส.ค.51	เม.ย.-มิ.ย.51	ก.ค.-ส.ค.51
DOA-1	177.0 bcd	234.75 a	-	88.50 a	-	81.08 bc
DOA-2	168.25 bcd	91.25 ef	-	-	-	-
DOA-3	126.25 cd	126.0 cde	38.88 b	119.00 a	59.88 a	-
DOA-4	243.25 a	103.75 def	-	-	-	127.38 ab
DOA-5	203.13 ab	154.75 bc	-	86.00 a b	-	46.25 c
DOA-6	188.88 ab	63.0 f	76.88 a	-	90.38 a	76.88 c
DOA-7	186.0 abc	183.50 b	64.33 a	37.33 b	61.75 a	88 abc
DOA-8	156.25 bcd	137.50 cd	-	-	-	-
DOA-9	124.63 d	63.75 f	23.38 b	-	48.38 a	-
DOA-10	157.63 bcd	80.25 f	71.85 a	82.25 a b	96.75 a	130.0 a
C.V.(%)	21.5	14.9	30.4	41.3	52.9	32.6

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบสายพันธุ์เห็ดตีนแรด ต่อการเกิดดอกเมื่อเพาะ ที่ จังหวัดสกลนคร (ก.ค.-พ.ย.2550)

สายพันธุ์	ผลผลิต(กรัม)/ ตะกร้า(10ถุง)	จำนวนดอก	น้ำหนัก/ดอก
DOA-1	1,770 bcd	112.4 b	16.388 b
DOA-2	1,682.5 bcd	76.2 bcd	23.378 b
DOA-3	1,262.5 cd	51.5 d	24.895 b
DOA-4	2,432.5 a	150.7 a	15.330 b
DOA-5	2,031.3 ab	107.5 b	19.05 b
DOA-6	1,888.8 ab	73.0 bcd	26.328 b
DOA-7	1,860 abc	93.1 bc	20.865 b
DOA-8	1,562.5 bcd	59.4 cd	31.385 b
DOA-9	1,246.3 d	24.1 e	55.548 a
DOA-10	1,576.3 bcd	100.3 b	16.00 b
C.V.(%)	21.5	15.13	38.6

ตารางที่ 3 ค่าวิเคราะห์ เกลือแร่ สายพันธุ์ DOA-10

รายการวิเคราะห์	ผลการทดสอบ		หน่วย
	อายุเก็บรักษา 0 วัน	อายุเก็บรักษา 10 วัน	
Protein	2.95	2.93	g/100g
Fat	0.23	0.23	g/100g
Sugar	2.02	3.98	g/100g
Dietary Fiber	2.34	2.68	g/100g
Carbohydrate	9.0	7.30	g/100g
Iron	6.555	3.297	mg/kg
Calcium	6.158	6.386	mg/kg
Ash	1.14	1.08	g/100g
Moisture	86.68	88.46	g/100g

แหล่ง : ห้องปฏิบัติกลาง(ประเทศไทย) จำกัด ,2551

(Laboratory Center for Food and Agricultural Products 2008)

ตารางที่ 4 ค่าวิเคราะห์ เกลือแร่ สายพันธุ์ สศก DOA-9

รายการวิเคราะห์	ผลการทดสอบ		หน่วย
	อายุเก็บรักษา 0 วัน	อายุเก็บรักษา 10 วัน	
Protein	2.77	3.06	g/100g
Fat	0.31	-	g/100g
Sugar	4.28	5.11	g/100g
Dietary Fiber	2.09	3.10	g/100g
Carbohydrate	9.19	9.04	g/100g
Iron	2.756	3.617	mg/kg
Calcium	4.427	7.261	mg/kg
Ash	1.26	1.20	g/100g
Moisture	86.47	86.38	g/100g

แหล่ง :ห้องปฏิบัติกลาง(ประเทศไทย) จำกัด ,2551

(Laboratory Center for Food and Agricultural Products 2008)

ตารางที่ 5 ค่าวิเคราะห์ เกลือแร่ สายพันธุ์ ศูนย์เชื้อเห็ด DOA-7 อายุเก็บรักษา 80วัน

(26 มิ.ย.-15ก.ย.51)

รายการวิเคราะห์	ผลการทดสอบ	หน่วย
Protein	4.49	g/100g
Fat	0.29	g/100g
Sugar	0.58	g/100g
ash	1.40	g/100g
Carbohydrate	9.77	g/100g
Iron	-	-
moisture	84.05	g/100g

แหล่ง : ห้องปฏิบัติกลาง(ประเทศไทย) จำกัด ,2551

(Laboratory Center for Food and Agricultural Products 2008)

1 ลักษณะดอกเห็ดและการให้ผลผลิตของเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่าง ๆ

สายพันธุ์ DOA 3

สายพันธุ์ DOA 6

สายพันธุ์ DOA 9

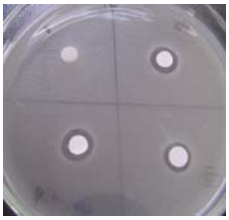
สายพันธุ์ DOA 7

สายพันธุ์ DOA 10

DOA 3	35.92% B.E.
DOA 6	38.44% B.E.
DOA 7	32.16% B.E.
DOA 9	19.24% B.E.
DOA 10	11.69% B.E.

ค่า%B.E.= น้ำหนักเห็ดสดx100 / น้ำหนักวัสดุแห้งที่ใช้เพาะ

2. ทดสอบต่อปฏิกิริยาของเชื้อจุลินทรีย์

สายพันธุ์เห็ด	*A.avenae* subsp.*citrulli*	*X.campestris* pv.*campestris*	*A.avenae* subsp.*cattleyae*
1.DOA-1 2.DOA-2 3.DOA-3 4.DOA-4 5.DOA-5	 DOA-4  DOA-5	 DOA-3 DOA-5	 DOA-3 DOA-1

Source: *Audovovex avenae* , *Xanthomonas campestris.* : ดร.ปิยะรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์

ภาพที่ 1 ลักษณะ การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง แบคทีเรีย กับ ส่วนน้ำใสจากอาหารเหลวเลี้ยงเส้นใยเห็ดตีนแรด

การประเมินสายพันธุ์เห็ดต่งฝนเพื่อการใช้ประโยชน์

Evaluation of *Lentinus giganteus* Strains for Utilization

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ **อัจฉรา พยัพพานนท์**
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากเส้นใยเห็ดต่งฝนจำนวน 4 ตัวอย่างซึ่งเก็บรวบรวมจากแหล่งต่างๆ นำมาทดสอบการเจริญของเส้นใยที่อุณหภูมิ 15,20,25,30,35 และ 40°ซ บนอาหารพีดีเอ พบว่าเส้นใยเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15,20,25 และ 30°ซ แตกต่างกัน แต่เส้นใยไม่เจริญที่ 35 และ 40°ซ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (Macroscopic features) พบว่าดอกมีลักษณะรูปกรวยตื้นจนถึงกรวยลึก สีน้ำตาลอ่อนหรือน้ำตาลอ่อนอมเหลืองหรือน้ำตาลอมเทา มีเกล็ด ก้านมีลักษณะกว้างตอนบนแล้วเรียวเล็กลงไปที่โคนซึ่งมีลักษณะเป็นราก มีขนหรือเกล็ด สีเดียวกับหมวกหรือเข้มกว่า สปอร์เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic features) พบมีลักษณะทรงรี และภาพพิมพ์สปอร์สีขาวหรือขาวนวล เมื่อทดสอบการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกบนวัสดุเพาะ พบว่า เส้นใยเห็ดให้ผลผลิตได้

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-04-01-02-51

คำนำ

เห็ดต่งฝนหรือเห็ดโต่งฝน เป็นภาษาอีสานแปลว่า กรำฝน หรือ รับฝน เป็นเห็ดพื้นเมืองชนิดหนึ่งที่เกิดจากธรรมชาติ มีผู้นิยมบริโภคในท้องถิ่นต่าง ๆ ลักษณะดอกเห็ดสีน้ำตาลมีขนาดตั้งแต่เล็กจนถึงขนาดเท่าฝ่ามือ เกิดเป็นกลุ่ม ดอกเห็ดอ่อนมีลักษณะคล้ายๆ กับหัวเข็มหมุด มีขนอ่อนๆ เมื่อโตจะขยายใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ และครีบดอกจะห่อขึ้นด้านบน ลักษณะเหมือนกระทะหรือรูปคล้ายกรวย สีจะจางลงเป็นสีครีม ชื่อวิทยาศาสตร์ของเห็ดชนิดนี้ท่านอาจารย์อนงค์ จันทร์ศรีกุล เห็นควรว่าชื่อ *Lentinus giganteus* Berk. ตามระบบการจำแนกชื่อของ Pegler (ประไพศรี, 2541; Pegler,1983)

การนำเห็ดชนิดนี้มาทำการเพาะเลี้ยงศึกษาวิจัย คัดเลือกและพัฒนาสายพันธุ์เห็ดให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภคและตลาด ตลอดจนเพื่อการใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ จะเป็นการเพิ่มชนิดเห็ดที่มีคุณภาพในธุรกิจการเพาะเห็ดเพื่อบริโภค และเป็นทางเลือกให้ผู้ที่สนใจนำไปใช้ประกอบเป็นอาชีพได้อีกทางหนึ่ง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดต่งฝน
2. อาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ด และ เมล็ดข้าวฟ่าง
3. ตู้บ่มเชื้อ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน / หม้อนึ่งไม่มีความดัน
4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ
5. โรงเรือนเพาะเห็ดชั่วคราว
6. วัสดุเพาะเห็ด

วิธีการ

1. รวบรวม เก็บตัวอย่างในธรรมชาติและจากแหล่งต่าง ๆ นำมาแยกเนื้อเยื่อเลี้ยงเป็นเส้นใยคัดเลือกเก็บไว้บนอาหารพีดีเอ

2. ทดสอบการเจริญของเส้นใยที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30, และ 35^{O}ซ บนอาหารพีดีเอ, ข้าวฟ่าง และทดสอบความสามารถในการอยู่รอดของเส้นใยที่อุณหภูมิ 40 ^{O}ซ บันทึกการเจริญของเส้นใยเห็ดบนอาหารวุ้นในแนวระดับที่อุณหภูมิ

3. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (Macroscopic features) และโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (Microscopic features) บันทึกลักษณะที่มองเห็นด้วยตาเปล่าได้แก่ สี

ขนาด ดอกเห็ด จากตัวอย่างเก็บในธรรมชาติ / รวบรวมจากแหล่งต่างๆ หรือ จากการเพาะเลี้ยง และ บันทึกขนาดและลักษณะสปอร์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

4. ทดสอบการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกบนอาหารขี้เลื่อยซึ่งประกอบด้วยขี้เลื่อย รำละเอียด ยิปซั่ม ปูนขาว ดีเกลือ มีความชื้นประมาณ 65-70% บรรจุในถุงพลาสติกนึ่งฆ่าเชื้อแบบไม่มีความดันก่อนใช้เพาะเห็ด บันทึกข้อมูลระยะเวลาการเจริญของเส้นใยเต็มถุงอาหาร น้ำหนักผลผลิตดอกเห็ดบนอาหารขี้เลื่อยในถุงพลาสติก อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือน

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินงานตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553

สถานที่ :- กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บรวบรวม เส้นใยเห็ดจากแหล่งต่างๆ ได้ จำนวน 4 ตัวอย่าง

2. นำมาทดสอบการเจริญของเส้นใยที่อุณหภูมิ 15,20,25,30,35 และ 40°ซ บนอาหารพีดีเอ พบว่าเห็ดต่งฝน 4 สายพันธุ์ที่ทดสอบ เจริญได้ที่อุณหภูมิ 15,20,25 และ 30°ซ แตกต่างกัน แต่เส้นใยไม่เจริญที่ 35 และ 40°ซ

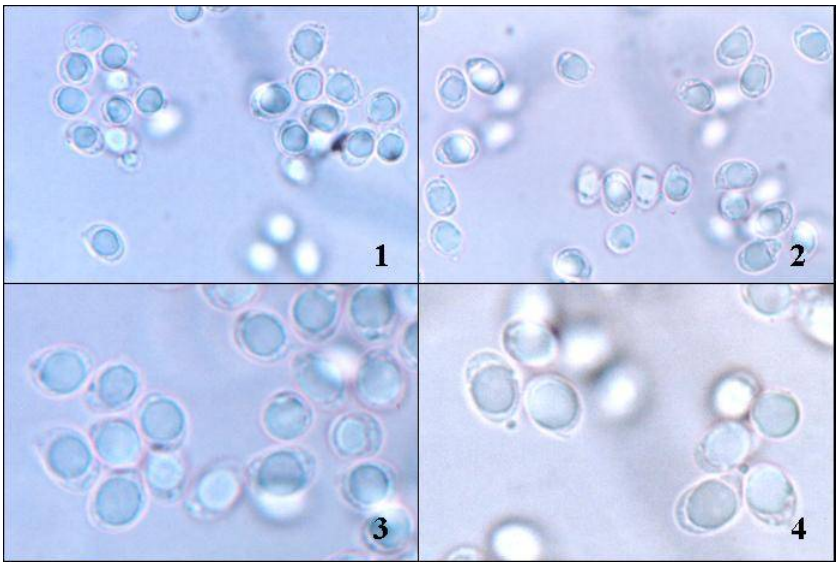
3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (Macroscopic features) พบว่าดอกมีลักษณะรูปกรวยตื้นจนถึงกรวยลึก สีน้ำตาลอ่อนหรือน้ำตาลอ่อนอมเหลืองหรือน้ำตาลอมเทา มีเกล็ด ก้านมีลักษณะกว้างตอนบนแล้วเรียวเล็กลงไปที่โคนซึ่งมีลักษณะเป็นราก มีขนหรือเกล็ด สีเดียวกับหมวกหรือเข้มกว่า สปอร์เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic features) พบมีลักษณะทรงรี แสดงดังภาพที่ 1 และภาพพิมพ์สปอร์สีขาวหรือขาวนวล

4. การทดสอบการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกบนวัสดุเพาะพบว่า เส้นใยเห็ดให้ผลผลิตได้ แสดงดังภาพที่ 2 โดย

4.1 การเพาะครั้งที่ 1ในช่วง 15 พฤศจิกายน 2550-เมษายน 2551 พบว่าเห็ดต่งฝน 3 สายพันธุ์จากจำนวน 4 สายพันธุ์ที่ทดสอบ ให้ผลผลิต

4.2 การเพาะครั้งที่ 2 ในช่วง มีนาคม – มิถุนายน 2551 พบว่าเห็ดต่งฝน 4 สายพันธุ์ ที่ทดสอบให้ผลผลิต

4.3 การเพาะครั้งที่ 3 ในช่วง มิถุนายน–กันยายน 2551 อยู่ระหว่างการเก็บผลผลิต



ภาพที่ 1 สปอร์เห็ดต่ง 4 สายพันธุ์ จากดอกเห็ดที่เพาะเลี้ยง

ภาพที่ 2 ลักษณะดอกเห็ดต่ง 4 สายพันธุ์ จากการเพาะ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บรวบรวมเส้นใยเห็ดต่งฝนจากแหล่งต่างๆ ได้จำนวน 4 ตัวอย่าง เมื่อทดสอบการเจริญของเส้นใยที่อุณหภูมิต่างๆ กัน บนอาหารพีดีเอ พบว่าเส้นใยเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15,20,25 และ 30°ซ แตกต่างกัน แต่เส้นใยไม่เจริญที่ 35 และ 40°ซ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มองเห็นด้วยตาเปล่าพบว่าดอกมีลักษณะรูปกรวยตื้นจนถึงกรวยลึก สีน้ำตาลอ่อนหรือน้ำตาลอ่อนอมเหลืองหรือน้ำตาลอมเทา มีเกล็ด ก้านมีลักษณะกว้างตอนบนแล้วเรียวเล็กลงไปที่โคนซึ่งมีลักษณะเป็นราก มีขนหรือเกล็ด สีเดียวกับหมวกหรือเข้มกว่า สปอร์เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบมีลักษณะทรงรี และภาพพิมพ์สปอร์สีขาวหรือขาวนวล และเมื่อทดสอบการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกบนวัสดุเพาะพบว่า เส้นใยเห็ดให้ผลผลิตได้

เอกสารอ้างอิง

ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2541. เห็ดนิรนาม (อีกครั้ง). ข่าวสารเพื่อผู้เพาะเห็ด. ปีที่ 3 (1) :11-12.

Pegler, D. N. 1983. The genus *Lentinus* : A world monograph. Kew Bull., Add. Ser.X. HMSO. London. P.168-171

กระบวนการผลิตปุ๋ยหมักเพื่อเพาะเห็ดฟางคุณภาพ

Production Process on the Composting for Straw Mushroom Cultivation

อัจฉรา พยัพพานนท์ [3/]สุรางค์ สุธิราวุธ [2/]พุฒนา รุ่งระวี
[1/]เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ อภิรัชต์ สมฤทธิ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช [1/]กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัย และวิเคราะห์สถิติการเกษตร ศูนย์สารสนเทศ
[3/]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทคัดย่อ

การผลิตปุ๋ยหมักเพื่อเพาะเห็ดฟางจะมี แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp.ที่มีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายวัสดุหมักให้ได้สารอาหารที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของเห็ดฟางและควบคุมจุลินทรีย์ที่จะปนเปื้อนในปุ๋ยหมักและเป็นเชื้อปฏิปักษ์ให้ผลผลิตเห็ดฟางที่มีคุณภาพดีและได้ปริมาณมาก โรงเรือน จึงได้ทดสอบการเพาะเห็ดฟาง ด้วยปุ๋ยหมักที่ไม่เติมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. , เติม *Bacillus* sp.B-1, เติม *Bacillus* sp.B-2 , และเติมอาหาร (Nutrient broth) เปรียบเทียบผลผลิต ดำเนินการ ระหว่าง ตุลาคม2550-กันยายน 2551 ที่ฟาร์มเพาะเห็ดฟางของ เกษตรกร ที่ อำเภอภาชี จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ผลการทดลอง พบว่าการใช้ ปุ๋ยหมักที่เติมแบคทีเรียเพาะเห็ดฟางให้ผลผลิตสูงกว่าการเพาะด้วยปุ๋ยหมักที่ไม่ได้เติมแบคทีเรีย ตลอดการเพาะใน ช่วงฤดูหนาว ฤดูร้อน ฤดูร้อน-ฝน และฤดูฝน

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-05-01-02-51

คำนำ

ความนิยมบริโภคเห็ดฟางในประเทศไทยมีมานานกว่า 60 ปี และความต้องการได้เพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับ เป็นเห็ดที่มีศักยภาพการผลิตสูงในเขตร้อนชื้น ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ผลิตเห็ดฟางเป็นอันดับหนึ่งของโลกได้ 150,000 ตันรองลงมา คือประเทศไทยผลิตได้ 63,000 ตัน (Chang, 1993 ; 1996) การเพาะเห็ดฟางในประเทศไทย อัจฉรา และสัญชัย (2531) ได้ศึกษาวิธีการหมักปุ๋ยขั้นสุดท้าย รายงานว่า ก่อนการอบไอน้ำอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในระดับ 45 –50 องศาเซลเซียส ซึ่ง *Fermor, et al* . (1985) ได้รายงานว่าระดับอุณหภูมิ 50 – 55 ^{O}ซ จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อราร้อน หรือแอคติโนมายซิท กลุ่มที่เป็นประโยชน์ในการหมักขั้นสุดท้าย *Straastma et al.* (1994) รายงานไว้ว่าจะมีราร้อน *Scytalidium thermophilum* ในปุ๋ยหมัก ผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดแชมปิญองและPayapanon *et al*.(2003) ได้ใช้เชื้อ *S. thermophilum* ที่แยกจากกองปุ๋ยหมักเติมในกองฟางจะช่วยขบวนการหมัก และเมื่อนำปุ๋ยหมักไปเพาะเห็ดฟางจะได้ผลผลิตมากกว่าการใช้ฟางข้าวที่หมัก โดยไม่เติมราร้อนประมาณ 1-4% ปุ๋ยหมักเป็นวัตถุที่ผ่านการหมักโดยขบวนการทางชีวเคมีจะเป็นกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่างๆ ซึ่งมีทั้งที่เป็นประโยชน์ และที่เป็นศัตรูเห็ด ได้เก็บตัวอย่างแบคทีเรียที่อยู่ในโรงเรือนเพาะเห็ดฟางที่ผ่านการอบไอน้ำร้อน ที่อุณหภูมิ 65-67 ^{o}ซ ของเกษตรกรที่ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยการดักด้วยอาหารพีดีเอ พบว่า จะยับยั้งการเจริญของราสีส้ม*Monilia* sp. แต่ไม่ต่อต้านการเจริญของเส้นใยเห็ดฟาง จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ จำแนกได้เป็น *Bacillus* sp. เช่นเดียวกับรายงานของ อัจฉรา และคณะ (2532) ตรวจสอบจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักหลังอบไอน้ำพบเชื้อแบคทีเรีย (endospore– forming bacteria) เช่น *Bacillus* sp. ในปุ๋ยหมักทุกกรรมวิธี นักเรียนโรงเรียนคณะราษฎร์บำรุงปทุมธานี อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานีได้ขอทำโครงงาน การเพิ่มผลผลิตของเห็ดฟางโดยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส โดยขอความอนุเคราะห์สถานที่ และความรู้ในการเพาะเห็ดฟางกองเตี้ยและขอความอนุเคราะห์สถานที่ ทดสอบ และร่วมกับภาควิชาจุลชีววิทยาคระวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่อนุเคราะห์เชื้อ *Bacillus* sp. (B-1) หมักฟางข้าวแล้วเพาะเห็ดฟาง กองเตี้ย พบว่า ให้ผลผลิตสูงกว่าการไม่ใช้เชื้อ *Bacillus* sp. (B-1) เมื่อปี พ.ศ. 2549 จึงได้ใช้ความเป็นประโยชน์ของ *Bacillus* sp. (B-1) และ *Bacillus* sp. จากพระนครศรีอยุธยา ในการทดสอบเพาะเห็ดฟาง โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตปุ๋ยหมักเพื่อเพาะเห็ดฟางคุณภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดฟาง อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ดฟาง

2.แบคทีเรีย *Bacillus* sp. (B-1) และ *Bacillus* sp. (B-2) อาหาร Nutrient Broth

2.อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 °ซ เครื่องเขย่า (ยี่ห้อBrunswick) กระบอกพ่นสาร

3. วัสดุสำหรับใช้เพาะเห็ดฟาง ฟางข้าว ขี้ฝ้าย อาหารเสริม รำ แป้ง ข้าวเหนียว ปูนขาว

4. หม้อต้มน้ำพร้อมอุปกรณ์ใช้กับโรงเรือนเพาะเห็ดฟาง

5.โรงเรือนเพาะเห็ดฟาง 3 โรงเรือน

วิธีการ

1. เตรียมเชื้อเห็ดฟางสายพันธุ์ DOA เชียงใหม่ เป็นเชื้อเพาะ

1.1 เตรียมแม่เชื้อเห็ดฟางบริสุทธิ์บนอาหาร PDA

โดยขยายเส้นใยเห็ดฟางพันธุ์การค้าลงในอาหารPDA ในจานแก้ว แล้วบ่มในตู้อุณหภูมิ 35 °ซ เป็นเวลา 4 วัน

1.2 เตรียมเชื้อเห็ดฟางขยายในอาหารปุ๋ยหมักทำเชื้อเห็ดฟาง

เตรียมปุ๋ยหมักซึ่งประกอบด้วย ขี้ม้าสด และ เปลือกบัวหมักในอัตราส่วน 2 :3 โดยน้ำหนัก หมักเป็นเวลา 14 วัน แล้วผสมกับเปลือกถั่วเขียวซึ่งหมักกับขี้เลื่อยและขี้ฝ้ายในอัตราส่วน 1 : 5 : 5 แล้วเติมรำ 3% โดยน้ำหนัก บรรจุในขวดแก้วปริมาณ 100 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน 121 °ซ เป็นเวลา 30 นาที แล้วถ่ายเชื้อเห็ดฟางกรมวิชาการเกษตรสายพันธุ์ DOA-เชียงใหม่ลงในขวด จากนั้นนำไปบ่มเชื้อที่ 35 °ซ

1.3 เตรียมเชื้อเห็ดฟางเพาะในอาหารปุ๋ยหมักทำเชื้อเห็ดฟาง

ปุ๋ยหมักทำเชื้อเห็ดฟาง (สูตรเดียวกับข้อ 1.2) น้ำหนัก 100 กรัม บรรจุลงใน ถุงพลาสติกทนร้อน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน 105 – 110 °ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากปุ๋ยหมักเย็นลงแล้วจึงถ่ายเชื้อเห็ดฟางขยายลงไป บ่มไว้ที่อุณหภูมิ35 °ซ สำหรับใช้เป็นเชื้อเพาะ

2. เตรียมหมักปุ๋ย และอบไอน้ำวัสดุเพาะ

หมักวัสดุเพาะในสัดส่วนฟางข้าว:ขี้ฝ้าย:ยิปซัม:ปูนเปลือกหอย:ปูนขาว:ยูเรีย:แป้งข้าวเหนียว:รำละเอียด อัตราส่วน 300 : 250 : 2 : 2 : 1 : 1. 5 : 2 : 25 โดยน้ำหนักต่อโรงเรือน แล้ว นำขึ้นชั้นเพาะอบไอน้ำอุณหภูมิ 60-65 °ซ นาน 3 ชั่วโมง เมื่ออุณหภูมิลดลงอยู่ที่ 35 °ซ ใส่เชื้อเห็ดฟางเพาะในระบบโรงเรือน

2.เตรียมแบคทีเรียในอาหาร Nutrient Broth (NB)

2.1 ขยายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (B-1) และ *Bacillus* sp. (B-2) อาหาร NB 24 ชั่วโมง และเตียมเป็นเชื้อฉีดพ่น เลี้ยงลงอาหารNB วางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 24 ชม.

2.2พ่นอาหารที่เลี้ยงผสม*Bacills* sp.(B-1) ลงปุ๋ยหมักบนแปลงขนาด 1X5 เมตร^{2}จำนวน3แปลง ต่อโรงเรือน

2.3 พ่นอาหารที่เลี้ยงผสม *Bacillus* sp. (B-2) ลงปุ๋ยหมักบนแปลงขนาด 1X5 เมตร^{2}จำนวน3 แปลงต่โรงเรือน

2.4 พ่นอาหาร NB ลงบนปุ๋ยหมักบนแปลงขนาด 1X5 เมตร^{2}จำนวน3 แปลง ต่อโรงเรือน

2.5 พ่นน้ำเปล่าลงบนปุ๋ยหมักบนแปลงขนาด 1X5 เมตร^{2}จำนวน3 แปลง ต่อโรงเรือน

3.ใส่เชื้อเห็ดฟาง ทั่วผิวหน้าปุ๋ยหมัก ทุกแปลง ทุกโรงเรือน

4. ดำเนินการทั้งหมด 3 โรงเรือนต่อทุกช่วงเพาะ ของ ช่วง ฤดูหนาว ฤดูร้อน ฤดูร้อน-ฝน และ ฤดูฝน

5. การบันทึกข้อมูล บันทึก แมลง จุลินทรีย์ ในปุ๋ยหมัก ในโรงเรือนหลังอบไอน้ำ อุณหภูมิในโรงเรือน การเจริญเติบโต การให้ผลผลิตทุกวัน

เวลาและสถานที่ : ตุลาคม 2550- กันยายน 2552

: กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

: ฟาร์มเกษตรกร อำเภอภาชี จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ผลการทดลอง

เปรียบเทียบการให้ผลผลิตเห็ดฟางต่อการใช้แบคทีเรีย

การใช้แบคทีเรีย ทั้ง *Bacillus* sp. (B-1) และ *Bacillus* sp. (B-2) เพิ่มลงบนปุ๋ยหมักเพาะเห็ดฟาง ทั้ง ช่วง ฤดูหนาว ฤดูร้อน ฤดูร้อน-ฝน และ ฤดูฝน พบว่าให้ผลผลิตสูงกว่า การเพิ่มอาหารNB และ เพิ่มเพียงน้ำเปล่า ตามตารางที่ 1-7 และผลผลิตสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วง ฤดูร้อน และฤดูฝน ปีพ.ศ.2551

เอกสารอ้างอิง

อัจฉรา พยัพพานนท์. 2541. เอกสารวิชาการเทคโนโลยีการผลิตเห็ดฟางในโรงเรือนกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 65 หน้า.

Payapanon , A. and P. Pitukpriwan. 2003. Innoculation of *Scytalidium thermophilum* in straw mushroom compost for promoting the production of *Volvariella volvacea* P. 41 *In* Abstracts Bio Thailand 2003 Technology for life 17-20 July 2003 PEACH, Pattaya ,Thailand

Straatsma, G., R.A. Samson, T.W. Olijinsma, H.J.M. Op Den Camp, J.P.G. Gerrits and L.J.D. Van Griensven. 1994. Ecology of thermophilic fungi in mushroom compost with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* mycelium. Appl. Environ. Microbiol. 60:454-458.

ตารางที่ 1 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 7-27 ธันวาคม 2550 (ฤดูหนาว ครั้งที่1)

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	3.323 a	29.013 a	4.730 a	41.333 a
2.B-2	3.673 a	32.070 a	4.990 a	43.583 a
3.NB	3.613 a	31.507 a	4.533 a	39.577 a
4.Control	3.587 a	31.343 a	4.380 a	38.263 a
C.V.	11.6%		10.0%	

ตารางที่ 2 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อวันที่ 2 ม.ค.-8 ก.พ.2551 (ฤดูหนาว ครั้งที่2)

กรรมวิธี	โรงเรือนที่6		โรงเรือนที่4	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	5.193 a	45.300 a	5.503 a	47.993 a
2.B-2	5.743 a	50.103 a	5.243 ab	45.737 ab
3.NB	4.833 a	42.177 a	4.32 c	37.667 c
4.Control	4.770 a	41.593 a	4.603 bc	40.140 bc
C.V.	9.9%		8.0%	

ตารางที่ 3 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 7-30 มีนาคม 2551 (ฤดูร้อนครั้งที่1)

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	4.4 a	37.67 a	4.31ab	37.60 ab
2.B-2	4.8 a	41.90 a	4.45a	38.84a
3.NB	3.66b	31.93 b	3.23bc	28.14 bc
4.Control	3.36b	29.31 b	2.95c	25.81c
C.V.	6.8%		16.1%	

ตารางที่ 4 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 25 เม.ย.-14 พ.ค. 2551 (ฤดูร้อนครั้งที่2)

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	3.42 a	29.867 a	3.767 a	32.863 a
2.B-2	3.47 a	30.277 a	3.707 a	32.337 a
3.NB	2.93 a	25.563 a	2.497 c	21.78 c
4.Control	2.757 a	24.047 a	3.057 b	26.667 b
C.V.	12.4%		8.8%	

ตารางที่ 5 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 30 พ.ค.- 21 มิ.ย.51 (ฤดูร้อนครั้งที่3)

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	5.373 a	46.887 a	5.833 a	50.647 a
2.B-2	4.740 b	41.363b	4.967 a	43.340 b
3.NB	3.863 c	33.713c	3.200 c	27.923 c
4.Control	3.480 c	30.367c	3.880 c	33.857 c
C.V.	7.6%		9.8%	

ตารางที่ 6 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 11 ก.ค.- 20 ก.ค.51 (ฤดูฝนครั้งที่1)

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	4.433 a	38.683 a	5.283 a	46.097 a
2.B-2	4.167 ab	36.353ab	4.483 b	39.117 b
3.NB	3.127b	27.277b	3.677 c	31.990 c
4.Control	3.467 ab	30.243ab	3.763 c	32.833 c
C.V.	15.2%		7.2%	

ตารางที่ 7 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 26 ส.ค.- 4 ก.ย.51
(ฤดูฝนครั้งที่2)

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	2.3333	20.36	2.5083	21.890
2.B-2	2.3750	18.40	2.4500	21.381
3.NB	2.0583	17.963	2.2500	19.63
4.Control	2.2750	19.854	2.1583	18.836
C.V.	24.2%		18.7%	

การใช้ฟางข้าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดนางรม

Using Rice Straw for Efficiency of Pleurotus Mushroom Production

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการนำฟางข้าวมาใช้เป็นวัสดุเพื่อเพาะเห็ดนางรมฮังการีซึ่งเป็นหนึ่งในเห็ดสกุลนางรม โดยมีการใช้น้ำปูนเพื่อช่วยปรับสภาพวัสดุเพาะเปรียบเทียบกับการแช่น้ำ พบว่าการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 6 หรือ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปเตรียมเป็นวัสดุเพาะเห็ดโดยนึ่งฆ่าเชื้อแบบไม่มีความดัน สามารถใช้เพาะเห็ดนางรมฮังการีได้ โดยการปฏิบัติงานสามารถทำได้ ซึ่งงานที่จะดำเนินการต่อไปจะปรับเวลาแช่ฟางข้าวเพื่อให้เหมาะสมกับการปฏิบัติงาน เพิ่มรำเป็นอาหารเสริมในวัสดุเพาะ และการทดสอบเพาะเห็ดจากการเตรียมฟางข้าวเป็นวัสดุเพาะเห็ดแต่ไม่นึ่งฆ่าเชื้อ

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-05-02-02-51

คำนำ

การเพาะเห็ดเป็นอาชีพที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างสูง ทั้งนี้เนื่องจากให้ผลตอบแทนเร็ว อีกทั้งสามารถนำวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาใช้เป็นวัสดุเพาะได้หลายชนิด เห็ดสกุลนางรมเป็นเห็ดที่นิยมเพาะมากที่สุด โดยเพาะทั่วทุกภาคของประเทศไทยเพื่อบริโภคในครัวเรือน และผลิตเป็นการค้า ซึ่งสามารถทำรายได้ให้ผู้ผลิตเป็นอย่างดี วัสดุที่ใช้เพาะเห็ดนิยมใช้ขี้เลื่อยไม้ยางพาราเนื่องจากให้ผลผลิตสูงและเก็บผลผลิตได้เป็นระยะเวลานาน เมื่อมีการเพาะเห็ดกันกว้างขวางขึ้นทำให้วัสดุเพาะขาดแคลน หรือไม่มีในท้องถิ่น ทำให้มีราคาแพง จึงจำเป็นต้องศึกษาหาวัสดุอื่นๆ มาเป็นทางเลือก ฟางข้าวเป็นวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรชนิดหนึ่งที่ใช้เพาะเห็ดได้ มีการศึกษาการนำฟางข้าวเป็นวัสดุทดแทนขี้เลื่อย พบว่าสามารถใช้ฟางข้าวสับผสมในขี้เลื่อยอัตรา 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำไปเพาะเห็ดกระด้าง ซึ่งให้ผลผลิตได้เท่ากับขี้เลื่อยเพียงชนิดเดียว (พิมพ์กานต์ และคณะ, 2536) สำหรับการเพาะเห็ดสุกลนางรมและเห็ดตีนแรดสามารถใช้ฟางหมักเป็นอาหารเพาะได้ (พิมพ์กานต์, 2544) ดังนั้นการจัดการเพื่อนำฟางข้าวมาใช้เป็นวัสดุเพาะหมุนเวียน/ทดแทน/ เป็นทางเลือก จะช่วยบรรเทาปัญหาการขาดแคลนขี้เลื่อยลงได้ทางหนึ่ง ทำให้ต้นทุนการผลิตอาจลดลงอีกด้วย และเป็นแนวทางที่ทำให้เกิดการผลิตที่คุ้มค่ามากขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อเห็ดสกุลนางรม
2. อาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ด และ เมล็ดข้าวฟ่าง
3. ตู้บ่มเชื้อ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน / หม้อนึ่งไม่มีความดัน
4. วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ
5. โรงเรือนเพาะเห็ดชั่วคราว
6. วัสดุเพาะเห็ด และ ปูนขาว

วิธีการ

1. ศึกษาการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 6 ชั่วโมง และทดสอบเพาะเห็ดสกุลนางรม

1.1 เตรียมเชื้อเห็ดทดลองบนอาหารพีดีเอ นำไปขยายเชื้อบนเมล็ดข้าวฟ่างที่บรรจุในขวดแก้วผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อปนเปื้อนแล้ว บ่มเส้นใยในอุณหภูมิห้อง เมื่อเส้นใยเจริญเต็มนำไปใช้เป็นเชื้อเพาะ

1.2 เตรียมวัสดุเพาะ โดยใช้ฟางสับแช่ในน้ำปูน ($CaCO_3$) ความเข้มข้น 2 % เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และใช้ฟางข้าวแช่น้ำเป็นตัวเปรียบเทียบ

1.3 อัดฟางที่ผ่านการแช่ในน้ำปูนแล้วใส่บล็อกไม้สี่เหลี่ยม อัดฟางให้แน่น ถอดบล็อกไม้ คลุมด้วยพลาสติก ทิ้งไว้ค้างคืน ฟางแช่น้ำปฏิบัติเช่นเดียวกัน

1.4 บรรจุและอัดฟางที่ผ่านการแช่ในน้ำปูนใส่ถุงพลาสติกเพาะเห็ดน้ำหนัก 500 กรัม นึ่งฆ่าเชื้อแบบไม่มีความดันเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100°ซ ฟางแช่น้ำปฏิบัติเช่นเดียวกัน

1.5 ใส่เชื้อเพาะที่เตรียมไว้ บ่มก้อนเชื้อในโรงเรือนสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ

1.6 เมื่อเส้นใยเจริญเต็มถุง นำไปเปิดดอกในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิ รักษาอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ด้วยการให้น้ำ และระบายอากาศ จนเกิดดอกเห็ด เก็บผลผลิต

1.7 การเก็บข้อมูล

- บันทึกการเจริญของเส้นใย น้ำหนักดอกสด อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
- วัดความชื้น / ความเป็นกรด-ด่าง ของวัสดุเพาะ
- ตรวจหาจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียในวัสดุเพาะ

2. ศึกษาการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 12 ชั่วโมง และทดสอบเพาะเห็ดสกุลนางรม

ดำเนินงานเช่นเดียวกับข้อ 1

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินงานตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553

สถานที่ :- กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 6 ชั่วโมง และทดสอบเพาะเห็ดสกุลนางรม

1.1 จากฟางข้าวแช่ในน้ำปูน ($CaCO_3$) 2 % เป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำมาเป็นวัสดุเพาะเห็ดนางรมฮังการีเพื่อคัดเลือกเบื้องต้น พบว่าเห็ดสกุลนางรมที่เพาะทดสอบจำนวน 7 ไอโซเลท ให้ผลผลิตเฉลี่ย 102.42, 104.44, 109.63, 88.7, 107.53, 120.44 และ 103.14 กรัม/ถุง ตามลำดับ (ระยะเวลาเก็บผลผลิต 60 วัน)

1.2 เชื้อเห็ดนางรมฮังการีที่คัดเลือก 2 ไอโซเลท จากการเพาะในข้อ 1.1 (ไอโซเลทที่ 3 และ4) นำมาเพาะบนฟางข้าวที่เตรียม 2 แบบ ได้แก่แช่น้ำปูน 2 % และ แช่น้ำธรรมดา เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าเห็ดนางรมฮังการีให้ผลผลิตได้ดังภาพที่ 1 (ระยะเวลาเก็บผลผลิต 60 วัน) โดยบนฟางข้าวแช่น้ำปูนทั้ง 2 ไอโซเลทให้ผลผลิตเฉลี่ย 114.4 กรัม/ถุง และ 99.8 กรัม/ถุงตามลำดับ และบนฟางข้าวแช่น้ำผลผลิตเฉลี่ย 110.3 กรัม/ถุง และ 105.6 กรัม/ถุงตามลำดับ ความชื้นในฟาง

ข้าวแช่น้ำปูน 75.95% และฟางข้าวแช่น้ำ 77.09% ความเป็นกรด-ด่างในฟางข้าวแช่น้ำปูน 6.5 และในฟางข้าวแช่น้ำ 6.5 และพบจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียทั้งในฟางข้าวแช่น้ำปูน และฟางข้าวแช่น้ำ

2. ศึกษาการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 12 ชั่วโมง และทดสอบเพาะเห็ดสกุลนางรม

จากเชื้อเห็ดนางรมฮังการีที่คัดเลือกจากการเพาะในข้อ 1 นำมาเพาะบนฟางข้าวที่เตรียม 2 แบบ ได้แก่แช่ในน้ำปูน ($CaCO_3$) 2 % และ แช่น้ำธรรมดา ปรับเวลาแช่เป็น 12 ชั่วโมง

2.1 ไอโซเลทที่ 4 ช่วงการเพาะ กรกฎาคม-ตุลาคม 2551 พบว่าเห็ดนางรมฮังการีให้ผลผลิตได้ดังภาพที่ 2 (ระยะเวลาเก็บผลผลิต 60 วัน) โดยบนฟางข้าวแช่น้ำปูนผลผลิตเฉลี่ย 56.63 กรัม/ถุง และ บนฟางข้าวแช่น้ำผลผลิตเฉลี่ย 58.32 กรัม/ถุง และความชื้นในฟางข้าวแช่น้ำปูน 77.57% และฟางข้าวแช่น้ำ 79.56% ความเป็นกรด-ด่างในฟางข้าวแช่น้ำปูน 6.5 และในฟางข้าวแช่น้ำ 6 และพบจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียทั้งในฟางข้าวแช่น้ำปูน และฟางข้าวแช่น้ำ

2.2 ไอโซเลทที่ 3 ช่วงการเพาะ สิงหาคม-ธันวาคม 2551 พบว่าเห็ดนางรมฮังการีให้ผลผลิตได้ดังภาพที่ 3 (ระยะเวลาเก็บผลผลิต 60 วัน) โดยบนฟางข้าวแช่น้ำปูนผลผลิตเฉลี่ย 53.88 กรัม/ถุง และ บนฟางข้าวแช่น้ำผลผลิตเฉลี่ย 60.17 กรัม/ถุง และความชื้นในฟางข้าวแช่น้ำปูน 75.47% และฟางข้าวแช่น้ำ 79.81% ความเป็นกรด-ด่างในฟางข้าวแช่น้ำปูน 6.5 และในฟางข้าวแช่น้ำ 6 และพบจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียทั้งในฟางข้าวแช่น้ำปูน และฟางข้าวแช่น้ำ

ภาพที่ 1 ดอกเห็ดนางรมฮังการีบนวัสดุเพาะเป็นฟางข้าวแช่น้ำปูนและแช่น้ำ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
ก และ ข ดอกเห็ดนางรมฮังการีไอโซเลทที่ 3 และ 4 บนฟางข้าวแช่น้ำปูน
ค และ ง ดอกเห็ดนางรมฮังการีไอโซเลทที่ 3 และ 4 บนฟางข้าวแช่น้ำ

ภาพที่ 2 ดอกเห็ดนางรมฮังการีบนวัสดุเพาะเป็นฟางข้าวแช่น้ำปูนและแช่น้ำ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
ก และ ข ดอกเห็ดนางรมฮังการีไอโซเลทที่ 4 บนฟางข้าวแช่น้ำปูนและบนฟางข้าวแช่น้ำ

ภาพที่ 3 ดอกเห็ดนางรมฮังการีบนวัสดุเพาะเป็นฟางข้าวแช่น้ำปูนและแช่น้ำ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง **ก และ ข** ดอกเห็ดนางรมฮังการีไอโซเลทที่ 3 บนฟางข้าวแช่น้ำปูนและบนฟางข้าวแช่น้ำ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการนำฟางข้าวมาใช้เป็นวัสดุหมุนเวียนหรือทดแทนเพื่อเพาะเห็ดสกุลนางรม โดยมีการใช้น้ำปูนเพื่อช่วยปรับสภาพวัสดุเพาะเปรียบเทียบกับการแช่น้ำ พบว่าการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 6 หรือ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปเตรียมเป็นวัสดุเพาะเห็ดโดยนึ่งฆ่าเชื้อแบบไม่มีความดัน สามารถใช้เพาะเห็ดนางรมฮังการีได้ โดยการปฏิบัติงานสามารถทำได้ ซึ่งงานที่จะดำเนินการต่อไปจะปรับเวลาแช่ฟางข้าวเพื่อให้เหมาะสมกับการปฏิบัติงาน เพิ่มรำเป็นอาหารเสริมในวัสดุเพาะ และการทดสอบเพาะเห็ดจากการเตรียมฟางข้าวเป็นวัสดุเพาะเห็ดแต่ไม่นึ่งฆ่าเชื้อ

เอกสารอ้างอิง

พิมพ์กานต์ อร่ามพงษ์พันธ์ สมพงษ์ อังโขรัมย์ และ สัญชัย ตันตยาภรณ์. 2536. การเพาะเห็ดกระด้าง. หน้า 23 – 26 ใน: รายงานผลงานวิจัยกลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ปี2536 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

พิมพ์กานต์ อร่ามพงพันธ์. 2544. การเพาะเห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดตีนแรด และเห็ดยานางิ. หน้า 13-18. ใน : ศุภนิตย์ หิรัญประดิษฐ์ และอภิญญา สุราวุธ. การเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา พิมพ์ครั้งที่1. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิโดยการใช้สารฆ่าไร

Studies on Biology and Control of Dolichocybid Mite, *Dolichocybe indica* Mahunka on the Black Poplar Mushroom, *Agrocybe cylindracea* (DC.Ex Fr.) Maire by Aplication of Some Acaricides

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
อัจฉรา พยัพพานนท์[1/] **มานิตา คงชื่นสิน**
พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ **พลอยชมพู กรวิภาสเรือง**
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา [1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในสภาพโรงเรือน ที่ฟาร์มเห็ดกลุ่มงานวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2551 พบว่าสารฆ่าไรที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง ได้แก่ amitraz อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร pyridabenอัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร propargite อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ fenbutatin oxide อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

คำนำ

เห็ดถูกนำมาใช้เป็นอาหารของมนุษย์เป็นเวลานานแล้ว มีหลักฐานว่าเห็ดเกิดขึ้นบนโลกมานานกว่า 130 ล้านปี ก่อนที่มนุษย์จะเกิดขึ้นบนโลก (พิมพ์กานต์, 2543) ในปี พ.ศ. 2544/2545 ผลผลิตเห็ดมีมูลค่าประมาณ 5,446 ล้านบาท (ชาญยุทธ์, 2544) จัดว่ามีมูลค่าการผลิตสูงอย่างหนึ่ง และส่วนใหญ่บริโภคภายในประเทศ โดยเฉพาะเห็ดยานางิเป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่เกษตรกรนิยมเพาะ เนื่องจากได้ราคาดีและเป็นที่ต้องการของตลาด แต่การเพาะเห็ดชนิดนี้มีศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งคือ ไรลูกโป่ง *D. indica* ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความยาวของลำตัวเฉลี่ย 132.81 ไมครอน กว้างเฉลี่ย 52.97 ไมครอน ลำตัวแคบ ด้านท้ายมน ลำตัวด้านหน้าจะแคบ ส่วนกว้างที่สุด จะอยู่ตรงบริเวณกึ่งกลางลำตัว ตัวมีสีขาวใส ผนังลำตัวเรียบ บนลำตัวด้านหลังส่วนหน้ามีขน ซึ่งมีลักษณะพิเศษคือ bothrydium 1 คู่ ตัวเต็มวัยเพศผู้มีรูปร่างลักษณะโดยทั่วไปคล้ายเพศเมีย แต่ลำตัวอ้วนและสั้นกว่าเพศเมียเล็กน้อย ความยาวของลำตัวเฉลี่ย 114.06 ไมครอน กว้างเฉลี่ย 64.06 ไมครอน ตัวใสไม่มีสี บนหลังบริเวณลำตัวด้านหลังส่วนหน้าไม่มีขน bothrydium ไรชนิดนี้สามารถเคลื่อนไหวได้รวดเร็วมาก

รหัสโครงการ 01-16-49-03

และจะเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา เพศเมียเมื่อออกจากท้องแม่และได้รับการผสมพันธุ์จากเพศผู้แล้ว ส่วนท้องบริเวณที่อยู่ถัดจากขา 2 คู่แรกลงมา (hysterosoma) จะค่อยๆขยายพองออกคล้ายลูกโป่ง และหยุดการเคลื่อนไหว เกาะตัวติดแน่นอยู่กับวัสดุที่ใช้เพาะเห็ด ส่วนท้องของไรเพศเมียที่ขยายพองออกนี้ จะมีขนาดโตขึ้นจนสามารถมองเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า มีลักษณะเป็นเม็ดกลม ใส หัวท้ายแหลม ภายในมีไข่และตัวอ่อนเจริญอยู่ ขนาดตัวของเพศเมียขณะท้อง ไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับจำนวนตัวอ่อนภายในท้องและอาหารที่เพศเมียกินเข้าไป เมื่อตัวอ่อนใกล้จะฟักจากท้องแม่ เม็ดกลมๆเหล่านี้จะมีสีขาวขุ่นหรือขาวอมเหลือง เป็นศัตรูสำคัญของเห็ดที่เพาะเป็นการค้าหลายชนิด เช่น เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดนางรม เห็ดนางรมภูฏาน เห็ดหูหนู และเห็ดหอม (วัฒนาและคณะ, 2529) ไรชนิดนี้ยังเป็นศัตรูสำคัญของเห็ดยานางิ โดยทำลายเส้นใยเห็ดยานางิทั้งในระยะที่เส้นใยกำลังเจริญอยู่ในขวดหัวเชื้อ ซึ่งทำด้วยเมล็ดข้าวฟ่าง และในก้อนเชื้อเห็ดที่กำลังบ่มเส้นใย จะทำลายส้นใยที่อยู่ในขวด ทำให้เส้นใยบาง และยังทำให้ปนเปื้อนมาสู่ก้อนเชื้อเห็ด เมื่อถ่ายใส่ก้อนเชื้อเห็ด ไรเพิ่มจำนวนมากขึ้น จะทำลายเส้นใยเห็ดที่กำลังเจริญเติบโตเป็นสีขาวรอบๆก้อนเชื้อเห็ดหายไป เหลือแต่วัสดุที่ใช้เพาะเป็นสีน้ำตาล ทำให้ไม่สามารถเจริญให้ดอกดังเช่นปกติได้

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับชีววิทยาและสารฆ่าไรที่จะนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง *D. indica* เพื่อใช้เป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในเห็ดยานางิ และเห็ดชนิดอื่นที่ไรชนิดนี้ทำลาย เพื่อลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ไร *D. indica*
- พู่กัน, เข็มเขี่ย, จานรอง, กล้อง stereomicroscope, น้ำกลั่น, procep, hand lens
- เชื้อเห็ดหูหนูและอื่นๆ
- อุปกรณ์ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ, อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, ตู้เขี่ยเชื้อ, แอลกอฮอล์, สำลี
- โรงเพาะเห็ด
- ขวดฝาเกลียวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. สูง 8.5 ซม.
- ขวดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. สูง 4 ซม.
- เครื่องพ่นขนาดเล็ก
- สารจับใบ
- สารฆ่าไร - pyridaben (Sanmite 20% WP)
  - amitraz (Mitac 20% EC)

- propargite (Omite 30 30% WP)
- fenbutatin oxide (Fenbutatin Oxide 50% WP)

- ขวดเชื้อเห็ดยานางิ
- ก้อนเชื้อเห็ดยานางิ

วิธีการ

1. ศึกษาวิธีการเลี้ยงไรให้ได้ปริมาณมาก

1. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCD มี 6 ซ้ำ

2. กรรมวิธี 3 กรรมวิธี

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง เตรียมการปล่อยไร ลูกโป่ง ในระยะก่อนท้องจำนวน 20 ตัว/ขวด บนเมล็ดข้าวฟ่างสูง 1.5, 3.0 และ 4.5 ซม. ทิ้งไว้ 15 วัน ทำการตรวจนับปริมาณไรดีดในระยะก่อนท้อง โดยสุ่มเมล็ดข้าวฟ่างซ้ำละ 10 เมล็ด

4. การบันทึกข้อมูล (Observation or Measurements)

บันทึกปริมาณไรดีด/เมล็ดในแต่ละกรรมวิธี และนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2. การศึกษาชีววิทยาของไรลูกโป่ง

1. แผนการทดลอง -

2. กรรมวิธี -

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง เริ่มทำการทดลองโดยใส่ไร ลูกโป่งระยะก่อนท้องที่พึ่งออกจากท้องแม่จำนวน 1 ตัว/ขวด (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม.) บนเส้นใยเห็ดยานางิ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตจนกระทั่งเข้าสู่ระยะท้อง เช็คผลทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวเต็มวัยออกจากท้องแม่

4. บันทึกระยะตัวเต็มวัยเพศเมียระยะก่อนท้อง ระยะท้อง และจำนวนลูกที่ได้ และวัดขนาดของตัวเต้มวัยทั้ง 2 ระยะ

3. ศึกษาการทำลายเห็ดยานางิของไรลูกโป่ง

1. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองโดยใช้ T-test มี 7 ซ้ำ

2. กรรมวิธี มี 2 กรรมวิธี

1) ไม่ใส่ไร ลูกโป่งในก้อนเชื้อ

2) ใส่ไร ลูกโป่งในก้อนเชื้อ

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง เตรียมถุงก้อนเชื้อโดยมีส่วนผสมของขี้เลื่อยและอาหารเสริม นึ่งฆ่าเชื้อโดยไม่อัดความดัน แล้วเติมหัวเชื้อเห็ดยานางิลงไปในถุง บ่มก้อนเชื้อ มี 2 กรรมวิธี การทดลอง 7 ซ้ำ จำนวน 10 ก้อน/ซ้ำ กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ไร *D. indica* กรรมวิธีที่ 2 ใส่ไร *D. indica* 200 ตัว/ก้อน ระยะบ่มเส้นใย

4. ศึกษาชนิดเห็ดชนิดต่างๆ ที่เป็นอาหารของไรลูกโป่ง

1. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCD มี 3 ซ้ำๆละ 3 ขวด
2. กรรมวิธี มี 12 กรรมวิธี
    1. เห็ดนางรม
    2. เห็ดเป๋าฮื้อ
    3. เห็ดเข็มเงิน
    4. เห็ดนางรมฮังการี
    5. เห็ดขอนขาว
    6. เห็ดหูหนู
    7. เห็ดนางฟ้า
    8. เห็ดแครง
    9. เห็ดกระด้าง
    10. เห็ดหลินจือ
    11. เห็ดหอม
    12. เห็ดยานางิ

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง เริ่มทำการทดลองโดยใส่ไร *D. indica* ระยะก่อนท้องที่พึ่งออกจากท้องแม่จำนวน 3 ตัว/ขวด (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. สูง 4ซม.) บนเส้นใยเห็ดทั้ง 12 ชนิด เพื่อให้เจริญเติบโตจนกระทั่งเข้าสู่ระยะท้อง เช็คผลทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวเต็มวัยออกจากท้องแม่

4. บันทึกระยะตัวเต็มวัยเพศเมียระยะก่อนท้อง ระยะตั้งท้องและจำนวนลูกที่ได้นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะก่อนท้องในสภาพโรงเรือน

1. แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ RCD มี 4 ซ้ำ
2. กรรมวิธี มี 5 กรรมวิธี
    1. pyridaben 0.015% (15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร)
    2. amitraz 0.040%(40มล./น้ำ 20 ลิตร)
    3. propargite 0.06% (40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร)
    4. fenbutatin oxide (10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร)
    5. ไม่พ่นสารฆ่าไร (พ่นน้ำเปล่า)

3. วิธีปฏิบัติการทดลอง เริ่มทำการทดลองโดยการเติมหัวเชื้อข้าวฟ่างจำนวน 24 ขวด แล้ว ปล่อยไร *D. indica* ระยะก่อนท้องลงในขวดหัวเชื้อข้าวฟ่างจำนวน 200 ตัว/ขวด เก็บไว้นาน 15 วัน นำเอาเชื้อเห็ดบนเมล็ดข้าวฟ่างที่มีไรดีดจำนวน 200 ตัว/เมล็ด วางบนจานแก้ว 1 ขวด/1 จานแก้ว ใช้ forcep แยกเมล็ดข้าวฟ่างแต่ละเมล็ดออกจากกัน พ่นสารฆ่าไรแต่ละชนิด และไม่พ่นสารฆ่าไร(พ่นน้ำเปล่า) แต่ละกรรมวิธีผสมสารจับใบ 250 ppm ใส่เมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงก้อนเชื้อจำนวน 5 เมล็ด/ก้อน ทำซ้ำละ 15 ก้อน บ่มก้อนเชื้อไว้ในโรงเรือนเป็นเวลา 15 วัน เช็คผลโดยตรวจนับปริมาณไร *D. indica* โดยวิธีการให้คะแนน โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Horsfall and Barratt(1945) ดังนี้คือ

คะแนน		ตัว/พท. ถุงพลาสติก 1 ตร.ซม.	
0	=	0	ตัว/เมล็ด
1	=	1-3	ตัว/เมล็ด
2	=	4-6	ตัว/เมล็ด
3	=	7-12	ตัว/เมล็ด
4	=	13-25	ตัว/เมล็ด
5	=	26-50	ตัว/เมล็ด
6	>	50	ตัว/เมล็ด

4. บันทึกปริมาณไรดีด/พท.ถุงพลาสติก 1 ตร.ซม. โดยการสุ่มถุงละ 4 จุด ในแต่ละกรรมวิธีและนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2552

ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในสภาพโรงเรือน ที่ฟาร์มเห็ดกลุ่มงานวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – กันยายน 2551 พบว่าสารฆ่าไรที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง ได้แก่ amitraz อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร pyridabenอัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร propargite อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ fenbutatin oxide อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร

เอกสารอ้างอิง

ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, อัญชลี เชียงกูล และ วัฒนา จารณศรี. 2543. ไรไข่ปลา, น. 23-42. *ใน* แมลงและสัตว์ศัตรูพืช. เอกสารวิชาการประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการ ครั้งที่ 13 ประจำปี 2543. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

ชาญยุทธ์ ภาณุฑัต. 2544. ข้อมูลประกอบการตัดสินใจเพาะเห็ด,น.1-12. *ใน* : เห็ดไทย 2544. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วิภาดา วังศิลาบัตร, มานิตา คงชื่นสิน, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และ พลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2548. การป้องกันกำจัดไรดีดในเห็ดนางรม. รายงานเรื่องเต็มปี 2548. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร. น.57-81.

พิมกานต์ อร่ามพงษ์พันธ์. 2543. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเห็ด, น. 1-8. *ใน* การเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน และ นวลศรี วงษ์ศิริ. 2529. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรศัตรูเห็ดในประเทศไทย. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2529. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. น. 1-35.

Horsfall, J.G. and R.W. Barratt. 1945. An improved grading system for measuring plant disease. *Cited* by J.S. Rogers, C.W. McCoy and M.M. Manners. Standardized Visual Comparison Keys for Rapid Estimations of Citrus Rust Mite (Acari : Eriophyidae) Populations. J. Econ. Entomol. 87(6) : 1507-1512 (1994).

การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดแมลงหางดีดในเห็ด

Study on Biology Ecology and Controlling Springtails on Mushroom

อุราพร หนูนารถ เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ สัญญาณี ศรีคชา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

แมลงหางดีด (Springtail) เป็นแมลงค่อนข้างเล็ก พบเป็นจำนวนมากอาศัยอยู่บริเวณในดิน ผิวดิน และซากพืชและใบไม้ที่ทับถม ระบาดเข้าทำลายเห็ดที่เพาะด้วยถุงพลาสติก เช่น เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า เห็ดฮังการี และเห็ดหลินจือ เข้าทำลายโดยกัดกินเส้นใยอ่อน และก้อนอาหารเห็ด ทำให้ก้อนเชื้อที่มีเส้นใยเดินเกิดการยุบตัว และกลายเป็นก้อนขี้เลื่อย อยู่ในวงศ์ Entomobryidae โดยอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ตัวเต็มวัยมีขนาด ตั้งแต่ 0.5- 10 มิลลิเมตร ลำตัวเรียวยาว สีขาวใส เคลื่อนไหวได้รวดเร็ว ชอบอาศัยอยู่ในที่ชื้น เช่นวัสดุเพาะ ตามใบจากที่ผุพัง ตามฟางข้าว ไม่ชอบอากาศร้อนและแห้งแล้ง การระบาดเกิดเป็นครั้งคราว โดยมีสาเหตุจากการติดมากับวัสดุเพาะ ก้อนขี้เลื่อย หรือโรงเรือนที่มีสภาพเก่าทรุดโทรม

แมลงหางดีด เป็นแมลงไม่มีปีก ลำตัวเรียวยาว ส่วนท้องมีเพียง 6 ปล้อง ซึ่งแตกต่างจากแมลงทั่วไป ซึ่งจะมีส่วนท้อง 10 -12 ปล้อง ส่วนใหญ่มีอวัยวะใช้ดีด เรียกว่า furca (furcura) ตั้งอยู่ที่ด้านล่างของท้องปล้องที่ 4 ปกติอวัยวะดีด หรือหางที่ใช้ดีดจะเก็บพับซ่อนอยู่ใต้ท้อง ส่วนปลายยื่นไปข้างหน้า เมื่อไม่ใช้งานจะพับติดไว้กับ tenaculum หรือ retinaculum ซึ่งเป็นอวัยวะที่ยื่นเป็นง่ามออกมาจากด้านล่างท้องปล้องที่ 3 เป็นตัวจับยึดอวัยวะดีดไว้ให้แนบกับส่วนท้อง สามารถดีดตัวเองได้สูงถึง 30 เซนติเมตร

คำนำ

เห็ดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง ที่มีคุณค่าทั้งทางด้านโภชนาการ และมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้ การเพาะเห็ดในปัจจุบันได้ขยายพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ เห็ดที่เพาะส่วนมากมีปัญหาเกี่ยวกับแมลงศัตรูทำลายจนทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิต แมลงหางดีดเป็นศัตรูเห็ดที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่เป็นปัญหาในการเพาะเห็ด จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัด

รหัสโครงการ 01-06-49-03

วิธีดำเนินการ

1 สำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงหางดีดที่พบใน แหล่งการระบาดของแมลงหางดีดในเห็ดในภาคกลางโดยเก็บตัวอย่างของแมลงหางดีดทุก 2 สัปดาห์ จากก้อนอาหารเห็ด แล้วนำมาแยก ใช้ alcohol ในการดองตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างมีชีวิตด้วย

2 นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยนำไปศึกษาชีวประวัติ พฤติกรรม และการเจริญเติบโต ของแมลงหางดีดในเห็ดในห้องปฏิบัติการ

3 นำแมลงหางดีดที่ทำสไลด์ เรียบร้อยแล้ว ไปตรวจวิเคราะห์ชนิด ตามหลักของนักอนุกรมวิธาน

4 ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงหางดีด

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลพื้นที่การระบาดและลักษณะการเข้าทำลายของแมลงหางดีด
- บันทึกรายละเอียดของชนิดของแมลงหางดีดที่พบ

เวลาและสถานที่

เวลา พฤศจิกายน 2550 – กันยายน 2551

สถานที่ โรงเพาะเห็ดของเกษตรกรในเขตภาคกลาง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจแมลงหางดีด ในปี พ.ศ. 2550 ในแปลงเพาะเห็ดในเขตภาคกลาง พบว่า แมลงหางดีดเป็นแมลงขนาดเล็ก จัดอยู่ใน Subclass Apterygota ในอันดับ Collembola และพบกระจายทั่วไป แมลงหางดีดมีสีที่หลากหลายมาก เช่น สีขาว สีเทา สีส้ม สีเขียว และสีแดง แมลงหางดีดมีท่อเล็ก ๆ ติดอยู่บริเวณปลายท้อง เรียกว่า collophore ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่ พบในแมลงหางดีด ทำหน้าที่ยึดติดกับพื้นผิวสัมผัส แมลงหางดีดมีลักษณะเฉพาะ ที่มีลักษณะเฉพาะที่มีลักษณะคล้ายส้อมที่เรียกว่า furcula ซึ่วอยู่บริเวณตอนปลายส่วนท้อง ใช้ในการกระโดดเมื่อถูกรบกวน แมลงหางดีดพบระบาดในแปลงเห็ดที่มีความชื้น ซึ่งสามารถปรับตัว และขยายพันธ์ได้รวดเร็ว จึงทำให้เกิดการระบาดของแมลงหางดีดได้อย่างกว้างขวาง พบการระบาดของแมลงหางดีดในโรงเพาะเห็ดที่เกษตรบางเขน จังหวัดราชบุรี เพชรบุรี ชัยนาท ทำการเก็บตัวอย่าง เลี้ยงขยาย และทำสไลด์ เพื่อจำแนกชนิด สามารถจำแนกชนิดได้ว่าเป็น *Lapidocyrtus cyaneus* มีสีน้ำตาล เงิน อยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ และดำเนินการเลี้ยงขยายในกระป๋องพลาสติกทรงกลม เพื่อให้มีปริมาณมาก และนำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการ และหาแนวทางในการป้องกันกำจัด

การสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเห็ดที่ผลิตเป็นการค้า

Survey on the Use of Pesticides in Commercial Mushroom Cultivation

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
อัจฉรา พยัพพานนท์[1/] **มานิตา คงชื่นสิน**
พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ **พลอยชมพู กรวิภาสเรือง**
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา [1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเห็ดที่ผลิตเป็นการค้าซึ่งได้แก่ เห็ดหูหนู เห็ดนางรมฮังการี เห็ดบด เห็ดนางฟ้าภูฏาน เห็ดขอนขาว เห็ดยานางิ เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดนางรมและเห็ดขอนดำ โดยวิธีการใช้แบบสอบถามเกษตรกรจำนวน 50 ราย อยู่ที่จังหวัดราชบุรี 5 ราย จังหวัดสิงห์บุรี 4 ราย จังหวัดศรีสะเกษ 1 ราย จังหวัดพังงา 1 ราย จังหวัดนครสวรรค์ 2 ราย จังหวัดเพชรบุรี 14 ราย จังหวัดชัยนาท 1 ราย จังหวัดกำแพงเพชร 1 ราย จังหวัดสุพรรณบุรี 13 ราย จังหวัดนครปฐม 1 ราย จังหวัดอยุธยา 1 ราย จังหวัดสุรินทร์ 1 ราย จังหวัดอ่างทอง 1 ราย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 3 ราย และจังหวัดปทุมธานี 1 ราย พบว่าเกษตรกรมีการใช้สารกำจัดเชื้อราเพื่อป้องกันกำจัดเชื้อราศัตรูเห็ด 1 ราย สารกำจัดเชื้อราที่ใช้ได้แก่ mancozeb ใช้สารฆ่าแมลงเพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูเห็ด 33 ราย สารฆ่าแมลงที่ใช้ได้แก่ carbaryl, cypermethrin, methomyl,carbofuran, carbosulfan, และ chlorpyriphos และใช้สารฆ่าไรเพื่อป้องกันกำจัดไรศัตรูเห็ด 19 ราย สารฆ่าไรที่ใช้ได้แก่ carbaryl, amitraz, methomyl, tetradifon, carbofuran และ cypermethrin

คำนำ

เห็ดเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่ให้ผลตอบแทนในระยะเวลาสั้น การเพาะเห็ดในถุงพลาสติกได้ขยายพื้นที่ปลูกกันทั่วประเทศ ปัญหาการระบาดของศัตรูเห็ดจึงเกิดขึ้นอันเนื่องมาจากเกษตรกรมุ่งสนใจในด้านการผลิตมากกว่าการดูแลรักษา โดยเฉพาะการระบาดของไรศัตรูเห็ด ทำให้ผลผลิตลดลงมาก ปัจจุบันนี้การเพาะเห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดลมและเห็ดขอนขาว ซึ่งเกษตรกรเพาะเห็ดเหล่านี้กันมาก มีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในการควบคุมไรศัตรูเห็ดกันมากมายหลายชนิด รวมทั้งควบคุมแมลงและโรคเห็ด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเห็ดเหล่านี้ เพื่อทราบถึงชนิดของศัตรูเห็ดที่พบและการป้องกันกำจัด

รหัสโครงการ 01-16-49-03

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แบบสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
2. เกษตรกรผู้เพาะเห็ด

วิธีการ

ทำการสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากฟาร์มเห็ดสกุลนางรมและเห็ดชนิดอื่นๆที่เพาะเป็นการค้าของเกษตรกร โดยใช้แบบสอบถามและให้เกษตรกรกรอกข้อมูลต่างๆลงในแบบสอบถามจำนวน 100 ชุด บันทึกชื่อ ที่อยู่ เจ้าของฟาร์มเห็ด ระดับการศึกษา สมาชิกในครัวเรือน พื้นที่เพาะเห็ด เห็ดที่เพาะ การใช้เครื่องมือทางการเกษตร การดูแลรักษา การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ความรู้เรื่องศัตรูพืช ชนิดของศัตรูเห็ดที่พบและการป้องกันกำจัด เป็นต้น

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2550 **สิ้นสุด** กันยายน 2552 **รวม** 2 ปี

ฟาร์มเห็ดของเกษตรกรที่เพาะเห็ดสกุลนางรมและเห็ดชนิดอื่นๆที่เพาะเป็นการค้า

ผลการทดลอง

การสำรวจการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในเห็ดที่ผลิตเป็นการค้าซึ่งได้แก่ เห็ดหูหนู เห็ดนางรมฮังการี เห็ดบด เห็ดนางฟ้าภูฏาน เห็ดขอนขาว เห็ดยานางิ เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดนางรมและเห็ดขอนดำ โดยวิธีการใช้แบบสอบถามเกษตรกรจำนวน 50 ราย อยู่ที่จังหวัดราชบุรี 5 ราย จังหวัดสิงห์บุรี 4 ราย จังหวัดศรีสะเกษ 1 ราย จังหวัดพังงา 1 ราย จังหวัดนครสวรรค์ 2 ราย จังหวัดเพชรบุรี 14 ราย จังหวัดชัยนาท 1 ราย จังหวัดกำแพงเพชร 1 ราย จังหวัดสุพรรณบุรี 13 ราย จังหวัดนครปฐม 1 ราย จังหวัดอยุธยา 1 ราย จังหวัดสุรินทร์ 1 ราย จังหวัดอ่างทอง 1 ราย จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 3 ราย และจังหวัดปทุมธานี 1 ราย พบว่าเกษตรกรมีการใช้สารกำจัดเชื้อราเพื่อป้องกันกำจัดเชื้อราศัตรูเห็ด 1 ราย สารกำจัดเชื้อราที่ใช้ได้แก่ mancozeb ใช้สารฆ่าแมลงเพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูเห็ด 33 ราย สารฆ่าแมลงที่ใช้ได้แก่ carbaryl, cypermethrin, methomyl,carbofuran, carbosulfan, และ chlorpyriphos และใช้สารฆ่าไรเพื่อป้องกันกำจัดไรศัตรูเห็ด 19 ราย สารฆ่าไรที่ใช้ได้แก่ carbaryl, amitraz, methomyl, tetradifon, carbofuran และ cypermethrin

การแก้ปัญหาไรดีดในพื้นที่เพาะเห็ดนางรมฮังการีภาคกลางของประเทศไทย

The Solution of *Formicomotes heteromorphus* Magowski on the *Pleurotus ostreatus* (Jacq.ex Fr.) Kumm. Hungarian Type in the Central of Thailand

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์
อัจฉรา พยัพพานนท์[1/] **มานิตา คงชื่นสิน**
พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ **พลอยชมพู กรวิภาสเรือง**
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา [1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีจากฟาร์มเห็ดในเขตภาคกลาง ในระยะบ่มเส้นใย ที่เกิดจากการทำลายของไรดีด ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2551 พบความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีเดือนเมษายน พฤษภาคม มิถุนายน สิงหาคม และกันยายน เฉลี่ย 31.47, 57.14, 34.36, 25.00 และ 41.00% ตามลำดับ

คำนำ

เห็ดเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่ให้ผลตอบแทนในระยะเวลาสั้น การเพาะเห็ดในถุงพลาสติกได้ขยายพื้นที่ปลูกกันทั่วประเทศ ปัญหาการระบาดของศัตรูเห็ดจึงเกิดขึ้นอันเนื่องมาจากเกษตรกรมุ่งสนใจในด้านการผลิตมากกว่าการดูแลรักษา โดยเฉพาะการระบาดของไรศัตรูเห็ดชนิดต่างๆ ทำให้ผลผลิตลดลงมาก ปัจจุบันนี้การเพาะเห็ดนางรมอังการี มีเกษตรกรเพาะเห็ดชนิดนี้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นเห็ดที่ให้ผลผลิตเร็วกว่าเห็ดชนิดอื่นๆอีกทั้งยังมีราคาดี ไรดีดเป็นศัตรูที่สำคัญของเห็ดชนิดนี้ มันจะดูดกินเส้นใยเห็ดทุกระยะของการเพาะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจะพบว่าไรชนิดนี้ระบาดมากในก้อนเชื้อเห็ด ทำให้เห็ดไม่ออกดอกเนื่องจากถูกไรดีดดูดกินเส้นใย ทำให้เกษตรกรขาดทุนจนต้องเลิกกิจการไปในที่สุด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีและวิธีการแก้ปัญหาไรดีด เพื่อลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น

รหัสโครงการ 01-16-49-03

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ไรดีด *F. heteromorphus*
2. พู่กัน, เข็มเขี่ย, จานรอง, กล้อง stereomicroscope, น้ำกลั่น, procep, hand lens
3. เชื้อเห็ดนางรมฮังการี
4. อุปกรณ์ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ, อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, ตู้เขี่ยเชื้อ, แอลกอฮอล์, สำลี
5. โรงเพาะเห็ด
6. ขวดฝาเกลียวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. สูง 8.5 ซม.
7. เครื่องพ่นสาร
8. สารจับใบ
9. สารฆ่าไร
10. สารรมฟอสฟีน
11. ขวดหัวเชื้อเห็ดนางรมฮังการี
12. ก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการี

วิธีการ

1. สำรวจความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีที่เกิดจากไรดีด

สุ่มตรวจก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีในฤดูกาลระบาดจากแหล่งเพาะเห็ดนางรมฮังการีภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดเพชรบุรี ราชบุรี อ่างทองและนครปฐม จังหวัดละ 500 ก้อน ถ้าพบเส้นใยเห็ดบางลงถือว่าก้อนนั้นได้รับความเสียหาย บันทึกก้อนเชื้อเห็ดที่ปกติและบันทึกก้อนเชื้อเห็ดที่โดนไรทำลาย

2. การป้องกันกำจัดไรดีด

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ดังนี้

1 รมขวดหัวเชื้อ + พ่นสารฆ่าไรทุก 14 วัน ในระยะบ่มเส้นใย

2 ไม่รมขวดหัวเชื้อ + พ่นสารฆ่าไรทุก 14 วัน ในระยะบ่มเส้นใย

3 รมขวดหัวเชื้อ + ไม่พ่นสารฆ่าไร

4 ไม่รมขวดหัวเชื้อ + ไม่พ่นสารฆ่าไร

ปล่อยไรดีด *F. heteromorphus* ในระยะตั้งท้องบนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีบนเมล็ดข้าวฟ่างในขวด จำนวน 100 ตัว/ขวด จำนวน 40 ขวด ทิ้งไว้นาน 10 วัน นำมารมด้วยสารรมฟอสฟีนจำนวน 1 เม็ด รมนาน 1 ชั่วโมง ในภาชนะที่มีปริมาตร 0.5 ลูกบาศก์เมตร จำนวน 20 ขวด นำขวดที่รม 20 ขวด

ถ่ายเชื้อเห็ดบนเมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงที่มีส่วนผสมของขี้เลื่อย และอาหารเสริมที่นึ่งฆ่าเชื้อโดยไม่อัดความดันจำนวน 100 ถุง และนำขวดที่ไม่ได้รมด้วยสารรมฟอสฟีน ถ่ายใส่ถุงเช่นเดียวกันจำนวน 100 ถุง สุ่มถุงเห็ดตามกรรมวิธีที่ 1, 2, 3 และ 4 จำนวน 10 ถุง/ซ้ำ วางลงบนชั้นวางโรงเพาะเห็ดทำการพ่นสารฆ่าไร amitraz อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร ที่จุกสำลีผสมสารจับใบตามอัตราที่กำหนดทุก 14 วัน ในระยะบ่มเส้นใยในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 เก็บผลผลิตของเห็ดในแต่ละกรรมวิธีเป็นเวลา 90 วัน นำมาชั่งน้ำหนัก และนำข้อมูลน้ำหนักของเห็ดทั้งหมดมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2550 **สิ้นสุด** กันยายน 2552 **รวม** 2 ปี

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- ฟาร์มเห็ดภาคกลาง

ผลการทดลอง

จากการสำรวจความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีจากฟาร์มเห็ดในเขตภาคกลางในระยะบ่มเส้นใย ที่เกิดจากการทำลายของไรดีดระหว่างเดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2551 พบความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีเดือนเมษายน พฤษภาคม มิถุนายน สิงหาคม และกันยายน เฉลี่ย 31.47, 57.14, 34.36, 25.00 และ 41.00% ตามลำดับ

การป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล Hypomyces สาเหตุโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus cystidiosus*)

Control of genus Hypomyces Causing Cobweb Disease of Abalone Mushroom (*Pleurotus cystidiosus*)

อภิรัชต์ สมฤทธิ์
มนตรี เอี่ยมวิมังสา ธารทิพย ภาสบุตร สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 พบว่าการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) มีการสร้างโคโลนีลักษณะเส้นใย สีขาวนวล ฟู เจริญเร็วเต็มจานอาหารภายในเวลา 5 วัน เชื้อราสร้างก้าน conidiophore ลักษณะแตกกิ่งก้านแบบ verticillate โคนีเดียรูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 5.12 – 10.36 x 10.36 – 25.90 ไมครอน เกิดจากฐาน denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่ส่วนปลายแตกกิ่งก้านแบบ verticillate เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราตามลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะโคโลนีบนอาหาร โดยเปรียบเทียบกับ เอกสารการจัดจำแนกชนิดที่มีการศึกษาและรายงานไว้แล้ว สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อราสกุล *Cladobotryum verticillatum* ซึ่งเป็นระยะ anamorph ของรา *Hypomyces ochraceus*

การทดสอบสารเคมีในการป้องกันกำจัดราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่าสารเคมีโพคลอราซ (prochloraz) และสารเคมีโพรพิโคนาโซล (propiconazole) มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือน การทดสอบการใช้สารสกัดจากไพล และขมิ้นชันในการกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สารสกัดทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ แต่ไม่ดีเทียบเท่าการใช้สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-07-01-51

คำนำ

Hypomyces เป็นราที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถอาศัยอยู่บนราชนิดอื่นได้ ระยะ anamoprh ของรานี้พบได้บนรากลุ่ม Aphyllophorales (Basidiomycotina, Hymenomycetes) หรือกลุ่มของเห็ดรา โดยพบทำให้เกิดโรคที่สร้างความเสียหายต่อการเพาะเห็ดในต่างประเทศอย่างร้ายแรง (Pope *et al*., 1985; Rogerson and Samuels, 1993; Russell, 1984) นอกจากนั้นเชื้อในระยะ anamorph ในกลุ่มนี้ คือ *Cladobotryum verticillatum* ยังทำให้เกิดโรค cobweb หรือใยแมงมุมกับเห็ดหูหนูอย่างรุนแรงในประเทศอินเดีย (Goltapeh *et al*., 1989) เชื้อ *C. dendroides* ยังพบว่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรค cobweb กับเห็ดแชมปิญอง (*Agaricus bisporus*) ในหลายประเทศ (Makay *et al*., 1996) และยังพบเชื้อ *C. varium* ทำให้เกิดโรคกับดอกเห็ดเข็มทอง (*Flammulina velutipes*) ในประเทศเกาหลีใต้ (Kim *et al*., 2002) จากการพบเชื้อรา *Cladobotryum clavisporum, C. polypori* บนดอกเห็ดหูหนู (อภิรัชต์, 2544; อภิรัชต์ และคณะ, 2545) และ *C. verticillatum* บนดอกเห็ดหลินจือในประเทศไทย ซึ่งราเหล่านี้เป็นระยะ anamorph ของรา Hypomyces ทำให้น่าพิจารณาว่าเชื้อราชนิดที่พบแล้ว หรือที่ยังไม่มีการพบใหม่อาจก่อให้เกิดความเสียหายกับเห็ดชนิดอื่น ๆ นอกจากเห็ดหูหนู และเห็ดหลินจือ และจากการที่ได้พบเชื้อราลักษณะเดียวกันกับรา *Cladobotryum* spp. เจริญบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อที่เพาะที่จังหวัดแพร่เมื่อปี 2547 ซึ่งตรงกับที่ได้คาดคะเนไว้ แต่ขณะนี้ยังไม่ทราบชนิด (species) ของเชื้อราที่พบใหม่นี้ รวมถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยา แหล่งอาศัย แหล่งแพร่กระจาย และชีววิทยา ดังนั้นจากการพบรายงานการระบาดและเข้าทำลายของเชื้อรากลุ่มนี้ จึงต้องวางแผนการศึกษาหาข้อมูลดังกล่าว เพื่อให้ข้อมูลและผลสรุปที่เป็นประโยชน์ต่อการหาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อรานี้อย่างมีประสิทธิภาพ ไม่ให้เกิดแพร่ระบาดทำความเสียหายแก่การผลิตเห็ดในฟาร์มเพาะเห็ดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. แยกเชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อราที่พบบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อบนอาหาร PDA และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อรา เพิ่มปริมาณเชื้อรา แล้วพิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulate แล้วบันทึกผลตรวจสอบและบันทึกลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหาร PDA และ PDYA และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา จำแนกชนิดของเชื้อราที่ได้โดยเปรียบเทียบกับชนิดและภาพ (monograph) ในเอกสารของต่างประเทศ

2. ทดสอบผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* ในห้องปฏิบัติการ โดยการนำสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด มาทำ suspension ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีความเจือจางของสารที่ 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้ pipette ดูด suspension 2 มล. หยดและเกลี่ยบนผิวอาหาร PDA ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดเส้นใยเชื้อรา *Hypomyces* ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน มาวางบนอาหาร PDA ที่เกลี่ยด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราแล้ว (ทำ 5 ซ้ำ) จากนั้นบ่มไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา และเส้นใยเห็ด โดยวัดการเจริญในแนวราบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลังเลี้ยงเชื้อรา 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน

3. ทดสอบผลของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* ในห้องปฏิบัติการ โดยการนำสารสกัดจากพืช 3 ชนิด มาทำ suspension ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำให้สารที่ได้มีความเจือจางที่ 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้ pipette ดูด suspension 2 มล. หยดและเกลี่ยบนผิวอาหาร PDA ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดเส้นใยเชื้อรา *Hypomyces* ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน มาวางบนอาหาร PDA ที่เกลี่ยด้วยสารสกัดจากพืชแล้ว (ทำ 5 ซ้ำ) จากนั้นบ่มไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา กับเส้นใยเห็ด โดยวัดการเจริญในแนวราบบนอาหาร PDA หลังเลี้ยงเชื้อเห็ด 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน

4. ทดสอบผลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* ในห้องปฏิบัติการ โดยนำแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* 3 ไอโซเลท มาทำ suspension ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำให้สารที่ได้มีความเจือจางที่ 10^{-1} , 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} แล้วใช้ pipette ดูด suspension 2 มล. หยดและเกลี่ยบนผิวอาหาร PDA ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ตัดเส้นใยเชื้อรา *Hypomyces* ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน มาวางบนอาหาร PDA ที่เกลี่ยด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แล้ว (ทำ 5 ซ้ำ) จากนั้นบ่มไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา กับเส้นใยเชื้อรา โดยวัดการเจริญในแนวราบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลังเลี้ยงเชื้อรา 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน

5. ทดสอบผลของสารเคมี สารสกัดจากพืช และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเกิดโรคใยแมงมุมในโรงเรือนเพาะเห็ดเป๋าฮื้อ โดยการปลูกเชื้อรา *Hypomyces* ลงบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อบ่มเชื้อ 5 วัน ในสภาพความชื้นประมาณ 80-85 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญคลุมเข้าทำลายดอกเห็ดและเป็นโรคใยแมงมุม จากนั้นนำก้อนเชื้อเห็ดเป๋าฮื้อที่เกิดโรคจำนวน 20 ก้อน ไปวางรวมกับก้อนเห็ดเป๋าฮื้อจำนวน 200 ก้อน ที่กำลังเปิดดอก แต่ยังไม่มีดอกเห็ดโผล่ออกมา ดูแลให้ความชื้นและอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเกิดโรค ทิ้งไว้ประมาณ 5 วัน จากนั้นแบ่งพื้นที่วางเห็ดเป็น 4 ส่วน กั้นแบ่งแต่ละส่วนออกจากกันด้วยผ้าพลาสติก และแต่ละส่วนวาง

ก้อนเห็ด 50 ก้อน ส่วนที่ 1 พ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ส่วนที่ 2 พ่นสารสกัดจากพืช ส่วนที่ 3 พ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ส่วนที่ 4 พ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยพ่นที่พื้นและผนังโรงเรือน ชั้นวางก้อน และผิวนอกของก้อนเชื้อที่เป็นถุงพลาสติก ในแต่วันจะต้องปรับสภาพความชื้นและอุณหภูมิให้เหมาะสมต่อการเจริญของดอกเห็ด บันทึกผลในแต่ละส่วนจากขนาดและน้ำหนัก ลักษณะอาการโรค และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนดอกเห็ดแต่ละดอกจนครบ 50 ดอก

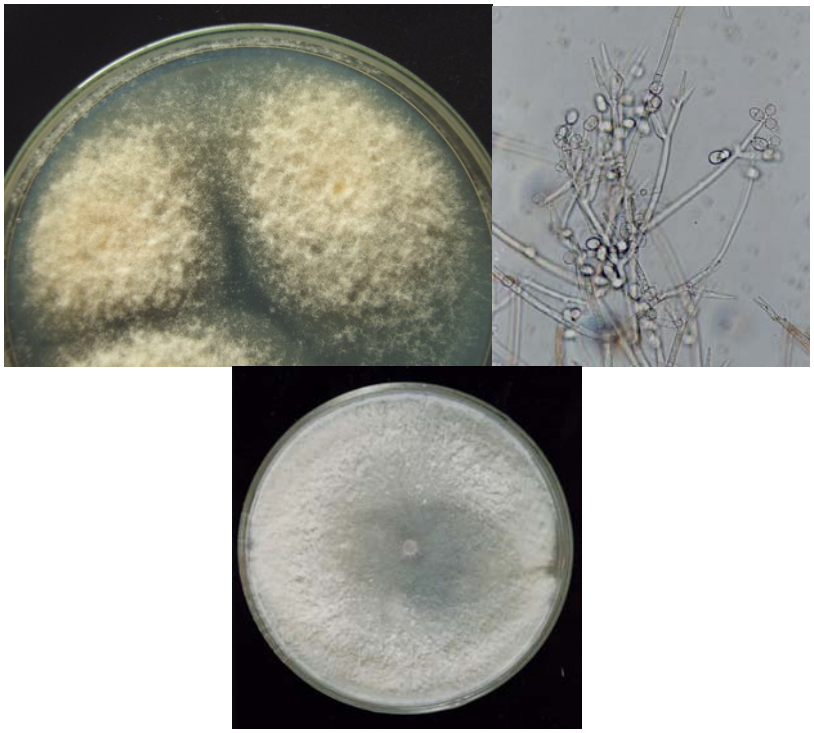
เวลาและสถานที่

- กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- ฟาร์มเพาะเห็ดเศรษฐกิจของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 พบว่าการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) มีการสร้างโคโลนีลักษณะเส้นใย สีขาวนวล ฟู เจริญเร็วเต็มจานอาหารภายในเวลา 5 วัน

เชื้อราสร้างก้าน conidiophore ลักษณะแตกกิ่งก้านแบบ verticillate โคนีเดียรูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 5.12 – 10.36 x 10.36 – 25.90 ไมครอน เกิดจากฐาน denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่ส่วนปลายแตกกิ่งก้านแบบ verticillate เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราตามลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะโคโลนีบนอาหาร โดยเปรียบเทียบกับ เอกสารการจัดจำแนกชนิดที่มีการศึกษาและรายงานไว้แล้ว สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อราสกุล *Cladobotryum verticillatum* ซึ่งเป็นระยะ anamorph ของรา *Hypomyces ochraceus*



เชื้อราชนิดมีแหล่งอาศัยที่เป็นสิ่งมีชีวิต จำพวกเห็ดสกุล Russulales ได้แก่ *Lactarius* spp. และ *Russula* spp. เมื่อเจริญปกคลุมดอกเห็ดแล้ว จะทำให้เนื้อเยื่อดอกเห็ดส่วนนั้นเน่าเสีย และในที่สุดเน่าเสียทั้งดอก

เชื้อรามีแหล่งแพร่กระจายทั่วโลก ได้แก่ แคนาดาตะวันออก ทั่วทุกภาคของสหรัฐอเมริกา คิวบา โคลัมเบีย ฝรั่งเศส สหราชอาณาจักร ฟินแลนด์ สาธารัฐเช็ค เยอรมัน เนเธอร์แลนด์ เอสโตเนีย ลิตทูเนีย รัสเซีย ยูเครน ไซบีเรีย และญี่ปุ่น ส่วนใหญ่พบในระยะ anamorph หรือ เป็นเชื้อรา *Cladobotryum verticillatum* มากกว่า ระยะ teleomorph หรือ เชื้อรา *Hypomyces ochraceus*

การทดสอบสารเคมีในการป้องกันกำจัดราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่าสารเคมีโพคลอราซ (prochloraz) และสารเคมีโพรพิโคนาโซล (propiconazole) มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือน

การทดสอบการใช้สารสกัดจากไพล และขมิ้นชันในการกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สารสกัดทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ แต่ไม่ดีเทียบเท่าการใช้สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา

งานวิจัยเรื่องนี้ยังดำเนินการไม่จบ จะต้องทำการศึกษาวิจัยต่อไปจนถึง ปี พ.ศ. 2553 คาดว่าเมื่อถึงเวลานั้นแล้ว คงผลการทดลองที่มีข้อมูล และรายละเอียดที่ชัดเจนและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 พบว่าการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) มีการสร้างโคโลนีลักษณะเส้นใย สีขาวนวล ฟู เจริญเร็วเต็มจานอาหารภายในเวลา 5 วัน เชื้อราสร้างก้าน conidiophore ลักษณะแตกกิ่งก้านแบบ verticillate โคนีเดียรูปไข่ ใส ไม่มีสี มี 1-2 เซลล์ ขนาด 5.12 – 10.36 x 10.36 – 25.90 ไมครอน เกิดจากฐาน denticulate conidiogenous loci บน phialide ที่ส่วนปลายแตกกิ่งก้านแบบ verticillate เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราตามลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะโคโลนีบนอาหาร โดยเปรียบเทียบกับ เอกสารการจัดจำแนกชนิดที่มีการศึกษาและรายงานไว้แล้ว สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อราสกุล *Cladobotryum verticillatum* ซึ่งเป็นระยะ anamorph ของรา *Hypomyces ochraceus*

การทดสอบสารเคมีในการป้องกันกำจัดราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่าสารเคมีโพคลอราซ (prochloraz) และสารเคมีโพรพิโคนาโซล (propiconazole) มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือน การทดสอบการใช้สารสกัดจากไพล และขมิ้นชันในการกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สารสกัดทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ แต่ไม่ดีเทียบเท่าการใช้สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา

เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันหลง, พัน อินทร์จันทร์, พัฒนา สนธิรัตน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2540. การใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมโรคหอมเลื้อย, หน้า 49-64. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2540. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

พัฒนา สนธิรัตน, นิตยา กันหลง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, และประเทืองศรี สินชัยศรี. 2537. ผลของสารสกัดจากพืชบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเลื้อยของหอม, หน้า 27-38. *ใน* รายงานผลงานวิจัยผลงานวิจัย พ.ศ.2537. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

ศรีสุดา กวยาสกุล. 2536. แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ที่มีความสามารถในการควบคุมเชื้อ *Fusarium moniliforme* Seldon เชื้อสาเหตุโรครากเน่าและลำต้นเน่าของอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2544. โรคของเห็ดหูหนู. ข่าวสารเพื่อผู้เพาะเห็ด ปีที่ 6 ฉบับที่ 2 (พฤษภาคม-สิงหาคม 2544): 18-20.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2545. การทดสอบสารป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม (cobweb). ข่าวสารเพื่อผู้เพาะเห็ด ปีที่ 7 ฉบับที่ 3 (กันยายน-ธันวาคม 2545): 26-28.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน, นิยม ไข่มุกข์, และธารทิพย ภาสบุตร. 2545. โรค Cobweb ของเห็ดหูหนู, หน้า 12-13. ใน เอกสารประชุมวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา ปี พ.ศ.2545 กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Bhatt, N., and R. P. Singh. 2003. Cobweb Disease of *Agaricus bisporus*: Incidence, Losses and Effective Management. http://www.mushworld.com/disease/view.

Coles, P. S., and W. Barber. 2004. Pest Species Biology and Control, pp. 52-60. *In* Pennsylvania Mushroom Integrated Pest Management Handbook. Pennsylvania Department of Agriculture and the Pennsylvania State University, United States of America.

Goltapeh, E.M., C.L. Jandaik, J.N. Kapoor and V. Prakash. 1989. *Cladobotryum verticillatum*-A new pathogen of Jew's ear mushroom causing cobweb disease. Mush. J. Tropics, 9:155-160.

Kim, H.K., S. J. Seok, G. P. Kim, B. J. moon, and T. Terashita. 2002. Occurrence of Disease Caused by *Cladobotryum varium* on *Flammulina velutipes* in Korea. http://www.mushworld.com.

Kwan, H. J. 2002. Mushroom-Engulfing Cobweb (*Dactylium dendroides*). http://www.mushworld.com.

Makay, G. J., D. Egan, E. Morris, C. Scott, and A. E. Brown. 1996. Genetic and Morphological Characterization of *Cladobotryum* Species Causing Cobweb Disease of Mushrooms. Applied and Environmental Microbiology, 65 (2): 606-610.

McHugh, R., B., Seddon. Comparison of Biocontrol of *Botrytis cinerea* in Tomato and Lettuce Crops Using *Bacillus brevis*. http://www.google.co.th/search?q=cache:A9Y_suDRYREJ:www.u-bourgogne.fr/IUVV/P52.pdf+bacillus%2Bmould%2Bbioco.

Poppe, J., W. Welvaert, and G. de Both. 1985. Diseases and their control-possibilities after ten years *Pleurotus* culture in Belgium. Mededelingen-van-de-Faculteit-Landbouwwetenschappen-Rijksuniversiteit-Gent, 50:3b, 1097-1108.

Rogerson, C.T. and G.J. Samuels. 1993. Polyporicolous species of *Hypomyces*. Mycologia, 85(2) 231-272.

Russell, P. 1984. Sporgon on mushrooms. Mushroom Journal, 141:299-300.

Seddon, B. *Bacillus brevis* (*Brevibacillus brevis*) and Biological Control of *Botrytis cinerea*. http://www.u-bourgogne.fr/IUVV/L25.html

สาเหตุ และการแพร่กระจายของราเมือกที่ทำความเสียหาย ในการเพาะเห็ดถุงของประเทศไทย

Cause and Distribution of Slime moulds Damaging the Sawdust Bag Mushroom Production Thailand

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ อัจฉรา พยัพพานนท์
ธารทิพย ภาสบุตร สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างราเมือกที่พบเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ด และดอกเห็ดนางรม เห็ดภูฏาน เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดขอนขาว และ ดอกเห็ดตีนแรด ในฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า ในพื้นที่ 14 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร ชลบุรี เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม ราชบุรี พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรีลำปาง ร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ สุรินทร์ อุบลราชธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 สามารถเก็บรวบรวมราเมือกได้จำนวน 49 ไอโซเลท ราเมือกที่พบเข้าทำลายเห็ดที่เพาะเป็นการค้า มีลักษณะเป็นเมือกเยิ้มเรียกว่าพลาสโมเดียม (plasmodium) สีเหลือง ส่วนใหญ่จะมีสีเหลืองตั้งแต่เหลืองเข้ม เหลืองสด จนถึงเหลืองอ่อนเกือบขาว แผ่ขยายหรือเจริญในลักษณะคล้ายรากพืช หรือบางทีพบเป็นรูปพัด บางครั้งพบระยะที่สร้างระยะสปอร์แรงเจียม (sporangium) เป็นกลุ่มก้านชูกลุ่มสปอร์ สีเทา สีน้ำตาลดำ หรือสีน้ำตาลอมม่วงเข้ม มีลักษณะคล้ายหัวไม้ขีดไฟ หรือคล้ายถูป หรือ บางชนิดเป็นกลุ่มคล้ายขนมคุกกี้สีเหลือง หรือสีครีมภายในเป็นกลุ่มของสปอร์แห้ง ราเมือกหรือ slime mold เป็นราที่จัดอยู่ใน Division myxomycota จากการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยา การเจริญ และวงจรชีวิตของราเมือกที่พบจำนวน 49 ไอโซเลท สามารถจำแนกเบื้องต้นได้เป็นราเมือก 4 สกุล (genus) ได้แก่ สกุล *Arcyria*, สกุล *Fuligo*, สกุล *Physarum* และ สกุล *Stemonitis* เมื่อประเมินความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของราเมือก พบว่ามีความเสียหายตั้งแต่ 5 – 50 เปอร์เซ็นต์

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-08-01-51

คำนำ

การเพาะเห็ดในถุงพลาสติกหรือการเพาะเห็ดถุงในประเทศไทย เช่น เห็ดสกุลนางรม เห็ดหอม เห็ดหูหนู และเห็ดยานางิ เป็นต้น ได้มีการพัฒนามานานหลายสิบปีแล้ว การเพาะเห็ดถุงมักจะประสบปัญหาการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ แมลง และไร ศัตรูเห็ดหลายชนิด เชื้อจุลินทรีย์จำพวกหนึ่งที่เข้าทำลายการเพาะเห็ดถุง คือ เชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นเมือก มันเยิ้มสีเหลืองเข้ม ขึ้นคลุมที่ก้านดอก หมวกดอก ก้อนเชื้อเห็ด และภายในก้อนเชื้อเห็ด ในปี พ.ศ.2549 มีตัวอย่างดอกเห็ดยานางิจากฟาร์มเพาะเห็ดยานางิแห่งหนึ่ง ที่ จ.ลำพูน มีเมือกเป็นมันเยิ้มสีเหลืองเข้ม ขึ้นคลุมที่ก้านดอก พบว่า เมือกสีเหลืองที่พบเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง ในเบื้องต้นทราบแต่เพียงว่าเป็น “รา เมือก” หรือ “Slime mold”

จากปัญหาที่พบในฟาร์มเพาะเห็ดถุงในประเทศไทยในช่วงปี พ.ศ.2549 มักจะพบราเมือกมีหลายสี ตั้งแต่เหลืองเข้ม เหลืองสด จนถึงเหลืองอ่อน หรือ ครีม เจริญแผ่กระจายหรือคืบคลานเคลื่อนที่ไปลักษณะคล้ายร่างแห รากพืช หรือรูปพัด ทั้งในและบนถุงขี้เลื่อยเพาะเห็ด บนดอกเห็ด ชั้นวางก้อนเห็ด รวมถึงพื้นโรงเรือนเปิดดอกเห็ด โดยเฉพาะในโรงเรือนเปิดดอก ที่มีก้อนเห็ดวางเปิดดอกทิ้งไว้นานถึง 4-5 เดือน จากปัญหาดังกล่าวทำให้เกิดคำถามจากผู้เพาะเห็ดว่าราเมือกมีความเป็นมาอย่างไร มีวงจรชีวิต ลักษณะโครงสร้าง รวมทั้งจะหาทางป้องกันกำจัดไม่ให้เกิดปัญหายิ่งขึ้นในการเพาะเห็ดเพื่อการค้าอย่างไร ซึ่งถึงแม้ราเมือกเป็นที่รู้จักในวงการเห็ดมานานแล้ว แต่เท่าที่ทราบในประเทศไทยยังไม่พบข้อมูลเกี่ยวกับทางด้านชีววิทยา การแพร่กระจาย และการทำความเสียหายให้กับการเพาะเห็ดเลย เท่าที่พบมีเพียงข้อมูลจากไต้หวันที่ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับราเมือกในเรื่อง Slime moulds found from Edible Mushroom Cultivation Sites โดย Chung และคณะ (2005) จากภาควิชาโรคพืชและกีฏวิทยา (Department of Plant Pathology and Entomology) และ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ (Department of Botany) มหาวิทยาลัยแห่งชาติไต้หวัน (National Taiwan University) กรุงไทเป ประเทศไต้หวัน (http://www.bspp.org.uk/ICPP98/6/9.html.) เท่านั้น การศึกษานี้สืบเนื่องมาจาก ที่มักจะพบราเมือกอาศัยอยู่บนดอกเห็ดเศรษฐกิจที่เพาะในไต้หวัน ทำให้ดอกเห็ดเน่าเสียหรือมีผลยับยั้งกระบวนการสร้างดอกเห็ด และเมื่อ Liu และคณะ (1991) ศึกษาโรคของเห็ดที่กินได้ในประเทศจีน พวกเขาได้บันทึกไว้ว่ายังไม่มีวิธีการที่เหมาะสมใด ๆ ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดจากราเมือก

จากปัญหาและความเสียหายที่เกิดขึ้นกับเกษตรกรผู้เพาะเห็ดถุงในหลาย ๆ พื้นที่ของประเทศไทยได้ประสบอยู่ จึงเป็นเหตุผลที่จำเป็นอย่างยิ่งต้องวางแผนการศึกษาหาข้อมูล สกุล (genus) หรือชนิด (species) สาเหตุความเป็นมา แหล่งอาศัย วงจรชีวิต ลักษณะโครงสร้างของราเมือก เพื่อให้ข้อมูลและผลสรุปที่เป็นประโยชน์ต่อการหาวิธีการป้องกันกำจัดราเมือกนี้อย่างมี

ประสิทธิภาพ ไม่ให้เกิดแพร่ระบาดทำความเสียหายอย่างใหญ่หลวงต่อการผลิตเห็ดในฟาร์มเพาะเห็ดถุงต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างและบันทึกข้อมูลการสำรวจและเก็บราเมือกในฟาร์มเห็ดถุง ได้แก่ ถุงพลาสติก มีด ปากกาเคมีกันน้ำ สมุดบันทึกพร้อมปากกา กล้องถ่ายภาพ

2. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบลักษณะราเมือกในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ กล้องจุลทรรศ์ระบบสเตอริโอ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง และ อาหาร WA (water agar 1.5%)

วิธีการ

1. สำรวจฟาร์มเพาะเห็ดถุง ได้แก่ เห็ดนางรม เห็ดนางฟ้า เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดหอม เห็ดหูหนู และ เห็ดยานางิ ในฟาร์มเพาะเห็ดทั่วทุกภาคของประเทศไทย

2. เก็บตัวอย่างราเมือกที่พบบนดอกเห็ดและบนก้อนเชื้อเห็ด บันทึกลักษณะของราเมือกที่เจริญบนก้อนหรือดอกเห็ด บันทึกข้อมูลความเสียหายในฟาร์ม และสภาพแวดล้อมของฟาร์มเห็ด

3. ตรวจสอบลักษณะสัณฐานของราเมือกภายใต้กล้องจุลทรรศ์ระบบสเตอริโอ และกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

4. ตรวจสอบลักษณะการเจริญและวงจรชีวิต (life cycle) ของราเมือกบนก้อนเชื้อเห็ด และลักษณะการเจริญบนอาหาร WA ที่โรยด้วยเกล็ดข้าวโอ๊ต บันทึกลักษณะวงจรชีวิตของราเมือก

5. จำแนกสกุล (genus) หรือชนิด (species) ของเชื้อราเมือก โดยอาศัยลักษณะวงจรชีวิต ลักษณะการเจริญบนอาหาร WA ที่โรยด้วยเกล็ดข้าวโอ๊ต และลักษณะสัณฐานของราเมือกที่เจริญขึ้นมาภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง เปรียบเทียบกับข้อมูลและภาพ (monograph) จากต่างประเทศที่ได้มีการศึกษาและรายงานมาแล้ว

6. บันทึกชื่อสกุล (genus) หรือ ชนิด (species) ของราเมือกที่ได้จากฟาร์มเห็ด และชนิดของเห็ดที่พบราเมือกเข้าทำลาย

เวลาและสถานที่

- กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
- ฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างราเมือกที่พบเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ด และดอกเห็ดนางรม เห็ดภูฏาน เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดขอนขาว และ ดอกเห็ดตีนแรด ในฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า ในพื้นที่ 14 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร ชลบุรี เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม ราชบุรี พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรีลำปาง ร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ สุรินทร์ อุบลราชธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 สามารถรวบรวมราเมือกได้จำนวน 49 ไอโซเลท เมื่อประเมินความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของราเมือกพบว่ามีความเสียหายตั้งแต่ 5 – 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

2. ราเมือกที่พบเข้าทำลายเห็ดที่เพาะเป็นการค้า มีลักษณะเป็นเมือกเยิ้มเรียกว่าพลาสโมเดียม (plasmodium) สีเหลือง ส่วนใหญ่จะมีสีเหลืองตั้งแต่เหลืองเข้ม เหลืองสด จนถึงเหลืองอ่อนเกือบขาว แผ่ขยายหรือเจริญในลักษณะคล้ายรากพืช หรือบางทีพบเป็นรูปพัด บางครั้งพบระยะที่สร้างระยะสปอร์แรงเจียม (sporangium) เป็นกลุ่มก้านชูกลุ่มสปอร์ขนาดความสูงประมาณ 10 – 15 มิลลิเมตร สีน้ำตาลดำ หรือสีน้ำตาลอมม่วงเข้ม มีลักษณะคล้ายถูป หรือ บางชนิดเป็นกลุ่มคล้ายขนมคุกกี้สีเหลือง หรือสีครีมภายในเป็นกลุ่มของสปอร์แห้ง ราเมือกหรือ slime mold เป็นราที่จัดอยู่ใน จำพวก (Division) myxomycota จากการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยา การเจริญ และวงจรชีวิตของราเมือกที่พบจำนวน 49 ไอโซเลท สามารถจำแนกเบื้องต้นได้เป็นราเมือก 4 สกุล (genus) ได้แก่

1. สกุล *Arcyria* : เป็นราเมือกที่มีการเจริญและเคลื่อนที่คล้ายอะมีบา พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรากพืช สีขาว เป็นมันเยิ้ม อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด และบนดอกเห็ด มีขนาดตั้งแต่ 2.5 – 10 เซนติเมตร ในสภาพความชื้นต่ำ หรือ ขาดอาหาร พลาสโมเดียมจะสร้างเป็นส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า สปอร์แรงเจียม เป็นกลุ่มคล้ายหัวไม้ขีดไฟสีเทา มีก้านชู ขนาดยาว 5 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 – 0.7 มิลลิเมตร ภายในมีสปอร์แห้งสีน้ำตาลดำเมื่อสปอร์งอกใหม่จะเริ่มต้นการเจริญเป็นพลาสโมเดียมหรือลักษณะคล้ายอะมีบาอีกครั้ง

2. สกุล *Fuligo* : เป็นราเมือกที่มีการเจริญและเคลื่อนที่คล้ายอะมีบา พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรากพืช สีขาว จนถึงสีเหลืองอ่อน เป็นมันเยิ้ม อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด มีขนาดตั้งแต่ 2.5 – 20 เซนติเมตร ในสภาพความชื้นต่ำ หรือ ขาดอาหาร พลาสโมเดียมจะรวมตัวแล้วสร้างส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า สปอร์แรงเจียม เป็นกลุ่มนูนแห้งสีเหลืองหรือขาวครีม ลักษณะคล้ายหมอนขนาดเท่ากับขนาดกลุ่มของพลาสโมเดียม ภายในมีสปอร์แห้งสีน้ำตาลดำเมื่อสปอร์งอกใหม่ จะเริ่มต้นการเจริญเป็นพลาสโมเดียมหรือลักษณะคล้ายอะมีบาอีกครั้ง

3. สกุล *Physarum* : ราเมือกในสกุลนี้ มีการเจริญและเคลื่อนที่คล้ายอะมีบา พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญ พลาสโมเดียมสามารถแผ่ขยายได้กว้างถึง 30 เซนติเมตร ดำรงชีวิตโดยการกินอนุภาคแบคทีเรีย สปอร์จุลินทรีย์ และเศษซากเล็ก ๆ ของอินทรียวัตถุ ในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป เช่น ในสภาพความชื้นต่ำ หรือ ขาดอาหาร พลาสโมเดียมจะรวมตัวแล้วสร้างส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า สปอร์แรงเจียม เป็นกลุ่มนูนแห้งสีดำ ลักษณะคล้ายหมอน ขนาดประมาณ 5 – 15 มิลลิเมตร ภายในมีสปอร์แห้งสีน้ำตาลดำเมื่อสปอร์งอกใหม่ จะเริ่มต้นการเจริญเป็นพลาสโมเดียมหรือลักษณะคล้ายอะมีบาอีกครั้ง

4. สกุล *Stemonitis* : เป็นราเมือกในวงศ์ Stemonitaceae ส่วนใหญ่จะพบในระยะสร้างโครงสร้างขยายพันธุ์แบบสปอร์แรงเจียมและ เอทัลเลียม (sporangium และ aethalium) สปอร์เมื่ออยู่รวมกันเป็นกลุ่มจะเห็นเป็นสีดำหรือสีม่วงเข้ม ลักษณะสปอร์แรงเจียมมีก้านชู (stalked sporangium) รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ ขนาดความสูง 5-25 มิลลิเมตร เกิดอยู่รวมกันเป็นกลุ่มใหญ่ บนก้อนเชื้อเห็ด ในบางครั้งอาจติดกันแน่น ก้านสีดำเป็นมัน สูง 1 - 4 มิลลิเมตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.7 – 1 มิลลิเมตร กลุ่มช่อสปอร์ ยาวจนเกือบถึงยอดสปอร์แรงเจียมหรือแคปิลลีเทียม มีลักษณะเป็นตาข่ายหรือร่างแห สปอร์สีดำปนม่วงเมื่ออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ผนังตะปุ่มตะป่ำ (wart) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของสปอร์เท่ากับ 7-9 ไมครอน เมื่อมีสภาพแวดล้อมเหมาะสม จะเจริญเป็นพลาสโมเดียม มีการเจริญและเคลื่อนที่คล้ายอะมีบา มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด

ตารางที่ 1 แสดงสถานที่พบราเมือก และระดับความเสียหาย (%) ที่เกิดจากราเมือก ชนิดเห็ดที่พบราเมือก ลักษณะการเกิดราเมือก และชนิดของราเมือกที่พบ จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างราเมือกในฟาร์มเพาะเห็ด ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 – เดือนกันยายน 2551

ไอโซเลทที่	สถานที่	ระดับความเสียหาย (%)	ชนิดเห็ด/ก้อนเห็ดที่พบ	ลักษณะราเมือก	ชนิดราเมือก
1 - 2	อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม	5	บนดอกและก้อนเชื้อเห็ดนางรม	- เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
				- พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม	สกุล *Physarum*
3 - 4	อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี	20	บนดอกและก้อนเชื้อเห็ดนางรม	- เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
				- พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม	สกุล *Physarum*
5	อ.เมือง จ.ราชบุรี	10	ก้อนเชื้อเห็ดหูหนู	- พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม	สกุล *Physarum*
6 - 7	อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	30	ก้อนเชื้อเห็ดนางรม	- เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
				- พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม	สกุล *Physarum*
8 - 9	อ.ภูเรือ จ.เลย	20	ก้อนเชื้อเห็ดหอม	- พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรากพืช สีขาว จนถึงสีเหลืองอ่อน เป็นมันเยิ้ม สปอร์แรงเจียม เป็นกลุ่มนูนแห้งสีเหลืองหรือขาวครีม	สกุล *Fuligo*
10 - 11	อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย	15	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*

1734

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ไอโซเลทที่	สถานที่	ระดับความเสียหาย (%)	ชนิดเห็ด/ก้อนเห็ดที่พบ	ลักษณะราเมือก	ชนิดราเมือก
12 - 14	อ.แม่ทะ จ.ลำปาง	25	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
15 - 16	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี	5	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
17 - 19	อ.โพธาราม จ.ราชบุรี	50	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรากพืช สีขาว จนถึงสีเหลืองอ่อน เป็นมันเยิ้ม	สกุล *Fuligo*
20 - 22	อ.เมือง จ.นครปฐม	10	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
23 – 24	อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่	5	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	- พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม - พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรากพืช สีขาว จนถึงสีเหลืองอ่อน เป็นมันเยิ้ม สปอร์แรงเจียม เป็นกลุ่มนูนแห้งสีเหลืองหรือขาวครีม	สกุล *Physarum* สกุล *Fuligo*
25	อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม	10	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรากพืช สีขาว เป็นมันเยิ้ม สปอร์แรงเจียม เป็นกลุ่มคล้ายหัวไม้ขีดไฟสีเทา มีก้านชู	สกุล *Arcyria*
26	อ.บางแพ จ.ราชบุรี	5	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*

1735

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ไอโซเลทที่	สถานที่	ระดับความเสียหาย (%)	ชนิดเห็ด/ก้อนเห็ดที่พบ	ลักษณะราเมือก	ชนิดราเมือก
27 - 29	อ.ประทาย จ.นครราชสีมา	30	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	- เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
				- พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม	สกุล *Physarum*
30 - 32	อ.เมือง จ.ร้อยเอ็ด	50	ก้อนเชื้อเห็ดขอนขาว	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
33 - 34	อ.เมือง จ.อุบลราชธานี	20	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรากพืช สีขาว จนถึงสีเหลืองอ่อน เป็นมันเยิ้ม สปอร์แรงเจียม เป็นกลุ่มนูนแห้งสีเหลืองหรือขาวครีม	สกุล *Fuligo*
35	อ.ปรางค์กู่ จ.ศรีสะเกษ	20	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
36 - 39	อ.ปราสาท จ.สุรินทร์	50	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
40 - 42	อ.เมือง จ.นครปฐม	15	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	- พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม	สกุล *Physarum*
43 - 44	อ.ตะกั่วทุ่ง จ.พังงา	25	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*

1736

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ไอโซเลทที่	สถานที่	ระดับความเสียหาย (%)	ชนิดเห็ด/ก้อนเห็ดที่พบ	ลักษณะราเมือก	ชนิดราเมือก
45	อ.บางสะพาน จ.ประจวบคีรีขันธ์	5	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรากพืช สีขาว จนถึงสีเหลืองอ่อน เป็นมันเยิ้ม สปอร์แรงเจียม เป็นกลุ่มนูนแห้งสีเหลืองหรือขาวครีม	สกุล *Fuligo*
46 – 47	อ.เมือง จ.ชุมพร	30	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
48	อ.เมือง จ.ประจวบคีรีขันธ์	35	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
49	เขตบางเขน จังหวัดกรุงเทพมหานคร	5	ดอกเห็ดตีนแรด	-พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรากพืช สีขาว จนถึงสีเหลืองอ่อน เป็นมันเยิ้ม สปอร์แรงเจียม เป็นกลุ่มนูนแห้งสีเหลืองหรือขาวครีม	สกุล *Fuligo*

1737

ราเมือกหรือ slime mold เป็นราที่จัดอยู่ใน จำพวก (Division) myxomycota, ชั้น (Class) Acrasiomycetes ราในพวกนี้มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่าง รา (fungus) และ สัตว์ (animal) ด้วยเหตุนี้นักอนุกรมวิธาน (taxonomist) บางคนจึงจัดจำแนกราเมือกไว้ในอาณาจักรสัตว์ (animal kingdom) โดยรวมเข้าไว้กับพวกโปรโตซัว (protozoa) ในชั้น Mycetazoa ลักษณะสำคัญของราเมือกก็คือ ประกอบด้วยเซลล์ที่ไม่มีผนังห่อหุ้ม หรือเรียกว่าเซลล์อะมีบา (amoeboid cell) เซลล์เหล่านี้อาจอยู่เดี่ยว ๆ และมีการเคลื่อนที่แบบอะมีบา (amoeboid movement) หรืออาจอยู่รวมกันในลักษณะกลุ่มก้อนที่เรียกว่า ซูโดพลาสโมเดียม (pseudoplasmodium) หรือ พลาสโมเดียม (plasmodium) อาหารที่ได้รับส่วนใหญ่โดยการกินหรือเขมือบ (ingest) เซลล์ของแบคทีเรียและโปรโตซัว

ราเมือกใน จำพวก (division) Myxomycota แบ่งได้เป็น 4 ชั้น (classes) ได้แก่

1. ชั้น Acrasiomycetes (cellular slime mold)

ราเมือกในชั้นนี้ พบได้ทั่วไป โดยเฉพาะในดินที่มีอินทรีย์วัตถุ และในมูลสัตว์

2. ชั้น Hydromyxomycetes (net slime mold)

ราในชั้นนี้ ประกอบด้วยราที่ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในน้ำทะเล โดยอยู่รวมกับสาหร่าย ในลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยเศษซากพืช (saprobe) หรือพยาธิ (parasite) มีส่วนน้อยเท่านั้นที่อาศัยอยู่บนบก

3. ชั้น Myxomycetes (true slime mold)

ราในชั้นนี้ จัดเป็นชั้นที่ใหญ่ที่สุดของ Myxomycota เป็นราที่อาศัยอยู่บนบก พบได้ทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในป่าที่มีความชื้นสูง และมีอินทรีย์วัตถุอุดมสมบูรณ์ มักพบขึ้นอยู่บนเศษซากพืช เช่น ใบไม้ กิ่งไม้ ที่เน่าเปื่อยผุผัง อาจพบพลาสโมเดียมของราสามารถคืบคลานไปบนลำต้นและใบพืชที่ยังมีชีวิตอยู่ แล้วสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ (fruit-body) พืชอาจได้รับความเสียหายบ้างแต่ก็เป็นเพียงเล็กน้อยและไม่ถือว่าเป็นพยาธิ (parasite) แต่ก็ไม่ได้จัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่อาศัยเศษซากพืช (saprobe) เช่นกัน

4. ชั้น Plasmodiophoromycetes (endoparasitic slime mold)

ราในชั้นนี้ดำรงชีวิตอยู่ด้วยการเป็นพยาธิ (parasite) ของพืชที่มีระบบท่อลำเลียง (vascular plant) (โดยเข้าทำลายส่วนราก) สาหร่ายน้ำจืด ตลอดจนราน้ำต่าง ๆ โรคที่เป็นกับพืชชั้นสูงจัดว่ามีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ โรค club root หรือ finger and toe disease ซึ่งเป็นกับพืชตระกูลกะหล่ำ มีสาเหตุจากรา *Plasmodiophora brassicae* และ โรค powdery scab ของมันฝรั่ง ซึ่งเกิดจากรา *Spongospora subterranean*

ราเมือกเป็นราในดินที่พบได้ในสภาพแวดล้อมหรือโรงเรือนเพาะเห็ดที่มีความชื้นสูง หรือในโรงเรือนที่มีการเก็บก้อนเห็ดเก่าซึ่งเน่าเละเอาไว้นาน ๆ หากรักษาสภาพแวดล้อมไม่ให้มีความชื้นแฉะสะสมอยู่ หรือเก็บก้อนเห็ดเก่าหรือก้อนเห็ดที่มีราเมือกออกไปทิ้งเสียแล้ว ก็สามารถกำจัดราเมือกไม่ให้เกิดขึ้นหรือลุกลามได้ สาเหตุที่พบการแพร่ระบาด และทำความเสียหายในการเพาะเห็ดมากขึ้นอาจเป็นเพราะมีความเข้าใจว่าราเมือกไม่ได้สร้างปัญหาให้กับการเพาะเห็ดมากมายเท่ากับราเขียวหรือแมลงไรศัตรูเห็ด เกษตรกรจึงไม่ค่อยสนใจศึกษารายละเอียด และหาวิธีการป้องกันกำจัดราชนิดนี้ แต่จากการตรวจค้นเอกสารที่มีการศึกษาในต่างประเทศ และการสำรวจในฟาร์มเพาะเห็ดของเกษตรกรในประเทศไทย พบว่าทำให้ดอกเห็ดเน่าเสียหรือมีผลยับยั้งกระบวนการสร้างดอกเห็ดได้

งานวิจัยเรื่องนี้ยังดำเนินการไม่จบ จะต้องทำการศึกษาวิจัยต่อไปจนถึง ปี พ.ศ. 2553 คาดว่าเมื่อถึงเวลานั้นแล้ว คงผลการทดลองที่มีข้อมูล และรายละเอียดที่ชัดเจนและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างราเมือกที่พบเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ด และดอกเห็ดนางรม เห็ดภูฏาน เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดขอนขาว และ ดอกเห็ดตีนแรด ในฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า ในพื้นที่ 14 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร ชลบุรี เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม ราชบุรี พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรีลำปาง ร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ สุรินทร์ อุบลราชธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2551 สามารถเก็บรวบรวมราเมือกได้จำนวน 49 ไอโซเลท จำแนกเบื้องต้นได้เป็นราเมือก 4 สกุล (genus) ได้แก่ สกุล *Arcyria*, สกุล *Fuligo*, สกุล *Physarum* และ สกุล *Stemonitis* เมื่อประเมินความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของราเมือกพบว่ามีความเสียหายตั้งแต่ 5 – 50 เปอร์เซ็นต์

ราเมือกเป็นราในดินที่พบได้ในสภาพแวดล้อมหรือโรงเรือนเพาะเห็ดที่มีความชื้นสูง หรือในโรงเรือนที่มีการเก็บก้อนเห็ดเก่าซึ่งเน่าเละเอาไว้นาน ๆ หากรักษาสภาพแวดล้อมไม่ให้มีความชื้นแฉะสะสมอยู่ หรือเก็บก้อนเห็ดเก่าหรือก้อนเห็ดที่มีราเมือกออกไปทิ้งเสียแล้ว ก็สามารถกำจัดราเมือกไม่ให้เกิดขึ้นหรือลุกลามได้

เอกสารอ้างอิง

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. โรงพิมพ์ จามจุรีโปรดักท์, บางขุนเทียน, กรุงเทพฯ. 351 หน้า.

อภิรัชต์ สมฤทธิ์. 2549. ราเมือกในการเพาะเห็ด, น. 20-26. ใน ข่าวสารเพื่อผู้เพาะเห็ด. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย, เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ.

Chung, C.H., C.H. Liu, and S.S. Tzean. 2005. Slime Moulds Found From Edible Mushroom Cultivation Sites. *In* htttp://www.bspp.org.uk/ICPP98/6/9.html.

Swanson, A. R., and F. W. Spiegel. 2002. Taxonomy, slime molds, and the questions we ask. *Mycologia,* 94(6), pp. 968–979.

การป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Pseudomonas

Control of Bacterial Blotch Disease on Oyster Mushroom caused by Pseudomonas

สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพของสารไคโตซาน ซีโอไลท์ น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลอง พบว่า ไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 0.56 และ 20.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซีโอไลท์ ที่ความเข้มข้น 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 0.56 0.56 และ 1.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ น้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 6.56 20.16 60.28 70.16 78.36 และ 78.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 และ5.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 6.56 70.16 78.36 90.16 90.16 และ 98.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 10.0 15.0และ20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบผลของสารทดสอบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม พบว่า น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มีผลทำให้ปลายเส้นใยของเห็ดนางรมเจริญไม่ปกติ

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-09-01-51

คำนำ

โรค Bacterial Blotch ของเห็ด ที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomona* spp. เป็นโรคที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ก่อให้เกิดความเสียหายแก่การผลิตเห็ดมาก มีรายงานการศึกษาถึงการป้องกันกำจัดโรคเห็ดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในต่างประเทศ เช่น Geels (1995) ศึกษาการป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas tolaasii* สาเหตุโรค brown blotch บนดอกเห็ดแชมปิญอง พบว่าการพ่นสาร kasugamycin 1% สามารถกำจัดโรคให้หมดไปได้ Lee *et. al*. (1999) ทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีในการป้องกันกำจัดโรค bacterial brown blotch บนดอกเห็ดเข็มเงิน (*Flammulina velutipes*) ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *P. tolaasii* พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ ที่เหมาะสมในการควบคุมโรค คือ 0.5-1.0 % และน้ำส้มควันไม้ 0.5 % Oh (2000) ศึกษาผลของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการควบคุมโรค bacterial blotch ของเห็ดนางรม พบว่า เมื่อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่มีความเข้มข้นของคลอรีน (chlorine) 1.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *P. tolaasii* และจากการทดสอบในฟาร์ม 2 แห่ง พบว่าเมื่อผสมสารที่ความเข้มข้นของคลอรีน 5.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำที่ใช้รดเห็ดตลอดการปลูก สามารถลดการเกิดโรคได้ 40 และ 80 % Kwon (2002) ใช้สารละลายคลอรีน 150 ppm. พ่นบริเวณที่พบโรคมัมมี่ของเห็ดแชมปิญอง ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp.ได้ผลดี Cha (2002) รายงานว่าการใช้สารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรท์ และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ สามารถยับยั้งการเกิดโรค brown blotch บนดอกเห็ด ของเห็ดแชมปิญอง เห็ดเข็มทอง และเห็ดนางรม ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *P. tolaasii* Rinker (2004) กล่าวถึงการใช้เชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescens* biovar V ในการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อแบคทีเรีย *P. tolaasii* นอกจากนั้นการใช้ไวรัสพวก bacteriaphages ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคของเห็ดก็ได้ผลเช่นเดียวกัน

สำหรับประเทศไทยโรคเน่าสีน้ำตาล (Bacterial Blotch disease) ของเห็ดนางรมทำความเสียหายต่อการเพาะเห็ดมากเช่นกัน นอกจากทำให้เกิดความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิตเห็ดแล้ว ยังทำให้ราคาของเห็ดต่ำลง และรายได้ของเกษตรกรผู้เพาะเห็ดน้อยลงด้วย ซึ่งยังไม่มีวิธีการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงได้วางแนวทางการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp.สาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรม

2. เชื้อเห็ดนางรม

3. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ Potato Sucrose Agar (PSA)

4. อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA)

5. สารที่ใช้ทดสอบการป้องกันกำจัดโรค ได้แก่ สารไคโตซาน ซีโอไลท์ น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน

6. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น กระดาษกรอง เข็มเขี่ย ลูป จานแก้วเลี้ยงเชื้อ หลอดแก้ว ฟลาสค์ ไปเปต บีกเกอร์ และกระบอกตวง เป็นต้น

วิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเห็ด ในห้องปฏิบัติการ

1.1 เตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp.สาเหตุโรคของเห็ด โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเจือจางเชื้อในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 10^8 เซลต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำเชื้อที่เจือจาง 0.1 มิลลิลิตร หยด และ spread บนอาหาร PSA ในจานเลี้ยงเชื้อ เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

1.2 เตรียมเชื้อเห็ดนางรม โดยเลี้ยงเชื้อเห็ดนางรมบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เมื่ออายุ 3 วัน ขูดเส้นใยจากผิวหน้าอาหาร แล้วเจือจางเชื้อในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำเชื้อที่เจือจาง 0.5 มิลลิลิตร หยด และ spread บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

1.3 ทดสอบหาความเข้มข้นของสารทดสอบที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคของเห็ด

โดยนำสารที่ต้องการทดสอบ ได้แก่ ไคโตซาน ซีโอไลท์ น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน เจือจางในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้ได้ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ หยดสารทดสอบที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนชิ้นกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปวางตรงกลางจานอาหาร PSA ที่มีเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. สาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ด ที่เตรียมในข้อ 1.1 บ่มเชื้อที่

อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส บันทึกผลหลังการทดสอบ 5 วัน โดย ตรวจวัดบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดรอบๆแผ่นกระดาษกรอง คิดเป็นค่าเฉลี่ย วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ

1.4 ทดสอบผลของสารทดสอบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม

ทดสอบผลของสารทดสอบความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด ตามวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 1.3 โดยเจือจางสารในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้ได้ความเข้มข้นความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ หยดสารทดสอบที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนชิ้นกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปวางตรงกลางจานอาหาร PDA ที่มีเชื้อเห็ดนางรมที่เตรียมในข้อ 1.2 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส บันทึกผลหลังการทดสอบ 5 วัน โดย ตรวจวัดบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดรอบๆ แผ่นกระดาษกรอง คิดเป็นค่าเฉลี่ย และบันทึกลักษณะความผิดปกติของเส้นใยเห็ด วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 ซ้ำ

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2550 **สิ้นสุด** กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพของสารไคโตซาน ซีโอไลท์ น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ โดยนำไคโตซาน ซีโอไลท์ น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน เจือจางในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้ได้ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ หยดสารทดลองที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนชิ้นกระดาษกรองเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปวางตรงกลางจานอาหาร PSA ที่มีเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. สาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ด วางจานเลี้ยงเชื้อทดสอบนี้ไว้ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส บันทึกผลหลังการทดสอบ 5 วัน โดย ตรวจวัดบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดรอบๆแผ่นกระดาษกรอง คิดเป็นค่าเฉลี่ย ผลการทดลอง พบว่าไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 0.56 และ 20.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซีโอไลท์ ที่ความเข้มข้น 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 0.56 0.56 และ 1.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ส่วนที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย น้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 6.56 20.16 60.28 70.16 78.36 และ 78.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 และ5.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 6.56 70.16 78.36 90.16 90.16 และ 98.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 10.0 15.0และ20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ทดสอบผลของสารทดสอบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม พบว่า สารไคโตซาน และซีโอไลท์ ทุกความเข้มข้น ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ส่วนน้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มีผลทำให้ปลายเส้นใยของเห็ดนางรมเจริญไม่ปกติ (ตารางที่ 2)

ผลการทดสอบนี้จะนำไปทดสอบในโรงเพาะเห็ดต่อไป

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรม ของสารไคโตซาน ซีโอไลท์ น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อทดสอบในห้องปฏิบัติการ

ความเข้มข้นของสารทดสอบ (%)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย			
	ไคโตซาน	ซีโอไลท์	น้ำส้มควันไม้	คาซูกามายซิน
0	0	0	0	0
0.1	0	0	0	6.56
0.5	0	0	6.56	70.16
1.0	0	0	20.16	78.36
2.0	0	0	60.28	90.16
3.0	0	0	70.16	90.16
5.0	0	0	78.36	98.36
10.0	0	0.56	78.36	100
15.0	0.56	0.56	100	100
20.0	20.00	1.64	100	100

ตารางที่ 2 ผลของสารไคโตซาน ซีโอไลท์ น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม เมื่อทดสอบในห้องปฏิบัติการ

ความเข้มข้นของสารทดสอบ (%)	ลักษณะเส้นใยเห็ดนางรม			
	ไคโตซาน	ซีโอไลท์	น้ำส้มควันไม้	คาซูกามายซิน
0	ปกติ	ปกติ	ปกติ	ปกติ
0.1	ปกติ	ปกติ	ปกติ	ปกติ
0.5	ปกติ	ปกติ	ปกติ	ปกติ
1.0	ปกติ	ปกติ	ปกติ	ปกติ
2.0	ปกติ	ปกติ	ปกติ	ปกติ
3.0	ปกติ	ปกติ	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง
5.0	ปกติ	ปกติ	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง
10.0	ปกติ	ปกติ	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง
15.0	ปกติ	ปกติ	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง
20.0	ปกติ	ปกติ	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง	ปลายเส้นใยไม่ปกติมีสีเหลือง

สรุปผลการทดลอง

ไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 0.56 และ 20.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซีโอไลท์ ที่ความเข้มข้น 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 0.56 0.56 และ 1.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ น้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 2.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 6.56 20.16 60.28 70.16 78.36 และ 78.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 15.0 และ 20.0

เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือที่ความเข้มข้น 0.1 0.5 1.0 2.0 3.0 และ5.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 6.56 70.16 78.36 90.16 90.16 และ 98.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 10.0 15.0และ20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบผลของสารทดสอบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม พบว่า น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มีผลทำให้ปลายเส้นใยของเห็ดนางรมเจริญไม่ปกติ ซึ่งผลการทดสอบนี้จะนำไปทดสอบในโรงเพาะเห็ดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Cha, J.S. (February 1, 2002). Cause and Control of Brown Blotch (1) & (2). (Online). Available : http://www.mushworld.com/disease/view.asp?cline=13&cata_id=3200vid=4688

Geels, F.P. 1995. *Pseudomonas tolaasii* Control by Kasugamycin in Cultivated Mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of Applied Bacteriology* 79:38-42

Kwon, H.J. (July 1, 2002). Mushroom Mummy Disease: *Pseudomonas* spp.. (Online). Available : http://www.mushworld.com/disease/view

Lee, Hyun-Uk, Kim, Tae-Sung, Park, Hyean-Ceal, Song, Keun-woo, Shin, Won-Kyo and Moon, Byung-fu. 1999. Screening of Chemicals on Bacterial Brown Blotch Caused by *Pseudomonas tolaasii* on *Flammulina velutipes*. *Kor.J Mycol*. 27:164-169

Oh, S. 2000. Effect of Sodium Hypochlorite for Controlling Bacterial Blotch on *Pleurotus ostreatus*. *Mycobiology* 28(3):123-126

Rinker, D.L. 2004. Specific Control Techniques, Pages 33-36. In : Pennsylvania Mushroom Integrated Pest Management Handbook. Pennsylvania Department of Agricultureand the Pennsylvania State University, United States of America.

การประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY

Yield Loss Assessment of Potato Disease from PVY on Potato Seed

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล สุรภี กีรติยะอังกูร วิวัฒน์ ภานุอำไพ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY ทั้ง 3 ฤดู (ฤดูหนาว (ก.พ. 50-มี.ค.50), ฤดูฝน (ก.ย.50-พ.ย.50) และฤดูหนาว (ธ.ค.50-มี.ค.51)) ทำการสุ่มตรวจใบมันฝรั่งครั้งที่ 1 ช่วงฤดูหนาวระหว่าง ก.พ.50-มี.ค.50 พบว่า กรรมวิธีที่ 1 เป็นโรคเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ แต่ในครั้งที่ 2 พบเป็นโรคถึง 99 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ 2 สุ่มครั้ง 1 เป็นโรค 17 เปอร์เซ็นต์ ในครั้งที่ 2 พบเป็นโรค 99 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ 3 และกรรมวิธีที่ 4 ก็เช่นเดียวกันในระยะแรกจะติดเชื้อน้อยแต่เมื่อสุ่มในครั้งที่สองก็พบเป็นโรคเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและเมื่อสุ่มครั้งสุดท้าย กรรมวิธีที่ 1 และกรรมวิธีที่ 3 เป็นโรค 99 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ 2 และกรรมวิธีที่ 4 เป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ 5 ซึ่งเป็นแปลงเปรียบเทียบเป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่งพบว่าที่จำนวนหัวและขนาดของหัวใหญ่กว่า 45 มิลลิเมตรจำนวนหัวทั้ง 5 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยจำนวนหัวสูงสุดเป็นการทดลองกรรมวิธีที่ 2 ซึ่งมีจำนวนหัว 247 หัว และกรรมวิธีที่ 5 ซึ่งเป็นแปลงเปรียบเทียบมีจำนวนหัว 190 หัว ส่วนน้ำหนักพบว่ากรรมวิธีที่ 5 มีน้ำหนักกว่ากรรมวิธีที่ 1 และกรรมวิธีที่ 4 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ จำนวนหัวและขนาดของหัวเล็กกว่า 45 มิลลิเมตร กรรมวิธีที่ 1 – กรรมวิธีที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ทั้ง 4 กรรมวิธี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 5 เพราะพบว่า กรรมวิธีที่5 มีหัวขนาดเล็กจำนวน 73.6 หัว มากกว่ากรรมวิธีที่ 1- กรรมวิธีที่ 4 ซึ่งกรรมวิธีที่ 1 มีหัวขนาดเล็กเพียง 42.00 หัว คุณภาพของหัวมันฝรั่งพบว่าต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคจะมีขนาดหัวลดลง ส่วนการสุ่มตรวจช่วงฤดูฝน (ก.ย.50-พ.ย.50)และฤดูหนาว (ธ.ค.50-มี.ค.51) พบว่าผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกับฤดูหนาวครั้งที่ 1 รวมทั้งผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่ง และคุณภาพหัวมันฝรั่ง พบว่าจำนวนหัวและขนาดของหัวใหญ่กว่า 45 มิลลิเมตร และขนาดของหัวเล็กกว่า 45 มิลลิเมตร เป็นไปในทิศทางเดียวกับฤดูหนาว

รหัสโครงการ 01-16-49-05

คำนำ

การปลูกมันฝรั่งในประเทศไทยสามารถปลูกได้ดีในฤดูหนาว ที่มีอากาศเย็นทางภาคเหนือ และสามารถปลูกในฤดูฝนได้ในบางแหล่งปลูก เช่น อำเภอพบพระ จังหวัดตาก และอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่ ดังนั้นความต้องการหัวพันธุ์มันฝรั่ง จึงมีความต้องการเกือบตลอดปี การนำเข้าจึงมีปริมาณสูง เกษตรกรต้องประสบปัญหาด้านโรคกับหัวพันธุ์ ทางบริษัทผู้ผลิตการแปรรูปมันฝรั่งต่างๆ จึงใช้วิธีการสั่งเข้าหัวพันธุ์จากประเทศใหญ่ๆ 2-3 ประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย อังกฤษ แต่ละปีมีการนำหัวพันธุ์เข้ามาทำพันธุ์ ประมาณ 12,000 ตัน (สถิติการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ปีเพาะปลูก 2546) จึงมีโครงการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดโรคเพื่อทดแทนการนำเข้า ในขบวนการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดโรค จำเป็นต้องตรวจสอบคุณภาพของหัวพันธุ์ ว่ามีการติดเชื้อไวรัส PVY ในอัตราที่มีความเสียหายต่อผลผลิตหรือไม่ ซึ่งการนำหัวพันธุ์เข้ามาจากต่างประเทศมีปัญหาความเสี่ยงสูงที่หัวพันธุ์จะติดเชื้อไวรัสหลายชนิดเข้ามาด้วย ได้แก่ *Potato virus* Y (PVY), *Potato virus* X (PVX), *Potato virus* S (PVS), *Potato leafroll virus* (PLRV) ซึ่งเชื้อ PVY และ PLRV เป็นเชื้อที่ทำความเสียหายให้กับผลผลิตของมันฝรั่งมากกว่าเชื้ออื่น (McDonald and Singh, 1996; Singh *et al*., 2003) และ Buchen-Osmond, 1987; De Bokx, 1981; Jones, *et al*., 2003 กล่าวว่า PVY^{ntn} หรือ Potato tuber necrotic ringspot disease (PTNRD) เป็น strain ที่พบในแถบยุโรป นิวซีแลนด์ ตะวันออกกลาง อเมริกาเหนือและญี่ปุ่น ทำให้เกิดอาการที่รุนแรง มีทั้งอาการใบด่างและอาการแผลจุดตายสีน้ำตาลบนใบ หลังใบ เส้นใบและก้านใบ และทำให้เกิดความเสียหายให้กับผลผลิตหัวมันฝรั่งมากคือ อาการแผลวงแหวนหรือครึ่งวงแหวนสีน้ำตาล บนผิวของหัวมันและเป็นรอยลึกลงไปในเนื้อของมันฝรั่ง ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการศึกษาหาข้อมูลของความเสียหายของผลผลิตที่จะเกิดขึ้นกับการใช้หัวพันธุ์ที่มีการติดเชื้อ PVY ในอัตราต่างๆ ซึ่งกรมวิชาการเกษตรยังขาดข้อมูลความเสียหายของผลผลิตในการใช้หัวพันธุ์ที่ติดเชื้อ PVY ซึ่งกิตติศักดิ์และคณะ(2531) เคยรายงานไว้ว่ามันฝรั่งที่ปลูกในโรงกางมุ้งและได้รับการปลูกเชื้อ (inoculate) PVX และ PVY ตอนอายุ 15 วัน จะติดโรคในอัตรา 65 เปอร์เซ็นต์ หลังเก็บผลผลิต น้ำหนักรวมของผลผลิตไม่แตกต่างกันทางสถิติกับแปลงปลอดโรค แต่พบว่าหัวที่ได้มาตรฐานเพื่อส่งโรงงาน (น้ำหนัก 70 กรัมขึ้นไป) มีจำนวนน้อยกว่าแปลงปลอดโรคประมาณ 9.67 เปอร์เซ็นต์ โครงการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดโรคเพื่อทดแทนการนำเข้า ในขบวนการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดโรค จำเป็นต้องตรวจสอบคุณภาพของหัวพันธุ์ ว่ามีการติดเชื้อไวรัส PVY ในอัตราที่มีความเสียหายต่อผลผลิตหรือไม่ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการศึกษาหาข้อมูลของความเสียหายของผลผลิตที่จะเกิดขึ้นกับการ

ใช้หัวพันธุ์ที่มีการติดเชื้อ PVY ในอัตราต่างๆ ซึ่งกรมวิชาการเกษตรยังขาดข้อมูลความเสียหายของผลผลิตในการใช้หัวพันธุ์ที่ติดเชื้อ PVY ในอัตรา 10, 20 และ 30% ที่เป็นปัจจุบันในสภาพแวดล้อมของแหล่งปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย เปรียบเทียบกับหัวพันธุ์ปลอดโรคและหัวพันธุ์เป็นโรค 100% ผลของการศึกษาทดลองนี้จะเป็นข้อมูลที่ช่วยในการพิจารณาและตัดสินใจการเลือกใช้หรือไม่ใช้หัวพันธุ์ที่มีการติดเชื้อ PVY ในอัตราต่างๆ และเลือกใช้หัวพันธุ์ที่มีคุณภาพที่เหมาะสมและไม่เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของมันฝรั่งต่อไป

วิธีดำเนินการ

วัตถุประสงค์

เพื่อประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY ในสภาพแปลงปลูก

อุปกรณ์

1. สารเคมีสำหรับตรวจ ELISA
2. หัวพันธุ์มันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY และหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ปลอดเชื้อ PVY
3. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลง ปุ๋ยวิทยาศาสตร์และปุ๋ยมูลไก่

วิธีการ

1. เพิ่มปริมาณเชื้อ PVY โดยปลูกเชื้อบนต้นมันฝรั่งและเตรียมปลูกโรงเรือนกันแมลง เตรียมหัวพันธ์มันฝรั่งปลอดเชื้อไวรัส ให้งอกพร้อมปลูกและทำการปลูกเชื้อไวรัสบนต้นมันฝรั่งหลังต้นมันฝรั่งเริ่มงอกปลูกมันฝรั่งในโรงเรือนกันแมลง
2. ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสของทุกแปลง 3 ครั้ง (ฤดูหนาว (ก.พ.50-มี.ค.50), ฤดูฝน (ก.ย.50-พ.ย.50) และฤดูหนาว (ธ.ค.50-มี.ค.51)) ด้วยวิธี ELISA และทำการปลูกเชื้อซ้ำกับต้นมันฝรั่ง จนได้ต้นเป็นโรคจากเชื้อ PVY 100 %
3. เก็บข้อมูลผลผลิตโดยแบ่งเป็น 2 ส่วนเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไปรวมทั้งเตรียมวางแผนการทดลองและเตรียมหาแปลงปลูกในการประเมินความเสียหายผลผลิตของหัวพันธุ์มันฝรั่ง

ปลูกครั้งที่ 1 อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ ในฤดูหนาวระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 50 – มีนาคม 50
ปลูกครั้งที่ 2 อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่ ในฤดูฝนระหว่างเดือนกันยายน 50 – พฤศจิกายน 50
ปลูกครั้งที่ 3 อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ ในฤดูหนาวระหว่างเดือนธันวาคม 50 – มีนาคม 51

4. วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 5 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธี มี 5 ซ้ำ ดังนี้คือ
    1. ปลูกมันฝรั่งปลอดเชื้อ PVY ในสภาพแปลงปลูกปกติ (T1)
    2. ปลูกมันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY 10% ในสภาพแปลงปลูกปกติ (T2)
    3. ปลูกมันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY 20% ในสภาพแปลงปลูกปกติ (T3)
    4. ปลูกมันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY 30% ในสภาพแปลงปลูกปกติ (T4)
    5. ปลูกมันฝรั่งที่ติดเชื้อ PVY 100% ในสภาพแปลงปลูกปกติ (T5)

    แต่ละซ้ำมีขนาดแปลง 4×6 เมตร มี 5 แถว/แปลง เก็บข้อมูล 3 แถวกลาง เว้นหัว-ท้าย 2 ต้น ใช้หัวพันธุ์แอตแลนติก จากโครงการผลิตหัวพันธุ์ปลอดโรค ที่ผ่านการพักตัว ทำการเตรียมดินโดยไถลึกและตากดินไว้ 1-2 สัปดาห์ ไถพรวนอีก 1-2 ครั้ง แล้วเตรียมแปลงโดยยกเป็นแปลงขนาด 4×6 เมตร แปลงสูง 20-30 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยคอก ส่วนระยะปลูกมันฝรั่งแบ่งเป็น 5 แถว/แปลง ระยะแถว 80 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 20-30 เซนติเมตร ดูแลแปลงด้วยการใส่ปุ๋ยก่อนออกดอกและพ่นสารฆ่าแมลงทุก 7-10 วัน
5. ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสของทุกแปลง 3 ครั้ง ด้วยวิธี ELISA
    - หลังปลูก 15-20 วัน (มีใบจริง 4 ใบ)
    - มันฝรั่งอายุประมาณ 45 วัน (ก่อนออกดอกหรือช่วงออกดอก)
    - ก่อนเก็บผลผลิตหนึ่งสัปดาห์
6. เก็บผลผลิตบันทึกน้ำหนักผลผลิต
7. วิเคราะห์ผลทางสถิติและตรวจดูคุณภาพและขนาดของหัวมันฝรั่ง และทำการเตรียมปลูกมันฝรั่ง ในสภาพแปลงปลูกในฤดูหนาว โดยใช้หัวพันธุ์เป็นโรค 100%

เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น 2550 สิ้นสุด 2551 รวม 2 ปี
สถานที่ ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิต อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ และกลุ่มงานไวรัส สอพ.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการทดลองในการปลูกครั้งที่1 อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ ในฤดูหนาวระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ 50 – มีนาคม 50

1.1 ผลการสุ่มตัวอย่างต้นเป็นโรค

จากการสุ่มตรวจตัวอย่างทั้ง 5 กรรมวิธี 5 ซ้ำ พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ในการสุ่มครั้งที่ 1 เมื่อหลังปลูก 15 วัน พบเป็นโรคเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ แต่ในครั้งที่ 2 พบเป็นโรคถึง 99 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) ส่วนกรรมวิธีที่ 2 สุ่มครั้ง 1 เป็นโรค 17 เปอร์เซ็นต์ ในครั้งที่ 2 พบเป็นโรค 99 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ 3 และกรรมวิธีที่ 4 ก็เช่นเดียวกันในระยะแรกจะติดเชื้อน้อย แต่เมื่อสุ่มในครั้งที่สองก็พบเป็นโรคเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและเมื่อสุ่มครั้งสุดท้าย กรรมวิธีที่ 1 และกรรมวิธีที่ 3 เป็นโรค 99 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ 2 และกรรมวิธีที่ 4 เป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ 5 ซึ่งเป็นแปลงเปรียบเทียบเป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์

1.2 ผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่ง

1.2.1 จำนวนหัวและขนาดของหัวใหญ่กว่า 45 มิลลิเมตร

จำนวนหัวทั้ง 5 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยจำนวนหัวสูงสุดเป็นการทดลองกรรมวิธีที่ 2 ซึ่งมีจำนวนหัว 247 หัว และกรรมวิธีที่ 5 ซึ่งเป็นแปลงเปรียบเทียบมีจำนวนหัว 190 หัว ส่วนน้ำหนักพบว่ากรรมวิธีที่ 5 มีน้ำหนักกว่ากรรมวิธีที่ 1 และกรรมวิธีที่ 4 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

1.2.2 จำนวนหัวและขนาดของหัวเล็กกว่า 45 มิลลิเมตร

จำนวนหัว 4 กรรมวิธีคือ กรรมวิธีที่ 1 – กรรมวิธีที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ทั้ง 4 กรรมวิธี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 5 เพราะพบว่ากรรมวิธีที่5 มีหัวขนาดเล็กจำนวน 73.6 หัว มากกว่ากรรมวิธีที่ 1- กรรมวิธีที่ 4 ซึ่งกรรมวิธีที่ 1 มีหัวขนาดเล็กเพียง 42.00 หัว หัวขนาดเล็กไม่เป็นที่ต้องการของตลาด (ตารางที่ 2)

1.2.3 คุณภาพของหัวมันฝรั่ง

คุณภาพของหัวมันฝรั่งพบว่าต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคจะมีขนาดหัวลดลง (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 ผลการสุ่มตรวจไวรัสเชื้อ PVY 3 ครั้ง ในแปลงปลูกมันฝรั่งฤดูหนาว (ก.พ. 50 - มี.ค. 50) อ.ฝาง จ.เชียงใหม่

ครั้งที่	ว/ด/ป	T1 (0%)	T2 (10%)	T3 (20%)	T4 (30%)	T5 (100%)
1	3 ก.พ. 50	1%	17%	9%	1%	100%
2	1 มี.ค. 50	99%	99%	96%	98%	100%
3	16 มี.ค. 50	99%	100%	99%	100%	100%

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่งของแปลงทดลองในฤดูหนาว (ก.พ. 50 - มี.ค. 50) อ.ฝาง จ.เชียงใหม่

Treatment	ขนาดหัว >45 มม.		ขนาดหัว <45 มม.	
	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]
T1 (0%)	199.4 a[2]	22.04 a[2]	42.00 a[2]	1.16 a[2]
T2 (10%)	247.0 a	26.88 a	56.60 a	1.52 a
T3 (20%)	227.0 a	24.88 a	46.00 a	1.24 a
T4 (30%)	238.4 a	27.40 a	55.00 a	1.44 a
T5 (100%)	190.0 a	21.08 a	73.60 b	2.04 b
C.V.(%)	19.80	25.10	21.30	25.80

1. ค่าเฉลี่ยจาก 5 Replication ในแต่ละ Treatment
2. ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งที่ตามด้วยอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี LSD

ตารางที่ 3 ตารางการเปรียบเทียบคุณภาพของมันฝรั่งจากการทดลองในฤดูหนาว (ก.พ. 50 - มี.ค. 50) อ.ฝาง จ.เชียงใหม่

Treatment	ขนาดหัว >45 มม.	ขนาดหัว <45 มม.
T1 (0%)	997 (83 %)	210 (17 %)
T2 (10%)	1235 (81 %)	238 (19 %)
T3 (20%)	1135 (83 %)	232 (17 %)
T4 (30%)	1192 (81 %)	275 (19 %)
T5 (100%)	950 (72 %)	368 (28 %)
	$X^2 = 5.43^{**}$	

** คุณภาพขนาดของหัวมันฝรั่งมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) โดยวิธี Chi-square

2. ผลการทดลองในการปลูกครั้งที่2 อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่ ในฤดูฝนระหว่างเดือนกันยายน 50 – พฤศจิกายน 50

2.1 ผลการสุ่มตัวอย่างต้นเป็นโรค

ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกับฤดูหนาวครั้งที่ 1 คือการสุ่มครั้งแรก กรรมวิธีที่ 1 –

กรรมวิธีที่ 4 พบเป็นโรคน้อย แต่เมื่อสุ่มครั้งที่ 2 และ 3 จำนวนต้นเป็นโรคสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว จนพบต้นเป็นโรคจากกรรมวิธีที่ 1 – กรรมวิธีที่ 4 เป็นโรค 82, 91, 92 และ 93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน กรรมวิธีที่ 5 เป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่แรกปลูก (ตารางที่ 4)

2.2 ผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่ง

2.2.1 จำนวนหัวและขนาดของหัวใหญ่กว่า 45 มิลลิเมตร

ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกับฤดูหนาวครั้งที่ 1 คือจำนวนหัวและน้ำหนักหัวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกันทั้ง 4 กรรมวิธี และกรรมวิธีที่ 5 ที่ใช้เปรียบเทียบด้วย

2.2.2 จำนวนหัวและขนาดของหัวเล็กกว่า 45 มิลลิเมตร

จำนวนหัวและน้ำหนักหัวของกรรมวิธีที่ 1- กรรมวิธีที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ทั้ง 4 กรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 5 (ตารางที่ 5)

2.2.3 คุณภาพของหัวมันฝรั่ง

ต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคจะมีขนาดหัวลดลงทำให้หัวมันฝรั่งไม่มีคุณภาพและเป็นไปในทิศทางเดียวกับฤดูหนาว (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 4 ผลการสุ่มตรวจไวรัสเชื้อ PVY 3 ครั้ง ในแปลงปลูกมันฝรั่งฤดูฝน (ก.ย. 50 - พ.ย. 50) อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่

ครั้งที่	ว/ด/ป	T1 (0%)	T2 (10%)	T3 (20%)	T4 (30%)	T5 (100%)
1	21 ก.ย. 50	5%	11%	20%	15%	98%
2	12 ต.ค. 50	29%	59%	58%	69%	100%
3	8 พ.ย. 50	82%	91%	92%	93%	100%

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่งของแปลงทดลองในฤดูฝน (ก.ย. 50 - พ.ย. 50) อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่

Treatment	ขนาดหัว >45 มม.		ขนาดหัว <45 มม.	
	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]
T1 (0%)	239.80 a[2]	23.36 a[2]	84.60 a[2]	2.20 a[2]
T2 (10%)	236.20 a	22.36 a	92.80 a	2.32 a
T3 (20%)	259.60 a	23.68 a	81.80 a	2.08 a
T4 (30%)	237.00 a	22.76 a	74.20 a	1.96 a
T5 (100%)	241.00 a	23.52 a	72.00 b	1.84 b
C.V.(%)	11.70	7.60	16.00	20.50

1. ค่าเฉลี่ยจาก 5 Replication ในแต่ละ Treatment
2. ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งที่ตามด้วยอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี LSD

ตารางที่ 6 ตารางการเปรียบเทียบคุณภาพของมันฝรั่งจากการทดลองในฤดูฝน (ก.ย. 50 - พ.ย. 50) อ.ไชยปราการ จ.เชียงใหม่

Treatment	ขนาดหัว >45 มม.	ขนาดหัว <45 มม.
T1 (0%)	1199 (74 %)	423 (26 %)
T2 (10%)	1181 (72 %)	464 (28 %)
T3 (20%)	1298 (76 %)	409 (24 %)
T4 (30%)	1185 (76 %)	371 (24 %)
T5 (100%)	1205 (77 %)	360 (23 %)
	$X^2 = 15.43^{**}$	

** คุณภาพขนาดของหัวมันฝรั่งมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) โดยวิธี Chi-square

3. ผลการทดลองในการปลูกครั้งที่ 2 อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ ในฤดูหนาวระหว่างเดือนธันวาคม 50– มีนาคม 51

3.1 ผลการสุ่มตัวอย่างต้นเป็นโรค

ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองในฤดูหนาวครั้งที่ 1 และฤดูฝน (ตารางที่ 7)

3.2 ผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่ง

3.2.1 จำนวนหัวและขนาดของหัวใหญ่กว่า 45 มิลลิเมตร

ผลการทดลองสอดคล้องหรือเป็นไปในทิศทางเดียวกับการทดลองฤดูหนาวครั้งที่ 1 และฤดูฝน

3.2.2 จำนวนหัวและขนาดของหัวเล็กกว่า 45 มิลลิเมตร

ผลการทดลองสอดคล้องหรือเป็นไปในทิศทางเดียวกับการทดลองฤดูหนาวครั้งที่ 1 และฤดูฝน (ตารางที่ 8)

3.2.3 คุณภาพของหัวมันฝรั่ง

พบว่าต้นมันฝรั่งที่เป็นโรคจะมีขนาดหัวลดลงส่งผลต่อคุณภาพของหัวมันฝรั่งทำให้พบจำนวนหัวเล็กที่ตกเกรดมากขึ้นซึ่งสอดคล้องหรือเป็นไปในทิศทางเดียวกับการทดลองในฤดูหนาวระหว่าง เดือนกุมภาพันธ์ 50 – มีนาคม 50 และช่วงฤดูฝนระหว่างเดือนกันยายน 50 – พฤศจิกายน 50 (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 7 ผลการสุ่มตรวจไวรัสเชื้อ PVY 3 ครั้ง ในแปลงปลูกมันฝรั่งฤดูหนาว (ธ.ค. 50 - มี.ค. 51)

ครั้งที่	ว/ด/ป	T1 (0%)	T2 (10%)	T3 (20%)	T4 (30%)	T5 (100%)
1	27 ธ.ค. 50	0%	16%	28%	38%	97%
2	24 ม.ค. 51	91%	94%	97%	97%	97%
3	3 มี.ค. 51	100%	99%	100%	90%	100%

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักหัวมันฝรั่งของแปลงทดลองในฤดูหนาว

Treatment	ขนาดหัว >45 มม.		ขนาดหัว <45 มม.	
	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]	จำนวนหัว[1]	น้ำหนักหัว[1]
T1 (0%)	264.40 a[2]	21.36 ab[2]	93.40 a[2]	2.66 a[2]
T2 (10%)	249.40 ab	21.48 ab	95.20 a	2.60 a
T3 (20%)	198.20 b	17.16 b	80.40 a	2.14 a
T4 (30%)	258.80 ab	23.76 a	87.80 a	2.38 a
T5 (100%)	234.60 ab	23.84 a	85.20 a	2.08 a
C.V.(%)	16.10	18.10	19.80	17.90

1. ค่าเฉลี่ยจาก 5 Replication ในแต่ละ Treatment
2. ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวและน้ำหนักของหัวมันฝรั่งที่ตามด้วยอักษรเดียวกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี LSD

ตารางที่ 9 ตารางการเปรียบเทียบคุณภาพของมันฝรั่งจากการทดลองในฤดูหนาว

Treatment	ขนาดหัว >45 มม.	ขนาดหัว <45 มม.
T1 (0%)	1322 (74 %)	467 (26 %)
T2 (10%)	1247 (72 %)	476 (28 %)
T3 (20%)	991 (71 %)	402 (29 %)
T4 (30%)	1254 (74 %)	439 (26 %)
T5 (100%)	1173 (73 %)	426 (27 %)
	$X^2 = 4.60^{**}$	

** คุณภาพขนาดของหัวมันฝรั่งมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) โดยวิธี Chi-square

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การดำเนินการทดลองทั้งสามครั้งที่ผ่านมา เป็นการทดลองในแปลงเปิด ไม่มีการควบคุมแมลงซึ่งเป็นพาหะสำคัญของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างของมันฝรั่ง และเป็นการทดลองในแหล่งปลูกมันฝรั่ง ดังนั้น จึงพบว่าในช่วงมันฝรั่งออกดอกหรือต้นมันฝรั่งมีอายุ 45 วัน เปอร์เซ็นต์การติดโรคเกิดขึ้นอย่างมาก เกือบทุกการทดลองทั้งสามครั้งและทุกกรรมวิธี ในการสุ่มตรวจครั้งที่สองก็พบเป็นโรคแล้วเกินกว่าที่กำหนด เช่นนี้ย่อมส่งผลกระทบต่อจำนวนหัวและน้ำหนักหัวที่เก็บเกี่ยวได้ทำให้แต่ละกรรมวิธี (กรรมวิธีที่ 1-4) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีที่ 5 ที่เป็นแปลงเปรียบเทียบ ซึ่งหากการทดลองครั้งนี้ทำในแปลงที่มีการควบคุมแมลงหรือในที่ที่ไม่มีแมลงระบาดมากนัก ผลการทดลองจะเห็นความแตกต่างของแต่ละกรรมวิธีชัดเจนมากกว่านี้

ดังนั้นการปลูกมันฝรั่งควรใช้หัวพันธุ์ปลอดโรคและควรมีการควบคุมแมลงพาหะเพื่อลดการระบาดของโรค และไม่ควรปลูกหัวพันธุ์ปลอดโรคใกล้กับหัวพันธุ์เก่าที่เก็บมาจากฤดูที่แล้วที่ใช้เป็นหัวพันธุ์เนื่องจากหัวพันธุ์นั้นอาจติดโรคมาแล้วในอัตราสูง ดังนั้นควรเลือกซื้อหัวพันธุ์จากแหล่งที่มีการควบคุมศัตรูพืชที่ดีและหัวพันธุ์มีคุณภาพเป็นโรคในอัตราต่ำ และสิ่งสำคัญไม่ควรเก็บหัวพันธุ์ไว้ใช้ต่อเนื่องมากกว่า 2 ฤดู เพราะจะส่งผลต่อผลผลิตของมันฝรั่งทั้งคุณภาพและปริมาณของหัวพันธุ์มันฝรั่ง ทำให้หัวพันธุ์มันฝรั่งไม่ได้มาตรฐานโรงงานและเสี่ยงต่อการขาดทุน

คำนิยม

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 ที่ให้ความอนุเคราะห์ทั้งสถานที่ปลูก หัวพันธุ์มันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติก และอุปกรณ์ต่างๆ ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองจนเสร็จสิ้นงานทดลอง และขอขอบคุณศูนย์สารสนเทศ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำทางด้านสถิติ

รวมทั้งพนักงานราชการ ลูกจ้างทั้งที่ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ และกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรสิทธิ์ บุญทวี วิวัฒน์ ภานุอำไพ และนวลจันทร์ ดีมา. 2531. ความเสียหายของผลผลิตมันฝรั่งที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ PVY และ PVX. รายงานผลงานวิจัยปี 2531 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 12-16.

Buchen-Osmond, C. 1987. Potato Virus Y. www.plantdepommedeterre.org/eng/disease/virusy.htm

De Bokx, J. A. 1981. Potato Virus Y : Compendium of Potato Disease. 125 pp.

Jones, R., S. Kumar and A. Mackie. 2003. Potato Virus Y. Department of Agriculture. Factsheet Australia DOA ISSN 1443-7783. No.02/2003.

McDonald, J.G. and R.P. Singh. 1996. Hostrange, symptomology and serology of isolates of potato virus Y (PVY) that shared properties with both the PVYn and PVYo strain groups.

Singh, R.P.; D.L. McLaren; X. Nie and M. Singh. 2003. Possible Escape of a Recombinant Isolate of Potato virus Y by Serological Indexing and Methode of its Detection. Plant Disease Vol.87(6): 679-685.

การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยวิธีผสมผสาน.

Integrated control of potato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*

วงศ์ บุญสืบสกุล ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ วิวัฒน์ ภานุอำไพ[1]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ศบป.เชียงใหม่ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่[1]

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) โดยกรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นกรรมวิธีที่5 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 DOA-WB4 (*Bacilus subtilis*) (คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก อัตรา 10^9 cfu / มล. ปริมาตร 10 มล ต่อ กิโลกรัมหัวพันธุ์

รหัสโครงการ 01-16-49-05

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 ลำพูนและพระเยา พบว่าเกษตรกรพอใจผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 80 %

คำหลัก : เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์, ตัวควบคุมชีวภาพ, เชื้อแบซิลัส, โรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ดิน

คำนำ

Ralstonia solanacearum (Yabuuchi *et al*., 1995) เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (bacterial wilt) ที่ทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิดตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันและถูกจัดให้เป็นโรคที่สำคัญที่สุดโรคหนึ่งของโลกเพราะเชื้อสาเหตุโรคพบระบาดไปทั่วโลกสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจได้มากกว่า 200 ชนิด มากกว่า 40 ตระกูล เชื้อนี้มีชีวิตอยู่รอดในดินได้นาน อยู่ข้ามฤดูในวัชพืชหลายชนิด สามารถถ่ายทอดโรคทางส่วนขยายพันธุ์ เช่น หัวพันธุ์-มันฝรั่ง ท่อนพันธุ์ขิง เป็นต้น ปนเปื้อนและติดไปกับเครื่องมือทางการเกษตรได้ง่ายรวมถึงติดไปกับสัตว์แมลงและมนุษย์ สามารถแพร่ระบาดได้ดีกับระบบให้น้ำทางการเกษตร ที่สำคัญปัจจุบันยังไม่พบวิธีการใดวิธีการหนึ่งที่สามารถควบคุมโรคนี้ให้ได้ผลดีควรแก่การแนะนำ โดยเฉพาะการใช้สารเคมีพบว่าไม่สามารถควบคุมโรคนี้ได้และไม่แนะนำให้ใช้ (Hayward and Hartman, 1994 *in* Hayward , 1995) ขณะที่การใช้พันธุ์ต้านทานค่อนข้างทำได้จำกัดทั้งแบบ horizontal และ vertical เนื่องจากความผันแปรของอุณหภูมิและลักษณะดิน อีกทั้งเชื้อนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมาก มีการจัดแบ่งเชื้อนี้หลายระบบเช่น ชนิดเรส (race) ชนิดไบโอวา (biovar) และจัดเป็นกลุ่มตามลักษณะรายพิมพ์ดีเอ็นเอ ขณะที่เมื่อเร็ว ๆ นี้ มีรายงานว่าเชื้อนี้มีระยะที่เรียกว่า VBNC stage (viable but not culture) ซึ่งไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ แต่สามารถทำให้เกิดโรคได้ เมื่อเป็นเช่นนี้ กลยุทธ์ในการควบคุมโรคจึงต้องใช้วิธีป้องกัน ด้วยการผสมผสาน (integrated control) วิธีการต่าง ๆ เข้าด้วยกัน

เช่น การปลูกพืชหมุนเวียน การไถตากดินให้นานกว่าปกติ (French *et al*.,1997) และการใช้สารสมุนไพรเท่าที่จำเป็น (วงศ์, 2546)

Tans-Kersten *et al.,* (2001) พบว่าความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อนี้มีผลโดยตรงกับการเข้าทำลายและการเกิดระบาดของโรค Richardson *et al*., (1998) ประสบความสำเร็จจำแนกเชื้อในสกุล *Pseudomonas cepacia* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ของเชื้อโรคนี้ โดยอาศัยการจัดกลุ่มตามคุณสมบัติของ fatty acid profiling, REP PCR, BOX PCR และ ERIC PCR Nesmith and Jenkins (1985) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มักพบในดินที่มีอินทรีย์หมักตามธรรมชาติ (suppressive and conducive composed soil) Guo *et al*., (2002) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บริเวณรากพืช (rhizosphere bacteria) ได้แก่ *Pseudomonas* sp. J3, *Bacillus* spp. BB11 and FH 17 มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของพริกได้ Frey *et al*., (1994) ใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมสร้างเชื้อกลายพันธุ์ของเชื้อโรคนี้ (Hrp^{-} mutant of *R. solanacearum* by **ω**-Km interposon used genetically engineered) ช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ Aino *et al.,* (1998) รายงานว่า endophytic pseudomonads, FPT and FPH มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ Shiomi *et al.* (1999) พบว่าการใช้ suppressive soil จากเมือง Mutsumi ช่วยลดความรุนแรงของโรคดังกล่าวในมะเขือเทศ Ciampi *et al.,* (1999) ใช้สารสกัดจากเชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท A47 และ *Pseudomonas fluorescens* BC8 ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคเหี่ยว สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพไร่ Sanaina *et al*., (1998) ใช้เชื้อแบคทีเรียบริเวณรากควบคุมโรคเหี่ยวในมันฝรั่งได้ 24-83 % และใช้ควบคุมได้ดีกว่าเชื้อโรคนี้ที่กลายพันธุ์เป็นเชื้อที่ไม่เกิดโรครุนแรง (avirulent mutant of *R. solanacearum*) ซึ่งจำแนกเป็น *Bacillus subtilis, B. cereus* และ *Enterobacter cloacae* Karuna *et al*., (1998) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* สามารถควบคุมโรคนี้ได้ดีกว่า *Pseudomonas aeroginosa* Kelaniyangoda (1998) พบว่าการปรับปรุงดิน (soil amendment) ด้วยการผสม sun hemp seed (*Crotalaria juncea* L.) 10 t/ha + Calcium Oxide 2 t/ha + Urea 200 kg N/ha สามารถควบคุมโรคนี้ทั้งในมะเขือเทศและมันฝรั่ง Suthaya (1984) รายงานว่า *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas fluorescens* ที่แยกเชื้อได้จากปุ๋ยหมักและปุ๋ยพืชสดสามารถยับยั้งการเจริญและการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรคดังกล่าวได้ แต่ไม่สามารถควบคุมโรคในสภาพไร่ Urutchata (1991) พบว่า *P. fluorescens* NA1 และ *Serratia marcescens* NA25 สามารถควบคุมโรคดังกล่าวในมะเขือเทศได้โดยการแช่รากของกล้ามะเขือเทศก่อนปลูก

ในการทดลองนี้การดำเนินงานมี 2 ขั้นตอน ทดสอบหาความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวโดยวิธีผสามผสานในแปลงทดลอง และขยายผลการใช่ไร่เกษตรกร

วิธีดำเนินการ

<u>ในแปลงทดลอง</u>

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว *R. solanacearum* ที่เก็บรักษาอยู่ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา
2. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ อุปกรณ์และเครื่องมือปฏิบัติการทางโรคพืชวิทยา เช่น ห้องเขี่ยเชื้อ (clean room) ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้เพาะเชื้อ เครื่องเขย่าตั้งอุณหภูมิและความเร็วรอบได้ เครื่องผสมเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้อบฆ่าเชื้อ สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ จานเลี้ยงเชื้อ เครื่อง นับโคโลนี เครื่องวัด-ปรับค่าความเป็นกรด/ด่าง ภาชนะแก้วต่าง ๆ เครื่อคอมพิวเตอร์พร้อมอุปกรณ์ ชุดตรวจ ELISA และ กระดาษ เป็นต้น
3. เมล็ดข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ๑ ใบพลูแห้งบด
4. แปลงทดลอง แปลงเกษตรกร รถยนต์ อุปกรณ์การเตรียมแปลงและวัสดุต่าง ๆ เช่น จอบ เสียม พลั่ว กระดาษ ถุงพลาสติกขนาดต่าง ๆ กาวทนความชื้น ปากกาหมึกเคมีชนิดถาวร สมุดบันทึก ถังโฟม blue Ice pack ฯลฯ หัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดเชื้อ *R. solanacearum* ปุ๋ย สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดแมลง ฯลฯ

วิธีการ

ดำเนินการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวมันฝรั่งโดยวิธีผสมผสาน ในสภาพแปลงทดลองในไร่เกษตรกร วางแผนการทดลองแบบ CRD, 4 ซ้ำ, 5 กรรมวิธี ปลูก 4 แถวต่อหนึ่งกรรมวิธี แถวยาว 4 เมตร ระยะระหว่างแถว 90 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 30 เซนติเมตร ระยะระหว่างกรรมวิธี 2 เมตร ระยะระหว่างซ้ำ 4 เมตร มีขั้นตอนในการดำเนินการตามกรรมวิธี 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 การใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคอย่างเดียว (เชื้อปฏิปักษ์คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก 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)

กรรมวิธีที่ 2 การปลูกพืชหมุนเวียน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์ (ปลูกข้าวโพดก่อน 3 เดือน ก่อนใช้ทดลอง)

กรรมวิธีที่ 3 การไถตากดิน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์ (ไถตากดิน 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 15 วัน ก่อนทำการทดลอง)

กรรมวิธีที่ 4 การใช้สารสมุนไพร + การใช้เชื้อปฏิปักษ์ (ใบพลูแห้งบดละเอียดอัตรา 1 กรัมต่อหลุม ใส่ 4 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 5-7 วัน

กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีเปรียบเทียบ (ปลูกตามที่เกษตรกรเคยทำ)

<u>ในไร่เกษตรกร</u>

อุปกรณ์และวิธีการใช้เชื้อ DOA-WB4 ดำเนินงานเช่นเดียวกับการใช้เชื้อในแปลงทดลอง ทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวช่วงปลายฝน ตค. 49 – กพ.50 แปลงเกษตรกร 6 รายพื้นที่ 35 ไร่ มีที่ อ. พร้าว 4 ราย และ อ. แม่แตง 2 ราย ตรวจดินพบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว 10^3 – 10^5 โคโลนีต่อกรัมดิน ตรวจหัวพันธุ์ของเกษตรกรที่เข้าร่วมการทดลอง ด้วยชุดตรวจ NCM ELISA Rs Kit พบว่าไม่มีเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวติดมากับหัวพันธุ์ ทำการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวแปลงเกษตรกรโดย คลุกเชื้อปฏิปักษ์กับหัวพันธุ์มันฝรั่ง 5500 ก.ก. ใช้เชื้อ 10^9 cfu ปริมาตร 50 ลิตร แล้วจึงนำไปปลูก ในแปลงทดลองที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวดังกล่าว แล้วรดเชื้อปฏิปักษ์ในแปลงทดลอง โดยใช้เชื้อ 10^6 cfu ปริมาตรหลุมละ 5 ม.ล. ครั้งที่1,2 และครั้งที่ 3 เมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 10, 20 และ 30 วัน ตามลำดับ กรรมวิธีเปรียบเทียบของเกษตรกรแต่ละรายใช้แปลงของเกษตรกรเจ้าเดียวกันแต่ไม่ใช้เชื้อปฏิปักษ์ ตรวจนับจำนวนต้นเป็นโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียในทุกแปลงเกษตรกร เมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 20 และ 40 วัน และทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวช่วงกลางฝน มิย.50– ตค.50ที่ อ.พบพระจ. ตาก แปลงเกษตรกร 10 รายพื้นที่ประมาณ 45-50 ไร่

ปี 2550-2551 ขยายผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 50 ราย พื้นที่ 300 ไร่ ใน 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูนและพระเยา

เวลาและสถานที่ เริ่ม ต.ค. 2548 ถึง ก.ย..2551 ทำการทดลอง 2 แห่ง ได้แก่

1. แปลงทดลองทำการทดลอง 2 แห่ง ที่ อ. พบพระ จ. ตากและ แปลงทดลองที่ อ. ไชยปราการ จ. เชียงใหม่
2. แห่ลงปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรในพื้นที่ 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูนและพระเยา

ผลการทดลองและวิจารณ์

ตาราง1 แปลงทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากโดยวิธีผสมผสาน

กรรมวิธี	สถานที่ทดลอง			
	จ. ตาก		จ. เชียงใหม่	
	การเป็นโรค (%)	ผลผลิต (กก/ไร่)	การเป็นโรค (%)	ผลผลิต กก/ไร่)
การใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคอย่างเดียว	1.86	-	2.93	3,584
การปลูกพืชหมุนเวียน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์	1.45	-	2.76	3,560
การไถตากดิน + การใช้เชื้อปฏิปักษ์	2.58	-	5.16	3,608
การใช้สารสมุนไพร + การใช้เชื้อปฏิปักษ์	1.77	-	2.84	3,581
กรรมวิธีเปรียบเทียบ	3.04	-	58.44	614

<u>หมายเหตุ</u> การทดลองที่จังหวัดตากเกิดภาวะฝนแล้งไม่การเก็บเกี่ยวผลผลิต

พบว่าแปลงทดลองที่จังหวัดตากการพัฒนาการเป็นโรคไม่ดี กรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นโรค 3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ เป็นโรค 1-3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกิดสภาวะฝนแล้งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืชและการพัฒนาการเกิดโรค ต้นพืชไม่สมบรูณ์ ผลการทดลองที่จังหวัดเชียงใหม่พบว่าการใช้เชื้อแบคที่เรียปฏิปักษ์ DOA-W B-4 (*Bacilus subtilis*) (คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก อัตรา 10^9 cfu / มล. ปริมาตร 10 มล ต่อ กิโลกรัมหัวพันธุ์ และราดด้วยเชื้อดังกล่าว อัตรา 10^6 cfu / มล.ปริมาตร 10 มล ต่อหลุม จำนวน 4 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน) เพียงอย่างเดียวให้ผลในการควบคุมโรคได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้วิธีการอื่นร่วมด้วย (การปลูกพืชหมุนเวียน, การตากดิน, การใช้สารสมุนไพร) พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 2.8 – 5.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบพบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 58 เปอร์เซ็นต์

ขยายผลการทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของฝรั่งในแปลงเกษตรกร ระหว่างปี 2549-2550 ในพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อ. แม่แตง, อ.พร้าว จ. เชียงใหม่ และ อำเภอพบพระ จ. ตาก พื้นที่ 5 ไร่ (เกษตรกร 2 ราย) , 25 ไร่ (เกษตรกร 6 ราย) และ 50 ไร่ (เกษตรกร 10 ราย) เรียงตามลำดับ พบว่าการใช้เชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวได้ผลดีเป็นที่พอใจของเกษตรกรโดยลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 65 %

Table 2. Biological control of bacterial wilt on potato under bacterial wilt disease infected area in 3 amphurs by its antagonists DOA-WB4.during 2549-50

Location (ampur/province)	Address	Area (Ha)	Rs. population in soil before experiment	No treated DOA-WB4 (Bact. wilt%)[1]/yield(Kg/Rai)	Treated DOA-WB4 (Bact. wilt%)[2]/yield(Kg/Rai)
MaeTang/ Chiengmai	Niphone 86 Moo5	0.5	$2.4x10^2$	0 / 2,691	0 / 2,801
	Inson 54 Moo 5	0.5	$1.4x10^2$	0 / 2,950	0 / 3,106
Praw/ Chiengmai	Jom 30 Moo3	0.5	$2.8x10^2$	5 / 2,451	0 / 2,649
	Maitree 11 Moo3	0.5	$4.4x10^4$	40 / 1,495	5 / 2,484
	Lued 65 Moo3	0.5	$5.4x10^4$	35 / 1,545	5 / 2,471
	Kampan 12 Moo4	0.5	$3.4x10^4$	25 / 1,546	5 / 2,554
	Boonyoung 143 Moo4	2.0	$5.4x10^3$	5 / 2,540	0 / 2,598
	Jan 39 Moo 4	0.5	$3.4x10^4$	35 / 1,521	10 / 2,404
Pob Pra/ Tak	Jaipet 4Moo5	0.8	$5.8x10^4$	70 / 1,226	5 / 2,453
	Noi 560Moo7	0.8	$4.4x10^4$	45 / 1,397	3 / 2,471
	Saknarong 54 Moo2	0.8	$9.8x10^2$	25 / 1,921	5 / 2,421
	Vorames 280Moo2	0.8	$8.4x10^3$	45 / 1, 423	5 / 2,452
	Thitiporn 656 Moo 7	0.8	$3.8x10^2$	35 / 1,537	5 / 2,418

	Kamnoi 394 Moo 7	0.8	$7.8x10^2$	30 / 1,837	7 / 2,397
	Rungpipat 26 Moo 5	0.8	$6.6x10^4$	40 / 1,528	8 / 2,400
	Pad 151 Moo 7	0.8	$2.1x10^3$	30 / 1,730	5 / 2,500
	Suthat 252 Moo 2	0.8	$5.2x10^4$	35 / 1,559	5 / 2,477
	Prasert 588 Moo 7	0.8	$5.3x10^4$	35 / 1,612	7 / 2,381

Note : Statistic analysis is not requirement.

1/ = Disease severity with visual inspection and Rs. NCM ELISA detection with area 1-37 Rai

2/ = Disease severity with visual inspection and Rs. NCM ELISA detection at area 5 Rai

Table 3. Biological control of bacterial wilt on potato under bacterial wilt disease infected area in 6 provinces by its antagonists DOA-WB4. during 2550-51

Location (Province)	Address (Ampur)	Area (Rai/No.of farmer)	Rs. population in soil before experiment[1]	No treated DOA-WB4 (Bact. wilt%)[2]/yield(Kg/rai)	Treated DOA-WB4 (Bact. wilt%)[3] /yield(Kg/Rai)
Chiengmai	Mae jam แม่แจ่ม	10/3	$4.4x10^4$	25 / 1,822	5 / 2,327
	Jomthong จอมทอง	15/5	$2.4x10^2$	45 / 1, 443	5 / 2,456
	Maewangแม่วาง	15/6	$1.4x10^2$	35 / 1,547	5 / 2,428
	Fangฝาง	20/4	$2.6x10^2$	35 / 1,551	10 / 2,415
	Prawพร้าว	40/2	$3.8x10^2$	85 / 326	5 / 2,453
	Sansrayสันทราย	20/6	$1.4x10^4$	45 / 1,387	3 / 2,371
	Payamengrai พญาเม็งราย	25/1	$3.4x10^4$	0 / 2,850	0 /2,906
Chiengrai	Wengpapoa เวียงป่าเป้า	40/8	$2.4x10^3$	5 / 2,458	0 / 2,657
Lumpang	Jaehom แจ้ห่ม	40/7	$3.4x10^4$	40 / 1,475	5 / 2,384
Tak	Pobpra พบพระ	50/5	$4.8x10^4$	30 / 1,637	7 / 2,297
Payao	Chuunจุน	25/2	$2.4x10^4$	40 / 1,528	8 / 2,308
Lumpoon	ลี้/1ee	5/1	$1.8x10^2$	30 / 1,705	5 / 2,320
Total รวม 6	12	305/50	-		

Note : Statistic analysis is not requirement.

1/ = Rs.population in soil pre-experiment average from 2 farms

2/ = Disease severity with visual inspection and Rs. NCM ELISA detection with area 1-25 Rai

3/ = Disease severity with visual inspection and Rs. NCM ELISA detection at area 5 Rai

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ DOA-WB-4 ที่เก็บรักษาไว้ ณ. กลุ่มงานบักเตรีวิทยา ทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวโดยวิธีผสมผสานในแปลงทดลองที่อำเภอไชยปราการจังหวัดเชียงใหม่ และอำเภอพบพระจังหวัดตาก ทั้งสองแห่งวางแผนการทดลองแบบ RCB, 4 ซ้ำ, 5 กรรมวิธี ได้แก่ การใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคอย่างเดียว(กรรมวิธีที่1)และร่วมกับการปลูกพืชหมุนเวียน(กรรมวิธีที่ 2), การตากดิน(กรรมวิธีที่3) และ การใช้สารสมุนไพร(กรรมวิธีที่4) โดยกรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นกรรมวิธีที่5 ปลูก 4 แถวต่อหนึ่งกรรมวิธี แถวยาว 4 เมตร ระยะระหว่างแถว 90 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 30 เซนติเมตร ระยะระหว่างกรรมวิธี 2 เมตร ระยะระหว่างซ้ำ 4 เมตร ผลการตรวจประชากรเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวก่อนปลูกพบเชื้อดังกล่าวทุกแปลง ผลการตรวจหัวพันธุ์มันฝรั่งที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดไม่มีเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว เตรียมเชื้อปฏิปักษ์ 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จำนวน 5000 มิลลิลิตร คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งด้วยอัตรา 10 มิลลิลิตรต่อหัวพันธ์หนึ่งกิโลกรัม แล้วปลูกตามแผนการทดลอง ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในแปลงทดลอง เมื่อมันฝรั่งอายุ 10 วัน ราดเชื้อปฏิปักษ์ 3 ครั้ง ในกรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อปฏิปักษ์หลังต้นมันฝรั่งงอก 7 วัน แต่ละครั้งห่างกัน 10 วัน เก็บข้อมูลการเกิดโรคในทุกกรรมวิธี ครั้งที่1(20วัน) และ 2 (40 วัน) พบว่าแปลงทดลองที่จังหวัดตากการพัฒนาการเป็นโรคไม่ดี กรรมวิธีเปรียบเทียบเป็นโรค 3 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีอื่น ๆ เป็นโรค 1-3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกิดสภาวะฝนแล้งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืชและการพัฒนาการเกิดโรค ต้นพืชไม่สมบรูณ์ ผลการทดลองที่จังหวัดเชียงใหม่พบว่าการใช้เชื้อแบคที่เรียปฏิปักษ์ DOA-WB-4(คลุกหัวพันธุ์มันฝรั่งก่อนปลูก อัตรา 10^9 cfu / มล. ปริมาตร 10 มล ต่อ กิโลกรัมหัวพันธุ์ และราดด้วยเชื้อดังกล่าว อัตรา 10^6 cfu / มล.ปริมาตร 10 มล ต่อหลุม จำนวน 3 ครั้งแต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน) เพียงอย่างเดียวให้ผลในการควบคุมโรคได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการใช้วิธีการอื่นร่วมด้วย พบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคอยู่ระหว่าง 2.8 – 5.1 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญพบเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค 58 เปอร์เซ็นต์ ขยายผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 ควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตร ระหว่างปี 2549-2550 ในพื้นที่ 3 อำเภอ พื้นที่รวม 80 ไร่ ได้แก่ อ. แม่แตง, อ.พร้าว จ. เชียงใหม่ และ อำเภอพบพระ จ. ตาก มีพื้นที่ 5 ไร่ (เกษตรกร 2 ราย) , 25 ไร่ (เกษตรกร 6 ราย) และ 50 ไร่ (เกษตรกร 10 ราย) เรียงตามลำดับอำเภอที่กล่าวข้างต้น พบว่าการใช้เชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวได้ผลดีเป็นที่พอใจของเกษตรกรโดยลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 65 % ปี 2550-2551 ขยายผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 50 ราย พื้นที่ 300 ไร่ ใน 6 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูน และพระเยา พบว่าเชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 80 %

เอกสารอ้างอิง

Aino, M., Maekawa, Y., Mayama, S and Kato, H. 1998. The use of endophytic bacteria in biocontrol. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number 2.10.5s.

Ciampi, L., Fuentes, R., Schobitz, R., Bernal, G. and Oyarzun, J. 1998. Biological control of *Ralstonia solanacearum* : Alginate beads as carriers for antagonistic cells. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B2.

French, E.R., Anguiz, R. and Aley, P. 1997. The usefulness of potato resistance to *Ralstonia solanacearum* for the integrated control of bacterial wilt. *In*. Bacterial wilt : Molecular and Ecology aspects. Prior, P., Allen, C. and Elphinestone, J. (eds.) INRA edn., Springer Verlag, Berlin, Germany. pp. 381 – 385.

Frey, P., Prior, P., Marie, C., Kotoujansky, A., Trigalet, D.D. and Trigalet, 1994. Hrp-(sup) mutants of *Pseudomonas solanacearum* as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt. *Appl. Environ.Microbiol*. 60 (9) 3175-3181.

Guo, J., Qi, H. and Li, S. 2002. Biocontrol efficiency of three PGPR strains admixture to pepper bacteria wilt. Bacterial wilt newsletter. 17: 3.

Hara, H. and Ono, K. 1984. The semi selective medium for soil isolation of *Ralstonia solanacearum*. *Plant protection* (Shokubutsu boeki). 38:76-79. (Japanese language)

Hayward, A.C. 1995. Symtematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. *In*: Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative agent, *Pseudomonas solanacearum.* Hayward, A.C. and Hartman, G.L. (eds.) CABI, Wallingford. pp.123 – 135.

Karuna, K., Khan, A.N.A. and Ravikumar, M.R. 1998. Potential of biocontrol agents in the management of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B3.

Kelaniyangoda, D.B. 1998. Bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) management in potato and tomato using botanicals and chemicals. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe,

French West Indies. paper number B13.

Kelman, A. 1954. The relationship and pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a triphenyl tetrazorium chloride media. *Phytopathology*. 44:693 - 695.

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

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

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

Nesmith, W.C. and Jenkins, J.S.F. 1985. Influence of antagonists and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. Phytopathology 75 : 1182-1187.

Richardson, J., Elephinstone, J, Stead, D. and Coutts, R. 1998. Differentiation of *Burkholderia cepacia* isolates by fatty acid profiling and PCR for biocontrol of *Ralstonia solanacearum. In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number 3.5.16

Sanaina, V., Kishore, V. and Shekhawat, G.S. 1998. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and other bacteria. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B5.

Shiomi, Y., Nishiyama, M., Onizuka, T. and Marumoto, T. 1999. Comparison of bacterial community structures in the rhizoplane of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt. *Appl. Environ. Microbiol*. 65 (9) 3996-4001.

Suthaya, C. 1984. Study on bacterial wilt of tomato. M.Sc. Thesis, Kasetsart university,

Bangkok, Thailand 234 Pp

Tans-Kersten, J., Huang, H. and Allen, C. 2001. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *Journal of Bacteriology*. 183 (12) 3597-3605.

Urutchata, K. 1991. Biological control of tomato bacterial wilt by *Pseudomonas solanacearum*. M.Sc. Thesis, Kasetsart university, Bangkok, Thailand. 199 Pp.

Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., and Nishiuchi, Y. 1995.Transfer of 2 *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia picketti* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. Nov. and *Ralstonia Eutropha* (Davis 1969) comb. Nov. *Micr*

ประสิทธิภาพของสาร abamectin ในการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปมในมันฝรั่ง

Efficacy of Abamectin in Controlling the Root-knot Nematodes, *Meloidogyne* spp., in Potatoes

ไตรเดช ข่ายทอง ฐิติยา สารพัฒน์ มนตรี เอี่ยมวิมังสา *เสงี่ยม แจ่มจำรูญ

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นของสารอะบาเมคติน 1.8% E.C. ต่อไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidigyne incognita* ในมันฝรั่งพันธุ์ atlantic ในกระถางทดลองซึ่งบรรจุดินปริมาตร 1 ลิตร วางแผนการทดลองแบบ factorial in RCB โดยมีจำนวนไข่ไส้เดือนฝอย 4 ระดับ คือ 0, 1,000 5,000 20,000 ฟอง และอัตราสารอะบาเมคติน 5 ระดับ คือ 0, 50, 100, 250, 500 ไมโครลิตร/กระถาง พบว่า อะบาเมคตินสามารถลดการเกิดปมของรากมันฝรั่ง จำนวนไข่ต่อน้ำหนักราก และจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยในดินได้ โดยประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของอะบาเมคตินจะขึ้นอยู่กับจำนวนไข่ของไส้เดือนฝอยในดินเมื่อเริ่มปลูกด้วย โดยเมื่อมีจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยในดินมาก ต้องใช้อะบาเมคตินอัตราที่สูงขึ้นในการควบคุมโรค อย่างไรก็ตามอะบาเมคตินอัตราสูงสุดที่ใช้ในการทดลองก็ไม่สามารถกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่าจะมีไข่ไส้เดือนฝอยในดินเมื่อเริ่มปลูกเพียง 1,000 ฟองต่อกระถาง

รหัสโครงการ 01-16-49-05

* ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตตาก

คำนำ

อะบาเมคติน (abamectin หรือ avermectin B1) เป็นส่วนผสมของ avermectin B1a ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และ avermectin B1b ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็น macrocyclic lactones ที่ได้จากกระบวนการหมักเชื้อ *Streptomyces avermitilis* (Dybas, 1989) อะบาเมคตินได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นสารกำจัดแมลงและไร รวมทั้งไส้เดือนฝอยในหลายประเทศ และถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มที่ 4 ด้านความเป็นพิษ (Class 4 Toxicity) โดย U.S. Environmental Protection Agency หรือ EPA ซึ่งเป็นกลุ่มของสารที่ไม่มีอันตราย และการใช้ไม่ต้องอยู่ในความควบคุมของเจ้าหน้าที่ กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา (2547) แนะนำการใช้ สารนี้ควบคุมไรขาวพริก หนอนชอนใบส้ม หนอนใยผักและหนอนคืบกะหล่ำ สำหรับไส้เดือนฝอยศัตรูพืชมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของอะบาเมคตินต่อไส้เดือนฝอยศัตรูพืชหลายชนิดในต่างประเทศ รวมทั้งไส้เดือนฝอยรากปมซึ่งเป็นสาเหตุโรครากปม ซึ่งทำความเสียหายต่อพืชที่สำคัญหลายชนิดในประเทศไทย การใช้ avermectin B1 ในรูปแบบผงหรือของเหลว สามารถควบคุมโรครากปมในมะเขือเทศได้ (Garabedian and Van Gundy, 1983) avermectin B1a, avermectin B2a and avermectin B2a 23-ketone สามารถลดจำนวนไข่ต่อต้นของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* ในยาสูบได้ 21-86 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับอัตราการใช้ (Sasser *et al*., 1982) การเข้าทำลายรากมะเขือเทศของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และไส้เดือนฝอยเรนิฟอร์ม *Rotylenchulus reniformis* ถูกยับยั้งเมื่อไส้เดือนฝอยทั้ง 2 ชนิดสัมผัสอะบาเมคตินที่ความเข้มข้น 0.39 µg/ml และ 8.22 µg/ml ตามลำดับ (Faske and Starr, 2006) การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยอะบาเมคตินสามารถลดการเข้าทำลายของ *M. incognita* และ *R. reniformis* (Faske and Starr, 2007) และปัจจุบันได้มีการผลิตเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบสารอะบาเมคตินในเชิงการค้า นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของอะบาเมคตินในการใช้ป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยศัตรูพืชชนิดอื่นๆ อีกด้วย เช่น ใช้ฉีดเข้าสู่ลำต้นของกล้วยเพื่อป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากโพรง *Radopholus similis* (Jansson and Rabatin, 1997) ใช้แช่กลีบกระเทียมก่อนปลูกเพื่อป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย *Ditylenchus dipsaci* (Becker, 1999) และใช้ป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย *Hoplolaimus galeatus* และ *Tylenchorhynchus dubius* ในหญ้าสนาม (Blackburn et al., 1996) เป็นต้น

โรคหัวหูดของมันฝรั่งซึ่งเกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* และ *M. javanica* ทำความเสียหายให้กับหัวมันฝรั่งสำหรับส่งเข้าโรงงานผลิตมันฝรั่งแผ่นบางทอดกรอบ (Potato chips) โดยเมื่อนำมันฝรั่งที่เป็นโรคหูดไปทอดจะเกิดรอยไหม้ในบริเวณที่ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย ทำให้แผ่นมันฝรั่งไม่สวยงาม เป็นเหตุให้โรงงานไม่รับซื้อหัวมันฝรั่งที่เป็นโรค (มนตรีและคณะ 2543) ซึ่งการระบาดของไส้เดือนฝอยรากปมในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งในเขตภาคตะวันตกและภาคเหนือ โดยเฉพาะ

ในเขตพื้นที่อำเภอ พบพระ จังหวัดตาก ได้เกิดขึ้นมาเป็นระยะเวลานานและทำความเสียหายอย่างมาก การศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารเคมีชนิดใหม่ที่มีอันตรายน้อยกว่า เพื่อใช้ในการควบคุมโรคหัวหูดของมันฝรั่ง ทดแทนสารเคมีที่ใช้อยู่ในปัจจุบันที่มีอันตรายสูงและหลายชนิดกำลังถูกห้ามใช้และดึงออกจากตลาด จึงเป็นสิ่งจำเป็น สารอะบาเมคตินเป็นสารเคมีที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง ที่ควรศึกษาถึงประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมโรคหัวหูดของมันฝรั่ง

วัตถุประสงค์

เพื่อทราบถึงความเข้มข้นของสารอะบาเมคติน ที่สามารถลดการทำลายรากมันฝรั่งของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในดินที่มีจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยระดับต่างๆ ในสภาพกระถางทดลอง

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

- หัวพันธุ์มันฝรั่งพันธุ์ atlantic
- สารอะบาเมคติน 1.8%EC
- กระถางทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว
- ดินอบฆ่าเชื้อ
- ไข่ไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita*
- อุปกรณ์การปลูกมันฝรั่งและเตรียมสารเคมี
- อุปกรณ์สำหรับการตรวจผลการทดลอง เช่น เครื่องชั่ง กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ถุงพลาสติก ถ้วยนับตัวอย่าง ตู้อบตัวอย่าง กล้องจุลทรรศน์
- อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอย เช่น ตะแกรงล้างตัวอย่างดิน กรวยแก้ว คลอร็อก น้ำตาลทราย เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
- อุปกรณ์การให้น้ำต้นมันฝรั่ง

วิธีการ

ทำการทดลองในสภาพกระถางทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ factorial in RCB 4 ซ้ำ

ปัจจัยและกรรมวิธีที่ทดสอบ

– ปัจจัย A คือ จำนวนไข่ไส้เดือนฝอยรากปม 4 ระดับ

A1 = ไม่ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย

A2 = ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยจำนวน 1,000 ฟอง/กระถาง

A3 = ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยจำนวน 5,000 ฟอง/กระถาง

A4 = ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยจำนวน 20,000 ฟอง/กระถาง

– ปัจจัย B คือ ระดับความเข้มข้นของสารอะบาเมคติน 5 ระดับ

B1 = ราดดินด้วยน้ำเปล่า 50 มิลลิลิตร/กระถาง

B2 = ราดดินด้วยสารอะบาเมคติน 50 ไมโครลิตรในน้ำ 50 มิลลิลิตร/กระถาง

B3 = ราดดินด้วยสารอะบาเมคติน 100 ไมโครลิตรในน้ำ 50 มิลลิลิตร/กระถาง

B4 = ราดดินด้วยสารอะบาเมคติน 250 ไมโครลิตรในน้ำ 50 มิลลิลิตร/กระถาง

B5 = ราดดินด้วยสารอะบาเมคติน 500 ไมโครลิตรในน้ำ 50 มิลลิลิตร/กระถาง

– กรรมวิธีที่ทำการทดสอบ

T1 = A1B1 : ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย + ไม่ใส่สารเคมี

T2 = A1B2 : ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย + อะบาเมคติน 50 ไมโครลิตร

T3 = A1B3 : ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย + อะบาเมคติน 100 ไมโครลิตร

T4 = A1B4 : ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย + อะบาเมคติน 250 ไมโครลิตร

T5 = A1B5 : ไม่ใส่ไส้เดือนฝอย + อะบาเมคติน 500 ไมโครลิตร

T6 = A2B1 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 1,000 ฟอง + ไม่ใส่สารเคมี

T7 = A2B2 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 1,000 ฟอง + อะบาเมคติน 50 ไมโครลิตร

T8 = A2B3 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 1,000 ฟอง + อะบาเมคติน 100 ไมโครลิตร

T9 = A2B4 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 1,000 ฟอง + อะบาเมคติน 250 ไมโครลิตร

T10 = A2B5 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 1,000 ฟอง + อะบาเมคติน 500 ไมโครลิตร

T11 = A3B1 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 5,000 ฟอง + ไม่ใส่สารเคมี

T12 = A3B2 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 5,000 ฟอง + อะบาเมคติน 50 ไมโครลิตร

T13 = A3B3 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 5,000 ฟอง + อะบาเมคติน 100 ไมโครลิตร

T14 = A3B4 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 5,000 ฟอง + อะบาเมคติน 250 ไมโครลิตร

T15 = A3B5 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 5,000 ฟอง + อะบาเมคติน 500 ไมโครลิตร

T16 = A4B1 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 20,000 ฟอง + ไม่ใส่สารเคมี

T17 = A4B2 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 20,000 ฟอง + อะบาเมคติน 50 ไมโครลิตร

T18 = A4B3 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 20,000 ฟอง + อะบาเมคติน 100 ไมโครลิตร

T19 = A4B4 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 20,000 ฟอง + อะบาเมคติน 250 ไมโครลิตร

T20 = A4B5 : ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 20,000 ฟอง + อะบาเมคติน 500 ไมโครลิตร

วิธีการปฏิบัติการทดลอง เพาะหัวพันธุ์มันฝรั่งในกระบะเพาะชำประมาณ 3-5 วัน เมื่อรากงอกแล้วนำลงปลูกในกระถางทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว ที่บรรจุดินปริมาตร 1 ลิตร

เตรียมไข่ไส้เดือนฝอยรากปม โดยเลี้ยงไส้เดือนฝอยรากปมในต้นมันฝรั่ง เมื่อต้นมันฝรั่งอายุประมาณ 60-90 วัน ทำการแยกไข่ไส้เดือนฝอยโดยการตัดรากปมเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 1 เซนติเมตร และเขย่าใน 0.52 % Sodium Hypochlorite (คลอร็อก 10%) และเก็บไข่ไส้เดือนฝอยโดยการล้างผ่านตะแกรงที่มีขนาดช่อง 25 ไมโครเมตร ด้วยน้ำสะอาด (Hussey and Barker, 1973) ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยรากปมลงในแต่ละกระถางทดลองตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยเจาะดินรอบต้นมันฝรั่งจำนวน 4 รู ก่อนใช้ไปเปตดูดไข่ไส้เดือนฝอยที่อยู่ในน้ำใส่ลงในรูเพื่อให้ไข่อยู่ใต้ดินและใกล้ระบบรากของมันฝรั่ง จากนั้นราดดินด้วยอะบาเมคติน ตามกรรมวิธีที่กำหนด ดูแลรักษาต้นมันฝรั่งตามปกติเป็นเวลา 60 วัน บันทึกผลการทดลองโดยการบันทึก ความสูง น้ำหนักแห้งของต้น น้ำหนักของหัวมันฝรั่งที่เกิดใหม่รวมน้ำหนักราก น้ำหนักราก บันทึกจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยในดิน โดยแยกไส้เดือนฝอยออกจากดินทั้งกระถางโดยวิธีการใช้ตะแกรงและกรวยแยก (Cobb's Sieving and Bearmann Funnel Method) และตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แยกไข่ไส้เดือนฝอยจากรากมันฝรั่งโดยการตัดรากมันฝรั่งเป็นชิ้นขนาดยาวประมาณ 1 เซนติเมตร และปั่นในบีกเกอร์ที่มี 0.52 % Sodium Hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที และเก็บไข่ไส้เดือนฝอยโดยการล้างผ่านตะแกรงที่มีขนาดช่อง 25 ไมโครเมตร ด้วยน้ำสะอาด ตรวจนับไข่ไส้เดือนฝอยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และบันทึกจำนวนไข่ต่อรากน้ำหนัก 1 กรัม วัดระดับการเกิดปมที่รากโดยการให้คะแนนโดย ระดับ 0 = ไม่เกิดปม, 1 = เกิดปมเล็กน้อย (<10%), 2 =เกิดปม 11-25% ของระบบราก, 3 = เกิดปม 26-50% ของระบบราก, 4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก, 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี two-way Analysis of Variance โดยใช้โปรแกรม IRRI Stat for DOS สำหรับข้อมูลของจำนวนไส้เดือนฝอยในดินและจำนวนไข่ไส้เดือนฝอย ทำการแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปของ log (X+1) ก่อนวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองและวิจารณ์

อะบาเมคตินสามารถลดการเกิดปมของรากมันฝรั่ง ซึ่งเกิดจาก *M. incognita* ได้ รวมทั้งสามารถลดจำนวนไข่ต่อน้ำหนักราก และจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินที่ 60 วันหลังปลูก (ตารางที่ 1, 2 และ 3) โดยประสิทธิภาพของอะบาเมคติน จะขึ้นอยู่กับจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยที่ใส่ลงในดินเมื่อเริ่มทดลองด้วย ในดินที่มีจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยมากเมื่อเริ่มปลูก จะต้องใช้อะบาเมคตินอัตราที่สูงขึ้น จึงจะสามารถลดการเกิดโรคของรากมันฝรั่ง ให้อยู่ในระดับที่เท่ากับต้นที่มีจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยในดินเมื่อเริ่มปลูกน้อยกว่า เช่น การลดการเกิดปมที่รากให้อยู่ในระดับ 1 (เกิดปมที่รากน้อยกว่า 10%) ในต้นมันฝรั่งที่ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 1,000 ฟองต่อกระถาง จะใช้อะบาเมคตินอัตรา 100 ไมโครลิตรต่อกระถาง หากต้องการลดการเกิดปมให้อยู่ในระดับเดียวกันใน

กระถางที่ใส่ไข่ไส้เดือนฝอย 5,000 หรือ 20,000 ฟองต่อกระถาง จะต้องใช้อะบาเมคตินถึง 500 ไมโครลิตรต่อกระถาง (ตารางที่ 3) ทั้งนี้อาจเนื่องจากในกระถางที่มีไข่ไส้เดือนฝอยจำนวนมาก จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองที่ฟักออกมาจากไข่จะมากกว่า และจำนวนตัวอ่อนที่รอดจากการทำลายของอะบาเมคติน และเข้าสู่รากพืชได้ก็จะมากกว่าด้วย เมื่อตัวอ่อนเข้าสู่รากพืช ก็จะสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ เป็นที่น่าสังเกตว่าการใช้อะบาเมคตินในอัตรา 500 ไมโครลิตรต่อกระถาง ซึ่งเป็นอัตราที่สูงมาก ก็ยังไม่สามารถทำลายไส้เดือนฝอยให้หมดไปได้ แม้แต่ในกระถางที่ใส่ไข่ไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มปลูกเพียง 1,000 ฟองต่อกระถาง ดังนั้นการใช้อะบาเมคตินราดดินจึงต้องระวังการใช้สารเคมีเกินความจำเป็น หรือใช้ในระดับความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด (ลดจำนวนไส้เดือนฝอยลงมากที่สุด) เท่านั้น อีกประการหนึ่งการราดดินด้วยอะบาเมคตินก่อนปลูกพืช อาจให้ประสิทธิภาพมากกว่าการราดดินพร้อมปลูก เพราะเป็นการเพิ่มเวลาให้ไข่และตัวอ่อนระยะที่สองสัมผัสกับสารเคมีนานขึ้น อาจทำให้ไข่และตัวอ่อนระยะที่สองในดินถูกทำลายได้มากขึ้น ซึ่งควรมีการทดลองเกี่ยวกับระยะเวลาการใช้ที่เหมาะสมต่อไป

อะบาเมคตินอัตราต่างๆ ในดินที่มีไข่ไส้เดือนฝอยระดับต่างๆ ไม่มีผลต่อความสูง และน้ำหนักรากของมันฝรั่ง ($P > 0.05$) แต่พบว่าความสูง และน้ำหนักรากของมันฝรั่งเพิ่มขึ้น ในกรรมวิธีที่ใส่ไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมทุกระดับ ($P < 0.05$, ตารางที่ 4) ซึ่งโดยทั่วไปรากมันฝรั่งปกติจะบอบบางและมีลักษณะเป็นเส้นขนาดเล็ก แต่รากมันฝรั่งที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายจะมีขนาดที่ใหญ่ขึ้นและเกิดอาการปมที่ราก ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำหนักของรากที่เป็นโรคเพิ่มขึ้นได้ เมื่อเทียบกับรากมันฝรั่งปกติ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมทั้งหมดในดิน ที่ 60 วันหลังปลูก ของต้นมันฝรั่งพันธุ์ atlantic ในดินที่มีจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มปลูกในระดับต่าง ๆ และได้รับสารอะบาเมคตินอัตราต่างกัน

จำนวนไข่ไส้เดือนฝอย (ฟอง/กระถาง)	อัตราสารอะบาเมคติน (ไมโครลิตร/กระถาง)				
	0	50	100	250	500
0	0	0	0	0	0
1,000	128	123	175	13	3
5,000	1130	188	65	8	13
20,000	1790	673	745	188	5

CV = 176.8% LSD (.05) = 656 ตัว/กระถาง

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยรากปมต่อรากหนัก 1 กรัม ที่ 60 วันหลังปลูก ของต้นมันฝรั่งพันธุ์ atlantic ในดินที่มีจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มปลูกในระดับต่างๆ และได้รับสารอะบาเมคตินอัตราต่างกัน

จำนวนไข่ไส้เดือนฝอย (ฟอง/กระถาง)	อัตราสารอะบาเมคติน (ไมโครลิตร/กระถาง)				
	0	50	100	250	500
0	0	0	0	0	0
1,000	2,940	1,850	1,500	257	163
5,000	6,419	5,071	1,296	1,379	430
20,000	16,296	18,443	17,610	2,652	664

CV = 129.0% LSD (.05) = 7,028 ฟอง/ราก 1 กรัม

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยระดับการเกิดปม ของรากมันฝรั่งพันธุ์ atlantic ที่ 60 วันหลังปลูก ของต้นมันฝรั่งพันธุ์ atlantic ในดินที่มีจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มปลูกในระดับต่างๆ และได้รับสารอะบาเมคตินอัตราต่างกัน

จำนวนไข่ไส้เดือนฝอย (ฟอง/กระถาง)	(อัตราสารอะบาเมคติน ไมโครลิตร/กระถาง)				
	0	50	100	250	500
0	0	0	0	0	0
1,000	1.7	1.3	1	1	1
5,000	2.5	2.5	2	1.5	1
20,000	3	2	2.3	1.3	1

ระดับการเกิดปมที่ราก ระดับ 0 = ไม่เกิดปม, 1 = เกิดปมเล็กน้อย (<10%), 2 =เกิดปม 11-25% ของระบบราก, 3 = เกิดปม 26-50% ของระบบราก, 4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก, 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยความสูง และน้ำหนักราก ที่ 60 วันหลังปลูก ของต้นมันฝรั่งพันธุ์ atlantic ในดินที่มีจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยเมื่อเริ่มปลูกในระดับต่างๆ และได้รับสารอะบาเมคตินอัตราต่างกัน

จำนวนไข่ไส้เดือนฝอย (ฟอง/กระถาง)	ความสูง (ซ.ม.)	น้ำหนักราก (กรัม)
0	81.7 b	3.1 b
1,000	90.0 a	4.6 a
5,000	93.9 a	4.9 a
20,000	97.3 a	5.6 a
CV	13.1%	42.3%

ในการทดลองนี้ น้ำหนักแห้งของต้น และน้ำหนักรวมของรากและหัวมันฝรั่ง ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยมีน้ำหนักแห้งของต้นเฉลี่ยต่ำสุดที่ 1.5 กรัม และสูงสุดที่ 4.3 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักรวมของรากและหัวมันฝรั่งเฉลี่ยต่ำสุดคือ 27 กรัม และน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุดคือ 48 กรัม โดยมันฝรั่งบางต้นไม่สร้างหัว ซึ่งการทดลองในสภาพกระถางขนาดเล็กอาจไม่เหมาะสมในการเปรียบเทียบผลผลิต อย่างไรก็ตามการวัดระดับการเกิดปมที่รากและการขยายพันธุ์ของไส้เดือนฝอยก็สามารถบอกถึงประสิทธิภาพของอะบาเมคตินได้ในระดับหนึ่ง การทดลองขั้นต่อไปจะเป็นการทดลองเพื่อทราบระยะเวลาการใช้ที่เหมาะสม รวมทั้งการทดลองในสภาพแปลงทดลอง

ปัจจุบันได้มีการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชที่ได้รับการเคลือบสารอะบาเมคตินในเชิงการค้า เพื่อใช้ในการลดการเกิดโรคที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม (Monfort *et al*., 2006; Faske and Starr, 2007) จึงควรมีการทดลองใช้อะบาเมคตินในการเคลือบหัวพันธุ์มันฝรั่งเพื่อลดการทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมเช่นเดียวกัน

สรุปผลการทดลอง

อะบาเมคตินสามารถลดการเกิดปม จำนวนไข่ไส้เดือนฝอยต่อน้ำหนักราก และจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินของมันฝรั่งพันธุ์ atlantic ในกระถางทดลอง ที่ 60 วันหลังปลูกได้ อัตราที่ใช้จะต้องเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยในดินก่อนปลูกเพิ่มขึ้น สำหรับประสิทธิภาพของอะบาเมคตินต่อผลผลิต ไม่สามารถสรุปได้ในการทดลองในกระถาง ซึ่งจะดำเนินการทดลองในสภาพแปลงทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา. 2547. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช เอกสารวิชาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ และสมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. 284 หน้า.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา ไตรเดช ข่ายทอง และประยูร สมฤทธิ์. 2543. โรคหัวหูดของมันฝรั่ง. เอกสารประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร วันที่ 8-20 มีนาคม 2543 ณ โรงแรมลองบีช อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี. หน้า 33.

Becker, W.F. 1999. The Effect of Abamectin on Garlic Infected by *Ditylenchus dipsaci.* Nematologia Brasileira 23: 1-8.

Blachburn, K., S. R. Alm. and T. S. Yeh. 1996. Avermectin B1, Isazofos, and Fenamiphos for Control of *Hoplolaimus galeatus* and *Tylenchorhynchus dubius* Infesting *Poa annua*. Supplement to Journal of Nematology 28(4S):687-694.

Dybas, R. A. 1989. Abamectin use in crop protection. Pp. 287–310 *in* W. C. Campbell, ed. Ivermectin and abamectin. New York: Springer-Verlag.

Faske, T. R. and J. L. Starr. 2006. Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to abamectin. Journal of Nematology 38:240–244.

Faske, T. R. and J. L. Starr. 2007. Cotton Root Protection from Plant-Parasitic Nematodes by Abamectin-Treated Seed. Journal of Nematology 39:27–30.

Garabedian, S. and S. D. Van Gundy. 1983. Use of avermectins for control of *Meloidogyne incognita* on tomatoes. Journal of Nematology 15:503–510.

Hussey, R. S., and K. R. Barker. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter 57:1025–1028.

Jansson, R. K. and S. Rabatin. 1997. Curative and residual efficacy of injection applications of avermectins for control of plant-parasitic nematodes on banana. Journal of Nematology 29:695–702.

Monfort, W. S., T. L. Kirkpatrick, D. L. Long and S. Rideout. 2006. Efficacy of a novel nematicidal seed treatment against *Meloidogyne incognita* on cotton. Journal of Nematology 38:245–249.

Sasser, J. N., T. L. Kirkpatrick and R. A. Dybas. 1982. Efficacy of avermectins for root knot control in tobacco *Meloidogyne incognita*. Plant Disease 66:691–693.

การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Paecilomyces lilacinus* ควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูมันฝรั่ง

Control of Nematodes Disease on Potato by Antagonistic Fungus; *Paecilomyces lilacinus*

มนตรี เอี่ยมวิมังสา ไตรเดช ข่ายทอง อภิรัชต์ สมฤทธิ์ เสงี่ยม แจ่มจำรูญ*
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การค้นหาและเพาะเลี้ยงเชื้อราโดยการนำหัวมันฝรั่งที่เป็นโรคหัวหูด จากร้านจำหน่ายมันฝรั่งของชาวเขา บริเวณตลาดดอยมูเซอจังหวัดตาก พบเชื้อราปฏิปักษ์ *P. lilacinus* จำนวน 2 isolate จากทั้งหมด 100 หัว มีศัตรูธรรมชาติน้อย พบเชื้อราอื่นๆ ที่ไม่ใช่ *P. lilacinus* ปนเปื้อนอยู่จำนวนมาก การแยกเชื้อจากปมรากของสาบแร้งสาบกา และถั่วเหลืองที่พบในแปลงปลูกมันฝรั่งในเขตหมู่บ้านรวมไทย 2 อ.พบพระ จ.ตาก ไม่พบเชื้อรา *P. lilacinus* การนำรากปมของต้นฤาษีผสมจากศูนย์บริการวิชาการฯตาก(ดอยมูเซอ) ไปแยกหาเชื้อรา *P. lilacinus* ก็ไม่พบเชื้อราดังกล่าวอีก นำดินรอบรากพริกที่มีปัญหาโรครากปมระบาดจากจังหวัดอุบลราชธานีมาหาเชื้อรา ขณะเดียวกันใช้ต้นฤาษีผสมปลูกลงไปแล้วนำกลุ่มไข่จากรากปมทั้งพริกและฤาษีผสม มาแยกยังไม่พบเชื้อราดังกล่าว ปัจจุบันได้เตรียมแปลงปลูกมันฝรั่งโดยมีการปลูกถั่วเขียวร่วมเพื่อเพิ่มธาตุไนโตรเจนและกระตุ้นการเกิดโรครากปมทั้งถั่วเขียวและมันฝรั่ง เพื่อหาเชื้อราต่อไป

รหัสโครงการ 01-16-49-05

*ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตตาก

คำนำ

การทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* กับมันฝรั่ง ต้นจะแคระแกรนและเหี่ยวในเวลาแดดจัดเนื่องจากรากเกิดเป็นปมทำให้การเคลื่อนที่ของน้ำและแร่ธาตุไม่สะดวก ขนาดของหัวเล็กลง ที่สำคัญคือบริเวณผิวรอบๆหัว จะเกิดอาการที่เรียกว่า ผิวหูด หรือ ผิวคางคก เพราะมีไส้เดือนฝอยรากปมฝังตัวอยู่ ถ้านำไปทำพันธุ์ หรือปล่อยไว้ในแปลง ก็จะแพร่ลงสู่ดินอีก ถ้านำไปทอดเป็นมันฝรั่งแผ่นบางทอดกรอบ (potato chips) บริเวณขอบของแผ่นมันฝรั่งก็จะขาดแหว่งหรือเป็นสีดำทำให้บริษัทไม่รับซื้อ การคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมพบว่าพันธุ์ FLS-13 พอจะมีแนวโน้มต้านทานบ้าง การศึกษาวิธีการต่างๆ เช่นการใช้สารเคมีหรือสารจากธรรมชาติให้ผลแตกต่างกันไปจึงต้องทำการศึกษาวิธีการอื่นๆ เช่นการใช้ศัตรูธรรมชาติมาช่วยหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี สืบศักดิ์ (2533)รายงานว่า มีเชื้อรา 400 ชนิด ใน 15 สกุล สามารถทำลายไส้เดือนฝอยได้ การใช้เชื้อราต่อต้านหรือปฏิปักษ์ ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำลายไข่ของไส้เดือนฝอยรากปมคือเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ศึกษาโดย Jatalaและคณะ(1980) เป็นประโยชน์ในการควบคุมการแพร่ระบาดของไส้เดือนฝอยศัตรูมันฝรั่งให้ผลดี มนตรีและบัญชา (2538) ทำการศึกษาเชื้อรา *P. lilacinus* ทำลายไส้เดือนฝอยศัตรูขิงได้ และนำไปศึกษากับผักชีฝรั่งได้ด้วย (มนตรีและคณะ,2539) ธารทิพยและนุชนารถ(2549)แยกเชื้อรา *P. lilacinus* จากรากปมพริกและดินจากจังหวัดอุบลราชธานี ทดสอบการทำลายไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* กับมะเขือเทศในห้องปฏิบัติการพบว่าการเกิดโรครากปมลดลง การใช้ประโยชน์และการค้นคว้าหาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมหรือลดการทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมของมันฝรั่ง จึงจำเป็นต้องศึกษาต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หัวมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic ที่เป็นโรคหัวหูดและหัวพันธุ์ดี
2. พืชที่เป็นโรครากปมในแปลงมันฝรั่ง
3. อุปกรณ์การแยกไส้เดือนฝอยในห้องปฏิบัติการ
4. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus*
5. ปุ๋ยสูตร 15-15-15
6. แปลงที่มีไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ระบาดอยู่

วิธีการ

แบ่งการทดลองเป็น 2 ขั้นตอน คือ

1. ค้นหาเชื้อราปฏิปักษ์จากหัวของมันฝรั่งที่เป็นโรคหัวหูด และจากรากปมของพืชที่เป็นพืชอาศัยในแปลงที่มีประวัติการปลูกมันฝรั่งมาก่อน โดยการนำมันฝรั่งที่เป็นโรคหัวหูดจากแหล่งรับซื้อผลผลิตจากเกษตรกรมาหาเชื้อรา แยกกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยบริเวณที่เป็นหูดหรือจากปมรากของพืชอื่นๆนำมาฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วใส่ลงใน Water Agar แล้วตัดปลายเส้นใยไปเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณใน PDA จากนั้นคัดเอาเฉพาะ colony ของ เชื้อรา *P. lilacinus* แล้วคัดเลือกเฉพาะ isolate ที่เจริญได้เร็วนำไปเลี้ยงขยายต่อในอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อและในหลอดทดลองให้มีเส้นใยเต็มจาน ให้สร้างสปอร์เมื่อได้ปริมาณมากแล้ว จึงนำไปทดลองในขั้นที่ 2

2. ปลูกมันฝรั่งหลุมละ 1 หัว ในหลุมปลูกห่างหลุมละ 50 ซม. ระยะแถว(ร่อง) 80 ซม. ในดินที่มีไส้เดือนฝอยระบาดอยู่มากกว่า 200 ตัว/ดิน 500 กรัม วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 8 กรรมวิธี
4 ซ้ำประกอบด้วย

กรรมวิธีที่1 ใช้เส้นใยของเชื้อรา*P. lilacinus* ที่เจริญในอาหาร PDA อัตรา 1 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่2 ใช้เส้นใยของเชื้อรา*P. lilacinus* ที่เจริญในอาหาร PDA อัตรา 10 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่3 ใช้เส้นใยของเชื้อรา*P. lilacinus* ที่เจริญในอาหาร PDA อัตรา 20 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่4 ใช้เส้นใยของเชื้อรา*P. lilacinus* ที่เจริญในอาหาร PDA อัตรา 30 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่5 ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา*P. lilacinus* อัตรา 1 ล้านสปอร์/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่6ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา*P. lilacinus* อัตรา 2 ล้านสปอร์/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่7 ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา*P. lilacinus* อัตรา 3 ล้านสปอร์/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่8 ไม่ใช้สาร

ปฏิบัติตามกรรมวิธีที่กำหนดทั้ง 8 กรรมวิธี ดูแลกำจัดวัชพืชและใส่ปุ๋ยตามคำแนะนำ ตรวจนับปริมาณตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในดินก่อนปลูก หลังปลูก 1 เดือน และหลังเก็บเกี่ยว ชั่งน้ำหนักผลผลิตหลังเก็บเกี่ยวเมื่อมันฝรั่งอายุ 3 เดือน วิเคราะห์

ผลการเกิดโรครากปมและหัวหูดเปรียบเทียบการใช้ เชื้อรา*P. lilacinus* ในอัตราต่างๆ เปรียบเทียบกับการไม่ใช้สาร

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2551 ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอยและกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตตาก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนแรกการค้นหาและเพาะเลี้ยงเชื้อราโดยการนำหัวมันฝรั่งที่เป็นโรคหัวหูด จากร้านจำหน่ายมันฝรั่งของชาวเขา บริเวณตลาดดอยมูเซอ พบเชื้อราปฏิปักษ์ *P. lilacinus* จำนวน 2 isolate จากทั้งหมด 100 หัว แสดงว่าแปลงปลูกมันฝรั่งดังกล่าว มีศัตรูธรรมชาติน้อย พบเชื้อราอื่นๆ ที่ไม่ใช่ *P. lilacinus* ปนเปื้อนอยู่จำนวนมาก

นำปมรากของสาบแร้งสาบกา และถั่วเหลืองที่พบในแปลงปลูกมันฝรั่งในเขตหมู่บ้านรวมไทย 2 อ.พบพระ จ.ตาก มาแยกเอากลุ่มไข่ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่พบเชื้อรา *P. lilacinus*

พบว่าในศูนย์บริการวิชาการฯตาก(ดอยมูเซอ) มีไส้เดือนฝอยรากปมระบาดในแปลงไม้ประดับคือต้นฤาษีผสม จึงนำกลุ่มไข่ไปแยกหาเชื้อรา *P. lilacinus* ก็ไม่พบเชื้อราดังกล่าวอีก

นำดินรอบรากพริกที่มีปัญหาโรครากปมระบาดจากจังหวัดอุบลราชธานี มาหาเชื้อราขณะเดียวกัน ใช้ต้นฤาษีผสมปลูกลงไปแล้วนำกลุ่มไข่จากรากปมทั้งพริกและฤาษีผสม มาแยกยังไม่พบเชื้อราดังกล่าว ตามปรกติเชื้อราดังกล่าวควรจะหาง่ายมากในดิน Stering(1991) รายงานว่าการเป็นปรสิตของเชื้อรา *P. lilacinus* ขึ้นอยู่กับ ปริมาณและคุณภาพของอินทรีย์วัตถุในดิน และการแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นๆ เช่นเดียวกับขจรศักดิ์และพรพิมล(2547) รายงานว่าเชื้อรา *Paecilomyces fumosoroseus* สาเหุตโรคเหี่ยวของฝรั่งและทำให้ผลฝรั่งเน่าได้ก็เป็นเชื้อที่ต้องมีการแข่งขันการเจริญเติบโตกับเชื้ออื่นในดินเช่นกัน การค้นหาเชื้อรา *P. lilacinus* จึงต้องดำเนินการต่อ โดยใช้เทคนิคของ ธารทิพยและนุชนารถ(2550) ปัจจุบันได้เตรียมแปลงปลูกมันฝรั่งโดยมีการปลูกถั่วเขียวร่วมเพื่อเพิ่มธาตุไนโตรเจนและกระตุ้นการเกิดโรครากปมทั้งถั่วเขียวและมันฝรั่ง เพื่อหาเชื้อราต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เป็นความก้าวหน้าของงานวิจัยอยู่ในขั้นที่1 ปัจจุบันพบว่ามีผู้ผลิตเชื้อดังกล่าวเพื่อขายเป็นการค้าแล้ว ต้องมีการนำมาเปรียบเทียบข้อดีข้อเสียในการควบคุมโรคหัวหูดของมันฝรั่งต่อไปในปี 2552

เอกสารอ้างอิง

ขจรศักดิ์ ภวกุล พรพิมล อธิปัญญาคม. 2547. โรคเหี่ยวของฝรั่ง. วารสารโรคพืช 18(1-2):65-75.

ธารทิพย ภาสบุตร นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด 2549. การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการทำลายไส้เดือนฝอยรากปม รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2549 เล่มที่1 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หน้า 581-590

ธารทิพย ภาสบุตร และนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด 2550. เทคนิคการขยายจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (*Paecilomyces lilacinus*) ควบคุมไส้เดือนฝอยสาเหตุโรครากปม. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 เล่มที่2 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หน้า 914-923.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา และบัญชา ชิณศรี. 2538. การเพิ่มลดของประชากรไส้เดือนฝอยรากปม (*Meloidogyne* spp.) ที่แพร่ระบาดไปกับแง่งขิงเมื่อปรับปรุงดินด้วยอินทรียวัตถุและเชื้อราต่อต้าน (*Paecilomyces lilacinus*) รายงานผลงานวิจัยกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร หน้า 138-148.

มนตรี เอี่ยมวิมังสา ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และไตรเดช ข่ายทอง. 2539. การป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอยรากปมของผักชีฝรั่งโดยชีววิธี รายงานผลงานวิจัยกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2533. หลักการควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูพืชโดยชีววิธี. วารสารโรคพืช 10(3-4):47

Jatala, P. , R. Kaltenbach, M. Bocangel, A. J. Devaux and R. Campos. 1980. Field application of *Paecilomyces lilacinus* for controlling *Meloidogyne incognita* on potatoes Journal of Nematology 12 : 226-227.

Stering, G.R. 1991. Biological control of plant parasitic nematodes: progress, problems and prospects. CAB International, Wallingford, UK. 282 pp.

การบริหารจัดการวัชพืชในขิง : ปี2550

Weed Management in Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) 2007.

เสริมศิริ คงแสงดาว จิตอาภา ชมเชย[1] กัมพล เมืองโคมพัส[1] ลัดดาวัลย์ อินทรสังข์[2]

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ศูนย์วิจัยพืชสวนเขาค้อ[1] สถาบันวิจัยพืชสวน[2]

บทคัดย่อ

การบริหารจัดการวัชพืชในขิง: ปี 2550 ดำเนินการที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ระหว่างเดือนเมษายน 2550 ถึงเดือนมกราคม 2551 เพื่อหาวิธีจัดการวัชพืชแบบต่างๆกัน พบว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในขิง เพื่อป้องกันการงอกของวัชพืชตั้งแต่เริ่มปลูกขิง พ่นที่ 1 วันหลังปลูก พบว่า oxyfluorfen, oxadiazon และ s-metolachlor อัตรา 200, 70.5 และ 144 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เป็นพิษเล็กน้อยต่อต้นขิง ปริมาณวัชพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ diuron, oxyfluorfen, oxadiazon และ metribuzin อัตรา 320, 70.5, 200 และ 112 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ควบคุมวัชพืชได้ดี มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 2.5, 10.5, 28.0 และ 30.2 กรัมต่อตารางเมตรตามลำดับ ในพื้นที่ 15 ตารางเมตร พบว่าการกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก ได้ผลผลิตขิงสูงสุด 9,158 กรัม ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชเกือบทุกกรรมวิธีมีผลผลิตขิงทั้งหมดไม่ต่างกัน diuron, s-metolachlor, metribuzin, pendimethalin, trifluralin, alachlor, dimethenamid และ oxyfluorfen อัตรา 320, 144, 112, 264, 384, 336, 270 และ 112 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลผลิตขิงทั้งหมด 7,388, 6,599, 6,485, 6,339, 6,251, 5,474, 5,256 และ 4,340 กรัมตามลำดับ การใช้วัสดุคลุมดินในแปลงปลูกขิง โดยกำจัดวัชพืชก่อนคลุมดินที่ 35 วันหลังปลูก ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของขิง พลาสติกเทา-ดำ และแผ่นชีวมวลป้องกันวัชพืชได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบวัสดุธรรมชาติ พบว่าขี้เลื่อยไม้กระถินเทพาป้องกันวัชพืชได้ดีที่สุด มีน้ำหนักแห้งวัชพืชต่อตารางเมตรน้อยที่สุด 17.6 กรัม รองลงมาคือ หญ้าคา เศษหญ้า หญ้าขจรจบ และแกลบดำ มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 31.7, 42.9, 47.5 และ 74.8 กรัมตามลำดับ วัสดุคลุมยังมีผลต่อปริมาณหอยสาริกาที่เข้ามาในแปลงขิงแตกต่างกัน ผลผลิตขิงใน

รหัสโครงการ 01-16-49-06

พื้นที่ 15 ตารางเมตร ไม่แตกต่างกัน มีแนวโน้มว่าการหว่านถั่วเขียวแล้วถอนออกที่ 35 วันหลังปลูก โดยไม่คลุมดินได้ผลผลิตขิงสูงสุด 7,463 กรัม รองลงมาตามลำดับคือ การคลุมด้วยใบหญ้าคา, พลาสติกเทา-ดำ, แกลบดำ, การถอนต้นถั่วเขียวคลุมดิน, เศษหญ้า, ขี้เลื่อย หญ้าขจรจบ, การปลูกพริกแซม และการคลุมด้วยแผ่นชีวมวล ได้ผลผลิตขิง 6,918, 6,440, 6,255, 6,200, 5,203, 4,622, 4,438, 4,350 และ 2,968 กรัมตามลำดับ

การควบคุมวัชพืชในระยะแรกก่อนขิงงอกพ้นผิวดิน เพื่อป้องกันไม่ให้วัชพืชเบียดเบียนการเจริญเติบโตของขิงตั้งแต่ระยะแรกของการเจริญเติบโต โดยใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย 3 ชนิด paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium อัตรา 207, 300, 336 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ การพ่นที่ 20 วันหลังปลูก ควบคุมวัชพืชที่งอกจากเมล็ดได้ดี ส่วนวัชพืชข้ามปี โดยเฉพาะ หญ้าขน (Brachiaria mutica (Forsk.) Stapf) ซึ่งมีขนาดเหง้าใหญ่มาก การพ่นสารกำจัดวัชพืช glyphosate และ glufosinate-ammonium ให้ผลการควบคุมได้ดีกว่า paraquat แต่หลังจากต้นวัชพืชตายไปแล้วยังมีการงอกใหม่ปกติ การใช้แผ่นชีวมวลคลุมแปลงปลูกขิงมีวัชพืชน้อยที่สุดขึ้นเฉพาะในหลุมขิง แต่การใช้ดินทับแผ่นชีวมวล ทำให้แผ่นชีวมวลมีการสลายตัว ใช้ถั่วเขียวปลูกแซมต้นขิงช่วยให้วัชพืชขึ้นน้อยกว่าการไม่ปลูกแซม การเจริญเติบโตของต้นขิงและผลผลิตขิงไม่แตกต่างกัน มีแนวโน้มว่าการใช้แผ่นชีวมวลคลุมแปลงปลูกขิงได้ผลผลิตขิงสูงสุด

คำนำ

ขิง หรือ Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae (ginger family) บริโภคส่วนของแง่งขิงหรือลำต้นที่แท้จริง (rhizome) มีลักษณะเป็นแท่งสั้นแตกแบบนิ้วมือคล้ายเขากวาง แข็งสีขาวหรือเหลืองอ่อน มีใบเกล็ดห่อหุ้มตา ลำต้นที่เห็นอยู่เหนือดินเป็นลำต้นเทียม ประกอบด้วยกาบใบซ้อนทับกันเป็นชั้นๆ (clump) ขยายพันธุ์ด้วยแง่งหรือท่อนพันธุ์ (จเร, 2525)

แปลงปลูกขิงมักมีปัญหาวัชพืชขึ้นแข่งขันรุนแรง การเข้าไปกำจัดวัชพืชต้องระวังไม่ให้ขิงเกิดบาดแผล ดังนั้นการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกจึงเป็นแนวในการลดปัญหาวัชพืชโดยที่ไม่ต้องเข้าไปรบกวนแปลงขิงในช่วงแรกได้นานจนใกล้ช่วงเวลาพูนโคนขิง เสริมศิริ และคณะ (2542) ทดลองใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก โดยพ่นสารกำจัดวัชพืชหลังปลูกขิง 1 วัน พบว่า oxadiazon และoxyfluorfen มีแนวโน้มนำมาใช้ในแปลงขิงได้ แต่อัตราสารกำจัดวัชพืชยังไม่เหมาะสม และในนิวซีแลนด์ผลิตขิงเพื่อตัดดอก ใช้สาร oxadiazon และ oxyfluorfen พ่นเพื่อคุมการงอกของวัชพืชตอนเริ่มปลูก (Follett, *et al*, 1996) และมีการไถเตรียมดินแล้วพ่นสาร

glyphosate และ/หรือ paraquat ก่อนการปลูกขิง หลังจากนั้นควบคุมวัชพืชโดยการคลุมดิน (Follett, 1994) เสริมศิริ และคณะ (2542) ทดลองใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก พบว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย ได้แก่ paraquat และ glyphosate ใช้พ่นในร่องทางเดิน ระวังไม่ให้ละอองสารสัมผัสต้นขิง ควบคุมวัชพืชได้ดี หากละอองสารสัมผัสต้นขิง จะเกิดอันตรายกับต้นขิง เสริมศิริ และคณะ (2550) รายงานการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย 3 ชนิด paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium ใช้พ่นกำจัดวัชพืชก่อนปลูก หรือพ่นกำจัดวัชพืชหลังปลูกขิงก่อนขิงงอกพ้นผิวดิน ระวังละอองสารสัมผัสต้นขิงที่อาจงอกเร็วโดยใช้หัวพ่นรูปพัดหน้าฉีดแคบ การหว่านถั่วเขียวหลังจากปลูกขิง และถอนต้นถั่วออกคลุมแปลงก่อนต้นถั่วโตปกคลุมต้นขิง ช่วยลดปริมาณวัชพืชได้

การคลุมดินเป็นการป้องกันวัชพืชแบบไม่ใช้สาร ช่วยบังแสงสว่างไม่ให้ส่องถึงพื้นผิวหน้าดิน เป็นการกีดกันไม่ให้วัชพืชได้รับแสง ลดการงอก ลดการเจริญเติบโต ลดปริมาณวัชพืช และรักษาความชื้นดิน จุดสำคัญคือต้องคลุมดินก่อนวัชพืชงอก (Anonymous, 2002) ที่สำคัญคือวัสดุคลุมดินต้องไม่มีชีวิต หรือไม่มีส่วนที่ขยายพันธุ์ได้หรือเมล็ดติดมา ถ้ามีต้องทำให้หมดความมีชีวิตก่อน อินเดียปลูกขิงในที่สูงเช่นรัฐสิกขิม ใช้วิธีกำจัดวัชพืช แล้วเผาก่อนเตรียมดิน คลุมดินหนาเมื่อปลูกขิง และเริ่มเข้าไปกำจัดวัชพืชเมื่อ 1 เดือนหลังจากปลูก (Gurung and Gurung, 1999) ญี่ปุ่นใช้ฟางข้าวคลุมดินร่วมกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน (Furuya and Shimomura, 1991) ไทยใช้หญ้าคาคลุมแปลงขิง วัสดุคลุมดินสังเคราะห์คือพลาสติกเทาดำ ทึบแสง และกันน้ำ นิยมใช้ในพืชย้ายปลูก ปัจจุบันมีวัสดุธรรมชาติดัดแปลงคือแผ่นชีวมวลคล้ายกระดาษสีดำหนาทำจากเส้นใยเซลลูโลส น้ำและอากาศซึมผ่านได้ ย่อยสลายตามธรรมชาติ

เพื่อให้ได้วิธีการบริหารจัดการวัชพืชที่ดี ขั้นแรกปี 2550 จึงต้องศึกษาเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องเกี่ยวกับการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกที่มีการควบคุมวัชพืชได้ดีและปลอดภัยต่อขิง วัสดุคลุมดินที่เหมาะสมที่หาได้ใกล้แปลงปลูกหรือวัสดุที่ใช้ในแปลงปลูกพืชทั่วไปและวัสดุที่ผลิตขึ้นมาเพื่อคลุมดิน มาคัดเลือกให้ได้ชนิดวัสดุคลุมดินที่ดีในแปลงปลูกขิง และการกำจัดวัชพืชหลังปลูกและก่อนขิงงอกพ้นผิวดิน ขั้นต่อมาปี 2551 จึงได้เลือกกรรมวิธีที่ได้ผลดีมาทดลองผสมผสานเพื่อเป็นทางเลือกในการบริหารจัดการวัชพืช ก่อนการนำไปใช้แนะนำเกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ประกอบด้วยท่อนพันธุ์ขิง เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว ต้นกล้าพริก วัสดุคลุมดิน 7 ชนิดได้แก่ หญ้าคา หญ้าขจรจบ หญ้าแฝก ขี้เลื่อย กระถินเทพา ถ่านแกลบ พลาสติกเทาดำ แผ่นชีวมวล สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 9 ชนิดได้แก่ oxadiazon 25%EC, oxyfluorfen 23.5%EC, alachlor

48%EC, s-metolachlor 96 %EC, pendimethalin 33%EC, dimethenamid 90%EC, trifluralin 48%EC, diuron 80%WP, metribuzin 70%WPสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก 3 ชนิด ได้แก่glyphosate 48%SL, glufosinate-ammonium 15%SL และ paraquat 27.6%SL ปุ๋ยคอก ปูนขาว ปุ๋ยเคมี สารป้องกันกำจัดโรคและแมลงตามความจำเป็น พร้อมเครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสูบโยกสะพายหลังพร้อมหัวพ่นรูปพัด

วิธีการ ไถดะ ตากดิน เก็บเศษชิ้นส่วนวัชพืชออกจากแปลง หว่านปูนขาวตามค่าวิเคราะห์ดิน ขนาดแปลงย่อย 3x5 เมตร (ปลูกขิงแปลงย่อยละ 4 แถว แถวละ 16 หลุม) ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1.2 เมตร พรวน ยกร่องสูง 20 เซนติเมตร ระยะระหว่างร่อง 60 เซนติเมตร ขุดหลุมปลูก ระยะห่างระหว่างหลุม 30 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยคอก (มูลวัว) รองก้นหลุม ใส่ดินกลบปุ๋ยคอก คัดเลือกท่อนพันธุ์ขิงที่มีลักษณะสมบูรณ์ขนาดเท่าๆกัน สะอาดปราศจากโรค ก่อนปลูกแช่ท่อนพันธุ์ขิงในสารกำจัดแมลง คาร์โบซัลแฟน อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 15 นาที นำขึ้นมาผึ่งให้แห้ง แล้วแช่ในสารกำจัดโรคคาร์เบนดาซิม อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 15 นาที นำขึ้นมาผึ่งให้แห้ง วางท่อนพันธุ์ขิงในหลุมปลูกกลบดิน

วางแผนการทดลองแบบ RCB ประกอบด้วย 3 การทดลองย่อย

<u>การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในขิง</u> มี 10 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้ oxadiazon, oxyfluorfen, alachlor, s-metolachlor, pendimethalin, dimethenamid, diuron, metribuzin, trifluralin อัตรา 200, 70.5, 336, 144, 264, 270, 320, 112, 384 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ตามลำดับพ่นที่ 1 วันหลังปลูก และการกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก และที่ 50-55 วันหลังปลูกกำจัดวัชพืชออกทุกแปลงย่อย แล้วหว่านเมล็ดถั่วเขียว อัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่ และถอนต้นถั่วเขียวออกจากแปลงทั้งหมดที่ 110 วันหลังปลูก

<u>การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบวัสดุคลุมดินชนิดต่างๆในแปลงปลูกขิง</u> มี 10 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ดังนี้ ใบหญ้าคา, ต้นหญ้าขจรจบ (ตัดต้นระยะก่อนออกดอก), เศษหญ้าสนาม, แกลบดำ, ขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา น้ำหนักแห้ง อัตรา 2,265, 933, 1,257, 9,408, 5,350 กิโลกรัม/ไร่ตามลำดับ พลาสติกเทา-ดำและแผ่นชีวมวลคลุมดินที่ 35 วันหลังปลูก ปลูกพริกแซม การหว่านถั่วเขียวแล้วถอนออกคลุมแปลง และการหว่านถั่วเขียวแล้วถอนออกไม่คลุมแปลง โดยการหว่านถั่วเขียวทันทีหลังปลูกขิง อัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่แล้วถอนออกที่ 35 วันหลังปลูก

<u>การทดลองที่ 3 ศึกษาการจัดการวัชพืชในระยะก่อนขิงงอก</u> มี 10 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ดังนี้

1. paraquat อัตรา 207 กรัมai./ไร่ พ่นเมื่อ 20 วันหลังปลูกขิง
2. glufosinate-ammonium อัตรา 300 กรัม ai./ไร่ พ่นเมื่อ 20 วันหลังปลูกขิง
3. glyphosate อัตรา 336 กรัม ai./ไร่ พ่นเมื่อ 20 วันหลังปลูกขิง
4. paraquat อัตรา 207 กรัม ai./ไร่ พ่นเมื่อ 20 วันหลังปลูกขิง+หว่านถั่วเขียวที่ 10 วันหลังพ่นสาร
5. glufosinate-ammonium อัตรา 300 กรัม ai./ไร่ พ่นเมื่อ 20 วันหลังปลูกขิง+หว่านถั่วเขียวที่ 10 วันหลังพ่นสาร
6. glyphosate อัตรา 336 กรัม ai./ไร่ พ่นเมื่อ 20 วันหลังปลูกขิง+หว่านถั่วเขียวที่ 10 วันหลังพ่นสาร ถั่วเขียว หว่านทันทีหลังปลูกขิงและถอนต้นถั่วออกคลุมแปลงขิงที่ 40 วันหลังปลูกขิง
7. หว่านถั่วเขียวทันทีหลังปลูกขิงและถอนต้นถั่วออกคลุมแปลงขิงที่ 40 วันหลังปลูกขิง
8. โรยถั่วเขียว เป็นแถวระหว่างแถวขิง ทันทีหลังปลูกขิงและถอนต้นถั่วออกคลุมแปลงขิงที่ 40 วันหลังปลูกขิง
9. แผ่นชีวมวลคลุมดิน (คลุมเต็มพื้นที่เจาะช่องว่างเฉพาะที่หลุมปลูกขิง)
10. กำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก

กรรมวิธีที่ 1-6 พ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีที่กำหนดที่ 20 วันหลังปลูก ระหว่างพ่นสารกำจัดวัชพืชบังคับให้หัวพ่นละอองสารอยู่ในแนวระหว่างร่องขิง หว่านเมล็ดถั่วเขียวอัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่ในกรรมวิธีที่กำหนด และที่ 40 วันหลังปลูก ถอนต้นถั่วเขียวออกคลุมแปลงขิง

ทำการบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนต้นขิงแต่ละแปลงย่อย และข้อมูลวัชพืช โดยการสุ่มแปลงย่อยละ 2 จุดๆละ 0.5 x 0.5 เมตร ชั่งน้ำหนักสดวัชพืช บันทึกการเจริญเติบโตของขิง โดยวัดความสูงต้นและจำนวนต้นขิงต่อกอ เมื่อ 50, 80 และ 110 วันหลังปลูก บันทึกจำนวนต้นขิงที่มีอาการใบเหลืองที่ 150 วันหลังปลูก เก็บเกี่ยวขิงเมื่ออายุ 280 วัน บันทึกจำนวนกอขิงที่อยู่รอดจนถึงเก็บเกี่ยว น้ำหนักผลผลิตขิงแต่ละกอ

เวลาและสถานที่ ทำการทดลองเมื่อเดือนเมษายน พ.ศ. 2550 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 ที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนเพชรบูรณ์ อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในขิง

จำนวนต้นขิงและการเจริญเติบโตของขิง (ตารางที่ 1)

ที่ 40 วันหลังปลูกต้นขิงในพื้นที่ 15 ตารางเมตรมีจำนวนต้นขิงไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 37.5-55.5 ต้น พบว่า oxyfluorfen, oxadiazon และ s-metolachlor เป็นพิษเล็กน้อยต่อต้นขิง มีผลให้การเจริญเติบโตของต้นขิง ด้านความสูงและการแตกกอ ที่ 50 วันหลังปลูกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก ต้นขิงสูงที่สุด 30.7 เซนติเมตร การใช้สารกำจัดวัชพืชเกือบทุกกรรมวิธีต้นขิงสูงเฉลี่ย 22.8-28.4 เซนติเมตร ยกเว้นการใช้สาร oxyfluorfen ต้นขิงเตี้ยที่สุด 21.9 เซนติเมตร และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ 80 และ 110 วันหลังปลูก การใช้ metribuzin ต้นขิงสูงที่สุด 70.7 เซนติเมตร การไม่กำจัดวัชพืชและการใช้ pendimethalin และ dimethenamid ต้นขิงแตกกอมากที่สุด 4.1-4.2 เล่มต่อกอ เมื่อขิงอายุ 150 วัน ตรวจนับต้นที่มีอาการใบเหลืองพบว่า การกำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังปลูก และการใช้ trifluralin มีต้นขิงที่มีอาการใบเหลืองน้อยที่สุด 8.5 และ 6.6 เปอร์เซนต์ ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชเกือบทุกกรรมวิธี 9.2-19.2 เปอร์เซนต์ ยกเว้นการใช้ dimethenamid มีต้นที่มีอาการใบเหลืองสูงที่สุด 30.3 เปอร์เซนต์

การควบคุมวัชพืช (ตารางที่ 2)

เนื่องจากแปลงทดลองมีหญ้าขนรบกวนรุนแรง และสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกควบคุมได้เฉพาะวัชพืชที่กำลังงอกจากเมล็ดเท่านั้น ไม่สามารถควบคุมหญ้าขนซึ่งงอกจากเหง้าได้ จึงต้องมีการกำจัดหญ้าขนออกจากแปลง โดยการตัดชิดโคนเมื่อหญ้าขนรบกวนต้นขิง โดยไม่นำหญ้าขนมาร่วมประเมินประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่าที่ 40 วันหลังปลูก ปริมาณวัชพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ diuron มีน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยที่สุด รองลงมาไม่แตกต่างกันคือ metribuzin, diuron และ oxyfluorfen มีน้ำหนักแห้งวัชพืชทุกชนิด ทั้งวัชพืชใบแคบใบกว้างและกก น้อยที่สุด รองลงมาคือ oxadiazon และ s-metolachlor ส่วนการใช้ การ pendimethalin มีน้ำหนักแห้งวัชพืชมากที่สุด เนื่องวัชพืชส่วนใหญ่เป็นวัชพืชใบกว้าง

การทดลองนี้ทุกแปลงมีการหว่านถั่วเขียวแซมเมื่อ 50 วันหลังการกำจัดวัชพืชออกจากแปลง พบว่าถั่วเขียวช่วยบรรเทาปัญหาวัชพืชในช่วงกลางฤดูปลูกของขิงได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการ

ปล่อยผิวดินโล่ง และการถอนต้นถั่วออกจากแปลงที่ขิงอายุ 110 วันไม่ได้รบกวนการเจริญเติบโตของขิง เนื่องจากระบบรากของถั่วเขียวพุ่งลงในแนวลึกไม่กระจายออกด้านข้าง

ผลผลิตขิง (ตารางที่ 3)

เมื่อเก็บเกี่ยวที่ 280 วันหลังปลูก พบว่าในพื้นที่ 15 ตารางเมตรจำนวนต้นขิงที่เก็บเกี่ยวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก มีจำนวนต้นมากที่สุด 18.5 ต้น ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีมีจำนวนต้นขิงที่เก็บเกี่ยวได้ไม่ต่างกันเฉลี่ย 11.3-16.5 ต้น ผลผลิตขิงทั้งหมดที่มีน้ำหนักแง่งขิงต่อกอตั้งแต่ 100 กรัมขึ้นไป การกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก ได้ผลผลิตขิงสูงสุด 9,158 กรัม ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชเกือบทุกกรรมวิธีมีผลผลิตขิงทั้งหมดไม่ต่างกัน diuron, s-metolachlor, metribuzin, pendimethalin, trifluralin, alachlor, dimethenamid และ oxyfluorfen ได้ผลผลิตขิงทั้งหมด 7,388, 6,599, 6,485, 6,339, 6,251, 5,474, 5,256 และ 4,340 กรัมตามลำดับ ส่วน oxadiazon ได้ผลผลิตขิงต่ำสุด 3,916 กรัม เมื่อแยกผลผลิตตามขนาดน้ำหนักแง่งขิงต่อกอ พบว่าขนาดแง่งขิงน้ำหนักช่วง 100-199 และ 200-399 กรัมในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน พบว่าขนาดแง่งขิงน้ำหนักช่วง 400-599 กรัมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ s-metolachlor มีน้ำหนักขิงมากที่สุด ส่วนกรรมวิธีอื่นไม่แตกต่างกัน ขนาดแง่งขิงน้ำหนักช่วง 600-799 กรัม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ diuron มีน้ำหนักขิงมากที่สุด oxadiazon มีน้ำหนักขิงน้อยที่สุด กรรมวิธีที่มีแนวโน้มมีแง่งขิงน้ำหนักมากกว่า 800 กรัมขึ้นไป มากได้แก่ การกำจัดวัชพืชที่ 40 วันหลังปลูก, diuron, metribuzin, pendimethalin และ trifluralin ตามลำดับ

<u>การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบวัสดุคลุมดินชนิดต่างๆในแปลงปลูกขิง</u>

จำนวนต้นขิงและการเจริญเติบโตของขิง(ตารางที่ 4)

ที่ 40 วันหลังปลูกต้นขิงมีจำนวนต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นเวลาที่เพิ่งเริ่มกรรมวิธีทดลอง (ที่35 วันหลังปลูก) การเจริญเติบโตของต้นขิง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่ออายุมากขึ้น ต้นขิงทุกกรรมวิธีมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน ที่ 110 วันหลังปลูก ต้นขิงสูงเฉลี่ย 49.3-56.9 เซนติเมตร มีการแตกกอเฉลี่ย 2.6-3.8 เล่มต่อกอ เมื่อขิงอายุ 150 วัน ตรวจนับต้น พบทุกกรรมวิธีมีต้นที่มีอาการใบเหลืองไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 7.2-15.9 เปอร์เซนต์เปรียบเทียบกับจำนวนต้นที่ 40 วันหลังปลูก

การควบคุมวัชพืช (ตารางที่ 5)

การเริ่มคลุมดินในแปลงปลูกขิงที่ 35 วันหลังปลูก เป็นการคลุมหลังจากขิงงอก ดังนั้นขณะคลุมดินต้องหลีกเลี่ยงไม่ให้คลุมปิดต้นขิง พื้นที่ที่คลุมได้ส่วนใหญ่จึงเป็นพื้นที่ในร่องระหว่างแถวขิง เมื่อ 80 วันหลังปลูก (45 วันหลังคลุมดิน) ทำการกำจัดวัชพืชออกทั้งแปลง และสุ่มเก็บวัชพืชในร่องระหว่างแถวขิง พบว่าจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ การใช้พลาสติกเทา-ดำและแผ่นชีวมวลคลุมดิน ไม่มีวัชพืชขึ้นเลย แต่ตรงบริเวณที่ใช้ดินทับแผ่นชีวมวลเริ่มสลายตัวเปิดผิวหน้าดิน เมื่อเปรียบเทียบวัสดุธรรมชาติที่ใช้คลุมดิน พบว่าขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา มีปริมาณวัชพืชขึ้นน้อยที่สุด น้ำหนักแห้งวัชพืช 17.6 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาตามลำดับคือ หญ้าคา เศษหญ้า หญ้าขจรจบ และแกลบดำ มีน้ำหนักแห้งวัชพืช 31.7, 42.9, 47.5 และ 74.8 กรัมต่อตารางเมตรตามลำดับ พบว่าขี้เลื่อยไม้กระถินเทพาและแกลบดำคงทนไม่ย่อยสลาย หญ้าคายังไม่ย่อยสลาย ส่วนเศษหญ้าย่อยสลายเกือบหมด และต้นหญ้าขจบจบย่อยสลายหมดไปแล้ว ทั้งนี้อาจเนื่องจากการนำมาใช้ในระยะก่อนออกดอก เพื่อป้องกันการนำเมล็ดวัชพืชเข้ามาในแปลงนั้น ต้นหญ้าขจรจบยังอ่อนจึงมีเซลลูโลสน้อยย่อยสลายได้เร็ว ส่วนสาเหตุที่แกลบดำมีวัชพืชมากเนื่องจากมีน้ำหนักเบา เมื่อมีฝนตกแกลบดำจึงไหลไปตามแนวน้ำ เปิดพื้นที่ว่างให้วัชพืชงอก

ผลกระทบของวัสดุคลุมดินต่อหอยสาริกา (ตารางที่ 5)

วัชพืชที่พบในแปลงส่วนใหญ่เป็นวัชพืชที่ขึ้นในแถวขิง ซึ่งวัสดุคลุมชนิดต่างๆมีผลต่อปริมาณหอยสาริกาที่เข้ามาในแปลงขิงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แปลงที่คลุมดินด้วยต้นถั่วเขียวซึ่งสลายตัวเร็วมีปริมาณหอยสาริกาน้อยที่สุด 0.3 ตัวต่อ 15 ตารางเมตรไม่แตกต่างทางสถิติจากการใช้แกลบดำคลุมดินมีหอยสาริกา 3.3 ตัว ส่วนการใช้วัสดุคลุมดินชนิดอื่น ได้แก่ ขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา หญ้าคา เศษหญ้า หญ้าขจรจบและการปลูกพริกแซม มีปริมาณหอยสาริกาไม่แตกต่างกันทางสถิติ เฉลี่ย 9.3-36.7 ตัว พบว่าการใช้แผ่นชีวมวลมีปริมาณหอยสาริกาสูงสุด 48.7 ตัว ทั้งนี้อาจเนื่องจากแผ่นชีวมวลอากาศและน้ำสามารถผ่านเข้าออกได้ทำให้ใต้แผ่นมีสภาพแวดล้อมเหมาะเป็นที่อาศัยของหอยสาริกา

ผลผลิตขิง (ตารางที่ 6)

เมื่อเก็บเกี่ยวที่ 280 วันหลังปลูก พบว่าในพื้นที่ 15 ตารางเมตรจำนวนต้นขิงที่เก็บเกี่ยวไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีจำนวนต้นขิงเฉลี่ย 17.7-25.0 ต้น ผลผลิตขิงทั้งหมดที่มีน้ำหนักตั้งแต่ต้นละ

100 กรัมขึ้นไปไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีแนวโน้มว่าการหว่านถั่วแล้วถอนออกโดยไม่คลุมดินที่ 35 วันหลังปลูก ได้ผลผลิตขิงสูงสุด 7,463 กรัม รองลงมาตามลำดับคือ การคลุมด้วยหญ้าคา, พลาสติกเทา-ดำ, แกลบดำ, การถอนต้นถั่วเขียวคลุมดิน, เศษหญ้า, ขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา, หญ้าขจรจบ, การปลูกพริกแซม และการคลุมด้วยแผ่นชีวมวล ได้ผลผลิตขิง 6,918, 6,440, 6,255, 6,200, 5,203, 4,622, 4,438, 4,350 และ 2,968 กรัมตามลำดับ เมื่อแยกผลผลิตตามขนาดน้ำหนักแง่งขิงต่อต้น พบว่าขนาดแง่งขิงน้ำหนักช่วง 1-99, 200-399, 600-799 กรัม และ น้ำหนักตั้งแต่ 800 กรัมขึ้นไป ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน พบว่า ขนาดน้ำหนักแง่งขิง100-199 กรัมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้เศษหญ้าคลุมดินมีน้ำหนักขิงมากที่สุด และการคลุมดินด้วยแกลบดำมีน้ำหนักขิงน้อยที่สุด และขนาดน้ำหนักแง่งขิง 400-599 กรัม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การหว่านถั่วแล้วถอนออกโดยไม่คลุมดินที่ 35 วันหลังปลูกในกรรมวิธีที่ 10 มีน้ำหนักขิงมากที่สุด

<u>การทดลองที่ 3 ศึกษาการจัดการวัชพืชในระยะก่อนขิงงอก</u>

การควบคุมวัชพืช (ตารางที่ 7)

ในกรรมวิธีที่ 1-6 การพ่นสารกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก พบว่ากรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย 3 ชนิด paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium ให้ผลการควบคุมวัชพืชที่งอกจากเมล็ดได้ดี วัชพืชใบแคบได้แก่ หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) หญ้าตีนนก (*Digitaria adcendens* (H.B.K.)Henr.) หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.)Link.) วัชพืชใบกว้างได้แก่ ผักเสี้ยนดอกม่วง (*Cleome rutidosperma* DC. (Allen) Allen) ก้นจ้ำ (*Biden pilosa* L.) ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.) ผักเบี้ยใหญ่ (Portulaca oleracea L.) สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) ผักปลาบนา (*Commelina benghalensis* L.) วัชพืชพวกกก ได้แก่ กกทราย (*Cyperus iria* L.) และพบว่า paraquat ควบคุมหญ้ายาง (*Euphorbia geniculata* Ort.) ได้ปานกลาง

ส่วนวัชพืชข้ามปี เช่น หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) โดยเฉพาะ หญ้าขน (Brachiaria mutica (Forsk.) Stapf) ซึ่งพบว่ามีขนาดเหง้าใหญ่มาก การพ่นสารกำจัดวัชพืช glyphosate และ glufosinate-ammonium ให้ผลการควบคุมได้ดีกว่า แต่หลังจากต้นวัชพืชตายไปแล้วหญ้าขนยังมีการงอกใหม่ปกติ น้ำหนักวัชพืชสดเมื่อ 80 หลังปลูกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

การใช้แผ่นชีวมวลคลุมแปลงปลูกขิงมีวัชพืชน้อยที่สุดขึ้นเฉพาะในหลุมขิง แต่การใช้ดินทับแผ่นชีวมวล ทำให้แผ่นชีวมวลมีการสลายตัว กรรมวิธีนอกจากนั้นมีปริมาณวัชพืชไม่แตกต่างกัน ชนิดวัชพืชสำคัญในพื้นที่ทดลองคือหญ้าขน และแห้วหมู การเข้าไปกำจัดทำได้โดยการตัดต้น แต่ไม่สามารถขุดเอาเหง้าหญ้าขนและหัวแห้วหมูออกจากแปลงได้ เนื่องจากต้องระวังการเข้าไปรบกวนต้นและรากขิง การหว่านเมล็ดถั่วเขียวมีปริมาณวัชพืชไม่แตกต่างจากการโรยเมล็ดเป็นแถว พบว่าการหว่านเมล็ดถั่วเขียวช่วยให้วัชพืชขึ้นน้อยกว่าการไม่ปลูกแซมในช่วงแรกของการเจริญเติบโตของขิง และการถอนต้นถั่วมาคลุมแปลงช่วยบรรเทาปัญหาวัชพืชต่อไปได้ช่วงเวลาสั้นๆ เนื่องจากต้นถั่วเขียวย่อยสลายเร็ว หากมีการหว่านถั่วเขียวซ้ำ น่าจะช่วยลดปัญหาวัชพืชในช่วงกลางฤดูปลูกของขิงลงได้

จำนวนต้นขิงและการเจริญเติบโตของขิง (ตารางที่ 7)

ที่ 40 วันหลังปลูกต้นขิงมีจำนวนต้นไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 41.4-50.5 ต้นต่อพื้นที่ 15 ตารางเมตร การเจริญเติบโตของต้นขิง ด้านความสูงต้นไม่แตกต่างกัน แต่การแตกกอของขิงที่อายุ 50 และ 80 วันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แปลงที่หว่านถั่วเขียวต้นขิงมีการแตกกอสูงสุด รองลงมาคือการใช้สาร paraquat และ glyphosate พ่นกำจัดวัชพืชก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน เมื่อขิงอายุ 150 วัน ตรวจนับต้นขิงที่มีอาการใบเหลือง พบว่าทุกกรรมวิธีมีต้นไม่แตกต่างกันเฉลี่ย 8.8-18.3 เปอร์เซนต์

ผลผลิตขิง(ตารางที่ 8)

เมื่อเก็บเกี่ยวที่ 280 วันหลังปลูก พบว่าในพื้นที่ 15 ตารางเมตร จำนวนต้นขิงที่เก็บเกี่ยว ไม่แตกต่างกัน มีจำนวนต้นเฉลี่ย 14.5-17.0 ต้น ผลผลิตขิงทั้งหมดที่มีน้ำหนักแง่งขิงต่อต้นตั้งแต่ 100 กรัมขึ้นไปไม่แตกต่างกัน ได้ผลผลิตเฉลี่ย 5,121 -8,151 กรัม มีแนวโน้มว่าการใช้แผ่นชีวมวลคลุมแปลงปลูกขิงได้ผลผลิตขิงสูงสุด 8,151 กรัม รองลงมาตามลำดับคือ การกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก, การใช้ paraquat, พ่นกำจัดวัชพืชก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน, การหว่านถั่วเขียวแซมขิง, การโรยถั่วเขียวแซมขิง, การใช้ paraquat, พ่นกำจัดวัชพืชก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดินตามด้วยการหว่านถั่วเขียว, การใช้ glyphosate พ่นกำจัดวัชพืชก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน, การใช้ glyphosate พ่นกำจัดวัชพืชก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดินตามด้วยการหว่านถั่วเขียว, การใช้ glufosinate-ammonium พ่นกำจัดวัชพืชก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดินตามด้วยการหว่านถั่วเขียว และการใช้ glufosinate-ammonium พ่นกำจัดวัชพืชก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน ได้ผลผลิตขิง 6,973, 6,635,

6,035, 5,884, 5,796, 5,695, 5,558, 5,450, 5,121 กรัมตามลำดับ ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชเกือบทุกกรรมวิธีมีผลผลิตขิงทั้งหมดไม่ต่างกัน เมื่อแยกผลผลิตตามขนาดน้ำหนักแง่งขิงต่อต้น พบว่าขนาดแง่งขิงน้ำหนักช่วง 200-399 และ 400-599 กรัม แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และขนาดแง่งขิงน้ำหนักช่วงตั้งแต่ 800 กรัมขึ้นไป พบว่าการใช้แผ่นชีวมวลมีน้ำหนักมากที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ การกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก, glufosinate-ammonium และ glyphosate

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

<u>การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก</u> แม้ว่าจะได้ผลผลิตขิงน้อยกว่าการกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก แต่สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกก็ช่วยลดการเข้าไปกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และลดโอกาสเกิดแผลของต้นขิงได้ดี พบว่า metribuzin และ diuron, อัตรา 112 และ 320 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ช่วยลดปัญหาวัชพืชในแปลงปลูกขิงในกรณีที่วัชพืชสำคัญคือวัชพืชใบกว้างและกกได้ เนื่องจากต้นขิงมีจำนวนต้นเมื่อเก็บเกี่ยวแตกต่างกัน ทำให้เกิดความแปรปรวนของข้อมูลผลผลิตขิง จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าสารกำจัดวัชพืชชนิดใดให้ผลผลิตขิงดีที่สุด

<u>การใช้วัสดุคลุมดินในแปลงปลูกขิง</u> พบว่าวัสดุคลุมดินที่ใช้ทุกชนิดไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของขิง การใช้พลาสติกเทา-ดำและแผ่นชีวมวลคลุมดินป้องกันวัชพืชได้ดีที่สุด วัสดุธรรมชาติที่ใช้คลุมดิน พบว่าขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา มีปริมาณวัชพืชขึ้นน้อยที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ หญ้าคา เศษหญ้า หญ้าขจรจบ และแกลบดำ มวล ซึ่งชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้คลุมดินควรแก่จัด เพื่อให้คลุมดินได้นานและย่อยสลายช้า เช่นหญ้าคา หญ้าแฝก แกลบ เพื่อให้ได้ผลการควบคุมวัชพืชที่ดีที่สุดควรคลุมดินตั้งแต่วันปลูกขิง ในด้านผลผลิตพบว่าการหว่านถั่วเขียวแซมขิงในช่วงแรกของการปลูกขิง แล้วถอนต้นขิงออกจากแปลงที่ 35 วันหลังปลูก ได้ผลผลิตขิงสูงสุด รองลงมาตามลำดับคือการคลุมดินด้วยใบหญ้าคา พลาสติกเทา-ดำ, แกลบดำ, การถอนต้นถั่วเขียวคลุมดิน, เศษหญ้า, ขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา

<u>การจัดการวัชพืชในระยะก่อนขิงงอก</u> ซึ่งแปลงปลูกขิงจะไม่ถูกกระทบกระเทือนจากการกำจัดวัชพืชเลย การใช้แผ่นชีวมวลควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุด ควบคุมวัชพืชได้ดีมีปริมาณวัชพืชน้อยที่สุด ได้ผลผลิตขิงสูงสุด รองลงมาคือการกำจัดวัชพืชที่ 20 และ 40 วันหลังปลูก และ การพ่นกำจัดวัชพืชก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดิน paraquat,ได้ผลผลิตขิงสูงลุดรองลงมาตามลำดับคือ glyphosate

และ glufosinate-ammonium การปลูกถั่วเขียวแซมขิงได้ผลดีทั้งแบบหว่านและโรยเมล็ดเป็นแถว การโรยเป็นแถวจะมีที่ว่างในแปลงให้วัชพืชขึ้นมากกว่าแบบหว่านแต่เข้าไปดูแลขิงได้สะดวกกว่า ควรมีการผสมผสานกันระหว่างการพ่นกำจัดวัชพืชก่อนขิงงอกโผล่พ้นผิวดินตามด้วยการหว่านถั่วเขียว หรือหว่านถั่วเขียวซ้ำก่อนการพูนโคนขิง

เอกสารอ้างอิง

จเร สดากร. 2525. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์. หน้า 7-12 *ใน :* เอกสารวิชาการเล่มที่ 6 ขิง. กรมวิชาการ เกษตร, กรุงเทพฯ.

เสริมศิริ คงแสงดาว, วินัย เจริญกูล และ เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2542. การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภท ก่อนวัชพืชงอกในขิง. หน้า 199-203. *ใน :* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4 “เทคโนโลยีการอารักขาพืชในทศวรรษหน้า”. 27-29 ตุลาคม 2542 โรงแรมแอมบาสเดอร์ซิตี้ จอมเทียน พัทยา ชลบุรี.

เสริมศิริ คงแสงดาว และวินัย เจริญกูล และ เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2550. การควบคุมวัชพืชวิธีการต่างๆ ในขิง. หน้า 109-122. *ใน* : การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 8. 20-22 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก.

Anonymous, 2002. Mulching. Natural resources conservation service conservation practice standard. Code 484. NRCS, NHCP. July 2002. 3 p.

Follett J.M., 1994. Myoga production in New Zealand. *Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 44:* 373-376.

Follett J.M., J.A. Douglas and T.K. James. 1996. Weed control in myoga ginger. Proc. 49th N.Z. Plant Protection Conf. Horticultural Crops : 161-164.

Furuya K. and S. Shimomura. 1991. Myoga: three methods of cultivation. Nosangyosonbunka Kyokai, Tokyo, 133 pp.

Gurung C. and N. Gurung. 1999. 2. The social and gendered nature of ginger production and commercialization : A case study of the Rai, Lepcha and Brahmin-Chhetri in Sikkim and Kalimpong, West Bengal, India. File://A:/ ginger-india.htm

ตารางที่1 การเจริญเติบโตของขิง ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในขิง

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai/ไร่)	%ต้นขิง	ความสูง (เซนติเมตร)			การแตกกอ (ต้น/กอ)			%ต้นขิงที่มีอาการ.
		อายุ 40 วัน	50 วัน	80 วัน	110 วัน	50 วัน	80 วัน	110 วัน	ใบเหลืองที่อายุ150 วัน
1.oxadiazon	200	37.5	22.8 ab	38.3 ab	61.8 ab	1.30 a	2.8 ab	3.5 ab	16.9 ab
2.oxyfluorfen	70.5	39.9	21.9 b	36.8 ab	64.8 ab	1.18 ab	2.1 b	3.0 b	14.7 ab
3.alachlor	336	44.2	28.0 ab	41.1 ab	60.9 ab	1.20 ab	2.3 ab	3.5 ab	9.2 ab
4. s-metolachlor	144	41.8	28.1 ab	42.3 ab	67.2 ab	1.05 b	2.5 ab	3.7 ab	9.6 ab
5. pendimethalin	264	41.4	28.0 ab	41.0 ab	64.9 ab	1.30 a	2.9 a	4.1 a	13.7 ab
6. dimethenamide	270	46.2	24.9 ab	41.3 ab	63.2 ab	1.30 a	2.7 ab	4.2 a	30.3 b
7. diuron	320	45.2	25.2 ab	37.6 ab	62.6 ab	1.28 ab	2.5 ab	3.8 ab	13.4 ab
8. metribuzin	112	39.4	26.4 ab	43.4 ab	70.7 a	1.20 ab	2.7 ab	3.4 ab	19.2 ab
9. trifluralin	384	43.3	28.4 ab	42.5 ab	66.7 ab	1.13 ab	2.7 ab	3.9 ab	6.6 a
10.กำจัดวัชพืชที่ 20, 40 วันหลังปลูก		55.5	30.7 a	39.3 ab	65.3 ab	1.15 ab	2.5 ab	4.2 a	8.5 a
C.V. (%)		21.4ns	14.1	12.8	9.1	11.8	16.6	17.3	84.4
F-test		ns	* *	*	*	*	*	*	*

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1800

ตารางที่2 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืชที่ 40 วันหลังปลูก ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในขิง

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai/ไร่	จำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)				น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตารางเมตร)			
		ใบแคบ	ใบกว้าง	กก	รวม	ใบแคบ	ใบกว้าง	กก	รวม
1.oxadiazon	200	7.6 a	20.6 a	0	28.0 a	14.8 ab	8.7 ab	0	23.5 a
2.oxyfluorfen	70.5	1.6 a	7.6 a	1.6 a	10.5 a	1.5 a	1.1 a	0.2 a	2.7 a
3.alachlor	336	4.0 a	59.6 a	1.0 a	64.5 abc	16.0 ab	21.5 ab	2.0 ab	39.5 ab
4. s-metolachlor	144	5.0 a	64.6 a	0.6 a	70.0 abc	25.7 ab	10.0 ab	0.2 a	35.8 ab
5. pendimethalin	264	11.6 a	132.0 b	9.0 a	152.5 cd	77.3 b	67.4 bc	4.5 abc	146.7 c
6. dimethenamide	270	10.6 a	40.0 a	0.6 a	51.5 ab	43.2 ab	10.4 ab	0.004 a	53.5 abc
7. diuron	320	1.0 a	1.0 a	0.6 a	2.5 a	0.9 a	0.2 a	0.2 a	1.1 a
8. metribuzin	112	8.0 a	13.0 a	10.6 a	30.2 a	6.1 a	0.4 a	1.5 a	8.1 a
9. trifluralin	384	10.0 a	157.6 b	56.6 b	221.5 d	28.3 abc	104.7 c	8.6 abc	140.3 bc
10.กำจัดวัชพืชที่ 20, 40 วันหลังปลูก		25.0 b	240.0 c	61.0 b	326.0 d	57.9 ab	44.4 ab	13.5 c	115.7 bc
C.V. (%)		87.5	44.6	118.2	60.2	163.1	111.3	137.6	106.5
F-test		* *	* *	* *	* *	*	* *	* *	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1801

ตารางที่3 ผลผลิตขิงเก็บเกี่ยวที่อายุ 280 วันในการศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในขิง

กรรมวิธี	อัตรา กรัมai/ไร่	จำนวนต้นขิงเมื่อเก็บเกี่ยว/แปลงย่อย	น้ำหนักผลผลิตขิง (กรัม/แปลงย่อยพื้นที่ 15 ตารางเมตร)ที่น้ำหนักกอต่างๆกัน						
			100 กรัมขึ้นไป	1-99	100-199	200-399	400-599	600-799	800 กรัมขึ้นไป
1.oxadiazon	200	11.3 ab	3,916 b	30 ab	479	1,435	290 b	160 b	1,488
2.oxyfluorfen	70.5	11.5 ab	4,340 ab	44 ab	280	1,281	1,007 ab	691 ab	940
3.alachlor	336	14.8 ab	5,474 ab	0 b	538	1,665	1,343 ab	865 ab	785
4. s-metolachlor	144	15.8 ab	6,599 ab	0 b	181	1,745	3,352 a	1,313 ab	478
5. pendimethalin	264	16.0 ab	6,339 ab	39 ab	379	1,636	1,815 ab	670 ab	1,688
6. dimethenamide	270	13.0 ab	5,256 ab	65 ab	409	869	1,577 ab	915 ab	1,328
7. diuron	320	16.5 ab	7,388 ab	136 a	394	949	2,410 ab	2,224 a	1,896
8. metribuzin	112	14.5 ab	6,485 ab	44 ab	138	1,905	1,518 ab	1,408 ab	1,896
9. trifluralin	384	15.3 ab	6,251 ab	48 ab	316	1,713	1,917 ab	1,026 ab	1,631
10.กำจัดวัชพืชที่ 20, 40 วันหลังปลูก		18.5 a	9,158 a	43 ab	490	1,992	2,028 ab	1,573 ab	1,900
C.V. (%)		30.0	48.9	170.5	88.0	47.3	69.2	91.4	138.9ns
F-test		*	*	*	ns	ns	* *	*	ns

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1802

ตารางที่ 4 การเจริญเติบโตของขิง ในการทดลองเปรียบเทียบวัสดุคลุมดินชนิดต่างๆในแปลงปลูกขิง

กรรมวิธี (คลุมดินที่ 35 วันหลังปลูก)	น้ำหนักแห้ง (กิโลกรัม/ไร่)	%ต้นขิงที่ อายุ 40 วัน	%ต้นขิงที่ ใบเหลืองที่ อายุ150 วัน	หอยสาริกา ตัว/15 ตร.ม.	ความสูง (เซนติเมตร)			การแตกกอ (ต้น/กอ)		
					50 วัน	80 วัน	110 วัน	50 วัน	80 วัน	110 วัน
ใบหญ้าคา	2,265	64.7 ab	10.8	32.3 ab	25.9 ab	38.4	56.9	1.0	2.1	3.2
ต้นหญ้าขจรจบ	933	64.1 ab	9.8	23.7 ab	23.0 ab	39.1	54.9	1.1	2.2	3.4
เศษหญ้าสนาม	1,257	73.7 a	7.8	36.7 ab	21.3 b	37.9	53.4	1.1	1.9	2.6
แกลบดำ	9,408	65.4 ab	11.3	3.3 a	21.5 b	31.7	52.8	1.1	1.9	3.5
ขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา	5,350	60.2 ab	13.0	20.7 ab	21.7 b	33.3	51.7	1.0	1.6	3.2
พลาสติกเทา-ดำ	ร่องระหว่างแถว	64.8 ab	7.3	30.7 ab	25.7 ab	35.9	56.9	1.1	1.6	3.0
แผ่นชีวมวล	ร่องระหว่างแถว	60.9 ab	15.9	48.7 b	22.6 ab	32.6	51.2	1.2	2.0	3.0
ปลูกพริกแซม	ร่องระหว่างแถว	53.8 b	7.2	9.3 ab	20.3 b	32.1	49.3	1.1	1.9	2.7
หว่านถั่วเขียวแล้วถอนต้นคลุมแปลง (คลุม)		66.6 ab	14.2	0.3 a	20.4 b	34.5	51.1	1.2	1.8	3.8
หว่านถั่วเขียวแล้วถอนต้นออก(ไม่คลุม)		74.3 a	8.7	24.0 ab	28.7 a	41.8	55.2	1.2	1.6	2.8
C.V. (%)		14.2	50.8	89.8	15.6	16.1	10.4	10.4	21.1	19.6
F-test		*	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	ns

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1803

ตารางที่ 5 ปริมาณวัชพืชในแปลงที่ 80วันหลังปลูก (45 วันหลังคลุมดิน) ในแปลงทดลอง เปรียบเทียบวัสดุคลุมดินชนิดต่างๆ

กรรมวิธี (คลุมดินที่ 35 วันหลังปลูก)	น้ำหนักแห้ง (กิโลกรัม/ไร่)	จำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)				น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตารางเมตร)			
		ใบแคบ	ใบกว้าง	กก	รวม	ใบแคบ	ใบกว้าง	กก	รวม
ใบหญ้าคา	2,265	1.4 a	9.3 abc	0 a	10.6 a	4.0 a	27.7 a	0	31.7 ab
ต้นหญ้าขจรจบ	933	8.8 ab	32.0 abc	0 a	40.6 ab	16.8 a	30.7 a	0	47.5 ab
เศษหญ้าสนาม	1,257	4.8 ab	10.0 abc	0 a	14.6 a	2.0 a	40.9 a	0	42.9 ab
แกลบดำ	9,408	4.8 ab	6.8 abc	0.7 a	12.0 a	11.6 a	63.1 a	0.1	74.8 ab
ขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา	5,350	2.0 a	5.4 ab	0 a	7.4 a	1.0 a	16.6 a	0	17.6 ab
พลาสติกเทา-ดำ	ร่องระหว่างแถว	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0	0 a
แผ่นชีวมวล	ร่องระหว่างแถว	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0	0 a
ปลูกพริกแซม	ร่องระหว่างแถว	15.4 b	41.4 abc	6.7 ab	63.4 b	66.0 ab	99.2 ab	5.9	170.1 b
หว่านถั่วเขียวแล้วถอนต้นคลุมแปลง(คลุม)		9.4 ab	54.0 c	14.0 b	77.4 b	7.0 a	26.2 a	3.2	36.4 ab
หว่านถั่วเขียวแล้วถอนต้นออก (ไม่คลุม)		18.8 b	51.3 bc	4.0 a	74.0 b	107.2 b	222.2 b	4.6	333.9 c
C.V. (%)		88.1	85.5	153.3	60.9	160.0	108.8	232.0	76.8
F-test		* *	* *	* *	* *	* *	* *	ns	* *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1804

ตารางที่ 6 ผลผลิตขิงเก็บเกี่ยวเมื่อขิงอายุ 280 วันในแปลงทดลอง เปรียบเทียบวัสดุคลุมดินชนิดต่างๆ

กรรมวิธี (คลุมดินที่ 35 วันหลังปลูก)	น้ำหนักแห้ง (กิโลกรัม/ไร่)	ต้นขิงเมื่อเก็บเกี่ยว/แปลงย่อย	น้ำหนักผลผลิตขิง (กรัม/แปลงย่อย พื้นที่ 15 ตารางเมตร) ที่น้ำหนักกอต่างๆกัน						
			100 กรัมขึ้นไป	1-99	100-199	200-399	400-599	600-799	800 กรัมขึ้นไป
ใบหญ้าคา	2,265	22.8	6,918	145	630 ab	2,891	1,453 ab	1615	329
ต้นหญ้าขจรจบ	933	22.7	4,438	388	1,037 ab	1,337	1,002 ab	443	620
เศษหญ้าสนาม	1,257	22.0	5,203	175	1,070 a	2,888	795 ab	450	0
แกลบดำ	9,408	18.3	6,255	207	293 b	1,810	1,192 ab	2,078	660
ขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา	5,350	22.3	4,622	250	1,253 a	1,517	1153 ab	408	290
พลาสติกเทา-ดำ	ร่องระหว่างแถว	23.3	6,440	178	938 ab	2,325	2310 ab	530	337
แผ่นชีวมวล	ร่องระหว่างแถว	21.3	2,968	437	881 ab	1,763	287 b	0	0
ปลูกพริกแซม	ร่องระหว่างแถว	17.7	4,350	288	557 ab	1,753	1,047 ab	690	303
หว่านถั่วเขียวแล้วถอนต้นคลุมแปลง(คลุม)		24.3	6,200	210	875 ab	3,042	1,108 ab	1,175	0
หว่านถั่วเขียวแล้วถอนต้นออก(ไม่คลุม)		25.0	7,463	312	847 ab	2,615	3,013 a	682	307
C.V. (%)		24.1	49.8	94.4	45.8	39.9	90.4	142.0	163.8
F-test		ns	ns	ns	*	ns	*	ns	ns

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1805

ตารางที่ 7 จำนวนต้นขิงและปริมาณวัชพืช และการเจริญเติบโตของขิง การทดลองการจัดการวัชพืชในระยะแรกก่อนขิงงอกพ้นผิวดิน

กรรมวิธี	อัตรา (กรัม ai/ไร่)	%ต้นขิงที่อายุ 40 วัน	น้ำหนักสดวัชพืช ที่ 80 วัน (กรัม/ตร.ม.)	%ต้นขิงที่ใบเหลือง ที่อายุ150 วัน	ความสูง (เซนติเมตร)			การแตกกอ (ต้น/กอ)		
					50 วัน	80 วัน	110 วัน	50 วัน	80 วัน	110 วัน
1. paraquat	207	46.7	955 ab	11.3	27.8	41.6	65.1	1.15 ab	2.6 ab	3.7
2. glufosinate	300	41.4	1362 ab	11.6	29.2	37.4	65.2	1.175 ab	2.6 ab	4.0
3. glyphosate	336	43.8	1970 b	11.1	28.4	37.8	64.9	1.175 ab	2.3 b	4.4
4. paraquat+bean	207+ถั่วเขียว	45.7	1450 ab	8.9	28.7	41.6	61.5	1.175 ab	2.5 b	4.3
5. glufosinate+bean	300+ถั่วเขียว	50.5	1355 ab	14.5	26.6	41.4	62.5	1.075 b	2.3 b	4.2
6. glyphosate+bean	336+ถั่วเขียว	43.8	1292 ab	11.3	28.8	46.2	56.8	1.225 ab	2.3 b	4.3
7. หว่านถั่วเขียว	วันปลูกขิง	45.7	1608 ab	11.2	32.3	43.6	64.8	1.25 a	3.3 a	4.7
8. โรยถั่วเขียวเป็นแถว	วันปลูกขิง	46.2	1458 ab	18.3	31.0	46.8	58.9	1.175 ab	2.0 b	3.9
9. แผ่นชีวมวล	วันพ่นสาร	44.2	875 a	18.1	28.6	37.4	59.9	1.225 ab	2.4 b	4.7
10. กำจัดวัชพืช 20,40	วันหลังปลูก	50.5	1025 ab	8.8	32.4	40.0	64.8	1.175 ab	2.4 b	4.0
C.V. (%)		18.1	34.5	67.9	13.1	15.6	10.4	6.4	15.0	18.1
F-test		ns	* *	ns	ns	ns	ns	* *	* *	ns

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1806

ตารางที่ 8 ผลผลิตขิงเก็บเกี่ยวอายุ 280 วันการทดลองการจัดการวัชพืชในระยะแรกก่อนขิงงอกพ้นผิวดิน

กรรมวิธี	อัตรา (กรัม ai/ไร่)	ต้นขิงเมื่อเก็บเกี่ยว/แปลงย่อย	น้ำหนักสดต้นขิง (กรัม/แปลงย่อย พื้นที่ 15 ตารางเมตร)ที่น้ำหนักกอต่างๆกัน						
			100 กรัมขึ้นไป	1-99	100-199	200-399	400-599	600-799	800 กรัมขึ้นไป
1. paraquat	207	17.0	6,635	30 b	428	1,954 ab	2,386 a	1,515	353 b
2. glufosinate	300	14.5	5,121	36 b	465	1,555 b	1,466 ab	850	785 ab
3. glyphosate	336	16.0	5,695	19 b	303	3,268 a	819 b	1,135	671 ab
4. paraquat+bean	207+ถั่วเขียว	16.8	5,796	124 a	328	2,238 ab	1,650 ab	1,029	545 b
5. glufosinate+bean	300+ถั่วเขียว	15.3	5,450	2.5 b	436	2,110 ab	1,336 ab	988	580 b
6. glyphosate+bean	336+ถั่วเขียว	15.8	5,558	44 b	466	1,753 ab	2,080 ab	1,043	216 b
7. หว่านถั่วเขียว	วันปลูกขิง	15.5	6,035	0 b	221	2,389 ab	2,091 ab	2,204	525 b
8. โรยถั่วเขียวเป็นแถว	วันปลูกขิง	14.8	5,884	0 b	454	1,726 ab	1,471 ab	1,360	873 ab
9. แผ่นชีวมวล	วันพ่นสาร	16.0	8,151	20 b	260	2,286 ab	1,111 ab	1,045	3,447 a
10. กำจัดวัชพืช 20,40	วันหลังปลูก	17.0	6,973	33 b	533	1,863 ab	1,756 ab	1,180	1,640 ab
C.V. (%)		29.4	48.0	166.8	73.1	42.8	54.2	113.4	181.4
F-test		ns	ns	* *	ns	*	*	ns	*

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1807

การจัดการวัชพืชก่อนงอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกระชายดำ

Effect of Pre- Emergence Weed Management on Growth of *Kaempferia pandulata*

เพ็ญศรี นันทสมสราญ สานิตย์ สุขสวัสดิ์[1/]
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การจัดการวัชพืชก่อนงอกในกระชายดำ เริ่มดำเนินการปี 2549 ในพื้นที่ห้วยสะพานหิน อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี การทดลองวางแผนแบบ Randomiized Complete Block ประกอบ ด้วย 9 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืช diuron อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ทำให้มีปริมาณและน้ำหนักแห้งของวัชพืชน้อยเช่นเดียวกับกรรมวิธีที่กำจัดด้วยแรงงาน ส่วนวิธีการใช้ถั่วเขียว และไม่กำจัดวัชพืชมีประชากรของวัชพืชค่อนข้างสูง สำหรับความสูงของกระชายดำที่อายุ 2 เดือน กรรมวิธีใช้สารกำจัดวัชพืช diuron และการใช้แรงงานกำจัดวัชพืชทำให้ต้นกระชายดำมีความสูงน้อยกว่าอีก 7 กรรมวิธี เนื่องจากมีวัชพืชขึ้นสูงทำให้กระชายดำต้องยืดลำต้น ในเดือนที่ 3 และ4 ความสูงของกระชายดำเป็นไปในทำนองเดียวกันกับเดือนที่2 สำหรับการแตกหน่อ ในเดือนที่ 2 การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีการแตกหน่อสูงที่สุด รองลงมาคือ การใช้สารกำจัดวัชพืช diuron ส่วนวิธีการใช้ถั่วเขียวมีผลทำให้แตกหน่อน้อยที่สุด ส่วนเดือนที่ 3 กรรมวิธีที่มีการเจริญ เติบโตและแตกหน่อได้ดี คือ การใช้สารกำจัดวัชพืช diuron สารกำจัดวัชพืช pendimethalin การใช้แรงงาน และการคลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา ส่วนการแตกหน่อในเดือนที่ 4 นั้น สารกำจัดวัชพืช diuron และการใช้แรงงานกำจัด มีการแตกหน่อมากที่สุด ซึ่งแตกต่างทางสถิติ กับอีก 7 กรรมวิธีอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับปีที่สองประกอบด้วย 10 กรรมวิธี โดยใช้ สาร metribuzin มาแทนกระสอบป่านซึ่งไม่มีจำหน่าย และเพิ่มเติมแผ่นชีวมวล อีกหนึ่งกรรมวิธี วัชพืชที่สำคัญ ได้แก่ หญ้าสาบ (*Chromolaena* sp) หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch) หญ้าขจรจบดอกเล็ก(*Penisetum polystachyon* Schult.) การใช้แผ่นชีวมวลคลุมแปลง ทำให้มีปริมาณน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ กับอีก 3 กรรมวิธีคือ การใช้

รหัสโครงการ 01-12-49-04

[1/]ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จ.จันทบุรี โทร. 039 397030

แรงงานกำจัดวัชพืช คลุมแปลงปลูกด้วยพลาสติกดำเทา และ การใช้สารกำจัดวัชพืช diuron ความสูงของกระชายดำที่อายุ 2 เดือน กรรมวิธีการปลูกถั่วเขียว ทำให้กระชายดำสูงที่สุด และไม่แตกต่างทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช oxadiazon สารกำจัดวัชพืช alachlor สารกำจัดวัชพืช metribuzin ส่วนความสูงที่อายุ 3 เดือน กรรมวิธีการปลูกถั่วเขียว ทำให้กระชายดำสูงที่สุดเช่นกัน ส่วนความสูงที่อายุ 4 เดือน กรรมวิธีสารกำจัดวัชพืช diuron และการใช้แรงงาน ทำให้กระชายดำเตี้ยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ สำหรับการแตกหน่อของกระชายดำที่อายุ 2 เดือน และ 4เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การแตกหน่อของกระชายดำที่อายุ 3 เดือน กรรมวิธีใช้พลาสติกดำเทา มีการแตกหน่อสูงที่สุด ขณะที่สารกำจัดวัชพืช oxadiazon ทำให้กระชายดำแตกหน่อน้อยที่สุด ต้นกระชายดำเริ่มตาย เนื่องจากมีโรคเหี่ยวเขียว(bacterial wilt) ระบาดในแปลงทดลอง จำนวนหลายการทดลองของพืชในกลุ่มวงศ์ Zingiberaceae ได้แก่ กระชายดำ ขมิ้นชัน และไพล มีผลทำให้ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้

คำนำ

ปัจจุบันความนิยมของประชากรโลกที่พยายามหันกลับมาสู่ธรรมชาติมีมากขึ้นทุกวัน ซึ่งรวมทั้งคนไทย สังคมโลกนิยมใช้ผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น เป็นโอกาสที่จะเพิ่มมูลค่าของสินค้าเกษตรไทย (เพ็ญศรี, 2547) นอกจากนี้การใช้สมุนไพรในการดูแลสุขภาพด้วยตนเองเป็นการส่งเสริมภูมิปัญญาดั้งเดิมของไทย เพื่อให้ประชาชนพึ่งตนเองได้ คนไทยใช้สมุนไพรมานาน สมุนไพรจึงมีคุณค่าหลายด้าน ทั้งด้านอาหาร และยารักษาโรค เครื่องสำอาง (เพ็ญศรี, 2546) นอกจากนี้การนำสมุนไพรมาใช้เป็นยาต้องคำนึงถึงธรรมชาติของสมุนไพรแต่ละชนิดพันธุ์ของสมุนไพร (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2547) และสภาพแวดล้อมในการปลูก การจัดการศัตรูพืช ฤดูกาลปลูก วิธีการเก็บ ช่วงเวลาที่เก็บสมุนไพร การเก็บรักษาสมุนไพรหลังเก็บเกี่ยว ซึ่งปัจจัยเหล่านี้นับว่าเป็นสิ่งสำคัญในการกำหนดคุณภาพของสมุนไพรแต่ละชนิด รวมทั้งการนำสมุนไพรมาใช้ให้ถูกต้อง (เพ็ญศรี, 2549) ในการกำหนดสรรพคุณของตำรับยานั้น ๆ ซึ่งการใช้สมุนไพร ต้องคำนึงถึง 1) การใช้ให้ถูกต้น ซึ่งสมุนไพรอาจมีชื่อพ้องหรือซ้ำซ้อนกัน 2) การใช้ให้ถูกส่วน ส่วนต่าง ๆ ทั้ง ราก ใบ เปลือก ผล เมล็ด จะมีสารออกฤทธิ์ในปริมาณที่ไม่เท่ากัน 3) การใช้ให้ถูกขนาด ถ้าใช้ปริมาณน้อยประสิทธิภาพในการรักษาโรคไม่เพียงพอ ถ้าใช้ปริมาณมาก อาจก่อให้เกิดพิษเป็นอันตรายต่อร่างกายได้ 4) การใช้ให้ถูกวิธี 5) การใช้ให้ถูกกับโรค (เพ็ญนภา, 2544)

กระชายดำ(*Kaempferia pandurata* Wall ex Baker) เป็นพืชล้มลุกอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae กระชายดำเป็นพืชสมุนไพรที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภค เพื่อบำรุงกำลังและช่วยเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ (อภิชาต, 2543 อ้างในเสริมสกุล, 2546) กระชายดำมีหลายชนิด แต่ละชนิดมีคุณภาพแตกต่างกันไป กระชายดำเริ่มปลูกที่จังหวัดเลย และขยายพื้นที่การปลูกเพิ่มขึ้น

อย่างรวดเร็วทั่วทุกภาคของประเทศ และเริ่มเข้ามาทดแทนการปลูกขิง เนื่องมาจากกระชายดำมีราคาที่สูงมากถึง 500-550 บาทต่อกิโลกรัม (โสภี, 2545 อ้างในเสริมสกุล, 2546) อย่างไรก็ตาม วัชพืชหลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพร (เพ็ญศรี, 2550) บางชนิดถ้านำมาใช้ประโยชน์อย่างจริงจังควรมีการอนุรักษ์พืชสมุนไพรนั้น (ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน,2546) การปลูกพืชในพื้นที่ขนาดใหญ่ในเชิงการค้า วัชพืชเป็นปัญหาสำคัญ ตั้งแต่เริ่มต้นปลูก การควบคุมวัชพืชในช่วงแรกของการเจริญเติบโตของกระชายดำมีความสำคัญ จึงต้องกำจัดวัชพืชด้วยการเริ่มต้นจากงานสำรวจชนิดวัชพืชและศัตรูพืชอื่นๆที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้ไม่เกิดความสูญเสียในทางเศรษฐกิจ การปลูกพืชเศรษฐกิจรวมทั้งพืชสมุนไพร วัชพืชทำให้ผลผลิต และคุณภาพลดลง ถ้าไม่มีการป้องกันกำจัดวัชพืชที่ดี ปัญหาของวัชพืชขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดและปริมาณของวัชพืช ลักษณะทางสรีรวิทยาของพืชปลูก ลักษณะของดิน ความชื้นในดิน แสงแดด อุณหภูมิ และปัจจัยอื่นๆ

การปลูกกระชายดำในพื้นที่ขนาดใหญ่ และขาดแคลนแรงงาน วัชพืชเป็นปัญหาสำคัญ ซึ่งอาจมีปริมาณมากน้อยแตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดพืชปลูก และภูมิอากาศ สิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ที่จะเกื้อหนุนให้เกิดการระบาดศัตรูพืช ตั้งแต่สูญเสียเล็กน้อยจนกระทั่งผลผลิตของพืชปลูกสูญเสียมากกว่าระดับเศรษฐกิจ ดังนั้นการปลูกกระชายดำ จึงต้องหาข้อมูลชนิดของศัตรูพืชเป็นพื้นฐานแล้วจึงหาแนวทางในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดนั้น ๆ ซึ่งประกอบด้วยหลายวิธีการ อาจเป็นวิธีการผสมผสานของวัชพืช หรือกับศัตรูพืชอื่นๆ เพื่อให้ได้วัตถุดิบทีมีคุณภาพ และปริมาณที่เพียงพอในการนำไปแปรรูปเป็นสินค้าต่างๆได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อจัดการวัชพืชก่อนงอกในการปลูกกระชายดำ เพื่อให้ผลผลิตสูงขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- หัวพันธุ์กระชายดำ
- สารกำจัดวัชพืช metribuzin, diuron, oxadiazon, pendimethalin, alachlor
- วัสดุคลุมดิน พลาสติกดำเทา แผ่นชีวมวล
- อุปกรณ์กำจัดวัชพืช เช่น จอบ ที่แซะวัชพืช
- ปุ๋ยคอก หรือ ปุ๋ยอินทรีย์
- กรอบสี่เหลี่ยมขนาด 50 x 50 เซนติเมตร
- สารฆ่าแมลง และสารป้องกันกำจัดโรคพืชเท่าที่จำเป็น

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ ในปีแรก ประกอบด้วย 9 กรรมวิธี

1) คลุมแปลงปลูกด้วยพลาสติกดำเทา

2) คลุมแปลงปลูกด้วยกระสอบป่าน

3) ปลูกถั่วเขียวเป็นพืชคลุม

4) สารกำจัดวัชพืช diuron

5) สารกำจัดวัชพืช oxadiazon

6) สารกำจัดวัชพืช pendimethalin

7) สารกำจัดวัชพืช alachlor

8) กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน

9) ไม่มีการกำจัดวัชพืช

ส่วนปีที่สอง ประกอบด้วย 10 กรรมวิธี เนื่องจากกรรมวิธีที่ 2 กระสอบป่านไม่มีจำหน่าย จึงใช้สาร metribuzin มาแทน และเพิ่มเติมแผ่นชีวมวล อีกกรรมวิธีหนึ่ง จึงรวมเป็น 10 กรรมวิธี

1) คลุมแปลงปลูกด้วยพลาสติกดำเทา

2) สารกำจัดวัชพืช metribuzin

3) ปลูกถั่วเขียวเป็นพืชคลุม

4) สารกำจัดวัชพืช diuron

5) สารกำจัดวัชพืช oxadiazon

6) สารกำจัดวัชพืช pendimethalin

7) สารกำจัดวัชพืช alachlor

8) กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน

9) คลุมแปลงปลูกด้วยแผ่นชีวมวล

10) ไม่มีการกำจัดวัชพืช

เตรียมดินด้วยการไถดะ และไถแปร พรวนให้ดินร่วนซุย เพื่อกำจัดวัชพืชเดิมให้หมด โดยมีระยะปลูกระหว่างต้น 25 เซนติเมตร และระหว่างแถว 30 เซ็นติเมตร ใส่ปุ๋ยคอกรองก้นหลุม 125 กรัมต่อหลุม ปลูกหัวพันธุ์ฝังกลบดินให้มิดแต่ไม่ลึก ป้องกันและ กำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีที่กำหนด แล้วบันทึกข้อมูลต่างๆ และความสูงจากระดับน้ำทะเลของพื้นที่ปลูก พร้อมทั้งบันทึกชนิดและปริมาณของวัชพืชและน้ำหนักวัชพืชแห้งที่เก็บเกี่ยว ความสูงและการแตกกอของต้น และผลผลิตของกระชายดำ

เวลาและสถานที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ปี พ.ศ. 2549-2551

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

วัชพืชที่สำคัญที่พบในแปลงปลูกกระชายดำ ได้แก่ กระดุมใบใหญ่ (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch) หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* Link) หญ้าขจรจบดอกเล็ก

(*Pennisetum polystachyon* Schult.) ข้าว (*Oryza sativa* L.) หญ้าสะกาดน้ำเค็ม (*Paspalum distichum* L.) เซ่งใบมน (*Melochia corchorifolia* L.) โสนดอน (*Aeschynomene americana* L.) ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.) ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schumach & Thonn.) ปอวัชพืช (*Corchorus aestuan* L.) การใช้สารกำจัดวัชพืช diuron อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ทำให้มีปริมาณและน้ำหนักแห้งของวัชพืชน้อยเช่นเดียวกับกรรมวิธีที่กำจัดด้วยแรงงาน ส่วนวิธีการใช้ถั่วเขียว และไม่กำจัดวัชพืชมีประชากรของวัชพืชค่อนข้างสูง (ตาราง 1) สำหรับความสูงของกระชายดำที่อายุ 2 เดือน กรรมวิธีสารกำจัดวัชพืช diuron และการใช้แรงงานกำจัดวัชพืชทำให้ต้นกระชายดำเตี้ยกว่าอีก 7 กรรมวิธี ทั้งนี้เนื่องจากเจ็ดกรรมวิธีมีวัชพืชขึ้นสูงแข่งขันกับกระชายดำซึ่งทำให้ต้องยืดลำต้น ในเดือนที่ 3 และ4 ความสูงของกระชายดำเป็นไปในทำนองเดียวกันกับเดือนที่2 (ตาราง 2) สำหรับการแตกหน่อ ในเดือนที่ 2 การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานมีการแตกหน่อสูงที่สุด รองลงมาคือ การใช้สารกำจัดวัชพืช diuron วิธีการใช้ถั่วเขียวมีผลทำให้แตกหน่อน้อยที่สุด ส่วนเดือนที่ 3 กรรมวิธีที่มีการเจริญเติบโตและแตกหน่อได้ดี คือ การใช้สารกำจัดวัชพืช diuron สารกำจัดวัชพืช pendimethalin การใช้แรงงานและการคลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา ส่วนการแตกหน่อในเดือนที่ 4 นั้น สารกำจัดวัชพืช diuron และการใช้แรงงานกำจัด มีการแตกหน่อมากที่สุด ซึ่งแตกต่างทางสถิติ กับอีก 7 กรรมวิธีอย่างมีนัยสำคัญ (ตาราง 3) ดังนั้นการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และการใช้สารกำจัดวัชพืช diuron มีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชได้ดี และไม่เป็นพิษต่อกระชายดำ การทดลองในปีที่สองประกอบด้วย 10 กรรมวิธี การใช้กรรมวิธีกำจัดวัชพืช มีผลต่อประชากรของวัชพืชที่แตกต่างกัน กล่าวคือ การแข่งขันที่มีประชากรของวัชพืชหนาแน่น มักจะพบจำนวนวัชพืชน้อยชนิด เช่นวิธีการไม่กำจัดวัชพืช และวิธีการใช้ถั่วเขียว มีวัชพืชเพียง 2 ชนิด ได้แก่ หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch) และหญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pemisetum polystachyon* Schult.) (ตาราง 4) สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการทดลองมีการเลือกทำลายวัชพืชใบแคบและใบกว้างได้แตกต่างกัน การใช้แผ่นชีวมวลคลุมแปลง ทำให้มีปริมาณน้ำหนักแห้งวัชพืชน้อยที่สุดคือ 21.6 กรัมต่อตารางเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับอีก 3 กรรมวิธีคือ การใช้แรงงานกำจัดวัชพืช คลุมแปลงปลูกด้วยพลาสติกดำเทา และ การใช้สารกำจัดวัชพืช diuron โดยมีน้ำหนักแห้งวัชพืช52.5, 155.9 และ 207.4 กรัมต่อตารางเมตร ขณะที่กรรมวิธีไม่มีการกำจัดวัชพืชมีน้ำหนักแห้งวัชพืช 486.0 กรัมต่อตารางเมตร (ตาราง 5) ความสูงของกระชายดำที่อายุ 2 เดือน กรรมวิธีการปลูกถั่วเขียวอัตรา 12 กก./ไร่ มีผลทำให้กระชายดำสูงที่สุดคือ 31.0 ซม. และไม่แตกต่างทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช สารกำจัดวัชพืช oxadiazon สารกำจัดวัชพืช alachlor สารกำจัดวัชพืช metribuzin คือ 30.1, 28.8, 28.6, 28.5 ซม. ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับอีก 5 กรรมวิธี ได้แก่ แผ่นชีวมวล สารกำจัดวัชพืช diuron สารกำจัดวัชพืช pendimethalin การใช้พลาสติกดำเทา และการใช้แรงงาน ซึ่งมี

ความสูง 19.8, 19.5, 18.8, 17.6 และ 16.2 ซม. ตามลำดับ (ตาราง 6) ส่วนความสูงที่อายุ 3 เดือน กรรมวิธีการปลูกถั่วเขียว ทำให้กระชายดำสูงที่สุดคือ 31.6 ซม. แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการไม่กำจัดวัชพืช และสารกำจัดวัชพืช metribuzin ซึ่งมีความสูง 29.4 และ 29.8 ซม. ตามลำดับ กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานทำให้ต้นกระชายดำเตี้ยที่สุดคือ 15.5 ซม. ส่วนความสูงที่อายุ 4 เดือน กรรมวิธีสารกำจัดวัชพืช diuron และการใช้แรงงาน ทำให้กระชายดำเตี้ยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ สำหรับการแตกหน่อของกระชายดำที่อายุ 2 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ การแตกหน่อของกระชายดำที่อายุ 3 เดือน กรรมวิธีใช้พลาสติกดำเทา มีการแตกหน่อสูงที่สุดคือ 3.1 หน่อ/ต้น ขณะที่สารกำจัดวัชพืช oxadiazon ทำให้กระชายดำแตกหน่อน้อยที่สุดคือ 1.7 หน่อ/ต้น (ตาราง 7) เนื่องจากสารกำจัดวัชพืช oxadiazon มีคุณสมบัติทำให้ต้นพืชชงักการเจริญเติบโตในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ดังเช่นในนาข้าว การใช้ oxadiazon ทำให้ต้นข้าวเตี้ยกว่าวิธีการที่ไม่ได้ใช้สารอย่างชัดเจน การแตกหน่อของกระชายดำที่อายุ 4 เดือน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ประกอบกับต้นกระชายดำเริ่มตาย เนื่องจากมีโรคเหี่ยวเขียว(bacterial wilt) ระบาดในแปลงทดลอง จำนวนหลายการทดลองของพืชในกลุ่มวงศ์ Zingiberaceae ได้แก่ กระชายดำ ขมิ้นชัน และไพล มีผลทำให้ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ทำให้การทดลองมีความเสียหายมาก ทั้งที่ได้มีมาตรการป้องกันในการเตรียมดินด้วยการใส่ปูนขาว และแช่ท่อนพันธุ์ในน้ำยาฆ่าเชื้อแล้วก็ตาม รวมทั้งหามาตรการในการย้ายที่ปลูกใหม่ แต่ไม่สามารถปฏิบัติได้ ดังนั้นในการปฏิบัติงานสิ่งที่สำคัญต้องทำความเข้าใจกับทุกฝ่ายที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้การทดลองเป็นไปด้วยความราบรื่น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การกำจัดวัชพืชก่อนงอกในกระชายดำ สามารถใช้แผ่นชีวมวลคลุมแปลง หรือใช้แรงงานกำจัดวัชพืชจำนวน 2 ครั้งที่ 30 และ 60 วันหลังงอก ช่วยลดปัญหาวัชพืชได้

2. ในปีแรกการใช้สารกำจัดวัชพืช diuron อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ ทำให้มีปริมาณและน้ำหนักแห้งของวัชพืชน้อย และไม่มีวัชพืชขึ้นนานกว่า 4 เดือน

3. ในปีที่สองแผ่นชีวมวล ทำให้มีปริมาณและน้ำหนักแห้งของวัชพืชน้อย กรรมวิธีการปลูกถั่วเขียว ทำให้กระชายดำมีการเจริญเติบโตได้ดีในช่วงระยะแรก

4. การจัดการวัชพืชในกระชายดำ สามารถใช้แรงงาน หรือใช้วัสดุคลุมดินแผ่นชีวมวล ถ้าจำเป็นต้องใช้สารกำจัดวัชพืชสามารถใช้ diuron ได้ดี

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เกษตรกรที่ปลูกกระชายดำ สามารถป้องกันกำจัดวัชพืชด้วยการใช้แผ่นชีวมวลคลุมแปลงหรือใช้แรงงานกำจัดวัชพืชจำนวน 2 ครั้งที่ 30 และ 60 วันหลังกระชายดำงอก

2. การปลูกกระชายดำในพื้นที่ขนาดใหญ่หรือปลูกในเชิงอุตสาหกรรม สามารถใช้สารกำจัดวัชพืช diuron อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธ์/ไร่ เพื่อเป็นสารคุมก่อนวัชพืชงอก

คำขอบคุณ

ผู้ทดลองขอขอบคุณ นางสาว เสริมสุข สลักเพ็ชร์ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่ในการทดลองและนักวิชาการร่วมงานในการทดลองครั้งนี้ จนงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2547. แผนยุทธศาสตร์การพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร. คณะกรรมการพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร. กระทรวงสาธารณสุข. 120 หน้า.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. 2544. การแพทย์แผนไทย การแพทย์แบบองค์รวม พิมพ์ครั้งที่ 2 โรงพิมพ์องค์การรับส่งสินค้าและพัสดุภัณฑ์.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ.2546. สมุนไพรกับคนไทย (ตอนที่ 1). กสิกร. 76(6) หน้า 97-103.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2547. สมุนไพรกับคนไทย (ตอนจบ). กสิกร. 77(1) หน้า 72-81.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ.2549. สมุนไพรที่ใช้ตามอาการของโรค. กสิกร.79(2) หน้า 43-53.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2550. วัชพืชสมุนไพร. กสิกร. 80(1) หน้า 103-110.

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 2546. พืชสมุนไพรในสวนป่าสมุนไพรเขาหินซ้อน. สวนพฤกษศาสตร์ภาคตะวันออก(เขาหินซ้อน) อำเภอ พนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา. 101 หน้า.

เสริมสกุล พจนการุณ. 2546. โครงการรวบรวมศึกษาและคัดเลือกพันธุ์กระชายดำ. รายงานความก้าวหน้า:โครงการวิจัยด้านการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.16-17 ธันวาคม 2546. หน้า 74-87.

ตาราง 1 ปริมาณวัชพืชและน้ำหนักแห้งของวัชพืชในการจัดการวัชพืชก่อนงอกในกระชายดำ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ปี 2549

กรรมวิธี	จำนวนวัชพืช (ต้น/ครึ่ง ตรม.)	น้ำหนักแห้งวัชพืช (ต้น/ครึ่ง ตรม.)
1. คลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา	12.60 b	133.0 cd
2. คลุมแปลงด้วยกระสอบป่าน	28.0 a	272.3 bc
3. ปลูกถั่วเขียวอัตรา 12 กก./ไร่	42.3 a	406.5 a
4. สารกำจัดวัชพืช diuron 240 กรัม	5.3 b	8.5 b
5. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 160 กรัม	32.5 a	221.5 bc
6. สารกำจัดวัชพืช pendimethalin 320 กรัม	12.8 b	170.3 bc
7. สาร กำจัดวัชพืช alachlor 240 กรัม	29.0 a	271.0 abc
8. กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 และ60 วัน	5.5 b	11.5 d
9. ไม่มีการกำจัดวัชพืช	36.0 a	324.5 ab
C.V..(%)	40.7	49.5

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามตัวด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตาราง 2 ความสูงของกระชายดำที่ช่วงอายุต่างๆ ในการจัดการวัชพืชก่อนงอกในกระชายดำ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ปี 2549

กรรมวิธี	ความสูงที่อายุ 2 เดือน (ซม.)	ความสูงที่อายุ 3 เดือน (ซม.)	ความสูงที่อายุ 4 เดือน(ซม.)
1. คลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา	30.8 a	38.1 a	39.1 a
2. คลุมแปลงด้วยกระสอบป่าน	27.9 a	38.7 a	38.6 a
3. ปลูกถั่วเขียวอัตรา 12 กก./ไร่	31.8 a	36.2 ab	36.1 a
4. สารกำจัดวัชพืช diuron 240 กรัม	19.9 b	28.5 c	31.5 ab
5. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 160 กรัม	32.3 a	39.5 a	41.2 a
6. สารกำจัดวัชพืช pendimethalin 320 กรัม	27.1 a	40.1 a	41.4 a
7. สาร กำจัดวัชพืช alachlor 240 กรัม	30.9 a	39.5 a	38.2 a
8. กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 และ60 วัน	21.56 b	31.8 bc	25.2 b
9. ไม่มีการกำจัดวัชพืช	33.1 a	34.9 ab	34.9 a
C.V.(%)	13.4	10.1	16.5

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามตัวด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตาราง 3 การแตกหน่อของกระชายดำที่อายุต่าง ๆในการจัดการวัชพืชก่อนงอกในกระชายดำ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ปี 2549

กรรมวิธี	ที่ 2 เดือน (หน่อ/ต้น)	ที่ 3 เดือน (หน่อ/ต้น)	ที่ 4 เดือน (หน่อ/ต้น)
1. คลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา	3.7 abc	6.2 abc	4.9 bc
2. คลุมแปลงด้วยกระสอบป่าน	3.5 bc	5.8 bc	3.9 c
3. ปลูกถั่วเขียวอัตรา 12 กก./ไร่	2.5 c	4.2 c	3.4 c
4. สารกำจัดวัชพืช diuron 240 กรัม	4.3 ab	8.1 a	8.8 a
5. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 160 กรัม	3.6 bc	5.6 bc	4.4 c
6. สารกำจัดวัชพืช pendimethalin320 กรัม	3.8 abc	8.0 a	6.5 b
7. สาร กำจัดวัชพืช alachlor 240 กรัม	3.6 abc	5.3 bc	4.1 c
8. กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 และ60 วัน	4.9 a	7.3 ab	8.8 a
9. ไม่มีการกำจัดวัชพืช	3.0 bc	4.4 c	3.3 c
C.V.(%)	22.1	22.1	20.5

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามตัวด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตาราง 4 ชนิดวัชพืชที่พบในกรรมวิธีของการจัดการวัชพืชก่อนงอกในกระชายดำ ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ปี 2550

กรรมวิธี	ชนิดวัชพืชที่พบ
1. พลาสติกดำเทา	หญ้าสาบ (*Chromolaena* sp) หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch) สร้อยนกเขา (*Mollugo pentaphylla* L.) โสนดอน (*Aeschynomene americana* L.) หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* Schult.) เซ่งใบมน (*Melochia corchorifolia* L.) หงอนไก่ป่า (*Celosia argentea* L.) หญ้าละออง (*Vernonia cinerea* Lees.) กระสัง (*Peperomia pellucida* Korth.) หญ้านกชมพู (*Echinochloa colona* Link) กกสามเหลี่ยมเล็ก (*Cyperus pilosus* vahl.)
2. สารกำจัดวัชพืช metribuzin	หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch) หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* Schult.) หญ้านกชมพู (*Echinochloa colona* Link) โสนดอน (*Aeschynomene americana* L.) เซ่งใบมน (*Melochia corchorifolia* L) หญ้าละออง (*Vernonia cinerea* Lees.)
3. ปลูกถั่วเขียว	หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch) หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* Schult.)
4. สารกำจัดวัชพืช diuron	หญ้าสาบ (*Chromolaena* sp) หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch) หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* Schult.) ผักเสี้ยน (*Cleome rutidosperma* D.C.) กระถินเทพา(*Acacia mangium* Willd.) โสนดอน (*Aeschynomene americana* L.)
5. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon	หญ้าสาบ (*Chromolaena* sp) หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch) ขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* Schult.)

กรรมวิธี	ชนิดวัชพืชที่พบ
	โสนดอน (*Aeschynomene americana* L.)
6. สารกำจัดวัชพืช pendimethalin	หญ้าสาบ (*Chromolaena* sp)
	หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch)
	โสนดอน (*Aeschynomene amricana* L.)
	ผักเสี้ยน (*Cleome rutidosperma* D.C.)
	เซ่งใบมน (*Melochia corchorifolia* L)
	หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* Schult.)
	หญ้าคา (*Imperata cylindrical* Beauv.)
	กกสามเหลี่ยมเล็ก (*Cyperus pilosus* vahl.)
	กระถินเทพา (*Acacia mangium* Willd.)
	โทงเทง (*Physalis minima* L.)
	ขี้ไก่ย่าน (*Mikania micrantha* H.B.K.)
7. สารกำจัดวัชพืช alachlor	หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch)
	หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* Schult.)
	เซ่งใบมน (*Melochia corchorifolia* L)
	สร้อยนกเขา (*Mollugo pentaphylla* L.)
	โสนดอน (*Aeschynomene americana* L.)
8. กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	หญ้าสาบ (*Chromolaena* sp)
	หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch)
	เซ่งใบมน (*Melochia corchorifolia* L)
	สร้อยนกเขา (*Mollugo pentaphylla* L.)
	หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* Link.)
	หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* Schult.)
9. แผ่นชีวมวล	หญ้าสาบ (*Chromolaena* sp)
	หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch)
	หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* Link.)
	โสนดอน (*Aeschynomene americana* L.)
10. ไม่มีการกำจัดวัชพืช	หญ้าเขมร (*Borreria latiforia* Aubl.K.Sch)
	หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* Schult.)

ตาราง 5 จำนวนต้นวัชพืช น้ำหนักแห้งในแปลงทดลองการจัดการวัชพืชก่อนงอกในกระชายดำ ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี ปี 2550

กรรมวิธี	จำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตร.ม.)	น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตร.ม.)
1. พลาสติกดำเทา	25.0 a	155.9 a
2. สารกำจัดวัชพืช metribuzin	136.5 bc	444.5 b
3. ปลูกถั่วเขียว	169.5 c	470.9 b
4. สารกำจัดวัชพืช diuron	62.0 ab	207.4 a
5. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon	136.0 bc	425.3 b
6. สารกำจัดวัชพืช pendimethalin	64.0 ab	370.3 b
7. สารกำจัดวัชพืช alachlor	175.0 c	425.8 b
8. กำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน	29.0 a	52.5 a
9. แผ่นชีวมวล	25.0 a	21.6 a
10.ไม่มีการกำจัดวัชพืช	197.5 c	486.0 b
C.V.(%)	49.4	44.1

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามตัวด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตาราง 6 ความสูงของกระชายดำที่ช่วงอายุต่างๆ ในการจัดการวัชพืชก่อนงอกในกระชายดำ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ปี 2550

กรรมวิธี	ความสูงที่อายุ 2 เดือน (ซม.)	ความสูงที่อายุ 3 เดือน (ซม.)	ความสูงที่อายุ 4 เดือน(ซม.)
1. คลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา	17.6 b	16.7 e	24.5 a
2. สารกำจัดวัชพืช metribuzin	28.5 a	28.9 ab	29.2 a
3. ปลูกถั่วเขียวอัตรา 12 กก./ไร่	31.0 a	31.6 a	29.6 a
4. สารกำจัดวัชพืช diuron 240 กรัม	19.5 b	18.7 de	17.7 b
5. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 160 กรัม	28.8 a	25.9 bc	25.3 a
6. สารกำจัดวัชพืช pendimethalin 320 กรัม	18.8 b	22.2 cd	25.4 a
7. สาร กำจัดวัชพืช alachlor 240 กรัม	28.6 a	25.5 bc	28.6 a
8. กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 และ60 วัน	16.2 b	15.5 e	16.8 b
9. แผ่นชีวมวล	19.8 b	18.7 de	22.6 ab
10 ไม่มีการกำจัดวัชพืช	30.1 a	29.4 ab	24.8 a
C.V.(%)	11.9	13.1	17.5

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามตัวด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตาราง 7 การแตกหน่อของกระชายดำที่อายุต่าง ๆในการจัดการวัชพืชก่อนงอกในกระชายดำ ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี จังหวัดจันทบุรี ปี 2550

กรรมวิธี	ที่ 2 เดือน (หน่อ/ต้น)	ที่ 3 เดือน (หน่อ/ต้น)	ที่ 4 เดือน* (หน่อ/ต้น)
1. คลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา	2.8	3.1 a	3.0
2. คลุมแปลงด้วยกระสอบป่าน	2.5	1.9 b	1.5
3. ปลูกถั่วเขียวอัตรา 12 กก./ไร่	3.4	2.4 ab	1.5
4. สารกำจัดวัชพืช diuron 240 กรัม	3.4	2.3 ab	1.3
5. สารกำจัดวัชพืช oxadiazon 160 กรัม	3.0	1.7 b	1.6
6. สารกำจัดวัชพืช pendimethalin320 กรัม	2.3	1.9 b	1.3
7. สาร กำจัดวัชพืช alachlor 240 กรัม	2.3	2.1 b	2.0
8. กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 และ60 วัน	2.6	2.1 b	1.4
9. แผ่นชีวมวล	2.8	2.3 ab	2.3
10. ไม่มีการกำจัดวัชพืช	2.9	2.2 ab	2.2
C.V.(%)	27.1	25.5	38.3

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามตัวด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

*ต้นกระชายดำเริ่มตายเนื่องจากมีโรค bacterial wilt ระบาด และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

วิจัยและพัฒนาการกำจัดศัตรูพืชและการกำจัดวัชพืชในฟ้าทะลายโจร

Research on Development of Pest Control and weed Control in *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees

เพ็ญศรี นันทสมสราญ อำไพ ประเสริฐสุข จรัญ ดิษฐ์ไชยวงศ์
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ศึกษาการจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร เริ่มจากการสำรวจปัญหาวัชพืชที่มีในฟ้าทะลายโจรซึ่งได้ดำเนินการปี 2549 ในพื้นที่ 5 จังหวัด ได้แก่ ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา กาญจนบุรี ราชบุรี และ นครปฐม พบวัชพืชมากมายหลายชนิดที่บ้านดงบัง อ.เมือง จ. ปราจีนบุรี วัชพืชที่สำคัญ ได้แก่ ประเภทใบแคบ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้าปากควาย หญ้าแพรก หญ้าไผ่ ประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้ายาง ผักปราบ หญ้าเขมร สาบแร้งสาบกา ผักกะสัง ผักโขมหนาม ผักเสี้ยนผี ผักโขม ลูกใต้ใบ น้ำนมราชสีห์ หูปลาช่อน เงี่ยงปา ตำแย บานไม่รู้โรยป่า หญ้าละออง สะอึก ปอวัชพืช มะระขี้นก ประเภทกก แห้วหมู กกดอกเขียว ตะกรับ เป็นต้น ที่อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา วัชพืชที่สำคัญ ได้แก่ ผักแครด ลูกใต้ใบ สะอึก ถั่วผี ขยุ้มตีนหมา น้ำนมราชสีห์ ผักโขมหิน ผักเสี้ยนผี หญ้ายาง สาบเสือ หญ้าดอกแดง และหญ้ารังนก เป็นต้น ที่อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี พบ หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู เป็นต้น ที่ อำเภอปากท่อ จังหวัดราชบุรี หญ้าดอกแดง หญ้าหวาย ขจรจบดอกเล็ก ตีนตุ๊กแก ไมยราบ กะเพราผี หญ้านกเขา สาบแร้งสาบกา หญ้าลิ้นงู ถั่วลิสงนา เป็นต้น และอำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม ต้อยติ่ง ตำลึง ผักโขมหิน(ต้นตั้ง) ลูกใต้ใบ เป็นต้น ในปี 2550 มีปัญหาและอุปสรรคคือเมล็ดฟ้าทะลายโจรงอกน้อยมาก ทำให้ต้องปลูกซ้ำใหม่หลายครั้ง ดังนั้นในปี 2551 ดำเนินการทดลองการจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี พบว่า วัชพืชที่สำคัญได้แก่ หญ้านกสีชมพู ปอวัชพืช ผักยาง เป็นต้น การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 วันหลังปลูกมีจำนวนวัชพืชและน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด ขณะที่วิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักแห้งวัชพืชมากที่สุด ส่วนความสูงของการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และวิธีไม่มีการกำจัดวัชพืช มีความสูงมากว่ากรรมวิธีอื่นๆ การแตกแขนงของฟ้าทะลายโจรทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ น้ำหนักสดฟ้าทะลายโจร กรรมวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้น้ำหนักสูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีแผ่นชีวมวล และหญ้าคาแห้งในทำนองเดียวกัน ผลผลิตฟ้าทะลายโจรของกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ

รหัสการทดลอง 01-12-49-06-02-05-01-49

570.0 กิโลกรัม/ไร่ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีแผ่นชีวมวลคือ 461.2 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับด้วยหญ้าคาแห้ง สารกำจัดวัชพืช oxadiazon พลาติกสีดำเทา สารกำจัดวัชพืช alachlor และวิธีไม่มีการกำจัดวัชพืช

คำนำ

ฟ้าทะลายโจร มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees ในวงศ์ Acanthaceae เป็นพืชสมุนไพรที่ชาวจีนและอินเดียใช้เป็นยาโบราณ แก้ไข้ แก้อาการอักเสบ และท้องเสีย เป็นพืชที่มีความสำคัญเป็น 1 ใน 12 ของสมุนไพรในแผนยุทธศาสตร์ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2547; และสมพิศ และเพ็ญศรี,2548) ฟ้าทะลายโจรมีการนำมาใช้เป็นอาหารและยา (เพ็ญศรี,2549) คนไทยรู้จักพืชสมุนไพรชนิดนี้มานานนำมาใช้แก้อาการไอ เจ็บคอ (เพ็ญศรี,2546) ฟ้าทะลายโจรเป็นวัชพืชที่มีคุณสมบัติเป็นสมุนไพร (เพ็ญศรี ,2550) เป็นยารักษาโรคของมนุษย์ตั้งแต่สมัยโบราณ ในหลายตำรับจนเป็นภูมิปัญญาไทย (ยิ่งยง และปราโมทย์, 2550) สิ่งที่กำลังได้รับความสนใจมากขึ้น คือการนำฟ้าทะลายโจรมาใช้ในกระบวนการผลิตสัตว์ เพื่อลดและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคและเจริญเติบโตของสัตว์ การใช้ยาปฏิชีวนะทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการซื้อจากต่างประเทศ และยาปฏิชีวนะนี้ตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์ ซึ่งมีผลกระทบต่อมนุษย์ จึงต้องหาสิ่งทดแทนซึ่งพืชสมุนไพรสามารถใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะได้ ทำให้ลดต้นทุนการผลิต และมีผลตกค้างต่อมนุษย์น้อยลง ฟ้าทะลายโจรผลิตเป็นวัตถุดิบผสมในอาหารสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์เช่น ไก่ เป็ด และสุกร อย่างกว้างขวาง มีสรรพคุณรักษาโรคสัตว์ได้ เช่น แก้บิด ลำไส้อักเสบในลูกสุกร แก้โรคขี้ขาวในเป็ด ไก่ แก้โรคปากเปื่อยและโรคขาอ่อนในลูกเป็ด ฟ้าทะลายโจรมีสารสำคัญในทางยาคือ Andrographolide การใช้สมุนไพรไทยควรมีการกำหนดมาตรฐาน เช่นในชุมเห็ดเทศ (Department of Medical Sciences, 2002)

การปลูกฟ้าทะลายโจรยังต้องมีการดูแลรักษาและถ้าปลูกเป็นปริมาณมาก ๆ ในเชิงพาณิชย์ ย่อมประสบปัญหากับวัชพืช วัชพืชทำให้การปฏิบัติงานไม่สะดวก และประการสำคัญทำให้ผลผลิตลดลง เนื่องจากเป็นพืชเช่นเดียวกัน มีผลทำให้แย่งปัจจัยในการเจริญเติบโต น้ำ แสงแดด เป็นต้น ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อศึกษาถึงวัชพืชที่มีในสุมนไพรฟ้าทะลายโจรว่ามีปัญหาวัชพืชอะไรบ้าง และวัชพืชที่สำคัญของฟ้าทะลายโจร เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างวัชพืช เช่น ที่แซะ เสียมเล็ก
2. กรอบสี่เหลี่ยมขนาด 50X50 ซม.
3. ไม้วัด สมุดบันทึกข้อมูล
4. แผงอัดพืช (Herbarium)
5. ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ เชือกฟาง

วิธีการ

การสำรวจวัชพืชในฟ้าทะลายโจร ในปี 2549 ใช้วิธีการ restricted random sampling ในแต่ละแปลงปลูก สุ่มกรอบขนาด 50x 50 ซม. จำนวน 4 กรอบ แล้วนำมาคำนวณหาค่าความหนาแน่นของวัชพืชแต่ละชนิด ความถี่ของวัชพืชแต่ละชนิดที่พบ และความเด่นของวัชพืชที่สำรวจพบ

ในปี 2550 วางแผนการทดลอง แบบ Split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย รวมเป็น 12 กรรมวิธี ดังนี้

Main plot วิธีการปลูกฟ้าทะลายโจร มี 3 วิธี

M1 ปลูกแบบหยอด

M 2 ปลูกแบบโรยเป็นแถว

M3 ปลูกแบบหว่าน

Sub plot วิธีการกำจัดวัชพืช มี 4 วิธี

S1 การคลุมแปลงด้วยหญ้าคาแห้ง

S2 สารกำจัดวัชพืช alachlor อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่

S3 กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 40 วันหลังปลูก

S4 ไม่มีการกำจัดวัชพืช

เตรียมดินด้วยการไถพรวนให้ดินร่วนซุย เพื่อกำจัดวัชพืชเดิมให้หมด ขุดยกร่องทำเป็นแปลง ความกว้างของแปลง 2.4 เมตร ความยาว 3 เมตร ปลูกแบบหยอดโดยมีระยะปลูกระหว่างต้น 30 เซ็นติ เมตร และระหว่างแถว 60 เซ็นติเมตร ใส่ปุ๋ยคอกรองก้นหลุม 125 กรัมต่อหลุม เกลี่ยดินกลบ บางๆ ปลูกแบบหว่าน ใช้หว่านตามอัตราที่กำหนด ส่วนวิธีการโรยเป็นแถว โรยเมล็ดต่อเนื่อง ซึ่งมีระยะระหว่างแถว 60 เซ็นติเมตร การกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีที่ 1 ด้วยการคลุมหญ้าคาแห้ง 0.5 กิโลกรัม/ตารางเมตร สารกำจัดวัชพืช alachlor ใช้อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 40 วันหลังปลูก และไม่มีการกำจัดวัชพืชเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

ในปี 2551 วางแผนการทดลอง แบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 7 กรรมวิธี ดังนี้

1). การคลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา 2). การคลุมแปลงด้วยหญ้าคาแห้ง 3).สารกำจัดวัชพืช oxadiazon อัตรา 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ 4). การคลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล 5). สารกำจัดวัชพืช alachlor อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ 6). กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 วันหลังปลูก 7). ไม่มีการกำจัดวัชพืช

เตรียมดินด้วยการไถพรวนให้ดินร่วนซุย เพื่อกำจัดวัชพืชเดิมให้หมด ขุดยกร่องทำเป็นแปลง ความกว้างของแปลง 4 เมตร ความยาว 4 เมตร ปลูกแบบหยอดโดยมีระยะปลูกระหว่างต้น 40 เซนติ เมตร และระหว่างแถว 50 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยคอกรองก้นหลุม 125 กรัมต่อหลุม เกลี่ยดินกลบ บางๆ ปลูกด้วยการย้ายต้นกล้าที่อายุประมาณ 30 วัน การกำจัดวัชพืชทำตามกรรมวิธี ด้วยการคลุมพลาติกสีดำเทา คลุมด้วยหญ้าคาแห้ง 1 กิโลกรัม/ตารางเมตร พ่นสารกำจัดวัชพืช oxadiazon ใช้อัตรา 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ คลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล พ่นสารกำจัดวัชพืช alachlor ใช้อัตรา 300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 วันหลังย้ายปลูก และไม่มีการกำจัดวัชพืชเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

เวลาและสถานที่

ดำเนินการในปี 2549 และในพื้นที่แหล่งปลูกจำนวน 5 จังหวัด ได้แก่

1.บ้านดงบัง ต.ดงขี้เหล็ก อ.เมือง จ. ปราจีนบุรี

2. บ้านม่วงโพธิ์ ต.เขาหินซ้อน อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา

3. บ้านดงโค่ง ต.หินดาด อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี

4. บ้านห้วยศาลา ต.ดงหัก อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี

5. ปฐมอโศก ต.พระประโทน อ.เมือง จ.นครปฐม

ในแต่ละแปลงฟ้าทะลายโจร สุ่มเก็บวัชพืช จำนวน 4 กรอบ ซึ่งกรอบสี่เหลี่ยมขนาด 50X50 ซม แล้วนำมาจำแนกชนิด บันทึกปริมาณวัชพืช และรวบรวมชื่อวิทยาศาสตร์ให้เป็นหมวดหมู่ พร้อมทั้งคำนวณหาความหนาแน่นสัมพันธ์ (relative density) ความถี่ที่พบวัชพืช (relative frequency) และดัชนีความสำคัญของวัชพืช (weed important index)

ในปี 2550 ดำเนินการทดลองการจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี

ในปี 2551 ได้เปลี่ยนแผนการทดลองเพื่อสามารถปฏิบัติงานได้ ดำเนินการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจรที่ บ้านดงบัง อ.เมือง จ. ปราจีนบุรี เป็นแหล่งผลิตวัตถุดิบให้กับ โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร์ เกษตรกรมีปัญหาวัชพืชมากโดยเฉพาะผักโขมหนาม ทำให้ปฏิบัติงานไม่สะดวกและขาดแคลนแรงงาน วัชพืชที่สำคัญ ได้แก่ ประเภทใบแคบ หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา หญ้าปากควาย หญ้าแพรก หญ้าไผ่ ประเภทใบกว้าง ได้แก่ หญ้ายาง ผักปราบ หญ้าเขมร สาบแร้งสาบกา ผักกะสัง ผักโขมหนาม ผักเสี้ยนผี ผักโขม ลูกใต้ใบ น้ำนมราชสีห์ หูปลาช่อน เงี่ยงป่า ตำแย บานไม่รู้โรยป่า หญ้าละออง สะอึก ปอวัชพืช มะระขี้นก ประเภทกก แห้วหมู กกดอกเขียว ตะกรับ วิธีการปลูกฟ้าทะลายโจรด้วยวิธีการต่างๆ เช่นปลูกเป็นแถว หยอดเป็นหลุม ทำให้มีปัญหาวัชพืชแตกต่างกันออกไป (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2544)

การสำรวจที่ อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา วัชพืชที่สำคัญ ได้แก่ ผักแครด ลูกใต้ใบ สะอึก ถั่วผี ขยุ้มตีนหมา น้ำนมราชสีห์ ผักโขมหิน ผักเสี้ยนผี หญ้ายาง สาบเสือ หญ้าดอกแดง และหญ้ารังนก เป็นต้น ส่วนที่อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี พบวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้าตีนนก หญ้านกสีมพู เป็นต้น ส่วนที่ อำเภอปากท่อ จังหวัดราชบุรี พบ หญ้าดอกแดง หญ้าหวาย ขจรจบดอกเล็ก ตีนตุ๊กแก ไมยราบ กะเพราผี หญ้านกเขา สาบแร้งสาบกา หญ้าลิ้นงู ถั่วลิสงนา เป็นต้น และอำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม พบ ต้อยติ่ง ตำลึง ผักโขมหิน(ต้นตั้ง) ลูกใต้ใบ เป็นต้น (ตาราง 1)

ในปี 2550 แปลงทดลองการปลูกฟ้าทะลายโจร ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี มี ปัญหาในเรื่องการงอกของเมล็ดฟ้าทะลายโจร เพราะงอกได้น้อย ทำให้ต้องปลูกซ้ำใหม่หลายครั้ง อย่างไรก็ตามได้เก็บข้อมูลชนิดวัชพืชที่พบในแปลงทดลองรวมทั้งหมด 28 ชนิด (ตาราง 2) วัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link) หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* Gard.& Hubb.) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* L. (Link) หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.) วัชพืชประเภทใบกว้าง เช่น ปอวัชพืช (*Corchorus aestuans* L.) หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* .) ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* L.) ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.) และพบวัชพืชประเภทกก ได้แก่ แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)

ในปี 2551 จำเป็นต้องปรับเปลี่ยนแผนการทดลองใหม่เป็นการย้ายกล้าปลูก ทำให้การทดลองดำเนินการไปด้วยดี จนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิต ผลการทดลองพบว่า การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 วันหลังปลูกมีจำนวนวัชพืชน้อยที่สุด ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับสาร alachlor และวิธีไม่มีการกำจัดวัชพืช ส่วนน้ำหนักแห้งวัชพืชเป็นไปในทำนองใกล้เคียงกัน คือ วิธีการใช้แรงงานมีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุดและแตกต่างทางสถิติกับทุกกรรมวิธี ขณะที่วิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักแห้งวัชพืชมากที่สุด (ตาราง 3) ส่วนความสูงของการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และวิธีไม่มีการกำจัด

วัชพืช มีความสูงมากว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากการใช้แรงงานมีผลทำให้มีประชากรของวัชพืชน้อย ฟ้าทะลายโจรสามาถเจริญเติบโตได้เต็มที่ ส่วนวิธีไม่กำจัดวัชพืชจำเป็นต้องแข่งขันกับวัชพืชจึงต้องยืดลำต้นให้สูงขึ้น สำหรับ การแตกแขนงของฟ้าทะลายโจรทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตาราง 4) น้ำหนักสดฟ้าทะลายโจร กรรมวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้น้ำหนักสูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีแผ่นชีวมวล และหญ้าคาแห้ง ในทำนองเดียวกัน ผลผลิตฟ้าทะลายโจรของกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ 570.0 กิโลกรัม/ไร่ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีแผ่นชีวมวลคือ 461.2 กิโลกรัม/ไร่ ซึ่งทั้ง 2 วิธีการเป็นวิธีการที่ไม่ต้องสารกำจัดวัชพืช ตามลำดับด้วยหญ้าคาแห้ง สารกำจัดวัชพืช oxadiazon พลาติกสีดำเทา สารกำจัดวัชพืช alachlor และวิธีไม่มีการกำจัดวัชพืช ได้ผลผลิต 417.5 ,320.4, 310.0,231.7 และ 172.9 กิโลกรัม/ไร่ (ตาราง 5)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจร พบวัชพืชทั้งหมด 46 ชนิด
2. จำนวนวัชพืชที่สำรวจพบในแปลงฟ้าทะลายโจร โดยแบ่งประเภทเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัด คือ ประเภทวัชพืชใบแคบ พบจำนวน 11 ชนิด ประเภทใบกว้างพบจำนวน 31 ชนิด และประเภทวัชพืชกก พบจำนวน 4 ชนิด

3.การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้น้ำหนักวัชพืชน้อยที่สุด มีผลทำให้ผลผลิตสูงที่สุดแต่ไม่แตกต่างกับวิธีแผ่นชีวมวล ซึ่งทั้ง 2 วิธีการสามารถแนะนำให้เกษตรกรที่ปลูกฟ้าทะลายโจรนำไปปฏิบัติได้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2544. มาตรฐานสมุนไพรไทยฟ้าทะลายโจร. สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 66 หน้า.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2547. แผนยุทธศาสตร์การพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร. คณะกรรมการพัฒนาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพร. กระทรวงสาธารณสุข.120 หน้า.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ.2546. สมุนไพรกับคนไทย (ตอนที่ 1). กสิกร. 76(6) หน้า 97-103.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2547. สมุนไพรกับคนไทย (ตอนจบ). กสิกร. 77(1) หน้า 72-81.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ.2549. สมุนไพรที่ใช้ตามอาการของโรค. กสิกร. 79(2) หน้า 43-53.

เพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2550. วัชพืชสมุนไพร. กสิกร. 80(1) หน้า 103-110.

ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ. 2546. พืชสมุนไพรในสวนป่าสมุนไพรเขาหินซ้อน. สวนพฤกษศาสตร์ภาคตะวันออก(เขาหินซ้อน) อำเภอ พนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา. 101 หน้า.

สมพิศ ไม้เรียง และเพ็ญศรี นันทสมสราญ. 2548. พืชสมุนไพร...ในแผนยุทธศาสตร์ชาติ. กสิกร. 78(6) หน้า 72-83.

สมภพ ประธานธุรารักษ์ และพร้อมจิตร ศรลัมพ์. 2547. สมุนไพรการพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์ที่ยั่งยืน. เฟื่องฟ้าการพิมพ์ กรุงเทพฯ. 163 หน้า.

ยิ่งยง ไพสุขศานติวัฒนา และปราโมทย์ สฤษดิ์นิรันดร์. 2550. การพัฒนาเพิ่มผลผลิตและปริมาณสารแลคโตนของฟ้าทะลายโจร 3 พันธุ์เพื่อใช้ในปศุสัตว์แบบยั่งยืนในเขตจังหวัดสระบุรี. บนเส้นทางงานวิจัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี 2550. วันที่ 26 มกราคม-3 กุมาพันธ์ 2550. ณ อาคารจักรพันธ์เพ็ญศิริ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (แผ่นพิมพ์).

Department of Medical Sciences. 2002. Standard of Thai Herbal Medicine. *Senna alata* (L.) Roxb. E.T.O. Press , Bangkok. 80 p.

International Council on Medicinal and Aromatic Plants. 2003. A Proceedings of WOCMAP III: The IIIrd World Congress on Medicinal and Aromatic Plants. Chiang Mai,Thailand. February 3-7 , 2003. 191 p.

ตาราง 1 ชนิดวัชพืชที่ปรากฏในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจรของ 5 จังหวัด

ชนิดวัชพืช	อ.เมือง จ. ปราจีนบุรี	อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา	อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี	อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี	อ.เมือง จ.นครปฐม
วัชพืชประเภทใบแคบ					
หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.)	X		X		
หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) (Link))			X		
หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* L. (Link)	X				
หญ้าปากควาย(*Dactyloctenium aegyptium* Willd.)	X				X
หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees					X
หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon* Pers.)	X				
หญ้าหวาย (*Eragrostis tenella* (L.) P. Beauv.)				X	
หญ้าไผ่ (*Ottochloa nodosa* Dandy)	X				
หญ้าดอกแดง (*Rhynchelytrum repens* C.E.Hubb)		X		X	
หญ้ารังนก (*Chloris barbata* Sw)		X			
หญ้าขจรจบดอกเล็ก (*Pennisetum polystachyon* (L.) Schult.)				X	
วัชพืชประเภทใบกว้าง					
สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.)	X			X	
หญ้ายาง (*Euphorbia heterophtlla* L.)	X	X			
ผักปราบ (*Commelina diffusa* Burm.f.)	X				
กระดุมใบใหญ่ (*Borreria latiforia* (Aubl.K.Sch)	X				
ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L.)	X	X			
ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.)	X				
ผักโขม (*Amarathus viridis* L.)	X				
ผักกระสัง (*Peperomia pellucida* Korth)	X	X			
ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schumach & Thonn.)	X	X			X
น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta* L.)	X				
หูปลาช่อน (*Emilia sonchifolia* DC.)	X				
เงี่ยงปา (*Lindernia ciliata* Pennell)	X				
ตำแย (Laportea bulbifera Wedd.)	X				

ตาราง 1 (ต่อ) ชนิดวัชพืชที่ปรากฏในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจรของ 5 จังหวัด

ชนิดวัชพืช	อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี	อ.พนมสารคราม จ.ฉะเชิงเทรา	อ.ทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี	อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี	อ.เมือง จ.นครปฐม
บานไม่รู้โรยป่า (*Gomphrena celosoides* Mart.)	X				
หญ้าละออง (*Vernonia cinerea* Lees.)	X				
สะอึก (*Ipomoea gracillis* R.Br.)	X	X			
ปอวัชพืช (*Corchorus olitorius* L.)	X				
มะระขี้นก (*Monordica charantia* L.)	X				
ผักแครด (*Synedrella nodiflora* Gaertn.)		X			
ถั่วผี (*Phaseolus lathyroides* L.f.)		X			
ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pes-tigridis* L.)		X			
ผักโขมหิน (ต้นตั้ง) (*Boerhavia erecta* L.)		X			X
สาบเสือ (*Chromolaena odorata* R.M.King)		X			
ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* L.)				X	
ไมยราบ (*Mimosa pudica* L.)				X	
กะเพราผี (Hyptis sauveolens Poit.)				X	
หญ้านกเขา (*Mollugo pentaphylla* L.)				X	
หญ้าลิ้นงู (*Hedyotis biflora* Lamk.)				X	
ถั่วลิสงนา (*Alysicarpus vaginalis* (L.) DC.)				X	
ต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* L.)					X
ตำลึง (*Coccinia grandis* Voigt)					X
วัชพืชประเภทกก					
กกดอกเขียว (*Cyperus brevifolius* Hassk.	X		X		
ตะกรับ (*Cyperus procerus* Rottb.)	X				
แห้วหมู (*Ccyperus rotundus* L.)	X				
กกทราย (*Cyperus iria* L.)		X	X		

ตาราง 2 ชนิดวัชพืชในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจร ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี ปี 2550-2551

ใบแคบ	ใบกว้าง	กก
หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link)	ปอวัชพืช (*Corchorus olitorius* L.)	แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.)
หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* Gard.& Hubb.)	หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* .)	
หญ้าตีนกา (*Eleusine indica* L. (Link)	ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* L.)	
หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* (Retz.) Koel.)	ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.)	
หญ้าปากควาย(*Dactyloctenium aegyptium* Willd.)	ขยุ้มตีนหมา (*Ipomoea pes-tigridis* L.)	
หญ้าดอกแดง (*Rhynchelytrum repens* C.E.Hubb)	ผักโขมหิน (ต้นตั้ง) (*Boerhavia erecta* L.)	
หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees)	สะอึก (*Ipomoea gracillis* R.Br.)	
หญ้าชันกาด (*Panicum repens* L.)	ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schumach & Thonn.)	
หญ้าปุ้ง (*Cenchrus echinatus* L.)	ปอวัชพืช (*Corchorus olitorius* L.)	
	หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* L.)	
	ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* L.)	
	น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta* L.)	
	ผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*Forsk.)	
	หญ้ากำมะหยี่ (*Lagascea mollis* Cav.)	
	เซ่งใบมน (*Melochia corchorifolia* L.)	
	กะทกรก (*Passiflora foetida* L.)	
	ผักเค็ด (*Cassia tora* L.)	
	Unknown ใบกว้าง	

ตาราง 3 จำนวนวัชพืชและน้ำหนักแห้งในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจร ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี ปี 2551

กรรมวิธี	จำนวนวัชพืช (ต้น/ตร.ม)	น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตร.ม)
การคลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา	38.5 abc	231.0 b
การคลุมแปลงด้วยหญ้าคาแห้ง	26.0 ab	160.0 b
สาร oxadiazon อัตรา 160 กรัม/สารออกฤทธิ์/ไร่	48.0 abc	220.5 b
การคลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล	31.0 abc	175.0 b
สารalachlor อัตรา300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	58.0 bc	198.5 b
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 วันหลังปลูก .	17.5 a	26.5 a
ไม่มีการกำจัดวัชพืช	62.5 c	275.0 b
C.V.(%)	49.4	40.6

ตาราง 4 ความสูงและการแตกแขนงของฟ้าทะลายโจร ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี ปี 2551

กรรมวิธี	ความสูง(ซม.)	การแตกแขนง(แขนง/ต้น)
การคลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา	20.3 b	13.7 a
การคลุมแปลงด้วยหญ้าคาแห้ง	23.5 ab	15.1 a
สาร oxadiazon อัตรา 160 กรัม/ไร่	24.0 ab	14.7 a
การคลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล	23.2 ab	15.1 a
สารalachlor อัตรา300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	22.4 ab	13.8 a
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 วันหลังปลูก .	26.1 a	14.4 a
ไม่มีการกำจัดวัชพืช	26.7 a	15.6 a
C.V.(%)	12.6	13.8

ตาราง 5 น้ำหนักสดและผลผลิตฟ้าทะลายโจร ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี จังหวัดกาญจนบุรี ปี 2551

กรรมวิธี	น้ำหนักสด(กก./ไร่)	ผลผลิต(กก./ไร่)
การคลุมแปลงด้วยพลาสติกดำเทา	796.7 bc	310.0 cd
การคลุมแปลงด้วยหญ้าคาแห้ง	1123.3 ab	417.5 bc
สาร oxadiazon อัตรา 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	821.7 bc	320.4 cd
การคลุมแปลงด้วยแผ่นชีวมวล	1376.7 a	461.2 ab
สารalachlor อัตรา300 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	491.7 cd	231.7 de
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 วันหลังปลูก .	1426.7 a	570.0 a
ไม่มีการกำจัดวัชพืช	435.0 d	172.9 e
C.V.(%)	24.1	23.1

ศึกษา รวบรวม สายพันธุ์วัชพืชสมุนไพรและไม้น้ำ

Survey and collection of herbal weeds and aquatic plants

ศิริพร ซึงสนธิพร[1] แสงมณี ชิงดวง[2] มัตติกา ทองรส[1]

[1]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2]งานวิจัยพืชสมุนไพรและเครื่องเทศน์ สถาบันวิจัยพืชสวน

รายงานความก้าวหน้า

ความตื่นตัวเกี่ยวกับผลกระทบด้านลบของสารเคมีสังเคราะห์ ทำให้มีการตื่นตัวใช้สารเคมีจากธรรมชาติกันมากขึ้น ประเทศไทยซึ่งมีความหลากหลายทางชีวภาพสูงและมีภูมิความรู้เกี่ยวกับพืชสมุนไพรมากมาย ซึ่งบางท่านกล่าวว่าพืชทุกชนิดเป็นสมุนไพรทั้งนั้น ซึ่งข้อเด่นที่ควรนำมาใช้ประโยชน์ แต่เนื่องจากพืชสมุนไพรหลายชนิด อาจมีลักษณะใกล้เคียงกัน เช่นพืชที่อยู่ในสกุลเดียวกัน มักมีลักษณะใกล้เคียงกันมาก หากนำชนิดผิดไปใช้ จะทำให้ไม่ได้ผลตามที่ต้องการ และนอกจากนี้ในปัจจุบันยังมีการนำพืชจากต่างประเทศเข้ามาเพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ กัน ซึ่งบางชนิดอาจมีลักษณะคล้ายคลึงกับพืชสมุนไพรของไทย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้คือเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดข้อผิดพลาดนำชนิดที่ผิดไปใช้ จึงทำการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างพืชและไม้น้ำบางชนิดที่มีศักยภาพเป็นพืชสมุนไพร พร้อมทั้งไม้เนื้ออ่อนในสกุลเดียวกัน เพื่อใช้สำหรับเปรียบเทียบและตรวจสอบชนิดที่ถูกต้อง ไว้ที่กลุ่มวิจัยวัชพืช โดยมุ่งเน้นพืชในสกุลเอื้องเพชรม้า (*Polygonum*) สกุลผักคางไก่ (*Sagittaria*) สกุลหญ้างวงช้าง (*Heliotropium*) สกุลก้นจ้ำ (*Bidens*) สกุลผักเสี้ยนผี (*Cleome*)

รหัสการทดลอง 01-12-51-02-03-06-01-51

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์ ที่จำเป็นในการสำรวจ ได้แก่ แผนที่ สมุดบันทึก กล้องถ่ายภาพ กรรไกร เสียม กระถางและถุงพลาสติกขนาดต่างๆ กัน แผงอัดตัวอย่างพรรณไม้พร้อมกระดาษอัด และอุปกรณ์อื่นที่จำเป็น

การสำรวจและรวบรวม ทำการสำรวจในแหล่งที่มีดินชุ่มชื้น เพื่อสำรวจรวบรวมพืชสกุลเอื้องเพชรม้า ผักคางไก่ และสภาพที่ดอนสำหรับพืชสกุลหญ้างวงช้าง สกุลก้นจ้ำ และสกุลผักเสี้ยน เมื่อพบเก็บเมล็ด หรือขุดต้น เพื่อนำมารวบรวมและตรวจสอบชนิดพันธุ์ต่อไปที่กลุ่มวิจัยวัชพืช

การตรวจสอบชื่อชนิดพืช สำหรับพืชที่ไม่ทราบชนิด สามารถทำการตรวจสอบโดยวิธีการดังนี้

- ตรวจสอบกับเอกสารต่างๆ ที่เกี่ยวกับชนิดพืชและวัชพืช ของประเทศไทย และประเทศต่างๆ 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 นอกจากนี้ยัง

- ตรวจสอบกับผู้ทรงคุณวุฒิด้านอนุกรมวิธานพืช โดยการส่งตัวอย่างพืชแห้ง หรือสด พร้อมรูปถ่าย ไปตรวจสอบกับผู้ทรงคุณวุฒิด้านอนุกรมวิธานในหน่วยงานภาครัฐ เช่น กรมวิชาการเกษตร กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น USDA, Akita University ประเทศญี่ปุ่น เป็นต้น

- เทียบตัวอย่างพืชที่มีในพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กลุ่มวิจัยเพื่อการคุ้มครองพันธุ์พืช กองคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร และหอพรรณไม้ สำนักหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช

เวลาดำเนินการ เริ่มตั้งแต่ ตุลาคม 2551 สิ้นสุด กันยายน 2554

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในปีงบประมาณ 2551 ได้รวบรวมพืชสกุลเอื้องเพชรม้า 4 ชนิด อยู่ระหว่างการตรวจสอบชนิดที่ถูกต้อง

สำหรับสกุลผักคางไก่ (*Sagittaria*) พบพืชที่เป็นวัชพืชในนาข้าว 2 ชนิด (ภาพที่ 1) ได้แก่

- เต่าเกียด ผักคางไก่ (*Sagittaria guayanensis* Humb., Bonpl. & Kunth.) และ
- เต่าเกียด ขาเขียด นางกวัก หูกวาง ผักคางไก่ ผักตีนกา(*Sagittaria sagittifolia* L.)

สกุลหญ้างวงช้างพบ 4 ชนิด (ภาพที่ 2) แต่สามารถตรวจสอบได้เพียง 2 ชนิด ได้แก่

- หญ้างวงช้าง กุนอกาโม ผักแพวขาว หญ้างวงช้างน้อย (*Heliotropium indicum* L.)
- หนวดปลาหมึก หญ้านกยูง (*Heliotropium strigosum* Willd.)

สกุลก้นจ้ำ พบพืช 2 ชนิด 3 สายพันธุ์ (ภาพที่ 3) ได้แก่

- ก้นจ้ำ *Bidens biternata* (Lour.) Merr. & Sherff
- ปืนนกไส้ กี่นกไส้ หญ้าก้นจ้ำขาว ก้นจ้ำ (*Bidens pilosa* L. var. minor)
- ก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ (*Bidens pilo*sa L. var. *radiata*)

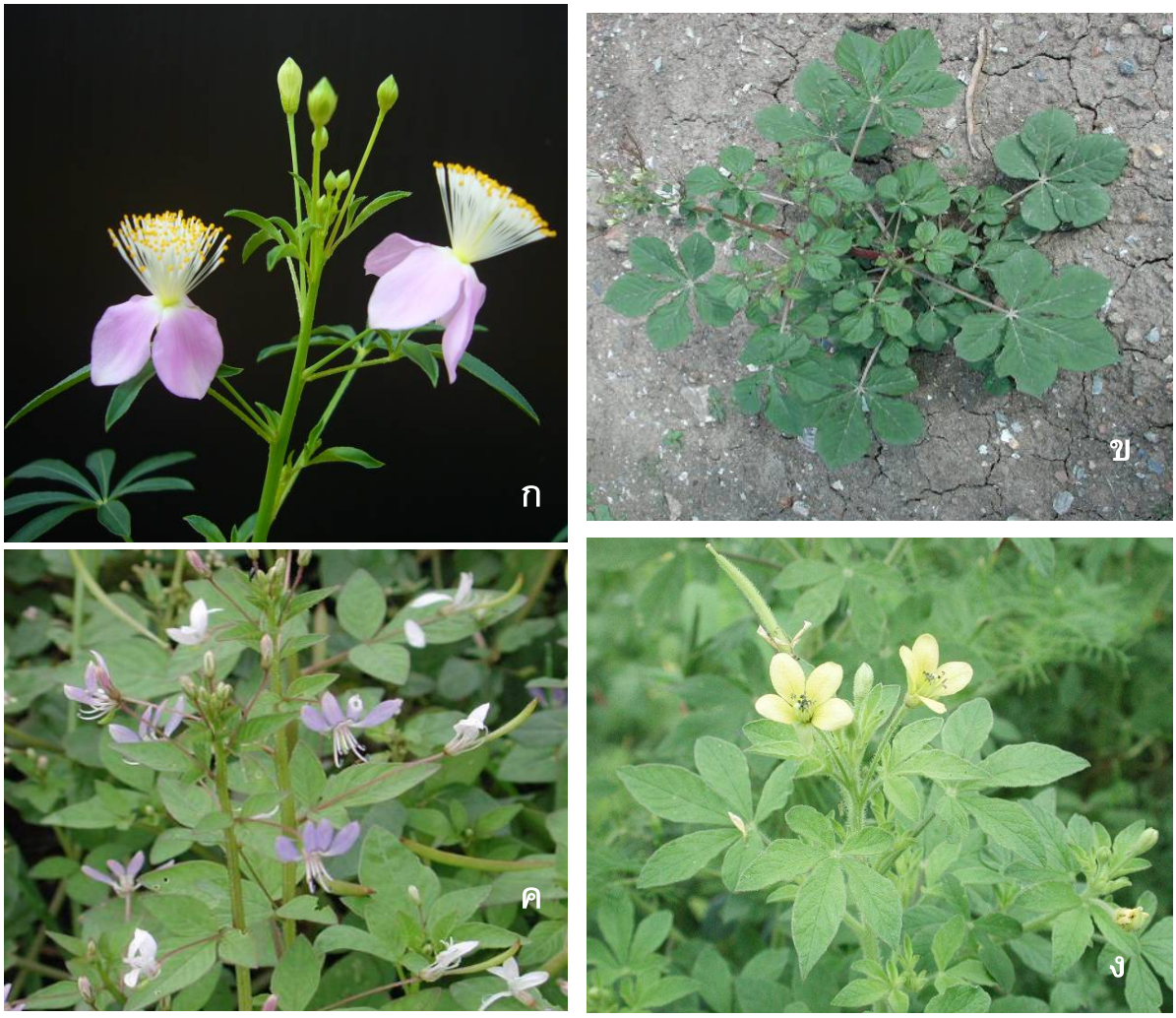
ผักเสี้ยนได้ 4 ชนิด (ภาพที่ 4) ได้แก่

- ผักเสี้ยนป่า ผักส้าน (*Cleome chelidonii* L.f.)
- ผักเสี้ยน ผักส้มเสี้ยน ผักเสี้ยนขาว (*Cleome gynandra* L.)
- ผักเสี้ยนขน ผักเสี้ยนผี (*Cleome rutidosperma* DC.) และ
- ผักเสี้ยนผี ผักส้มเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* L.)

ภาพที่ 1 พืชสกุลผักคางไก่ ก. *S. Guayanensis* Humb., Bonpl. & Kunth. ข. *S. Sagittifolia* L.

ภาพที่ 2 พืชสกุลหญ้างวงช้าง ก. *H. Indicum* L. ข. *H. strigosum* Willd.
ค. งวงช้างดอกขาว จากจังหวัดกาญจนบุรี ง. งวงช้างดอกขาว จากจังหวัดเพชรบูรณ์

ภาพที่ 3 พืชสกุลก้นจ้ำ ก. *B. biternata* (Lour.) Merr. & Sherff
ข. *B. pilosa* L. var. *minor*
ค. *B. pilo*sa L. var. *radiata*)



ภาพที่ 4 พืชสกุลผักเสี้ยน ก. *C. chelidonii* L.f. ข. C. *gynandra* L.
ค. C. *rutidosperma* DC. และ ง. C. *viscosa* L.

การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

Study on Bacterial Diseases of Orchids

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ จงวัฒนา พุ่มหิรัญ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน

บทคัดย่อ

สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้สกุลการค้า ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือน กันยายน 2551 ในแหล่งปลูกกล้วยไม้ 14 จังหวัด จากการเก็บตัวอย่าง แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค ศึกษาลักษณะโคโลนีบนอาหาร ปลูกเชื้อทดสอบการเกิดโรค ทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีและการใช้คาร์บอน (Biolog® test) วินิจฉัยโรคตามลักษณะอาการและจำแนกเชื้อได้ 4 ชนิด คือ 1. โรคเน่า เชื้อสาเหตุแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* พบบนกล้วยไม้สกุลแวนดา สกุลฟาแลนอปซิส และสกุลหวาย 2. โรคเน่าเละ เชื้อสาเหตุแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp.*carotovora* พบบนกล้วยไม้สกุลออนซิเดียม 3. โรคใบจุดแบคทีเรีย อาการแผลจุดเริ่มแรกเป็นสีเขียวถึงเหลืองอ่อน ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้นเป็นสีน้ำตาลถึงดำ แผลมีลักษณะเป็นแอ่งบุ๋มตรงกลาง มีวงสีเหลือง (halo) ล้อมรอบ จำแนกแบคทีเรียสาเหตุโรค เป็น *Acidovorax avenae* subsp.*cattleyae* พบการแพร่ระบาดในกล้วยไม้หลายสกุล ได้แก่ สกุลแวนดา สกุลแอสโคเซนดา ลูกผสมแวนดา สกุลช้าง สกุลฟาแลนอปซิส ซึ่งอาการแผลแตกต่างจากบนกล้วยไม้สกุลอื่นเล็กน้อย คือแผลจุดที่ขยายใหญ่รูปร่างหลายลักษณะ กลางแผลเป็นสีดำ หรืออาจเป็นสีขาวบริเวณกลางแผลขอบดำ มี halo สีเหลืองล้อมรอบ และ 4. โรคเน่าเละ จากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia chrysanthemi* เข้าทำลายกล้วยไม้หลายสกุล พบในสกุลหวาย สกุลแวนดา สกุลแคทลียา สกุลช้าง และสกุลฟาแลนอปซิส เข้าทำลายกล้วยไม้ที่ใบ ทำให้ใบเน่าช้ำเนื้อเยื่อใบเน่าเละสีเขียวหรือสีน้ำตาลอ่อน บางครั้งพบอาการใบโป่งพอง เนื้อใบเน่าเละแยกจากผิวใบ อาการที่ลำต้นเน่าช้ำ หักพับได้ง่าย โดยโรคใบจุดและโรคเน่าเละจากเชื้อ *E. chrysanthemi* เป็นโรคที่พบใหม่ พบการระบาดที่รวดเร็วและค่อนข้างรุนแรง ซึ่งจะยืนยันผลการจำแนกชนิดเชื้อโดยวิเคราะห์ลำดับเบส และทดสอบการเกิดโรคศึกษาลักษณะอาการโรคจากเชื้อแบคทีเรียบนกล้วยไม้ข้ามสกุลในลำดับต่อไป

รหัสการทดลอง 01-15-49-01-01-03-03-51

คำนำ

กล้วยไม้เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจของประเทศไทย จัดอยู่ในวงศ์ Orchidaceae การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้การค้าในประเทศไทยมีหลากหลายสกุล ได้แก่ สกุลหวาย แวนดา แคทลียา ม็อคคาร่า สกุลช้าง สกุลรองเท้านารี สกุลม้าวิ่ง สกุลกุหลาบ สกุลเรแนนเธอรา สกุลแอสโคเซนดา สกุลอะแรนดา และสกุลเข็ม (ดวงพร, 2547) แหล่งปลูกกล้วยไม้ที่สำคัญ ได้แก่ กรุงเทพมหานคร สมุทรสงคราม นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี อยุธยา นนทบุรี ปทุมธานี ชลบุรี นครราชสีมา นครสวรรค์ เชียงใหม่ โดยมีการจำหน่ายในประเทศและส่งออกต่างประเทศในรูปกล้วยไม้ตัดดอกและขายต้น ในปี พ.ศ. 2550 มูลค่าการส่งออกกล้วยไม้ประเภทตัดดอกและต้นรวมกว่า 3,000,000,000 ล้านบาท

โรคพืชนับเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในการผลิตกล้วยไม้ สืบเนื่องจากในเดือนกรกฎาคม 2550 ได้รับตัวอย่างโรคกล้วยไม้ลูกผสมแวนดา อาการใบจุดมีขอบสีเหลือง รอบแผลมีลักษณะช้ำฉ่ำน้ำ ต่อมาแผลจะขยายลุกลามติดกัน และไหม้ดำ จากการสอบถามข้อมูล พบเข้าทำลายทำความเสียหายมากในทุกระยะการเจริญของกล้วยไม้แวนดา ลูกผสมแวนดา และแอสโคเซนดา จากลักษณะอาการโรค สันนิษฐานว่าอาจเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากขอบแผลมีลักษณะอาการขอบแผลช้ำฉ่ำ จากการตรวจเอกสารรายงานการเกิดโรคกล้วยไม้ในประเทศไทยจากเชื้อแบคทีเรีย พบปัญหาโรคพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย คือโรคเน่าเละ เกิดจากแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp.*carotovora* อาการเริ่มแรกเป็นจุดฉ่ำน้ำ ต่อมาลุกลามเป็นแผลช้ำขนาดใหญ่ เนื้อเยื่อจะเน่ายุบตัว ใบเน่าเละ มีกลิ่นเหม็น และโรคเน่า เกิดจากแบคทีเรีย *Burkholdrira gladioli* และ *Pseudomonas cattleyae* (นิยมรัฐ, 2547) ทั้งนี้รายงานการเกิดโรคจากเอกสารต่างประเทศ Miller (1990) กล่าวถึงการเกิดโรค bacterial brown spot จากแบคทีเรีย *Pseudomonas cattleyae* ในกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซิส แคทลียา Cypripedium สกุลหวาย ออนซิเดียม และแวนดา โดยมีอาการเนื้อเยื่อนุ่ม ช้ำฉ่ำน้ำ ต่อมาเนื้อเยื่อยุบตัวเป็นแผลสีน้ำตาลถึงดำ อาการโรคดังกล่าวสามารถทำให้ต้นกล้าฟาแลนอปซิสตายได้ โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกส่วนบนใบและสามารถติดไปกับการกระเด็นของน้ำ และ Stovold et al. (2001) รายงานการเกิดโรคใบจุดในกล้วยไม้ฟาแลนอปซิส จากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (syn. *Pseudomonas cattleyae*) ซึ่งลักษณะอาการใกล้เคียงกับโรคใบจุดของกล้วยไม้ลูกผสมแวนดา จึงทำการศึกษาสาเหตุโรค และจำแนกเชื้อ ทั้งนี้การศึกษาโรคแบคทีเรียบนกล้วยไม้ในประเทศไทยมีน้อยมาก จากการตรวจเอกสารล่าสุด เป็นการศึกษาสาเหตุโรคเน่าของกล้วยไม้สกุลหวาย ในปี 2532 โดย สุเนตรา และคณะ ปัจจุบันภาวะโลกร้อนมีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ทำให้แบคทีเรียเจริญรวดเร็ว เข้าทำลายพืช และสร้างความเสียหาย ทั้งนี้ยังไม่มีสารเคมีที่มี

ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคจากแบคทีเรีย โดยจากการศึกษาข้อมูลพบว่าแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้อยู่ในกลุ่มทนร้อน การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกล้วยไม้สกุลการค้า และสกุลอื่น ๆ ศึกษาลักษณะอาการ จำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรค ติดตามการเกิดโรค ศึกษาโอกาสการแพร่ระบาดเข้าทำลายในกล้วยไม้ข้ามสกุล เป็นข้อมูลแนะนำเกษตรกรในการป้องกันกำจัด และศึกษาการจัดการโรค รวมถึงเป็นข้อมูลสำหรับการกักกันพืช

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง ศึกษาลักษณะอาการของโรค

ติดต่อสวนเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้ สำรวจโรค และเก็บตัวอย่างอาการโรคที่สันนิษฐานว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่อาการใบเน่า ใบและลำต้นเน่าเละ อาการแผลจุดขอบแผลช้ำ แผลจุดมี halo สีเหลืองล้อมรอบ จากกล้วยไม้สกุลการค้าต่าง ๆ บันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิตอล เก็บข้อมูลพันธุ์พืช ชื่อเกษตรกร ชื่อสวน สถานที่ปลูก นำตัวอย่างโรค มาทำการศึกษาลักษณะอาการโดยละเอียด จำแนกลักษณะอาการต่าง ๆ ก่อนนำไปแยกเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

2. การแยกเชื้อ และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

การแยกเชื้อ ตัดชิ้นส่วนใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการแผลจุด โดยเลือกตัดบริเวณที่มีอาการโรคเชื่อมต่อกับส่วนที่ไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5x 0.5 มิลลิเมตร จุ่มแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบชิ้นส่วนพืชดังกล่าว วางบนหยดน้ำ 50 ไมโครลิตร ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วใช้ลูปที่ฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำ นำมาลาก (streak) บนอาหารสังเคราะห์ Wakimoto agar (PSA) Nutrient glucose agar (NGA) และ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) โดยเลือกตัดชิ้นส่วนพืชเพื่อแยกเชื้อตัวอย่างละ 2 ซ้ำ เก็บจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก คว่ำจานลง บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) 1-2 วัน จากนั้นตรวจดูโคโลนีของเชื้อที่เจริญ เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหารจนได้เชื้อบริสุทธิ์

ทำการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อ 1 ลูปเต็มละลายในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง และเก็บเชื้อในกลีเซอรอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ –20 องศาเซลเซียส และส่งเชื้อเข้า culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. **การพิสูจน์การเป็นเชื้อสาเหตุโรค**

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ บนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ความเข้มข้นประมาณ 0.2 O.D. ที่ความเข้มแสง 600 นาโนเมตร มีความเข้มข้นเชื้อประมาณ 2 x 10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อบนใบกล้วยไม้ โดยใช้กระบอกฉีดยาทูเบอร์คูลิน นิโปร ขนาด 1 มิลลิลิตร พร้อมเข็มฉีดยาขนาด 26 Gx 1/2" ทำแผลด้วยปลายเข็มแล้วหยดเซลล์แขวนลอยเชื้อปริมาตรประมาณ 5 ไมโครลิตร ปลูกเชื้อ 4 ซ้ำ ต่อใบ และใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเป็นการทดลองควบคุม จากนั้นเก็บต้นกล้วยไม้ที่ปลูกเชื้อ ในถุงพลาสติกพ่นน้ำให้ความชื้น บันทึกลักษณะอาการ ระยะเวลาการเกิดโรค การพัฒนาอาการ จากนั้นนำตัวอย่างที่แสดงอาการโรค นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันการเป็นเชื้อสาเหตุโรค ตามวิธี Koch's postulation

4. **จำแนกเชื้อโดยคุณสมบัติชีวเคมีบางประการ และการใช้คาร์บอนของแบคทีเรีย**

<u>ศึกษาลักษณะโคโลนี</u> เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ บนอาหาร NGA ใช้ลูปฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยวใส่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 200 ไมโครลิตร นำไป streak บนอาหาร บนอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 36-72 ชั่วโมง บันทึกลักษณะโคโลนี และการเจริญของเชื้อบนอาหารแต่ละชนิด

<u>ทดสอบการใช้คาร์บอน</u> เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ ใช้ลูปฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยวมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร BUG™ Agar (Biolog, Inc.) บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อในสารละลาย Inculation fluid (0.4% NaCl, 0.03% Pluronic F-68 และ 0.02% gellan gum) ที่มี 5 mM Sodium thioglycolate วัดค่าแสงส่องผ่าน (transmittance, T) 63% ด้วยเครื่อง Biolog® turbidimetor นำเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียเติมลงใน Biolog® Microplate ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ต่อหลุม บ่ม plate ที่ทดสอบที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-24 ชั่วโมง อ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Micolog™ System ที่ค่าดูดกลืนแสง ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร วิเคราะห์รูปแบบการใช้แหล่งคาร์บอน โดยนำค่าการใช้แหล่งคาร์บอนที่ให้ผลเป็นบวกหรือลบมาวิเคราะห์ด้วย Simple matching หาความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด ด้วยวิธีทางสถิติแบบ Principal Component Analysis

ระยะเวลาดำเนินการ 1ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2550 – กันยายน 2551

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเก็บตัวอย่าง ศึกษาลักษณะอาการของโรค

จากการสำรวจโรคในแหล่งปลูกกล้วยไม้ 14 จังหวัด 33 สวน เก็บตัวอย่างลักษณะอาการโรคที่แตกต่างกันซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และเก็บอาการแผลที่เหมือนกันแต่เกิดบนกล้วยไม้ต่างสกุลกัน จากการสำรวจได้เก็บตัวอย่างโรคกล้วยไม้ จำนวนกว่า 150 ตัวอย่าง นำมาศึกษาบันทึกข้อมูลของลักษณะอาการ ชื่อสกุลกล้วยไม้ แหล่งปลูก จำแนกลักษณะอาการที่ต่างกัน นำตัวอย่างมาแยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์

จำแนกลักษณะอาการที่แตกต่างกัน ได้ดังนี้

1. โรคเน่า พบบนกล้วยไม้สกุลแวนดา สกุลช้าง (เขาแกะ) อาการแผลเน่าจากปลายใบสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ส่วนบนกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนอปซิส พบอาการแผลเน่าสีน้ำตาลซ้ำ อาการโรคเน่าแตกต่างจากอาการโรคเน่าเละ โดยลักษณะเนื้อใบกล้วยไม้ที่ถูกเชื้อเข้าทำลายไม่เละหรือแยกจากผิว (ภาพที่ 1ก)

2. โรคเน่าเละ ลำต้นและใบกล้วยไม้ออนซิเดียม มีอาการเน่าเละ โดยลำต้นมีอาการเน่าช้ำเป็นสีน้ำตาล เนื้อเยื่อนิ่ม อาการเน่าช้ำลามไปที่ใบ ทำให้ใบมีอาการช้ำฉ่ำน้ำ ลำต้นอ่อนหักพับลง มีกลิ่นเหม็น (ภาพที่ 1ข)นอกจากนั้นพบอาการโรคเน่าเละ บนกล้วยไม้สกุลแวนดา และสกุลฟาแลนอปซิสทำให้ใบเน่าเละเนื้อใบเปื่อยเละแยกจากผิวใบเป็นสีเขียวถึงเขียวเข้ม บนกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลช้าง อาการเน่าช้ำเป็นสีน้ำตาล เนื้อใบเน่าเละโดยมากพบอาการผิวใบโป่งพอง (ภาพที่ 1ค)

3. โรคใบจุด อาการแผลจุดอาจมีลักษณะแผลที่แตกต่างกันเล็กน้อย จำแนกลักษณะอาการ ได้ดังนี้ (ภาพที่ 1ง)

-อาการแผลจุดเล็กสีครีมอมเหลืองหรือแผลจุดสีเขียวอ่อน กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่แห้งยุบตัวเป็นแอ่ง ขอบแผลสีเข้ม และวงนอกสุดล้อมรอบด้วย halo สีเหลืองอ่อนหรือเขียวอ่อน ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร โดยมากพบบริเวณใบยอด หรือใบอ่อน จัดเป็นอาการในระยะเริ่มแรก

-อาการแผลค่อนข้างกลม กลางแผลสีน้ำตาลอ่อน ขอบแผลลักษณะเป็นวงสีน้ำตาลเข้ม กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่แห้งยุบตัวเป็นแอ่ง ล้อมรอบด้วย halo สีเหลือง ขนาดแผลเฉลี่ย 3-5 มิลลิเมตร

-อาการแผลค่อนข้างกลม กลางแผลสีน้ำตาลเข้ม กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่แห้งยุบตัวเป็นแอ่ง ล้อมรอบด้วย halo สีเหลือง ขนาดแผลเฉลี่ย 3-5 มิลลิเมตร

จากข้อสังเกตพบว่าอาการแผลมีลักษณะที่คล้ายกัน แต่ลักษณะของสีของบริเวณแผลอาจแตกต่างกัน เนื่องจากการตอบสนอง (Defense mechanism) ของสายพันธุ์ของกล้วยไม้ลูกผสมซึ่งมีการผสมข้ามกับกล้วยไม้ต่างสกุลกันหลายสายพันธุ์ ทั้งนี้สภาพอุณหภูมิและความชื้นอาจเป็น

ปัจจัยรองในการพัฒนาอาการ และขนาดของแผล เมื่อเปรียบเทียบอาการกับรายงานของ Miller (1990) พบมีลักษณะที่ต่างกันเล็กน้อย เนื่องจากเป็นการรายงานอาการบนกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซิส ซึ่งพบแผลที่มีรูปร่างการทำลายไม่แน่นอน กลางแผลมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ แผลเป็นจุดช้ำฉ่ำน้ำ ทั้งนี้ไม่มีการกลาวถึงขอบแผล halo เหลือง แต่มีลักษณะที่เหมือนกันคือ แผลมีลักษณะเป็นแอ่งตรงกลางยุบตัว

2. การแยกเชื้อและศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้น

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากตัวอย่างที่มีอาการต่างกัน หรืออาการเดียวกันบนกล้วยไม้ต่างสกุล เก็บเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ทั้งสิ้น 135 ไอโซเลท โดยนำไอโซเลทที่เป็นตัวแทนของลักษณะอาการ และลักษณะโคโลนีที่ต่างกัน สำหรับการจำแนกเชื้อ 4 ชนิด (ตารางที่ 1) จากการศึกษาลักษณะโคโลนี จำแนกลักษณะเบื้องต้น ได้ดังนี้

1. แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่า P198 บนอาหาร NGA เจริญหลังการบ่มเชื้อ 24-36 ชั่วโมง โคโลนีสีเขียวอ่อนใส (ภาพที่ 2ก)

2. แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละแยกได้เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค 2 ลักษณะ ดังนี้

2.1 ไอโซเลท P169 บนอาหาร NGA เจริญหลังการบ่มเชื้อ 24- 36 ชั่วโมง โคโลนีสีขาวขุ่น รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดประมาณ 2-3 มม. กลางโคโลนีนูน ขอบโคโลนีราบไม่เรียบ (ภาพที่ 2ข)

2.2 ไอโซเลท P 248 บนอาหาร NGA เจริญหลังการบ่มเชื้อ 24-36 ชั่วโมง โคโลนีสีเขียวถึงเขียวขี้ม้า ส่วนใหญ่เป็นรูปกระสวย กลางโคโลนีกลมนูนเล็กน้อย ขอบโคโลนีราบไม่เรียบ (ภาพที่ 2ค)

3. แบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุด P207 บนอาหาร NGA เจริญหลังการบ่มเชื้อ 36-48 ชั่วโมง โคโลนีมีขนาดค่อนข้างเล็กสีขาวขุ่นถึงใส ลักษณะโคโลนีกลม ขอบโคโลนีเรียบ ตรงกลางนูนคล้ายโดม ขนาดประมาณ 1-2 มม. เมื่อทิ้งไว้เป็นเวลานาน 5-7 วัน พบบริเวณขอบของโคโลนีมีเมือกสีขาวขุ่นขอบไม่เรียบ รอบ ๆ โคโลนี บนอาหาร Yeast-extract Dextrose $CaCO_3$ แบคทีเรียมีโคโลนีสีส้มอมน้ำตาล มีคราบบางใส ขอบไม่เรียบล้อมรอบ และบนอาหาร Tween agar แบคทีเรียมีโคโลนีสีขาวขุ่น สร้างฝ้ารอบโคโลนี (ภาพที่ 2ง)

3. การพิสูจน์การเป็นเชื้อสาเหตุโรค

จากการพิสูจน์การเป็นเชื้อสาเหตุโรคตามวิธีของ Koch's postulation

1. แบคทีเรียไอโซเลท P 198 ปลูกเชื้อบนใบกล้วยไม้สกุลแวนดา หลังการปลูกเชื้อ 3-5 วัน ใบกล้วยไม้เริ่มแสดงอาการแผลช้ำสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ต่อมาแผลขยายลุกลาม (ภาพที่ 3ก)

2. แบคทีเรียไอโซเลท P 169 ปลูกเชื้อบนกล้วยไม้สกุลออนซิเดียม หลังการปลูกเชื้อ 1-2 วัน ลำต้นแสดงอาการเน่าช้ำเป็นสีน้ำตาล ต่อมาแผลขยายลุกลาม และเน่าช้ำทั้งลำต้น (ภาพที่ 3ข)

3. แบคทีเรียไอโซเลท P 248 ปลูกเชื้อบนใบกล้วยไม้สกุลแวนดา หลังการปลูกเชื้อ 1 วัน ใบแสดงอาการเน่าช้ำเป็นสีเขียวเข้ม ต่อมา 3 วันอาการเน่าช้ำลุกลามทั้งใบ เนื้อใบเน่าเละแยกจากผิวใบซึ่งมีลักษณะโป่งพองเล็กน้อย (ภาพที่ 3ค)

4. แบคทีเรียไอโซเลท P 207 ปลูกเชื้อบนใบกล้วยไม้สกุลแวนดา หลังการปลูกเชื้อ 3-5 วัน พืชเริ่มแสดงอาการแผลจุดเหลืองเล็กขนาด 1-2 มิลลิเมตร ต่อมาแผลเริ่มขยายขนาดขึ้น ตรงกลางแผลเป็นสีเหลืองหรือน้ำตาลอ่อน ขอบแผลมี halo เหลืองล้อมรอบ อาการแผลชัดเจน คล้ายอาการโรคที่เก็บจากแปลงของเกษตรกร หลังการปลูกเชื้อ นาน 10-15 วัน (ภาพที่ 3ง)

แบคทีเรียทุกไอโซเลทที่ใช้เป็นตัวแทนในการทดสอบการเกิดโรค เพื่อการจำแนกเชื้อ ทำให้กล้วยไม้แสดงอาการของโรคได้ มีลักษณะอาการเหมือนหรือคล้ายกับตัวอย่างที่เก็บมาจากแปลงปลูกกล้วยไม้ของเกษตรกร โดยหลังจากการปลูกเชื้อ เมื่อพืชแสดงอาการโรค ได้นำตัวอย่างอาการแผลที่ปลูกเชื้อ มาแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ เพื่อพิสูจน์การเกิดโรคตาม Koch's postulation ซึ่งพบลักษณะโคโลนีของเชื้อแบบเดียวกับที่นำไปปลูกเชื้อ แสดงว่าแบคทีเรียที่แยกได้นั้นเป็นสาเหตุโรคจริงทั้งนี้ระยะเวลาในการเกิดโรคและความรุนแรงในการเกิดโรคขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม และความอ่อนแอของพันธุ์พืช กล่าวคือ หากในโรงเรือนอากาศร้อน อบอ้าว ฝนตกชุก ทำให้มีความชื้นสูง และอุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ อาการแผลจะขยายลุกลามได้รวดเร็วกว่าในสภาพอากาศที่แห้ง และหากเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอ จะเกิดโรคได้รวดเร็วและรุนแรง

4. จำแนกเชื้อโดยคุณสมบัติชีวเคมีบางประการ และการใช้คาร์บอนของแบคทีเรีย

ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี เพื่อการจำแนกชนิดแบคทีเรีย ให้ผลการทดสอบ ดังนี้ (ตารางที่ 2)

1. แบคทีเรียสาเหตุโรคใบเน่า ไอโซเลท P198 แยกจากกล้วยไม้สกุลช้าง (เขาแกะ) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ออกซิเดสและแคตตาเลสเป็นบวก ย่อยเปปโตน สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ให้ผลบวกในการใช้คาร์บอน จำนวน 62 ชนิด จำแนกเชื้อเป็น *Burkholderia gladioli* ด้วยค่า probability 100% และ similarity 0.87

2. แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละ ไอโซเลท P169 แยกจากกล้วยไม้สกุลออนซิเดียม เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ออกซเดสลบ แคตตาเลสบวก สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคสแต่ไม่สร้างก๊าซ ไม่สร้างก๊าซ H_2S จาก ferrous sulfate ย่อยแลคโตส ให้ผลบวกในการใช้คาร์บอน จำนวน 20 ชนิด จำแนกเชื้อเป็น *Pectobacterium carotovorum* ss *carotovorum* (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) ด้วยค่า probability 94% และ similarity 0.73

3. แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละ ไอโซเลท P248 แยกจากกล้วยไม้สกุลแวนดา เป็นแบคทีเรีย แกรมลบ ออกซิเดสลบ แคตตาเลสบวก สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคสแต่ไม่สร้างก๊าซ ไม่สร้างก๊าซ H_2S จาก ferrous sulfate ย่อยเปสโตนไม่ย่อยแลคโตส ให้ผลบวกในการใช้คาร์บอนจำนวน 28 ชนิด จำแนกเชื้อเป็น *Pectobacterium chrysanthemi* (*Erwinia chrysanthemi*) ด้วยค่า probability 100% และ similarity 0.63

4. แบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุด ไอโซเลท P207 แยกจากกล้วยไม้สกุลแวนดา เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ให้ผลออกซิเดส และแคตตาเลสเป็นบวก สามารถย่อยเปปโตน สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ทดสอบการใช้คาร์บอนที่แตกต่างกันจำนวน 95 ชนิด บนอาหารทดสอบ Biolog® GN2 แบคทีเรียให้ผลบวกในการใช้คาร์บอน จำนวน 38 ชนิด จำแนกเชื้อเป็น *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ด้วยค่า probability 98% และ similarity 0.78

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจโรคในแหล่งปลูกกล้วยไม้ 14 จำแนกเชื้อได้ 4 ชนิด คือ

1. โรคเน่า ลักษณะอาการเน่าช้ำเป็นสีน้ำตาลถึงดำเข้ม ส่วนใหญ่พบอาการจากขอบใบเน่าเข้ามาถึงกลางลำต้น จำแนกเชื้อเป็น *Burkholderia gladioli* พบอาการโรคบนกล้วยไม้สกุลหวาย แวนดา และสกุลช้าง (เขาแกะ)

2. โรคเน่าเละ จำแนกเชื้อสาเหตุโรคได้ 2 ชนิด คือ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*สาเหตุโรคเน่าเละ กล้วยไม้ออนซิเดียม ลักษณะอาการเน่าเละบริเวณลำต้นเป็นสีน้ำตาล เนื้อเยื่อเละ อาการลามไปที่ใบเน่าช้ำ และแบคทีเรีย *E. chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละกล้วยไม้สกุลแวนดา หวาย ฟาแลนอปซิส แคทลียา และสกุลช้าง อาการพบที่ใบเน่าเละ เนื้อเยื่อเละแยกจากผิวใบ พบอาการผิวใบพอง บนกล้วยไม้สกุลหวาย แวนดา และสกุลช้าง

3. โรคใบจุดแบคทีเรีย หรือโรคใบจุดเหลืองของกล้วยไม้สกุลแวนดา มีลักษณะอาการแผลจุดเหลืองถึงน้ำตาล เป็นแอ่งตรงกลาง มี halo สีเหลืองล้อมรอบ เกษตรกรเรียกโรคตากบ จำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเป็น *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ลักษณะโคโลนีบนอาหาร Yeast-extract Dextrose $CaCO_3$ แบคทีเรียมีโคโลนีสีส้มอมน้ำตาล มีคราบบางใส ขอบไม่เรียบล้อมรอบ และบนอาหาร Tween agar แบคทีเรียมีโคโลนีสีขาวขุ่น สร้างฝ้ารอบโคโลนี ซึ่งอาหารทั้งสองชนิดเหมาะสำหรับการแยกเชื้อจากตัวอย่างกล้วยไม้ พบการเกิดโรคในแหล่งปลูกกล้วยไม้สกุลแวนดา และลูกผสม ในพื้นที่ 5 จังหวัด 9 อำเภอ คือ อำเภอท่าม่วง ท่ามะกา และพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี อำเภอเมือง และ บ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี อำเภอหัวหิน และท่ายาง อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี และ อำเภอหนองแค จังหวัดสระบุรี โดยพบโรคใบจุดแบคทีเรีย ในกล้วยไม้สกุลการค้า

อื่น ๆ ได้แก่ สกุลแอสโคเซนดา (Ascocenda) สกุลฟาแลนอปซิส (Phalaenopsis) และสกุลช้าง (Rhynchostylis)

เอกสารอ้างอิง

ทัศนาพร ทัศคร และสุรภี กีรติยะอังกูร. โรคกล้วยไม้ หน้า 3-31. *ใน* โรคไม้ดอก. เอกสารวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กลุ่มวิจัยโรคพืชผักไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร. 50 หน้า

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2551. เตือนภัย! โรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้. วารสารข่าว No. สมาคมผู้ประกอบการสวนกล้วยไม้ไทย ร่วมกับศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร จังหวัดสมุทรสาคร (พืชสวน).

Chuenchitt, S., Dhirabhava, W., Karnjanarat, S., Buangsuwon, D., and Uematsu, T. 1983. A new bacterial disease on orchids Dendrobium sp. Caused by *Pseudomonas gladioli*. Kasetsart J. 17: 26-36.

Keith, L. M. Sewake, K.T. and Zee. F.T. 2005. Isolation and characterization of *Burkholderia gladioli* from orchids in Hawaii. Plant Dis. 89: 1273-1278.

Miller, J. W. 1990. Bacterial Brown spot of orhid caused by *Pseudomonas cattleyae*. Plant Pathology Circular no. 330.

Anonymous. 2007. Orchid (Orchidaceae) Plant Health Problems. http://www.ct.gov/case/cwp/view.asp?a=2823&q=377850 searched date: 24-08-2550

Divinagracia, G.G., Candole., B.L., Cadapan, E.T. 1984. Some studies on bacterial brown spot of orchids caused by *Pseudomonas cattleyae* (Pavarino) Saverlesco. Summary in Philippine Phytopathology V20(1-2) p. 3-4. http://www.fao.org/agris/search/display.do;jsessionid OAFA16C68D30999F6D009CO searched date: 24-08-2550

ตารางที่ 1 สายพันธุ์ ลักษณะอาการ และแหล่งที่มาของเชื้อ ที่ใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อ

สายพันธุ์เชื้อ	ลักษณะอาการ	แหล่งปลูก
P169	บนกล้วยไม้ออนซิเดียม มีอาการลำต้นเน่าเละช้ำเป็นสีเขียว อาการเน่าช้ำลามไปที่ใบ มีกลิ่นเหม็นฉุน	อ.บางเขน กทม.
P198	บนกล้วยไม้สกุลช้าง (เขาแกะ) อาการใบเน่าช้ำสีน้ำตาลเข้มถึงดำ เน่าจากปลายใบ	อ. สามพราน จ. นครปฐม
P207	บนกล้วยไม้สกุลแวนดา มีอาการแผลจุดกลางแผลเป็นสีเหลืองถึงน้ำตาล ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม แผลเป็นแอ่งตรงกลาง มี halo สีเหลืองล้อมรอบ	อ.เมือง จ. ปราจีนบุรี
P248	บนกล้วยไม้สกุลแวนดา มีอาการใบเน่าช้ำเป็นสีเขียวเข้ม เนื้อใบเน่าเละแยกจากผิวใบ	อ. บ้านโป่ง จ. ราชบุรี

ตารางที่ 2 การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแบคทีเรีย ทดสอบด้วย Biolog® system

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**			
	P 207	P 198	P 169	P 248
Water	-	-	-	-
∝-cyclodextrin	-	-	-	-
Dextrin	-	-	-	-
Glycogen	+	+	-	-
Tween-40	+	+	-	-
Tween-80	+	+	-	-
N-acetyl-D-galactosamine	-	+	-	-
N-acetyl-D-glucosamine	-	+	+	+
Adonitol	-	+	-	-
L-arabinose	+	+	+	+
D-arabitol	+	+	-	-
D-cellobiose	-	-	-	-
L-erythritol	-	-	-	-
D-fructose	+	+	+	+
L-fucose	-	+	-	-
D-galactose	+	+	+	+
Gentiobiose	-	-	-	-
∝-D-glucose	-	+	+	+
M-inositol	-	+	-	+
∝-D-lactose	-	-	+	-
Lactulose	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-
D-mannitol	+	+	+	+
D-mannose	-	+	+	+
D-melibiose	-	-	+	+
ß-methy-D-glucoside	-	-	+	+
D-psicose	-	-	+	+
D-raffinose	-	-	+	+
L-rhamnose	-	-	+	-
D-sorbitol	+	+	-	-
Sucrose	-	-	+	+

ตารางที่ 2 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์แบคทีเรีย			
	P 207	P 198	P 169	P 248
D-trehalose	-	+	-	-
Turanose	-	-	-	-
Xylitol	-	-	-	-
Pyruvic-acid-methyl ester	+	+	+	+
Succinic acid monoethyl ester	+	+	-	-
Acetic acid	+	+	-	+
Cis-aconitic acid	-	+	-	-
Citric-acid	-	+	+	+
Formic-acid	-	+	-	+
D-galactonic-acid lactone	-	-	-	+
D-galacturonic acid	-	-	-	+
D-gluconic acid	+	+	-	+
D-glucosaminic acid	-	+	-	-
D-glucoronic acid	-	-	-	-
∝-hydroxybutyric acid	+	+	-	-
ß-hydroxybutyric acid	+	+	-	-
ɣ-hydroxybutyric acid	-	-	-	-
P-hydroxy-phynyl acetic acid	-	-	-	-
Itaconic acid	-	-	-	-
∝-Keto Butyric acid	-	+	-	-
∝-Keto glutaric acid	+	+	-	-
∝-Keto valeric acid	+	+	-	-
D,L-lactic acid	+	+	-	-
Malonic acid	-	+	-	-
Propionic acid	+	+	-	-
Quinic acid	+	+	-	-
D-saccharic acid	-	+	-	-
Sebacic acid	+	+	-	-
Succinic acid	+	+	-	+
Bromosuccinic acid	+	+	+	+
Succinamic acid	+	-	-	-

ตารางที่ 2 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์แบคทีเรีย			
	P 207	P 198	P 169	P 248
Glucuronamide	-	-	-	-
L-alanimamide	-	-	-	-
D-alanine	+	+	-	-
L-alanine	+	+	-	-
L-alanyl glycine	-	+	-	-
L-asparagine	+	+	+	+
L-aspartic acid	+	+	+	+
L-glutamic acid	+	+	-	-
Glycyl-L-aspartic acid	-	-	-	-
Glycyl-L-glutamic acid	-	-	-	-
L-histidine	-	+	-	-
Hydroxy-L-proline	-	+	-	-
L-leucine	+	+	-	-
L-ornithine	-	-	-	-
L-Phynylalanine	+	+	-	-
L-proline	+	+	-	-
L-pyroglutamic acid	+	+	-	-
D-serine	-	+	-	-
L-serine	+	+	-	-
L-threoine	+	+	-	-
D-L-carnitine	-	+	-	-
ɣ-amino-butyric acid	+	+	-	-
Urocanic acid	-	+	-	-
Inosine	-	-	-	-
Uridine	-	-	-	-
Thymidine	-	-	-	-
Phenyethyl-amine	-	+	-	-
Putrescine	-	-	-	-
2-aminocethanol	+	+	-	-
2-3-butanediol	-	-	-	-
Glycerol	+	+	+	+

ตารางที่ 2 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์แบคทีเรีย			
	P 207	P 198	P 169	P 248
D-L-∝-glycerol-phosphate	-	+	-	+
∝-D-glucose-1-phosphate	-	-	-	+
D-glucose-6-phosphate	-	+	-	+

หมายเหตุ: +, สามารถใช้คาร์บอนได้ ; -, ไม่สามารถใช้คาร์บอนได้

Identification results : P207, *A. avenae* subsp. *cattleyae* ; P198, *Burkholderia gladioli*

P 169 *Erwinia carotovoral* subsp. *Carotovora* ; P 248 *E. chrysanthemi*

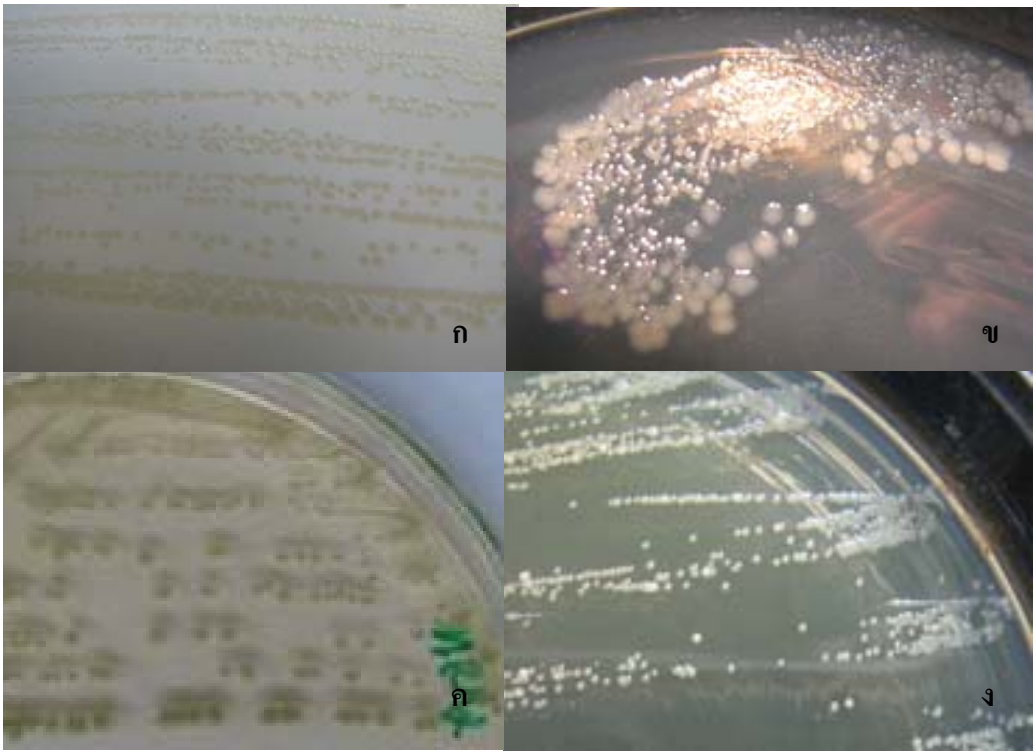
ภาพที่ 1 อาการโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

ก โรคเน่า กล้วยไม้แวนดา และฟาแลนอปซิส

ข โรคเน่าเละ กล้วยไม้ออนซิเดียม

ค โรคเน่าเละ กล้วยไม้ แวนดา หวาย และช้าง

ง โรคใบจุด กล้วยไม้แวนดา และช้าง



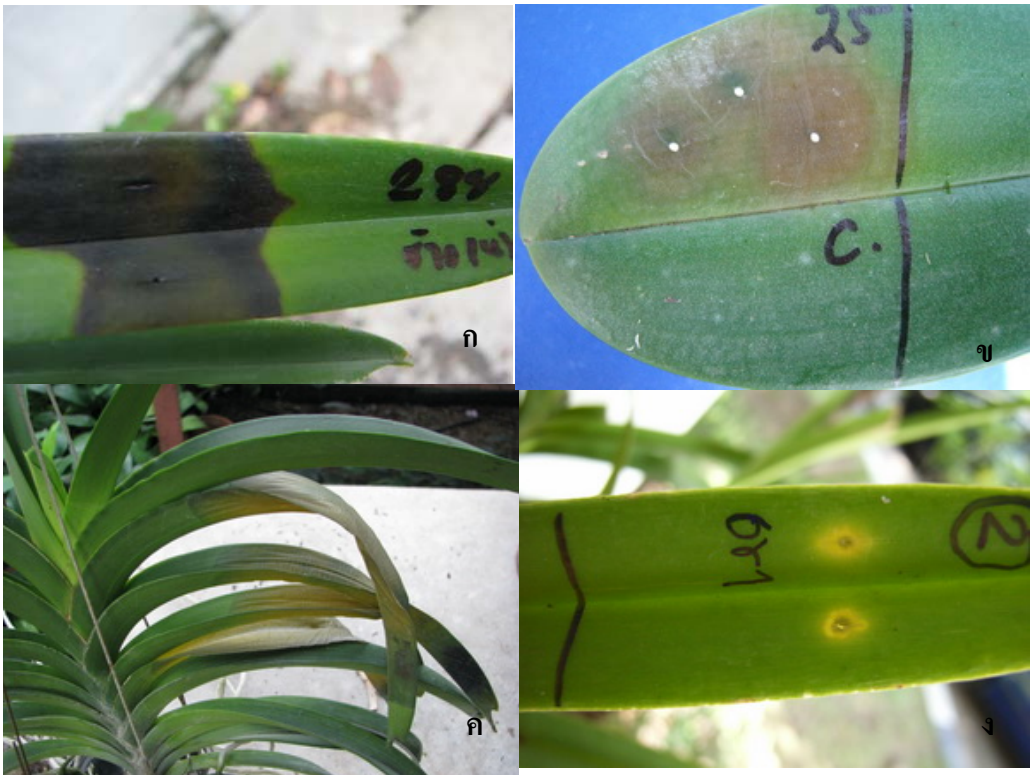
ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้

ก *Burkholderia gladioli* สาเหตุโรคเน่า

ข *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* สาเหตุโรคเน่าเละ

ค *Erwinia chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละ

ง *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* สาเหตุโรคใบจุด



ภาพที่ 3 อาการโรคจากการปลูกเชื้อไอโซเลทต่าง ๆ

ก อาการแผลเน่าจากการปลูกเชื้อ *B. gladioli*

ข อาการเน่าเละ จากการปลูกเชื้อ *E. carotovora* subsp. *carotovora*

ค อาการเน่าเละจากการปลูกเชื้อ *E. chrysanthemi*

ง อาการแผลจุดจากการปลูกเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae*

ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้

Efficacy Test of Insecticide for Controlling the Cotton thrips, *Thrips palmi* Karny on Orchid

สมรวย รวมชัยอภิกุล อุราพร หนูนารถ ทวีศักดิ์ ชโยภาส
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้ ดำเนินการทดลองที่แปลงเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน 2551และแปลงเกษตรกร อำเภอกระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร ระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม 2551 โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 11 กรรมวิธี 3 ซ้ำ คือ acephate 75 %SP, spiromesifen 24 %SC, imidacloprid 10%SL, fipronil 5%SC,emamectin benzoate 1.92 %EC, thiamethoxam/lambda cyhalothrin 24.7 %ZC, spinosad 12 %SC, fenpropathrin 10 %EC, diafenthiuron 25%EC และ benfuracarb 20%EC อัตรา 20 กรัม, 10 , 20 , 20, 20, 15, 20 ,30,40และ 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ และ การไม่ใช้สารฆ่าแมลง การทดลองที่ 1 ที่แปลงเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม และการทดลองที่ 2 ที่แปลงเกษตรกร อำเภอกระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร ให้ผลสอดคล้องกัน คือ พบว่าสารฆ่าแมลง spinosad 12 %SC, imidacloprid 10%SL, spiromesifen 24 %SC, emamectin benzoate 1.92 %EC และ fipronil 5%SC อัตรา 20, 20 , 10 , 20 และ 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมประชากรของเพลี้ยไฟฝ้าย และสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพรองลงมา คือ thiamethoxam/lambda cyhalothrin 24.7 %ZC, diafenthiuron 25%EC, benfuracarb 20%EC และ fenpropathrin 10 %EC อัตรา 15, 40 , 50 และ 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ตามลำดับและสารฆ่าแมลงที่ใช้ไม่มีผลกระทบต่อกล้วยไม้

คำนำ

เพลี้ยไฟฝ้าย เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของกล้วยไม้ส่งออก ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยใช้ปากเขี่ยเนื้อเยื่อพืช แล้วดูดกินน้ำเลี้ยงของกลีบดอกทำให้ดอกเกิดรอยด่าง การป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟให้ได้ผล และลดปริมาณเพลี้ยไฟได้ทันต่อสถานการณ์ คือการใช้สารฆ่าแมลง แต่เนื่องจาสารฆ่าแมลงที่ได้แนะนำในปัจจุบันมีเพียง 3-4 ชนิด (กลุ่มกีฏและสัตววิทยา , 2547) และได้ใช้มานาน ดังนั้น

รหัสการทดลอง 01-15-52-01-01-02-01-52

เพื่อยืนยันผลของประสิทธิภาพสารดังกล่าว ประกอบกับหารสารกลุ่มใหม่ๆ เพิ่มเติม จึงทำการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในกล้วยไม้ เพื่อหาสารกลุ่มใหม่ที่มีประสิทธิภาพดีนำมาใช้พ่นสลับเพื่อป้องกันการต้านทานต่อสารฆ่าแมลง และถ่ายทอดผลงานวิจัยสู่เกษตรกร และผู้เกี่ยวข้องต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงกล้วยไม้สกุลหวาย
2. สารฆ่าแมลง acephate 75 %SP, spiromesifen 24 %SC,fipronil 5%SC, imidacloprid10%SL ,emamectinbenzoate 1.92 %EC, thiamethoxam/lambda cyhalothrin24.7%ZC, spinosad 12 %SC, fenpropathrin 10 %EC, diafenthiuron 25%EC และ benfuracarb 20%EC
3. เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง
4. ปุ๋ยเคมีสูตร 20-20-20
5. ป้ายปักแปลง

วิธีการ

วางแผนการทดลอง แบบ Randomized Complete Block Desize มี 3 ซ้ำ 11 กรรมวิธี ดังนี้

1. พ่นสาร acephate 75 %SP	อัตรา	20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
2. พ่นสาร spiromesifen 24 %SC	อัตรา	10 มล./น้ำ 20 ลิตร
3. พ่นสาร fipronil 5%SC	อัตรา	20 มล./น้ำ 20 ลิตร
4.พ่นสาร imidacloprid 10%SL	อัตรา	20 มล./น้ำ 20 ลิตร
5. พ่นสาร emamectin benzoate 1.92 %EC	อัตรา	20 มล./น้ำ 20 ลิตร
6. พ่นสาร thiamethoxam/lambdacyhalothrin24.7%ZC อัตรา		15 มล./น้ำ 20 ลิตร
7. พ่นสาร spinosad 12 %SC	อัตรา	20 มล./น้ำ 20 ลิตร
8. พ่นสาร fenpropathrin 10 %EC	อัตรา	30 มล./น้ำ 20 ลิตร
9. พ่นสาร diafenthiuron 25%EC	อัตรา	40 มล./น้ำ 20 ลิตร
10. พ่นสาร benfuracarb 20%EC	อัตรา	50 มล./น้ำ 20 ลิตร
11.ไม่พ่นสารทดลอง		

ดำเนินการทดลองในแปลงกล้วยไม้สกุลหวาย ขนาดแปลงย่อยมากกว่า 10 ตารางเมตร ตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟก่อนพ่นสารครั้งแรก และหลังพ่นสารทุก 5 วัน พ่นสารทุก 5 วัน อย่างน้อย 5 ครั้ง ด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง ด้วยอัตราการพ่นสาร 120 ลิตร/ไร่ ตรวจนับเพลี้ยไฟฝ้ายทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย จำนวน 20 ดอก/แปลงย่อย (1 ดอก/ช่อ) นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยไฟที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติที่ เหมาะสม

ผลและวิจารณ์

1. การทดลองที่ อ.สามพราน จ. นครปฐม ระหว่างเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน 2551 จากการตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟ 7 ครั้ง (ก่อนพ่นสารทดลอง 1 ครั้ง และหลังพ่นสารทดลอง 6 ครั้ง พบว่าก่อนพ่นสารทดลอง มีจำนวนเพลี้ยไฟในทุกกรรมวิธีระหว่าง 19.00-28.00 ตัว/20 ดอก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หลังการพ่นสารทดลอง 6 ครั้ง พบกรรมวิธีที่มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลงทุกครั้ง คือ กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง spinosad 12 %SC, imidacloprid 10%SL, spiromesifen 24 %SC, emamectin benzoate 1.92 %EC, fipronil 5%SC และ thiamethoxam/lambda cyhalothrin 24.7 %ZC พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยระหว่าง 8.00-9.33, 9.33-14.33, 5.67-14.33, 5.00-14.00, 8.33-14.33 และ 10.00-21.67 ตัว/20 ดอก ตามลำดับ (ตารางที่ 1.)

2. การทดลองที่ 2 ที่ อ.กระทุ่มแบน จ. นครปฐม ระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม 2551 จากการตรวจนับจำนวนเพลี้ยไฟ 6 ครั้ง (ก่อนพ่นสารทดลอง 1 ครั้ง และหลังพ่นสารทดลอง 5 ครั้ง พบว่าก่อนพ่นสารทดลอง มีจำนวนเพลี้ยไฟในทุกกรรมวิธีระหว่าง 19.00-27.33 ตัว/20 ดอก) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หลังการพ่นสารทดลอง 5 ครั้ง พบกรรมวิธีที่มีจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและมีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าแมลงทุกครั้ง คือ กรรมวิธีพ่นสารฆ่าแมลง spinosad 12 %SC, imidacloprid 10%SL, spiromesifen 24 %SC, emamectin benzoate 1.92 %EC, fipronil 5%SC, thiamethoxam/lambda cyhalothrin 24.7 %ZC, diafenthiuron 25%EC และ benfuracarb 20%EC พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ยระหว่าง 2.00-7.67, 3.67-6.67, 5.67-9.33, 1.67-9.67, 2.67-8.33, 7.33-10.67, 9.00-11.67 และ 8.67-14.67 ตัว/20 ดอก ตามลำดับ (ตารางที่ 2.)

สรุปผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้ พบว่าสารฆ่าแมลงทั้ง 2 การทดลอง สารฆ่าแมลงที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟได้ดี คือ spinosad 12 %SC, imidacloprid 10%SL, spiromesifen 24 %SC, emamectin benzoate 1.92 %EC, fipronil 5%SC และ thiamethoxam/lambda cyhalothrin 24.7 %ZC อัตรา 20, 20, 10,20, 20 และ 15 มล./น้ำ 20 ลิตร และสารฆ่าแมลงที่ใช้ในทุกกรรมวิธีไม่เป็นพิษต่อกล้วยไม้

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีต่าง ๆ ที่ อ.สามพราน จ. นครปฐม ระหว่างเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน 2551

กรรมวิธี	อัตรา กรัม,มล. น้ำ 20 ลิตร	จำนวนเพลี้ยไฟฝ้าย (ตัวต่อ 20 ดอก)						
		ก่อนพ่นสาร	หลังพ่นสารกำจัดแมลงทุก 5 วัน (ครั้งที่)					
			1	2	3	4	5	6
acephate 75 %SP	20	28.00	22.33bc	27.00cd	33.00de	24.00c	22.33cd	21.67cd
spiromesifen 24 %SC	10	21.67	10.00a	14.33abc	11.67ab	9.67abc	11.00ab	5.67ab
fipronil 5%SC	20	20.33	10.00a	14.33abc	13.67abc	11.00abc	10.67a	8.33ab
imidacloprid 10%SL	20	20.67	9.33a	10.00ab	14.33abc	11.67abc	11.67ab	9.33ab
emamectin benzoate 1.92 %EC	20	19.00	14.00ab	10.67abc	12.33ab	8.33a	9.00a	5.00a
thiamethoxam/lambda cyhalothrin 24.7 %ZC	15	22.00	11.33ab	12.33abc	15.00abc	21.67abc	15.33abc	10.00ab
spinosad 12 %SC	20	19.67	8.67a	8.00a	9.00a	9.33ab	9.00a	8.00ab
fenpropathrin 10 %EC	30	25.67	14.67ab	26.33bcd	23.00bcd	23.33bc	14.33abc	23.67cd
diafenthiuron 25%EC	40	23.67	16.00ab	22.33a-d	26.33cde	22.33abc	21.00bcd	21.33cd
benfuracarb 20%EC	50	23.33	19.00abc	11.33abc	25.00b-e	22.00abc	16.00abc	15.67bc
ไม่พ่นสารฆ่าแมลง	-	22.67	29.33c	31.67d	38.00e	42.00d	27.00d	29.00d
CV(%)		40.1	36.1	49.8	35.6	39.0	34.9	37.8

[1/] ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

1861

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบจำนวนเพลี้ยไฟในกรรมวิธีต่างๆ ที่ อ.กระทุ่มแบน จ. นครปฐม ระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม 2551

กรรมวิธี	อัตรา กรัม,มล. น้ำ 20 ลิตร	จำนวนเพลี้ยไฟฝ้าย (ตัวต่อ 20 ดอก)					
		ก่อนพ่นสาร	หลังพ่นสารกำจัดแมลงทุก 5 วัน (ครั้งที่)				
			1	2	3	4	5
acephate 75 %SP	20	27.33	14.67c	21.67bc	18.00fg	15.33cd	12.67e
spiromesifen 24 %SC	10	24.33	8.00a	9.33a	6.00abc	5.67ab	6.33a-d
fipronil 5%SC	20	27.00	8.33ab	5.67a	6.67a-d	2.67a	6.00abc
imidacloprid 10%SL	20	22.33	5.67a	5.67a	3.67ab	6.67ab	4.67ab
emamectin benzoate 1.92 %EC	20	19.00	9.67abc	5.00a	2.67ab	1.67a	1.67a
thiamethoxam/lambda cyhalothrin 24.7 %ZC	15	23.67	10.67abc	7.33a	8.00b-e	8.33abc	9.00b-e
spinosad 12 %SC	20	19.67	7.67a	4.67a	2.00a	5.67ab	2.33a
fenpropathrin 10 %EC	30	20.33	14.67c	10.00a	13.33ef	13.67bcd	12.33de
diafenthiuron 25%EC	40	22.33	9.33ab	11.33a	11.67de	9.00abc	10.67b-e
benfuracarb 20%EC	50	25.67	13.33bc	14.67ab	10.33cde	8.67abc	11.67cde
ไม่พ่นสารฆ่าแมลง	-	22.00	26.00d	25.33c	21.00g	18.00d	19.67f
CV(%)		23.7	23.7	47.9	31.2	49.6	37.4

[1/] ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

1862

ศึกษาเทคนิคการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกล้วยไม้บางชนิด

Study on Spraying Techniques for Controlling Some Orchid Insect Pests

พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย
สรรชัย เพชรธรรมรส สิริวิภา พลตรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการทดลองเบื้องต้นทางด้านกายภาพ (Physical measurement) เปรียบเทียบวิธีการพ่นสารด้วยเครื่องพ่นสาร CDA และเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง โดยการพ่นสารละลายของสี Saturn yellow 1% ในกล้วยไม้ ที่แปลงเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม 2551 แบ่งการทดลองเป็น 3 การทดลอง ทุกการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Split-split plot design **การทดลองที่ 1** มี 3 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ คือ พ่นสารด้วยเครื่อง CDA อัตราพ่น 3.7, 4.6 และ 6.7 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร **การทดลองที่ 2** มี 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ คือ พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 240, 120, 100, 80 และ 60 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร **การทดลองที่ 3** มี 4 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ คือ พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราพ่น 120, 100, 80 และ 60 ลิตร/ไร่ แต่ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 1.5 เมตร ทุกการทดลองทำการสุ่มเก็บดอกกล้วยไม้แถวละ 3 ช่อ โดยการทดลองที่ 1 และ 2 เก็บจำนวน 3 แถว จากระยะหัวฉีด ส่วนการทดลองที่ 3 เก็บจำนวน 6 แถว ในแต่ละช่อ วัดการแพร่กระจายของละอองสารที่หน้าและหลังดอกของกล้วยไม้จำนวน 4 ดอกบาน นับจากดอกบนสุด โดยแบ่งเป็นระดับการแพร่กระจายจำนวน 9 ระดับ ผลการทดลองอยู่ระหว่างการวิเคราะห์ผล จากข้อมูลที่ได้ในการทดลองครั้งนี้นับตั้งแต่ อัตราการพ่น วิธีการเดินพ่น การใช้ความกว้างแนวพ่นสาร จะได้นำไปทดลองต่อไปในปี 2552 โดยทดลองกับการใช้สารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในกล้วยไม้ต่อไป

รหัสการทดลอง 01–15–52–01–01–02–02-51

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชส่งออกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่ง ตลาดส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และอิตาลี ปัญหาจากการปลูกกล้วยไม้ที่สำคัญ ได้แก่แมลงศัตรูพืชที่สำคัญหลายชนิด เช่น เพลี้ยไฟ หนอนกระทู้หอม และบั่ว เป็นต้น (ปิยรัตน์ และคณะ, 2543) การส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกไปยังประเทศกลุ่มยุโรป พบว่ามีข้อกำหนดทางกักกันพืช โดยในใบรับรองปลอดศัตรูพืช ต้องระบุว่าไม่มีเพลี้ยไฟ ในการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกล้วยไม้ พบว่าเกษตรกรใช้วิธีการพ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงโดยใช้อัตราพ่นค่อนข้างสูงคือใช้อัตราพ่น 200 -250 ลิตร/ไร่ ซึ่งพบว่าละอองสารค่อนข้างโต การแทรกซอนเข้าสู่ดอกกล้วยไม้ไม่ดีนัก การสูญเสียมากและประสิทธิภาพต่ำ ดำรงและคณะ, 2551 ได้ทดลองใช้วิธีการพ่นสารด้วยหัวฉีดแบบจานหมุนหรือแรงเหวี่ยง ได้แก่ เครื่อง ULVA และหัวฉีด ULEM พบว่าละอองขนาดเล็กสามารถแทรกซอนเข้าสู่กลีบดอกกล้วยไม้ได้ดีกว่าการพ่นแบบน้ำมากด้วยหัวฉีดแรงดันน้ำแบบกรวยกลวง ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้นำหัวฉีดแบบตะแกรงเหวี่ยงซึ่งมีลมจากพัดลมเป็นตัวช่วย ทำให้เกิดลมพัดละอองสารแพร่กระจายเข้าสู่กลีบดอกได้ดีขึ้น เปรียบเทียบกับเครื่องพ่นสารที่เกษตรกรใช้อยู่ โดยศึกษาข้อมูลเบื้องต้นทางกายภาพ (Physical measurement) วัดการแพร่กระจายของละอองสาร ที่อัตราพ่นต่างๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาประสิทธิภาพของสารด้าน Biological ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวง
2. เครื่องพ่นสาร Controlled Droplet Application (CDA) แบบ Air-assisted spinning disc sprayer
3. สี Saturn yellow
4. สารจับใบ
5. แปลงกล้วยไม้
6. อุปกรณ์ตวงสาร
7. ชุดพ่นสาร และอื่นๆ

วิธีการ

แบ่งการทดลองเป็น 3 การทดลอง ทุกการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Split-split plot design โดยดอกกล้วยไม้ที่แถวปลูกต่างๆ เป็น main plot ดอกกล้วยไม้ที่ตำแหน่งต่างๆ ในช่อจาก

ดอกที่บานบนสุดลงมาตั้งแต่ดอกที่ 1 – 4 เป็น sub-plot และตำแหน่งหน้าและหลังกลีบดอกกล้วยไม้เป็น sub-sub plot แต่ละการทดลองมีวิธีการต่างๆ ดังนี้

การทดลองที่ 1 พ่นแบบน้ำน้อยด้วยเครื่อง CDA ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร (2 โต๊ะกล้วยไม้) มี 3 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

1.1 พ่นด้วยอัตราพ่น 3.7 ลิตร/ไร่

1.2 พ่นด้วยอัตราพ่น 4.6 ลิตร/ไร่

1.3 พ่นด้วยอัตราพ่น 6.7 ลิตร/ไร่

การทดลองที่ 2 พ่นแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวง disc and core (รูฉีดและแผ่นกระแสวนแยกกัน) ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร (1 โต๊ะกล้วยไม้) มี 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ดังนี้

2.1 พ่นด้วยอัตราพ่น 240 ลิตร/ไร่

2.2 พ่นด้วยอัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่

2.3 พ่นด้วยอัตราพ่น 100 ลิตร/ไร่

2.4 พ่นด้วยอัตราพ่น 80 ลิตร/ไร่

2.5 พ่นด้วยอัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่

การทดลองที่ 3 พ่นแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวง disc and core (รูฉีดและแผ่นกระแสวนแยกกัน) ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 1.5 เมตร (2 โต๊ะกล้วยไม้) มี 4 กรรมวิธี จำนวน 2 ซ้ำ ดังนี้

3.1 พ่นด้วยอัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่

3.2 พ่นด้วยอัตราพ่น 100 ลิตร/ไร่

3.3 พ่นด้วยอัตราพ่น 80 ลิตร/ไร่

3.4 พ่นด้วยอัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่

ทุกการทดลองทำการพ่นสารละลายของสี Saturn yellow 1% กับกล้วยไม้ขนาดช่อดอกยาวประมาณ 30 ซม. การทดลองที่ 1 และ 2 เก็บกล้วยไม้ 3 แถวจากจุดพ่น ส่วนการทดลองที่ 3 เก็บกล้วยไม้จำนวน 6 แถว ในแต่ละแถวสุ่มเก็บกล้วยไม้ 3 ระยะๆ ละ 1 ช่อ นำดอกกล้วยไม้แต่ละช่อตรวจวัดการแพร่กระจายของละอองสารภายใต้หลอดแสงสีม่วง (Ultraviolet light) โดยวัดตั้งแต่ดอกกล้วยไม้ที่บานดอกบนสุดจากยอด ถึงดอกที่ 4 โดยให้คะแนนการแพร่กระจายทั้งหน้าดอกและหลังดอก ตามระดับต่างๆ ดังนี้

ระดับ 1 ไม่มีละอองสาร

ระดับ 2 มีละอองสาร 1 – 2 ละออง

ระดับ 3 มีละอองสารเล็กน้อย < 20 ละออง/ตร.ซม. การกระจายไม่สม่ำเสมอ

ระดับ 4 เหมือนระดับ 3 แต่การกระจายสม่ำเสมอ

ระดับ 5 มีละอองสารปานกลาง 21 – 50 ละออง/ตร.ซม. การกระจายไม่สม่ำเสมอ

ระดับ 6 เหมือนระดับ 5 แต่การกระจายสม่ำเสมอ

ระดับ 7 มีละอองสารปานกลาง >50 ละออง/ตร.ซม. การกระจายไม่สม่ำเสมอ

ระดับ 8 เหมือนระดับ 7 แต่การกระจายสม่ำเสมอ

ระดับ 9 ละอองสารมากเกินไป เกิดการ run off

เวลาและสถานที่ ดำเนินการทดลองที่แปลงเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือน พฤษภาคม ถึง สิงหาคม 2551

ผลการทดลองและวิจารณ์

-

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

-

เอกสารอ้างอิง

-

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme*

Reaction of Sweet Sorghum Lines Resistant to Head Blight Caused by *Fusarium moniliforme*

อภิรัชต์ สมฤทธิ์ [1/] พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1/] พจนา ตระกูลสุขรัตน์[1/]

กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์[2/]

[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/] ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่

บทคัดย่อ

การศึกษาปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 6 สายพันธุ์ต่อโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* Sheldon ทำการทดลองในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ และในแปลงทดสอบพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม 2551 (ฤดูปลูกครั้งที่ 1 และ 2) ผลการประเมินโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่า ข้าวฟ่างทุกสายพันธุ์แสดงอาการต้นผอม แคระแกรน และ มียอดบิด ภายในลำต้นมีอาการเน่าแดง ผลการประเมินโรคในสภาพแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จากการประเมินโรคที่เกิดขึ้นในแปลงปลูกในฤดูกาลเก็บเกี่ยวครั้งที่ 1 (เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2551) พบการเข้าทำลายของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด และภายในลำต้นเน่าแดง ในสายพันธุ์ Keller เมื่อนำเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นโรคมาแยกเชื้อและจำแนกชนิดได้เชื้อรา *F. moniliforme* ส่วนข้าวฟ่างสายพันธุ์อื่น ๆ ยังไม่พบการเข้าทำลาย ส่วนการประเมินโรคที่เกิดขึ้นในแปลงปลูกในฤดูกาลเก็บเกี่ยวครั้งที่ 2 (เดือนพฤศจิกายน 2551 – กุมภาพันธ์ 2552) พบการเข้าทำลายของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด ในข้าวฟ่างสายพันธุ์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ BJ 281, Cowley, Keller, Rio, UTIS 23585 และสายพันธุ์ Wray แต่ระดับการเกิดโรคต่ำ และแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์

รหัสโครงการ 01-17-49-06

คำนำ

ข้าวฟ่างหวานหรือข้าวฟ่างพันธุ์หวาน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sorghum bicolor* L. Moench. เป็นพืชที่มีลักษณะพิเศษคือมีน้ำหวานในลำต้นคล้ายอ้อยซึ่งสามารถนำมาแปรรูปเพื่อใช้ประโยชน์ได้หลายรูปแบบ ทั้งในรูปของพืชอาหารสัตว์และอาหารมนุษย์ ทำเชื้อเพลิงหรือทำเป็นแผ่นชนวนกันความร้อน ปัจจุบันมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านเป็นพืชพลังงานเพื่อการผลิตแอลกอฮอล์ (น้อม, 2523 และ 2524) ทดแทนอ้อยและมันสำปะหลังในช่วงขาดแคลน ข้าวฟ่างหวานจึงได้รับความสนใจมากขึ้นในลักษณะของพืชพลังงานทางเลือก ในการปรับปรุงพันธุ์จึงเน้นที่พันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ให้ผลผลิตต้นสดสูง ปริมาณน้ำหวานและความหวานสูง มีลักษณะทางการเกษตรดี และปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้กว้าง ต้านทานต่อโรคแมลงได้ปานกลาง โดยเฉพาะโรคที่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำคั้น สำหรับใช้เป็นพันธุ์แนะนำต่อไป (ธำรงศิลป์ และคณะ, 2551)

โรคช่อดอกไหม้และยอดบิด มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* เป็นโรคทางลำต้นที่สำคัญโรคหนึ่งสามารถมีพืชอาศัยจำนวนมาก รวมทั้งข้าวฟ่าง (Frederiksen, 1986) ทำความเสียหายให้กับต้นข้าวฟ่างในช่วงระหว่างฤดูปลูก โดยเข้าทำลายพืชทางระบบท่อน้ำท่ออาหาร เปลี่ยนภายในลำต้นให้มีสีแดง ยอดและช่อดอกที่งอกออกมามีลักษณะบิดเบี้ยว ทำให้ผลผลิตเมล็ดต่ำ สภาพแวดล้อมที่ร้อนและชื้นเป็นปัจจัยหนึ่งที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค (Cook *et al.*, 1973)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานต่อโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดในเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงทดสอบ รวบรวมเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับนำไปพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานต่อโรคในสภาพไร่ และเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคนี้ เพื่อส่งเสริมให้มีการปลูกขยายพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio, UTIS-23585 และ Wray

2. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการและอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA)

3. วัสดุอุปกรณ์สำหรับปลูกต้นไม้ในโรงเรือนทดลอง เช่น กระถางปลูกต้นไม้ขนาดความจุ 10 ลิตร ดิน พลั่ว บัวรดน้ำ ฯลฯ

4. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

1. **ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง**

การทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ซึ่งได้เมล็ดพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรีคือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง การปลูกเชื้อรา *F. moniliforme* ทดสอบ ใช้วิธีเลี้ยงเชื้อราใน flask ที่บรรจุเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว บ่มให้เชื้อเจริญเป็นเวลา 10 วัน จากนั้นชั่งข้าวฟ่างที่มีเชื้อราจำนวน 10 กรัม จากนั้นนำเชื้อมาคลุกลงในดินที่เตรียมปลูกเมล็ดข้าวฟ่าง หยอดเมล็ดข้าวฟ่างแต่ละสายพันธุ์จำนวน 3 หลุม ๆ ละ 5 เมล็ด รดน้ำทุกวัน ตรวจสอบการเกิดโรคหลังปลูกข้าวฟ่าง 2 เดือน บันทึกการเกิดโรค

2. **ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพแปลงทดสอบ**

ปลูกข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ในแปลงทดสอบพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี โดยมีระยะปลูก 60 x 20 เซนติเมตร จำนวน 4 แถว 4 ซ้ำ ปล่อยให้เกิดโรคตามธรรมชาติ ดูแล รดน้ำให้ปุ๋ย และกำจัดวัชพืชตามระยะเวลาที่เหมาะสม บันทึกการเกิดโรคทุกเดือน เปรียบเทียบปฏิกิริยาการเกิดโรคระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2551

ห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

แปลงทดสอบพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

ผลการทดสอบการเกิดโรคบนข้าวฟ่างพันธุ์ทดสอบ ในโรงเรือนปลูกข้าวฟ่าง โดยปลูกเชื้อรา *F. moniliforme* ที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่าง ลงในดินปลูกข้าวฟ่างสายพันธุ์ทดสอบจำนวน 6 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ BJ 281, Cowley, Keller, Rio, UTIS 23585 และสายพันธุ์ Wray พบว่าข้าวฟ่างทุกสายพันธุ์แสดงอาการต้นผอม แคระแกรน และ มียอดบิด ภายในลำต้นมีอาการเน่าแดง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดที่เกิดจากเชื้อรา *F. moniliforme* เมื่อนำต้นข้าวฟ่างทุกสายพันธุ์ที่แสดงอาหารโรคมาแยกเชื้อราและจำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *F. moniliforme*

2. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพแปลงทดสอบ

ผลการตรวจและบันทึกการเกิดโรคลำต้นเน่าดำของต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ BJ 281, Cowley, Keller, Rio, UTIS 23585 และสายพันธุ์ Wray ในแปลงทดสอบพันธุ์ ของศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี พบว่า จากการประเมินโรคที่เกิดขึ้นในแปลงปลูกในฤดูกาลเก็บเกี่ยวครั้งที่ 1 (เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2551) พบการเข้าทำลายของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด และภายในลำต้นเน่าแดง ในสายพันธุ์ Keller เมื่อนำเนื้อเยื่อส่วนที่เป็นโรคมาแยกเชื้อและจำแนกชนิดได้เชื้อรา *F. moniliforme* ส่วนข้าวฟ่างสายพันธุ์อื่น ๆ ยังไม่พบการเข้าทำลาย ส่วนการประเมินโรคที่เกิดขึ้นในแปลงปลูกในฤดูกาลเก็บเกี่ยวครั้งที่ 2 (เดือนพฤศจิกายน 2551 – กุมภาพันธ์ 2552) พบการเข้าทำลายของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดในข้าวฟ่างสายพันธุ์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ BJ 281, Cowley, Keller, Rio, UTIS 23585 และสายพันธุ์ Wray แต่ระดับการเกิดโรคต่ำ และแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบการเกิดโรคบนข้าวฟ่างพันธุ์ทดสอบ ในโรงเรือนปลูกข้าวฟ่าง โดยปลูกเชื้อรา *F. moniliforme* ที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่าง ลงในดินปลูกข้าวฟ่างสายพันธุ์ทดสอบจำนวน 6 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ BJ 281, Cowley, Keller, Rio, UTIS 23585 และสายพันธุ์ Wray พบว่า ข้าวฟ่างทุกสายพันธุ์แสดงอาการของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดที่เกิดจากเชื้อรา *F. moniliforme*

การประเมินการโรคในแปลงปลูกในฤดูกาลเก็บเกี่ยวครั้งที่ 1 (เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2551) พบการเข้าทำลายของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด และภายในลำต้นเน่าแดง ในสายพันธุ์ Keller ส่วนข้าวฟ่างสายพันธุ์อื่น ๆ ยังไม่พบการเข้าทำลาย ส่วนการประเมินโรคที่เกิดขึ้นในแปลงปลูกในฤดูกาลเก็บเกี่ยวครั้งที่ 2 (เดือนพฤศจิกายน 2551 – กุมภาพันธ์ 2552) พบการเข้าทำลายของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด ในข้าวฟ่างสายพันธุ์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ BJ 281, Cowley, Keller, Rio, UTIS 23585 และสายพันธุ์ Wray แต่ระดับการเกิดโรคต่ำ และแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์

เอกสารอ้างอิง

ธำรงศิลป โพธิสูง, สมชาย ปิยพันธวานนท์ และ ถวิล นิลพยัคฆ์. 2551. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ผลผลิตต้นสดและความหวานสูง. หน้า 126-133 ใน เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการวิจัยแม่บทข้าวโพดและข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 3. ณ โรงแรมอิมพีเรียล ภูแก้วฮิลล์ รีสอร์ท เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ ระหว่างวันที่ 14-16 พฤษภาคม 2551.

น้อม ขันติคุณ. 2523. ความสำเร็จของการปลูกข้าวฟ่างหวานครั้งแรกในเมืองไทย. วารสารน้ำตาล 16(5) กันยายน-ตุลาคม : 1-2.

_____. 2524. การผลิตแอลกอฮอล์-น้ำตาลจากข้าวฟ่างหวาน. วารสารน้ำตาล 17(2) มีนาคม-เมษายน : 1-2.

Frederiksen, R.A. 1986. Compendium of Sorghum Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 82 pp.

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina*

Reaction of Sweet Sorghum Lines Resistant to Charcoal Rot Caused by Macrophomina phaseolina

พจนา ตระกูลสุขรัตน์[1/] พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1/] ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี[1/]
กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์[2/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ต่อโรคลำต้นเน่าดำที่มีเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* เป็นสาเหตุ ทำการทดลองในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ และในแปลงทดสอบพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม 2551 (ฤดูปลูกครั้งที่ 1 และ 2) ผลการประเมินโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าข้าวฟ่างหวานพันธุ์ Cowler และ Keller และสายพันธุ์ BJ-281 มีแนวโน้มต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *M. phaseolina* ส่วนพันธุ์ Rio, Wray สายพันธุ์ UTIS-23585 อ่อนแอต่อการเข้าทำลาย ผลการทดสอบในสภาพแปลงทดสอบไม่พบการแพร่ระบาดของโรคลำต้นเน่าดำ

คำนำ

ข้าวฟ่างหวานหรือข้าวฟ่างพันธุ์หวาน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sorghum bicolor* L. Moench. เป็นพืชที่มีลักษณะพิเศษคือมีน้ำหวานในลำต้นคล้ายอ้อยซึ่งสามารถนำมาแปรรูปเพื่อใช้ประโยชน์ได้หลายรูปแบบ ทั้งในรูปของพืชอาหารสัตว์และอาหารมนุษย์ ทำเชื้อเพลิงหรือทำเป็นแผ่นชนวนกันความร้อน ปัจจุบันมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านเป็นพืชพลังงานเพื่อการผลิตแอลกอฮอล์ (น้อม, 2523 และ 2524) ทดแทนอ้อยและมันสำปะหลังในช่วงขาดแคลน ข้าวฟ่างหวานจึงได้รับความสนใจมากขึ้นในลักษณะของพืชพลังงานทางเลือก ในการปรับปรุงพันธุ์จึงเน้นที่พันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ให้ผลผลิตต้นสดสูง ปริมาณน้ำหวานและความหวานสูง มีลักษณะทาง

รหัสการทดลอง 01-17-49-06-01-02-03-50

การเกษตรดี และปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้กว้าง ต้านทานต่อโรคแมลงได้ปานกลาง โดยเฉพาะโรคที่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำคั้น สำหรับใช้เป็นพันธุ์แนะนำต่อไป (ธำรงศิลป์ และคณะ, 2551)

โรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal rot มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* เป็นโรคทางลำต้นที่สำคัญโรคหนึ่งสามารถมีพืชอาศัยได้มากกว่า 500 ชนิด (Mehan and McDonald, 1997) รวมทั้งข้าวฟ่าง (Frederiksen, 1986) ทำความเสียหายให้กับต้นข้าวฟ่างในช่วงระหว่างฤดูปลูก โดยเข้าทำลายพืชทางระบบท่อน้ำท่ออาหาร เปลี่ยนภายในลำต้นให้มีสีน้ำตาลไหม้ถึงดำ สภาพแวดล้อมที่ร้อนและแห้งเป็นปัจจัยหนึ่งที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค (Cook *et al*., 1973)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานต่อโรคลำต้นเน่าดำในเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงทดสอบ รวบรวมเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับนำไปพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานต่อโรคในสภาพไร่ และเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคเพื่อส่งเสริมให้มีการปลูกขยายพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี จำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio, UTIS-23585 และ Wray
2. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการและอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA)
3. ถุงปลูกสีดำ
4. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

1. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

การทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ซึ่งได้เมล็ดพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรีคือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง การปลูกเชื้อทดสอบใช้วิธี Tooth-picked method โดยเลี้ยงเชื้อราใน flask

ที่บรรจุเมล็ดข้าวฟ่างและไม้จิ้มฟันนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อเชื้อราเจริญคลุมไม้จิ้มฟัน ใช้ไม้จิ้มฟันนั้นแทงเข้าไปในต้นข้าวฟ่างหวานอายุ 45 วันที่บริเวณโคนต้นเหนือพื้นดินขึ้นมาประมาณ 2 นิ้ว ดูแลรดน้ำให้ปุ๋ยตามความเหมาะสม บันทึกการเกิดโรคโดยให้คะแนนความรุนแรงของโรคดังนี้

โรคลำต้นเน่าดำ ดัดแปลงจากวิธีการให้คะแนนของ Abawi and Pastor-Corrales (1990)

ต้านทานสูง ระดับ 0 = ไม่พบการเข้าทำลาย

ต้านทานปานกลาง ระดับ 1 = เกิดจุดแผลสีน้ำตาลขนาดเล็กเฉพาะบริเวณที่ปลูกเชื้อ

ต้านทานต่ำ ระดับ 2 = เกิดแผลสีน้ำตาลรอบบริเวณที่ปลูกเชื้อ

อ่อนแอ ระดับ 3 = เกิดแผลสีน้ำตาลลุกลามเข้าไปในลำต้นและกิ่งก้านใบด้านบนเริ่มซีดเหลือง

อ่อนแอ ระดับ 4 = เนื้อเยื่อในลำต้นถูกทำลาย พบ pycnidia และ sclerotia จำนวนมาก

นำคะแนนที่ได้ประเมินไว้มาวิเคราะห์สถิติเพื่อเปรียบเทียบความรุนแรงของโรคในแต่ละพันธุ์ และคำนวณหาดัชนีความรุนแรงของโรคตามวิธีการของ McKinney (1923)

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ผลรวม(ระดับx จำนวนต้นหรือใบที่เป็นโรคในระดับนั้นๆ)x100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับคะแนนที่เป็นโรคสูงสุด}}$$

$$= \frac{(0a + 1b + \ldots) \times 100}{(a + b + \ldots) \times \text{ระดับคะแนนที่เป็นโรคสูงสุด}}$$

หมายเหตุ a, b, … คือ จำนวนต้นหรือใบในระดับคะแนน 0, 1, … ตามลำดับ

บันทึกเปรียบเทียบปฏิกิริยาการเกิดโรคระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์

2. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพแปลงทดสอบ

ปลูกข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ในแปลงทดสอบพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี โดยมีระยะปลูก 60 x 20 เซนติเมตร จำนวน 4 แถว 4 ซ้ำ ปล่อยให้เกิดโรคตามธรรมชาติ ดูแล รดน้ำ ให้ปุ๋ย และกำจัดวัชพืชตามระยะเวลาที่เหมาะสม บันทึกการเกิดโรคทุกเดือนและให้คะแนนความรุนแรงเช่นเดียวกับการทดลองในเรือนปลูกพืชทดลอง เปรียบเทียบปฏิกิริยาการเกิดโรคระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2550

ห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงทดสอบพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

ทดสอบปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในเรือนปลูกพืชทดลองจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *M. phaseolina* ผลการทดลองพบว่าพันธุ์/สายพันธุ์ BJ-281, Cowley และ Keller มีระดับความต้านทานโรคสูง (ไม่เป็นโรค) ดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับร้อยละ 0.0 ทั้ง 3 พันธุ์/สายพันธุ์ ในขณะที่พันธุ์/สายพันธุ์ Rio, UTIS-23585 และ Wray แสดงอาการโรค ดัชนีความรุนแรงของโรคคิดเป็นร้อยละ 10, 20 และ 20 ตามลำดับ นำมาจัดลำดับความต้านทานแล้ว พบว่า Rio และ UTIS-23585 พันธุ์/สายพันธุ์อ่อนแอ พันธุ์ Wray ต้านทานต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากความรุนแรงของโรคที่เกิดกับพันธุ์ Rio และสายพันธุ์ UTIS-23585 อยู่ที่ระดับสูงสุดคือ ระดับ 4 ต้นพืชตาย ในขณะที่พันธุ์ Wray อยู่ที่เพียงแค่ระดับ 2 มีเพียงรอยแผลรอบตำแหน่งที่ปลูกเชื้อเท่านั้น ไม่ขยายลุกลามเข้าไปทำลายเนื้อเยื่อภายใน ตรงกับการทดลองของ Abawi and Pastor-Corrales (1990) ซึ่งรายงานว่า พืชสายพันธุ์อ่อนแอต่อโรค Charcoal rot จะล้มเหลวในการป้องกันตัวเองต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ โดยจะปรากฏบาดแผลภายหลังการปลูกเชื้อ และบาดแผลดังกล่าวจะขยายลุกลามเข้าไปทำลายเนื้อเยื่อลำต้นและเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ต้นพืชตาย ในขณะที่สายพันธุ์ที่ต้านทานจะสามารถป้องกันตนเองจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ ทำให้บาดแผลไม่ขยายลุกลามเข้าไปทำลายถึงภายในต้นพืชได้

2. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพแปลงทดสอบ

ผลการตรวจและบันทึกการเกิดโรคลำต้นเน่าดำของต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดสอบพันธุ์ พบว่าทั้ง 2 ฤดูปลูกคือฤดูปลูกที่ 1 (เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2551) และครั้งที่ 2 (เดือนพฤศจิกายน 2551 – กุมภาพันธ์ 2552) ไม่พบการเข้าทำลายของโรคลำต้นเน่าดำในธรรมชาติ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีฝนตกในปริมาณมากและตกติดต่อกันเป็นระยะเวลานานในช่วงฤดูปลูกที่ 1 ทำให้ดินมีความชุ่มชื้นมาก และช่วงฤดูปลูกที่ 2 อากาศค่อนข้างเย็นเร็วกว่าอากาศในฤดูปลูกปีที่ผ่านๆ ซึ่งสภาพแวดล้อมในปี 51ทั้ง 2 ฤดูปลูกไม่เหมาะสมต่อการเข้าทำลาย

ของเชื้อสาเหตุโรค *Macrophomina phaseolina* ซึ่งจะเข้าทำลายพืชได้ดีในสภาพแวดล้อมที่ร้อนแห้งและมีความชื้นในดินต่ำ (Sinclair and Backman, 1989) อาจเป็นสาเหตุสำคัญทำให้ไม่พบการแพร่ระบาดของโรคลำต้นเน่าดำในสภาพธรรมชาติในฤดูปลูกปี 51 ทั้ง 2 ฤดูปลูก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบปฏิกิริยาข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรีต่อการเกิดโรคลำต้นเน่าดำระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม 2551 (ฤดูปลูกครั้งที่ 1 และ 2) ผลการทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองพบว่า สายพันธุ์ BJ-281 พันธุ์ Cowley และพันธุ์ Keller มีระดับความต้านทานโรคสูง (ไม่เป็นโรค) พันธุ์ Wray ต้านทานต่ำ พันธุ์ Rio และสายพันธุ์ UTIS-23585 อ่อนแอต่อโรค และผลการทดสอบในสภาพแปลง ไม่พบการแพร่ระบาดของโรคลำต้นเน่าดำในสภาพธรรมชาติ

เอกสารอ้างอิง

ธำรงศิลป โพธิสูง, สมชาย ปิยพันธวานนท์ และ ถวิล นิลพยัคฆ์. 2551. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ผลผลิตต้นสดและความหวานสูง. หน้า 126-133 ใน เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการวิจัยแม่บทข้าวโพดและข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 3. ณ โรงแรมอิมพีเรียล ภูแก้วฮิลล์ รีสอร์ท เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ ระหว่างวันที่ 14-16 พฤษภาคม 2551.

น้อม ขันติคุณ. 2523. ความสำเร็จของการปลูกข้าวฟ่างหวานครั้งแรกในเมืองไทย. วารสารน้ำตาล 16(5) กันยายน-ตุลาคม : 1-2.

_____. 2524. การผลิตแอลกอฮอล์-น้ำตาลจากข้าวฟ่างหวาน. วารสารน้ำตาล 17(2) มีนาคม-เมษายน : 1-2.

Abawi, G.s. and M.A. Pastor-Corrales. 1990. Root Rots of Beans in Latin America and Africa: Diagnosis, Research Methodologies and Management Strategies. CIAT, Cali, Colombia. 114 pp. [online] Available : http://www.css.msu.edu/BIC/PDF/AshyStemBlight.pdf. (Access date:11 January 2008)

Cook,G.E., M.G. Boosalis, L.D. Dunkle and Odvody, G.N. 1973. Survival of *Macrophomina phaseolina* in corn and sorghum stalk residue. Plant Dis. Reptr. 57:873-875.

Frederiksen, R.A. 1986. Compendium of Sorghum Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 82 pp.

McKinney, H.H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativum*. Cited by Cirulli M. and L.J. Alexander. 1966. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato. Phytopathology 56:1301–1304.

Mehan, V. K., and D. McDonald. 1997. Charcoal Rot. *In* Compendium of Peanut Diseases, 2nd ed. N. Kokalis-Burelle *et al*. eds. APS Press. St. Paul, MN. USA. 94 pp.

Sinclair, J.B. and P.A. Backman. (eds.). 1989. Compendium of Soybean Disease 3rd ed. APS Press. St. Paul, MN. USA.

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum*

Reaction of Sweet Sorghum Lines Resistant to Anthracnose Caused by Colletotrichum sublineolum

พจนา ตระกูลสุขรัตน์[1/] พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1/] ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี[1/]
กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์[2/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่

บทคัดย่อ/รายงานความก้าวหน้า

ศึกษาปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ต่อโรคแอนแทรคโนสที่มีเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum* เป็นสาเหตุ ทำการทดลองในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ และในแปลงทดสอบพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม 2551 (ฤดูปลูกครั้งที่ 1 และ 2) ผลการประเมินโรคในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าข้าวฟ่างหวานพันธุ์ Cowler, Keller, Rio และสายพันธุ์ UTIS-23585 มีแนวโน้มต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค ส่วนสายพันธุ์ BJ-281 และพันธุ์ Wray อ่อนแอต่อการเข้าทำลาย ผลการทดสอบในสภาพแปลงทดสอบพันธุ์/สายพันธุ์ B-281, Cowley, Keller, Rio และ Wrayอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรค ไม่พบการแพร่ระบาดของโรคในพันธุ์ UTIS-23585

คำนำ

พืชในกลุ่มข้าวฟ่างที่กำลังได้รับความสนใจในปัจจุบันคือข้าวฟ่างหวานหรือข้าวฟ่างพันธุ์หวาน เนื่องจากมีต้นทุนการปลูกต่ำกว่าอ้อยปลูกง่าย เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ปลูกได้ในดินทุกชนิดแม้แต่ดินค่อนข้างเค็ม แต่ขึ้นได้ดีในดินที่มีลักษณะร่วนเหนียว หน้าดินลึก การระบายน้ำดี และมีค่าความเป็นกรด-ด่างหรือ pH อยู่ระหว่าง 5.5-8.7 (นิรนาม, 2547) มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น จึงสามารถปลูกได้หลายครั้งต่อปี และมีคุณค่าทางโภชนาการที่มีความเหมาะสมต่อการนำมาเป็น

รหัสการทดลอง 01-17-49-06-01-02-04-50

พืชอาหารของโคเนื้อและโคนม จุดเด่นของข้าวฟ่างหวานที่สำคัญคือมีปริมาณน้ำตาลจากลำต้นใกล้เคียงกับอ้อยซึ่งสามารถนำมาผลิตเป็นแอลกอฮอล์ได้ (ทวีศักดิ์, 2550) ประเทศไทยได้มีการนำข้าวฟ่างหวานบางพันธุ์เข้ามาปลูกในประเทศไทยตั้งแต่ปี 2523 โดยนำเข้าพันธุ์ Rio พันธุ์ Wray และพันธุ์ Keller จากประเทศสหรัฐอเมริกาเข้ามาปลูกซึ่งทั้ง 3 พันธุ์เจริญเติบโตดีและให้เปอร์เซ็นต์น้ำตาลสูงกว่าพันธุ์ที่เคยปลูกอยู่เดิมถึง 2 เท่า (กรีก, 2524) และมีการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ที่ดีเรื่อยมาโดยตลอด ซึ่งในการปรับปรุงพันธุ์จะเน้นพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ให้ผลผลิตต้นสดสูง ปริมาณน้ำหวานและความหวานสูง มีลักษณะทางการเกษตรดี และปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้กว้าง ต้านทานต่อโรคแมลงได้ปานกลาง โดยเฉพาะโรคที่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำคั้น สำหรับใช้เป็นพันธุ์แนะนำต่อไป (ธำรงศิลป์ และคณะ, 2551)

โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum* ทำความเสียหายให้กับต้นข้าวฟ่างหวานระยะต้นโต พบอาการกับทุกส่วนของต้นพืชที่อยู่เหนือดิน โดยเฉพาะบนใบ ทำให้เกิดอาการแผลจุดไหม้บนใบและลำต้นและลุกลามขยายใหญ่จนเต็มพื้นที่ใบ (พจนาและกนกทิพย์, 2551) ในบางครั้งพบแผลเกิดขึ้นบริเวณก้านลำต้นต้นข้าวฟ่างเห็นเป็นแถบสีแดงเข้มถึงดำ จึงเรียกโรคนี้ว่าโรคลำต้นเน่าแดง (red stalk rot) (Wharton *et al*., 2001) สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของโรคคืออากาศร้อนและดินมีความชื้นสูง ในกรณีที่เกิดการระบาดของโรครุนแรงและใช้ข้าวฟ่างพันธุ์อ่อนแอ ต้นข้าวฟ่างจะทิ้งใบตายก่อนถึงอายุให้ผลผลิต มีรายงานว่าโรคนี้ทำให้ผลผลิตข้าวฟ่างเสียหายถึง 50-88.7% หากใช้พันธุ์อ่อนแอปลูก (Ferriera and Warren, 1982)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานต่อโรคแอนแทรคโนสในเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงทดสอบ รวบรวมเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับนำไปพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานต่อโรคในสภาพไร่ และเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคเพื่อส่งเสริมให้มีการปลูกขยายพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี จำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio, UTIS-23585 และ Wray
2. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการและอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA)
3. ถุงปลูกสีดำ
4. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

1. **ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง**

การทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ซึ่งได้เมล็ดพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรีคือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง การปลูกเชื้อทดสอบใช้วิธี Tooth-picked method โดยเลี้ยงเชื้อราใน flask ที่บรรจุเมล็ดข้าวฟ่างและไม้จิ้มฟันนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อเชื้อราเจริญคลุมไม้จิ้มฟัน ใช้ไม้จิ้มฟันนั้นแทงเข้าไปในต้นข้าวฟ่างหวานอายุ 45 วันที่บริเวณโคนต้นเหนือพื้นดินขึ้นมาประมาณ 2 นิ้ว ดูแลรดน้ำให้ปุ๋ยตามความเหมาะสม บันทึกการเกิดโรคโดยให้คะแนนความรุนแรงของโรคดังนี้

โรคแอนแทรคโนส ดัดแปลงจากวิธีการให้คะแนนของ Wharton and Julian (1996)

ต้านทานสูง ระดับ 0	=	ไม่พบการเข้าทำลาย
ต้านทานปานกลาง ระดับ 1	=	แผลมีขนาดน้อยกว่า 10% ของพื้นที่ใบ และยังไม่พบการสร้าง acervulus บนแผล
อ่อนแอ ระดับ 2	=	แผลมีขนาดตั้งแต่ 10 – 25% ของพื้นที่ใบ และเริ่มพบการสร้าง acervulus บนแผล
อ่อนแอ ระดับ 3	=	แผลมีขนาดตั้งแต่ 25 – 50% ของพื้นที่ใบ และพบ acervulus บนแผล
อ่อนแอ ระดับ 4	=	แผลมีขนาดตั้งแต่ 50 – 75% ของพื้นที่ใบ และพบ acervulus จำนวนมากบนแผล
อ่อนแอ ระดับ 5	=	แผลมีขนาดมากกว่า 75% ของพื้นที่ใบ และพบ acervulus จำนวนมากบนแผล

นำคะแนนที่ได้ประเมินไว้มาวิเคราะห์สถิติเพื่อเปรียบเทียบความรุนแรงของโรคในแต่ละพันธุ์ และคำนวณหาดัชนีความรุนแรงของโรคตามวิธีการของ McKinney (1923)

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ผลรวม(ระดับ x จำนวนต้นหรือใบที่เป็นโรคในระดับนั้นๆ)} \times 100}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับคะแนนที่เป็นโรคสูงสุด}}$$

$$= \frac{(0a + 1b + \ldots) \times 100}{(a + b + \ldots) \times \text{ระดับคะแนนที่เป็นโรคสูงสุด}}$$

หมายเหตุ a, b, … คือ จำนวนต้นหรือใบในระดับคะแนน 0, 1, … ตามลำดับ

บันทึกเปรียบเทียบปฏิกิริยาการเกิดโรคระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์

2. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพแปลงทดสอบ

ปลูกข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ในแปลงทดสอบพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี โดยมีระยะปลูก 60 x 20 เซนติเมตร จำนวน 4 แถว 4 ซ้ำ ปล่อยให้เกิดโรคตามธรรมชาติ ดูแล รดน้ำ ให้ปุ๋ย และกำจัดวัชพืชตามระยะเวลาที่เหมาะสม บันทึกการเกิดโรคทุกเดือนและให้คะแนนความรุนแรงเช่นเดียวกับการทดลองในเรือนปลูกพืชทดลอง เปรียบเทียบปฏิกิริยาการเกิดโรคระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2550

ห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช แปลงทดสอบพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

ทดสอบปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในเรือนปลูกพืชทดลองจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, UTIS-23585 และ Wray ต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. sublineolum* ผลการทดลองพบว่าพันธุ์/สายพันธุ์ Cowley, Keller, Rio และ UTIS-23585 มีระดับความต้านทานต่อโรคสูง (ไม่เป็นโรค) ดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับร้อยละ 0.0 ทั้ง 4 พันธุ์/สายพันธุ์ ในขณะที่พันธุ์/สายพันธุ์ BJ-281 และ Wray แสดงอาการโรค ดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับร้อยละ 20 และ 33.33 ตามลำดับ นำมาจัดลำดับความต้านทาน พบว่าทั้งสายพันธุ์ BJ-281 และพันธุ์ Wray เป็นพันธุ์อ่อนแอ เนื่องจากระดับความรุนแรงของโรคที่เกิดกับสายพันธุ์ BJ-281 อยู่ระดับสูงสุด คือระดับ 5 ต้นพืชตาย ส่วนพันธุ์ Wray มีระดับความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 2 และ 3 และพบการสร้าง acervulus บนแผลที่ลำต้น ซึ่งภายใน acervulus เป็นที่เกิดของ conidia ที่เชื้อราสาเหตุโรคใช้เป็นอวัยวะในการเข้าทำลายพืชโดยการแทงเข้าสู่พืช และงอกเป็นเส้นใยแบบ primary hyphae ก่อนพัฒนาเป็น secondary hyphae ฝังตัวอยู่ภายในเซลล์พืชจนถึงเซลล์ชั้นใน (mesophyll cells) เชื้อราเจริญและสร้าง acervulus พร้อมกับการสร้าง conidia ใหม่บนเซลล์พืชเพื่อใช้ขยายลุกลามออกไปยังเซลล์ข้างเคียงต่อไป ทำให้เซลล์เปลี่ยนสี เซลล์ตายเป็นแผลบริเวณกว้าง ในพันธุ์ต้านทานโรค หลังจาก conidia สร้างเส้นใยเพื่อแทงเข้าสู่พืช เส้นใยถูกจำกัดอยู่เฉพาะเซลล์ผิวชั้นนอก (epidermal cells) เพราะกลไกการต้านทานจากตัวพืชทำให้เส้นใยเชื้อราไม่สามารถพัฒนาไปเป็นเส้นใยแบบ secondary hyphae เข้าทำลายเซลล์ชั้นในและสร้าง

acervulus ใหม่ต่อไปได้ Wharton and Julian (1996) จึงจัดให้ข้าวฟ่างพันธุ์ที่ไม่เป็นโรคหรือเกิดแผลที่ไม่พบการสร้าง acervulus เป็นพันธุ์ต้านทาน

2. ศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานในสภาพแปลงทดสอบ

ผลการตรวจและบันทึกการเกิดโรคแอนแทรคโนสของต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดสอบพันธุ์ พบว่าทั้ง 2 ฤดูปลูกคือฤดูปลูกที่ 1 (เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2551) พบการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรคโนสโดยดัชนีความรุนแรงของโรคของพันธุ์ BJ-281 คือ 49.09% พันธุ์ Cowley คือ 28.33% พันธุ์ Keller คือ 21.11% พันธุ์ Rio คือ 43.70% และพันธุ์ Wray คือ 46.96% ไม่พบการแพร่ระบาดในพันธุ์ UTIS-23585 และฤดูปลูกครั้งที่ 2 (เดือนพฤศจิกายน 2551 – กุมภาพันธ์ 2552) ไม่พบการแพร่ระบาดของโรคในธรรมชาติ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีฝนตกในปริมาณมากและตกติดต่อกันเป็นระยะเวลานานในช่วงฤดูปลูกที่ 1 ทำให้ดินมีความชุ่มชื้นมาก เป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค และช่วงฤดูปลูกที่ 2 อากาศค่อนข้างเย็นแต่แห้งเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค จึงไม่พบการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรคโนสในฤดูปลูกที่ 2

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบปฏิกิริยาข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ได้รับจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรีต่อการเกิดโรคลำต้นเน่าดำระหว่างเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม 2551 (ฤดูปลูกครั้งที่ 1 และ 2) ผลการทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองพบว่า พันธุ์ Cowley, Keller, Rio และสายพันธุ์ UTIS-23585 มีระดับความต้านทานโรคสูง (ไม่เป็นโรค) ในขณะที่สายพันธุ์ BJ-281 และพันธุ์ Wray อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรค และผลการทดสอบในสภาพแปลง พบว่าในฤดูปลูกที่ 1 พันธุ์/สายพันธุ์ BJ-281, Cowley, Keller, Rio และ Wray อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคแอนแทรคโนสในสภาพธรรมชาติ แต่ไม่พบการแพร่ระบาดของโรคในพันธุ์ UTIS-23585 และไม่พบการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรคโนสในทุกพันธุ์/สายพันธุ์ในฤดูปลูกที่ 2

เอกสารอ้างอิง

กรึก นฤทุม. 2524. ข้าวฟ่างหวาน. หน้า 96-105. *ใน* เอกสารประกอบการสัมมนาพิเศษ หัวข้อ มหาวิทยาลัยกับการพัฒนาอุตสาหกรรม. จัดโดยชมรมนักวิชาการอ้อยและน้ำตาลแห่งประเทศไทย ณ ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

นิรนาม. 2547 . ข้าวฟ่าง. หน้า 181-205. ใน สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 14. พิมพ์ครั้งที่ 9. รุ่งศิลป์การพิมพ์ (1977). กรุงเทพฯ

ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ. 2550. 'ต้นข้าวฟ่างหวาน' ทางเลือกใหม่ : พืชอาหารสัตว์ลดต้นทุนการเลี้ยงโคเนื้อและโคนม. Daily News Online ฉบับวันที่ 3 กันยายน 2550. เข้าถึงข้อมูล 11 มกราคม 2551.

ธำรงศิลป โพธิสูง, สมชาย ปิยพันธวานนท์ และ ถวิล นิลพยัคฆ์. 2551. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ผลผลิตต้นสดและความหวานสูง. หน้า 126-133 ใน เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการวิจัยแม่บทข้าวโพดและข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 3. ณ โรงแรมอิมพีเรียล ภูแก้วฮิลล์ รีสอร์ท เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ ระหว่างวันที่ 14-16 พฤษภาคม 2551. 353 หน้า.

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และกนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์. 2551. โรคแอนแทรคโนสของข้าวฟ่างหวาน. หน้า 241-248. *ใน* เอกสารประชุมเชิงปฏิบัติการ โครงการวิจัยแม่บทข้าวโพดข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 3 ณ โรงแรมอิมพีเรียล ภูแก้วฮิลล์ รีสอร์ท เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ ระหว่างวันที่ 14-16 พฤษภาคม 2551. 353 หน้า.

Ferriera, A.S. and H.L. Warren. 1982. Resistance of sorghum to *Colletotrichum graminicola*. Plant Disease 66:773-775

Wharton, P.S. and A.M. Julian. 1996. A cytological study of compatible and incompatible interactions between *Sorghum bicolor* and *Colletotrichum sublineolum*. New Phytol. 134:25–34.

Wharton, P.S., A.M. Julian, and R.J. O'Connell. 2001. Ultrastructure of the infection of *Sorghum bicolar* by *Colletotrichum sublineolum*. Phytopathology 91(2) : 149-158.

ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore

Efficacy of Insecticides for Controlling Citrus Fruit Borer, *Citripestis sagittiferella* Moore

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา บุษบง มนัสมั่นคง
สุเทพ สหายา เกรียงไกร จำเริญมา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอ *Citripestis sagittiferella* Moore ดำเนินการในสวนส้มโอของเกษตรกร กิ่งอำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด ปี 2551 -2552 วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น 7 กรรมวิธี คือ lamdacyhalothrin (Karate Zeon 2.5CS 2.5% CS) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ20ลิตร cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร profenofos (Supercron500 50%EC) อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร fipronil (Ascend 5% SC) อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร acephate (ACFA 75% SP) อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (emamectin benzoate (Proclaim 019EC 1.92% EC) อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบว่า สารฆ่าแมลงที่มีแนวโน้มที่ดีในการป้องกันกำจัด คือ acephate (ACFA 75% SP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตรcypermethrin / phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร รองลงมา คือ emamectin benzoate (Proclime 019 EC 1.92% EC) profenofos (Supercron 500 50% EC) และ lamda-cyhalothrin (Karate Zeon 2.5 CS 2.5% CS)

คำหลัก : ส้มโอ หนอนเจาะผลส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore การป้องกันกำจัด สารฆ่าแมลง

คำนำ

หนอนเจาะผลส้มโอ *Citripestis sagittiferella* Moore (Lepidoptera : Pyralidae) พบครั้งแรกในปี 1891 เป็นแมลงที่มีเขตการแพร่กระจายในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ อินโดนีเซีย และบรูไน พบลงทำลายพืชตระกูลส้ม (Rutaceae) ชัยพฤกษ์, *Cassia fistula* ถั่วดาบ, *Canavalia gladiata* และมะขาม (CABI,2003; บุษบง, 2542)

รหัสการทดลอง 01-10-49-02-03-01-01-49

ในประเทศไทย หนอนเจาะผลส้มโอระบาดในแหล่งปลูกส้มโอบางแหล่ง เช่น เชียงราย นครนายก ตราด และแหล่งปลูกในภาคใต้ เช่น ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช เป็นต้นโดยหนอนเจาะกินเข้าไปในผลส้มโอ รอยเจาะและรอยทำลายเห็นได้ชัดเจน เพราะมีมูลของหนอนที่ถ่ายออกมา บริเวณรอยแผลมียางไหลเยิ้ม ทำให้ผลเน่าและร่วง โดยหนอนเริ่มเข้าทำลายตั้งแต่ส้มโอมีอายุ 45 วัน จนถึงระยะเก็บเกี่ยว หากมีการระบาดรุนแรงความเสียหายอาจเกิดขึ้นได้ 100% (บุษบง, 2542) CABI (2003)รายงานว่า ศัตรูธรรมชาติที่ลงทำลาย C. *sagittiferella* คือ แตนเบียนสกุล *Rhoptromeris*, *Cremastus* และ *Trichogrammatoidae*

ศรีจำนรรจ์ และคณะ (2550) ได้ทำการศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนอนเจาะผล พบว่า ผีเสื้อเพศวางไข่เป็นกลุ่ม 2-29 ฟอง บนผลส้มโอในช่วงเวลากลางคืน ไข่มีลักษณะกลมแบนสีขาวเกาะเรียงซ้อนทับกันเป็นกลุ่ม ระยะไข่ 5.30 $\pm$ 0.87 วัน หนอนมี 4 ระยะ และมีอัตราส่วนการเจริญเติบโตทางเรขาคณิตของขนาดความกว้างของหัวกระโหลก เท่ากับ 1.61 ตามกฎของ Dyer ระยะหนอน 14.60 $\pm$ 0.52 วัน หนอนเจาะผลส้มโอระยะสุดท้ายจะออกมาเข้าดักแด้ในดิน ระยะดักแด้เพศผู้ 6.77 $\pm$ 7.88 วัน ระยะดักแด้เพศเมีย 5.83 $\pm$ 1.54 วัน และเจริญออกมาเป็นตัวเต็มวัย ระยะผีเสื้อเพศผู้ 5.72 $\pm$ 1.18 วัน เพศเมีย 5.88 $\pm$ 1.24 วัน จากการสำรวจศัตรูธรรมชาติพบแตนเบียน *Trichogrammatoidea* sp. ลงทำลายในระยะไข่ แนวทางการป้องกันกำจัด คือ เก็บผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลาย และในแหล่งที่มีการระบาดเป็นประจำควรทำการพ่นสารฆ่าแมลง เมื่อส้มโอเริ่มติดผล 4 ครั้งทุก 7 วัน แล้วห่อผลส้มโอเมื่อผลส้มโออายุ 1 เดือน เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของหนอน การป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอที่มีการแนะนำในเอกสารเกษตรดีที่เหมาะสม คือ การพ่นสารเมทามิโดฟอส 3-4 ครั้งทุก 10 วัน หลังจากนั้นห่อผลด้วยถุงพลาสติก (กรมวิชาการเกษตร, 2545; กองกีฏและสัตววิทยา, 2545) แต่สารเมทามิโดฟอสได้ประกาศห้ามใช้เมื่อวันที่ 10 เมษายน 2546 ทำให้มีความจำเป็นที่ต้องหาสารทดแทนสารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอ เพื่อให้เป็นคำแนะนำให้กับเกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงส้มโอ อายุประมาณ 4-10 ปี
2. สารฆ่าแมลง
   - lamdacyhalothrin (Karate Zeon 2.5CS 2.5% CS)
   - cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC)
   - profenofos (Supercron500 50%EC)
   - fipronil (Ascend 5% SC)
   - acephate (ACFA 75% SP),

- emamectin benzoate (Proclaim 019EC 1.92% EC)

3. สารจับใบ

5. เครื่องยนต์พ่นสารแรงดันน้ำสูง (แบบลากสาย)

6. ถังพลาสติก กระบอกตวง/บีกเกอร์ ป้าย บันไดอลูมิเนียม

7. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาน, ดินสอ เป็นต้น

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 7 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น ประกอบด้วยและสารฆ่าแมลง 6 ชนิด คือ (1) lamdacyhalothrin (Karate Zeon 2.5CS 2.5% CS) อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ20ลิตร (2) cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (3) profenofos (Supercron500 50%EC) อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (4) fipronil (Ascend 5% SC) อัตรา 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (5) acephate (ACFA 75% SP) อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (6) emamectin benzoate (Proclaim 019EC 1.92% EC) อัตรา 10 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยทดสอบในแปลงส้มโอที่ให้ผลผลิตแล้ว จำนวน 28 ต้น เริ่มพ่นสารเมื่อผลส้มโอมีอายุ 15 วัน ทุก 7 วันครั้ง จำนวน 5-6 ครั้ง ทำการตรวจนับผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลทำลายต่อต้น ก่อนพ่นสารทุกครั้ง และหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 7 และ 14 วัน นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป บันทึกผลกระทบต่อพืช (Phytotoxicity)

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ – พฤษภาคม 2550 และเดือนมีนาคม – พฤษภาคม 2551 ที่สวนส้มโอของเกษตรกร กิ่งอำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด

ผลและวิจารณ์

ปี 2250

ก่อนพ่นสารทดลอง พบว่า ทุกกรรมวิธีมีผลส้มโอที่เปอร์เซ็นต์ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลาย 0.000-3.302 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

หลังจากพ่นสารครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลงทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์ของผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลายน้อยกว่า ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารซึ่งพบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลาย 6.669 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธีที่พ่นสารทุกกรรมวิธีพบเปอร์เซ็นต์ผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลายเพิ่มขึ้นทุกกรรมวิธี โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร cypernethrin/phosalone 6.25/22.5% EC fipronil 5% SC acephate 75%SP emamectin benzoate 1.92%EC lambda-cyhalothrin 2.5%CS และ profenofos 50%EC ผลส้มโอที่ถูก

หนอนเจาะผลส้มโอทำลาย เท่ากับ 0.087, 0.411, 0.824, 1.806, 1.989 และ 2.893 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ

หลังจากพ่นสารครั้งที่ 2, 3 และ 4 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสารที่มีเปอร์เซ็นต์ผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลายเพิ่มขึ้น ยกเว้นกรรมวิธีที่พ่นสาร cypernethrin/phosalone 6.25/22.5% EC ที่ไม่พบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอเพิ่มเติม โดยพบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลายหลังพ่นสารครั้งที่ 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0.087 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร fipronil 5% SC acephate 75%SP emamectin benzoate 1.92%EC lambda-cyhalothrin 2.5%CS และ profenofos 50%EC ซึ่งพบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลายหลังพ่นสารครั้งที่ 2, 3 และ 4 เท่ากับ 0.562-2.056, 1.00-1.306 , 2.265-3.919, 2.734-5.526 และ 4.258-5.318 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารซึ่งพบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลายหลังพ่นสารครั้งที่ 2, 3 และ 4 เท่ากับ 10.344-14.644 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น

หลังการพ่นสารครั้งที่ 5 แล้ว 7 และ 14 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร cypernethrin/phosalone 6.25/22.5% EC และ acephate 75%SP พบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลทำลาย 0.275 และ 0.580, 2.724 และ 2.724 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร fipronil 5% SC emamectin benzoate 1.92%EC lambda-cyhalothrin 2.5%CS และ profenofos 50%EC ซึ่งพบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลทำลาย 4.911 และ 5.141, 6.149 และ 6.149, 7.863 และ 7.863, 8.118 และ 9.105 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารซึ่งพบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลายหลังพ่นสารครั้งที่ 5 แล้ว 7 และ 14 วัน 24.349 และ 28.017 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารไม่พบอาการเป็นพิษกับส้มโอ

จากการดำเนินการทดลองสังเกตได้ว่า หนอนเจาะผลส้มโอจะลงทำลายผลส้มโอเมื่อผลส้มโออายุประมาณ 2 สัปดาห์ ซึ่งสันนิษฐานว่าผีเสื้อหนอนเจาะผลส้มโอเริ่มวางไข่เมื่อส้มโอเริ่มติดผล และพบว่าหนอนเจาะผลส้มโอมักจะลงทำลายผลส้มโอจากต้นเดิมที่มีการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอแล้ว แต่เนื่องจากในปี 2550 ผลส้มโอรุ่นที่ทำการทดสอบถูกพายุฝน ทำให้ผลร่วงในช่วงติดผลจำนวนมาก จึงต้องทำการทดสอบกับผลส้มโอที่ติดผลก่อนหน้า ผลส้มโอที่ดำเนินการทดสอบจึงมีอายุประมาณ 3-4 สัปดาห์ ประกอบกับการแพร่กระจายของหนอนเจาะผลส้มโอไม่สม่ำเสมอทั่วแปลง จึงส่งผลให้ผลการทดลองไม่ชัดเจนเท่าที่ควร ฉะนั้นในการทดสอบครั้งต่อไปควรเริ่มพ่นสารทดสอบตั้งแต่ผลส้มโอเริ่มติดผล

ปี 2251

การทดลองในปี 2551 ได้เริ่มทำการพ่นสารเมื่อผลส้มโอมีอายุ 2 สัปดาห์ ซึ่งไม่พบการทำลายของหนอนเจาะผลในทุกกรรมวิธี

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1 พบว่า พบกรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5%CS และ fipronil 5% SC พบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 0.296 และ 0.625 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร cypermethrin/phosalone 6.25/22.5% EC profenofos 50%EC acephate 75%SP emamectin benzoate 1.92%EC และกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งไม่พบรอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร acephate 75%SP มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ โดยไม่พบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอเทียบเท่าและไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC cypermethrin/ phosalone 6.25/22.5% EC และ profenofos 50%EC ซึ่งพบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 0.247, 0.653 และ 0.762 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ แต่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีกว่า และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งพบการทำลายของหนอนเจาะผล 5.792 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น

หลังการพ่นสารครั้งที่ 3 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร acephate 75%SP มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ โดยไม่พบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอเทียบเท่าและไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC สาร lambda-cyhalothrin 2.5%CS profenofos 50%EC และ cypermethrin/ phosalone 6.25/22.5% EC ซึ่งพบการทำลายของหนอนเจาะผล 0.277, 1.665, 1.672 และ 1.834 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ แต่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีกว่า และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งพบการทำลายของหนอนเจาะผลสูงขึ้น 9.106 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น

หลังการพ่นสารครั้งที่ 4 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร acephate 75%SP มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ โดยพบการรอยทำลายของหนอนเจาะผลเพียง 0.978 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น เทียบเท่าและไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร emamectin benzoate 1.92% EC cypermethrin/ phosalone 6.25/22.5% EC profenofos 50%EC และ lambda-cyhalothrin 2.5%CS ซึ่งพบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 2.753, 3.441, 4.000 และ 5.158 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ แต่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร fipronil 5% SC และกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งพบการทำลายของหนอนเจาะผล 8.926 และ 19.785 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 5 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอดีกว่ากรรมวิธีไม่พ่นสาร กล่าวคือ กรรมวิธีที่พ่นสาร acephate 75%SP มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ โดยพบการรอยทำลายของหนอนเจาะผลน้อยที่สุด 3.456 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น เทียบเท่าและไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่น

สาร emamectin benzoate 1.92% EC cypermethrin/ phosalone 6.25/22.5% EC profenofos 50%EC lambda-cyhalothrin 2.5%CS และ fipronil 5% SC ซึ่งพบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 5.403, 5.830, 6.857, 8.707 และ 13.869 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ แต่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอสูงถึง 34.372 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น

หลังการพ่นสารครั้งที่ 6 ซึ่งเป็นการพ่นสารครั้งสุดท้ายแล้ว 7 และ 14 วัน พบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับหลังการพ่นสารครั้งที่ 5 กล่าวคือ ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอดีกว่ากรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร acephate 75%SP มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ โดยพบการรอยทำลายของหนอนเจาะผลน้อยที่สุดหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายแล้ว 7 และ 14 วัน 3.909 และ 5.569 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ เทียบเท่าและไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร cypermethrin/ phosalone 6.25/22.5% EC emamectin benzoate 1.92% EC profenofos 50%EC lambda-cyhalothrin 2.5%CS และ fipronil 5% SC ซึ่งพบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 6.633 และ 7.614, 8.039 และ 10.933, 9.798 และ 12.211, 10.537 และ 12.077, 15.590 และ 19.649 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ แต่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งพบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอหลังการพ่นสารครั้งสุดท้ายแล้ว 7 และ 14 วัน สูงถึง 40.576 และ 49.927 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารไม่พบอาการเป็นพิษกับส้มโอ

จากผลการทดลองในปี 2551 จะเห็นได้ว่า ผลการทดลองเห็นความแตกต่างของกรรมวิธีที่ใช้สารฆ่าแมลงและกรรมวิธีไม่พ่นสารอย่างชัดเจน อาจจะเนื่องจากในปี 2551 พบการระบาดของหนอนเจาะผลส้มโอปริมาณมากและสม่ำเสมอทั่วแปลง และมีการพ่นสารฆ่าแมลงตามกรรมวิธีตั้งแต่ผลอายุ 2 สัปดาห์ก่อนการเข้ามาวางไข่ของหนอนเจาะผลส้มโอในแปลง ซึ่งเป็นการพ่นป้องกันก่อนการเข้าทำลาย และแม้จะพ่นสารฆ่าแมลงก่อนการเข้ามาวางไข่ของผีเสื้อหนอนเจาะผลส้มโอ แต่ในกรรมวิธีที่พ่นสารก็ยังพบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ แสดงว่าสารฆ่าแมลงที่นำมาทดสอบไม่สามารถป้องกันการเข้ามาวางไข่ และไม่สามารถฆ่าไข่ผีเสื้อหนอนเจาะผลส้มโอได้ และจากการสังเกตในแปลงทดสอบพบว่า ไข่ที่ฟักออกมาเป็นหนอนในกรรมวิธีที่พ่นสารทุกกรรมวิธี จะพบรอยทำลายที่มีขนาดเล็กมาก แสดงว่าสารฆ่าแมลงมีประสิทธิภาพที่ดีในการป้องกันกำจัดหนอนวัยแรกๆ ซึ่งยังเจาะทำลายในผลส้มโอไม่ลึกนัก

Table 1 Efficacy of insecticides for controlling citrus fruit borer, *Citripestis sagittiferella* Moore at Pomelo's orchard, Koh Chang, Trat , February – May 2007

Treatment	Rate of application (g, ml / 20 l)	% accumulate damaged fruits / tree[1/]						
		Before app.	7 DAA#1	7 DAA#2	7 DAA#3	7 DAA#4	7 DAA#5	14 DAA#5
lamda-cyhalothrin (Karate Zeon 2.5CS 2.5% CS)	20	0.420	1.989	2.734 ab[2/]	4.461 ab	5.526 ab	7.863 ab	7.863 ab
cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC)	40	0.000	0.087	0.087 a	0.087 a	0.087 a	0.275 a	0.580 a
profenofos (Supercron500 50%EC)	40	0.841	2.893	4.258 ab	5.213 ab	5.381 ab	8.118 ab	9.105 ab
fipronil (Ascend 5% SC)	30	0.215	0.411	0.562 ab	0.635 ab	2.056 ab	4.911 ab	5.141 ab
acephate (ACFA 75% SP)	50	0.062	0.824	1.000 ab	1.306 ab	1.306 ab	2.724 a	2.724 a
emamectin benzoate (Proclaim 019EC 1.92% EC)	10	1.084	1.806	2.265 ab	3.317 ab	3.919 ab	6.149 ab	6.149 ab
Untreated	-	3.302	6.669	10.344 b	11.906 b	14.644 b	24.349 b	28.017 b
CV (%)		203.2	163.5	134.1	127.4	119.4	110.2	110.7

[1/] From 4 replications (Back transform) transformed by Arcsine (Sqr(x/100))

[2/] In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5 % level by DMRT

1896

Table 2 Efficacy of insecticides for controlling citrus fruit borer, *Citripestis sagittiferella* Moore at Pomelo's orchard, Koh Chang, Trat , March – May 2008

Treatment	Rate of application (g, ml / 20 l)	% Accumulate damaged fruits / tree [1/]							
		Before app.	7 DAA#1	7 DAA#2	7 DAA#3	7 DAA#4	7DAA#5	7DAA#6	14 DAA#6
lamda-cyhalothrin (Karate Zeon 2.5CS 2.5% CS)	20	0	0.269	1.313 abc[1/]	1.665 a	5.158 ab	8.707 a	10.537 a	12.077 a
cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC)	40	0	0.000	0.653 ab	1.834 a	3.441 ab	5.830 a	6.633 a	7.614 a
profenofos (Supercron500 50%EC)	40	0	0.000	0.762 ab	1.672 a	4.000 ab	6.857 a	9.798 a	12.211 a
fipronil (Ascend 5% SC)	30	0	0.625	3.474 bc	3.678 ab	8.926 bc	13.869 a	15.590 a	19.649 a
acephate (ACFA 75% SP)	50	0	0.000	0.000 a	0.000 a	0.978 a	3.456 a	3.909 a	5.569 a
emamectin benzoate (Proclaim 019EC 1.92% EC)	10	0	0.000	0.247 ab	0.277 a	2.753 ab	5.403 a	8.039 a	10.933 a
Untreated	-	0	0.000	5.792 c	9.106 b	19.785 c	34.372 b	40.576 b	49.927 b
CV (%)		-	420.9	145.7	155.9	84.4	65.3	65.1	61.9

[1/] From 4 replications (Back transform) transformed by Arcsine (Sqr(x/100))

[2/] In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5 % level by DMRT

1897

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอ พบว่า สารฆ่าแมลงที่มีแนวโน้มที่ดีในการป้องกันกำจัด acephate (ACFA 75% SP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และ cypermethrin / phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร โดยพบผลที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอเข้าทำลายรวมตลอดการทดลอง 5-8 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น รองลงมา คือ emamectin benzoate (Proclime 019 EC 1.92% EC) profenofos (Supercron 500 50% EC) และ lamda-cyhalothrin (Karate Zeon 2.5 CS 2.5% CS) พบผลที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอเข้าทำลายรวมตลอดการทดลอง 10-20 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ส่วนกรรมวิธีไม่พ่นสารพบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต้องทำการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลอีกครั้งหนึ่ง แต่เนื่องจากหนอนชนิดนี้พบการเข่าทำลายตลอดช่วงของการติดผล ฉะนั้นการพ่นสารฆ่าแมลงเพียงอย่างเดียวนอกจากจะไม่สามารถป้องกันกำจัดได้ 100 เปอร์เซ็นต์แล้ว หากมีการพ่นสารตลอดช่วงการติดผลยังเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และอาจทำให้เกิดการตกค้างของสารฆ่าแมลงในผลผลิตได้ ฉะนั้นในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอควรจะนำวิธีการป้องกันกำจัดวิธีอื่น เช่น การห่อผล มาผสมผสานเพื่อทำให้สามารถป้องกันกำจัดหนอนชนิดนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

คำขอบคุณ

คุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์โครงการ คุณณิชาพร ฉ่ำประวิง นักวิชาการเกษตร นายวิทวัส สุดจริตธรรมจริยางกูล นักวิชาการเกษตร ที่ช่วยดำเนินการทดลองและเก็บข้อมูลในแปลง ตลอดจนรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นจึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

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

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2545. การป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2545. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ. 284 หน้า.

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

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา บุษบง มนัสมั่นคง สุเทพ สหายา และเกรียงไกร จำเริญมา. 2550. ชีววิทยาของหนอนเจาะผลส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore และแนวทางการป้องกันกำจัด. หน้า 13-21. *ใน* การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 8, 20-22 พฤศจิกายน 2550, โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อ.เมือง จ.พิษณุโลก.

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

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

Controlling Canker Disease on Pomelo by Antagonistic Microorganism

นลินี ศิวากรณ์ เพลินพิศ สงสังข์
วสันต์ ผ่องสมบูรณ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้ดำเนินเการทดลองในห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ที่ได้คัดเลือกมาแล้วจากการแสดงปฏิกิริยายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อมาทดสอบบนใบส้มโอที่ตัดชำและทำแผลปลูกเชื้อแคงเกอร์พบว่า การฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 หลังจากทำแผลปลูกเชื้อ 7 วัน มีจำนวนแผลจุดที่ปลูกเชื้อเกิดโรคเฉลี่ย 19.44 % โดยแผลจุดมีลักษณะเป็นสะเก็ดแผลนูนขนาดเล็กให้ระดับคะแนนความรุนแรงเฉลี่ย 1.25 ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบคือน้ำ (Control) แผลจุดที่ปลูกเชื้อเกิดโรค 99.3 % และมีสะเก็ดแผลรุนแรงขนาดใหญ่รอบรอยแผล ระดับคะแนนความรุนแรงสูงสุดคือ 4 สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ PSB และ NB เป็นชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ช่วยให้เชื้อมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์ นอกจากนี้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแคงเกอร์ในเรือนทดลองได้ โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 มีจำนวนแผลจุดที่เกิดขึ้นบนใบยอดเฉลี่ย 21.86 จุดต่อใบ ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ฉีดด้วยน้ำมีจำนวนแผลจุดที่เกิดขึ้นบนใบยอดเฉลี่ย 79.19 จุดต่อใบ และใบยอดที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 มีจำนวนใบที่ยอดมากกว่ายอดปกติ ความยาวของลำต้นส่วนยอดมีขนาดใหญ่และยาวกว่าลำต้นปกติ ขนาดของใบยาวกว่าใบปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท5102 นี้พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain WD20 ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท5102 จึงเป็นเชื้อที่มีความปลอดภัยและสามารถที่จะนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สารชีวภาพเฉพาะเจาะจงเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดการตอบสนองหรือการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาแก่พืชโดยส่งเสริมการเจริญเติบโตของส้มโอเมื่อได้รับสารที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์นี้

รหัสโครงการ 01-10-49-02

คำนำ

โรคแคงเกอร์ของส้มโอมีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (synonym *X. campestris* pv. *citri*) เชื้อแบคทีเรียนี้สามารถเข้าทำลายส่วนของพืชที่อยู่เหนือพื้นดินตั้งแต่ ใบ กิ่งก้าน และผล โดยมากมักพบระบาดในฤดูฝน จากการศึกษาโรคแคงเกอร์ในประเทศไทยจัดเป็นพวก Canker A (Uematsu และคณะ, 1993) ส่วนการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์นั้นยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพโดยตรงต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุนี้ ซึ่งโดยทั่วไปเกษตรกรนิยมใช้สารประกอบคอปเปอร์ฉีดพ่นต่อเนื่องเป็นประจำ ทำให้ระบบนิเวศวิทยาถูกทำลายและมีสารประกอบคอปเปอร์ตกค้างในผลิตผลได้

ปัจจุบันนี้ประเทศที่มีความก้าวหน้าทางวิชาการทั่วโลกเริ่มตระหนักดีว่าการปฏิวัติเขียว (green revolution) ที่มุ่งใช้เทคโนโลยีทันสมัยเพื่อเพิ่มพูนผลผลิตทางการเกษตรเพื่อให้เพียงพอต่อประชากรโลก ซึ่งนับวันจะมีอัตราเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ มิใช่หนทางแก้ไขปัญหาในระยะยาว กลับมีผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมและก่อให้เกิดปัญหาอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นผู้เกี่ยวข้องในทุกวิชาการทั่วโลกต่างหันมาให้ความสนใจต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น เร่งการวิจัยและพัฒนาการปฏิบัติให้เป็นไปในลักษณะกลับคืนสู่ธรรมชาติ การศึกษาแนวทางการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีวภาพ (ชีววิธี) เริ่มต้นเมื่อกลางปี ค.ศ. 1920 เมื่อมีการค้นพบว่าปัญหาโรคพืชสามารถแก้ไขหรือทำให้ความรุนแรงลดลงได้ด้วยการใช้สารอินทรีย์ใส่ลงไปในดินที่ปลูกพืช โดยมุ่งเน้นการควบคุมโรคโดยอาศัยธรรมชาติจัดการกันเองหรือที่เรียกว่าโดยวิธีธรรมชาติ(สมคิด,2540) การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธีก็เป็นกรรมวิธีหนึ่งในการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน เพื่อการจัดการโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพป้องกันการดื้อยาของสารเคมีรวมทั้งพิษตกค้างในอาหาร เพิ่มความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เข้าไปครอบครองพื้นที่ก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคจะเข้าทำลาย เพื่อกระตุ้นหรือชักนำให้พืชสร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช ซึ่งการปฏิบัติดังกล่าวจะลดการใช้สารเคมีได้ และลดการระบาดของโรคอย่างรุนแรงได้ ซึ่งวิธีดังกล่าวควรได้ศึกษาเพื่อให้สามารถนำมาใช้ในการจัดการควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ โดยการดัดแปลงหรือพัฒนาให้มีความเหมาะสมต่อสภาพการผลิตส้มโอ อันจะเป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถเลือกและเพิ่มมูลค่าของผลผลิตที่ปราศจากพิษตกค้าง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง กระบะและดินปลูก

2.อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆได้แก่ PSA, PDA, NA, PSB, PDB และ NB

3.วัสดุและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ต่าง ๆ เช่นเครื่องแก้ว จานอาหาร หม้อนึ่งความดัน เครื่องเขย่า

วิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 บนใบส้มโอที่ตัดชำ (Detached leaf technique)

1.1 ตัดใบอ่อนของส้มโอที่มีขนาดและอายุใกล้เคียงกันโดยใช้กรรไกรตัดก้านใบใต้น้ำและพันด้วยสำลี

1.2 นำกระดาษฟางพับให้ขนาดพอดีกับกล่องและชุบด้วยน้ำแล้วนำไปใส่ในกล่องพลาสติกใส จากนั้นนำใบส้มโอที่เตรียมไว้ในข้อ 1 มาจัดวางในกล่องพลาสติก

1.3 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของส้มโอ *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (*Xac*.) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำมาเชื้อมาผสมน้ำอัตรา 1 จานอาหารต่อน้ำ 100 มล.

1.4 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 บนอาหาร PSA เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำเชื้อมาผสมน้ำอัตรา 1 จานอาหารต่อน้ำ 100 มล.

1.5 นำเข็มที่อบฆ่าเชื้อมาจุ่มในสารละลายของเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.3 แล้วนำมาทำแผลบนใบส้มโอที่เตรียมไว้ในข้อ1.2 โดยทำแผลระหว่างเส้นกลางใบทั้งสองข้าง ข้างละ 9 จุด

1.6 นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ในข้อ 1.4 ความเข้มข้น 1.51 X 10^{12}cfu มาฉีดพ่นบนใบส้มโอในแต่ละกรรมวิธี

1.7 ตรวจนับจำนวนแผลจุดบนใบส้มโอแล้วนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์จำนวนแผลจุดที่เป็นโรค และให้คะแนนความรุนแรงตามลักษณะแผลที่เกิดขึ้นดังนี้

ระดับ 0 = ไม่เกิดอาการของโรค
ระดับ 1 = เกิดสะเก็ดเล็ก ๆ แต่ไม่รอบรอยแผล
ระดับ 2 = เกิดสะเก็ดแผลนูนขนาดเล็กรอบรอยแผล
ระดับ 3 = เกิดสะเก็ดแผลนูนขนาดปานกลางรอบรอยแผล
ระดับ 4 = เกิดสะเก็ดแผลนูนขนาดใหญ่รอบรอยแผล

2. ศึกษาชนิดของอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท5102 ในการยับยั้งการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

2.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิดได้แก่ PSA, PDA, NA, PSB, PDB และ NB ขวดละ 50 มล.

2.2 หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA, PDA และ NA ในเตาไมโครเวฟ แล้วเทใส่จานอาหารที่อบฆ่าเชื้อ จากนั้นทิ้งให้อาหารแข็งแล้วนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 มาเลี้ยงบนจานอาหารชนิดต่าง ๆ ด้วยวิธี streak plate และบ่มไว้เป็นเวลา 4 วัน

2.3 นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 มา 1 loop แล้วใส่ลงในอาหารเหลวแต่ละชนิด PSB, PDB และ NB จากนั้นนำมาเข้าเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน

2.4 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ที่เลี้ยงบนอาหารชนิดต่าง ๆ ต่อโรคแคงเกอร์บนใบส้มโอที่ตัดชำเช่นเดียวกับกรรมวิธีในข้อ1

2.5 ตรวจนับจำนวนแผลจุดบนแผลปลูกเชื้อบนใบส้มโอ และให้คะแนนความรุนแรงของลักษณะแผลที่เกิดขึ้นเช่นเดียวกับข้อ1.7

3. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 เพื่อควบคุมโรแคงเกอร์บนต้นส้มโอในเรือนทดลอง

3.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 2 กรรมวิธี ๆ ละ 7 ซ้ำ(ยอด)

3.2 เลี้ยงเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์เช่นเดียวกับข้อ1.3 และนำเชื้อที่บ่มไว้มาผสมน้ำ 1 จานอาหารต่อน้ำ 500 มล.

3.3 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เช่นเดียวกับข้อ 1.4 และนำเชื้อที่บ่มไว้ 3 จานอาหารมาผสมน้ำ 100 มล.

3.4 นำเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3 มาฉีดพ่นบนยอดส้มโอที่มีขนาด 1.5 ซม. จำนวน 7 ยอด ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบให้ฉีดด้วยน้ำ โดยฉีดพ่น 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 3 วัน ก่อนการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุแคงเกอร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.2

3.5 นำเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3 มาฉีดพ่นบนยอดส้มโอที่มีขนาด 1.5 ซม. จำนวน 7 ยอด ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบให้ฉีดด้วยน้ำ โดยฉีดพ่น 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 3-4 วัน (สัปดาห์ละ 2 ครั้ง) จนกระทั่งต้นส้มโอแสดงอาการโรคแคงเกอร์

3.6 ตรวจนับจำนวนแผลจุดและหาค่าเฉลี่ยจำนวนแผลจุดต่อใบในแต่ละยอด วัดความยาวในแต่ละยอด นับจำนวนใบในแต่ละยอด และขนาดของใบในกรรมวิธีต่าง ๆ

4. จำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ด้วยวิธี 16S rDNA

โดยส่งเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปจำแนกที่ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 บนใบส้มโอที่ตัดชำ (Detached leaf technique)

จากการตรวจนับแผลจุดบนใบส้มโอที่ตัดชำและปลูกเชื้อทำแผลแคงเกอร์และฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 พบว่า จุดแผลแคงเกอร์ที่ปลูกเชื้อเมื่อฉีดด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 มีจำนวนแผลที่เป็นโรคแคงเกอร์น้อยโดยมีจำนวนแผลจุดเกิดขึ้น 7.64% หลังปลูกเชื้อ 5 วัน และเมื่อ 7 วันจำนวนแผลจุดแคงเกอร์เป็น 19.44 % โดยแผลจุดที่แสดงอาการมีลักษณะเป็นสะเก็ดแผลนูนขนาดเล็กโดยหลังปลูกเชื้อ 5 วันให้ระดับคะแนนความรุนแรงเฉลี่ย 0.62 และหลังปลูกเชื้อ 7 วันให้ระดับคะแนนความรุนแรงเฉลี่ย 1.25 ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบคือน้ำ (Control) แผลจุดที่ปลูกเชื้อเกิดโรค 99.3 % และมีการเกิดสะเก็ดแผลรุนแรงขนาดใหญ่รอบรอยแผลระดับคะแนนความรุนแรงสูงสุดคือ 4

2. ศึกษาอาหารที่เหมาะสมต่อเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ในการยับยั้งการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

จากการทดสอบชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ในการยับยั้งการเกิดโรคแคงเกอร์บนใบส้มโอพบว่า การฉีดพ่นด้วยเชื้อไอโซเลท 5102 ซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อPSB ทำให้จำนวนแผลจุดที่เป็นโรคน้อยที่สุดเฉลี่ย 30.56 % และอาหาร NB มีจำนวนแผลจุดที่เป็นโรคในระดับเดียวกันเฉลี่ย 34.72 % รองลงมาคืออาหาร PDA, PSA และ NA มีจำนวนแผลจุดที่เป็นโรค 58.33%, 61.81 % และ 72.92 % ตามลำดับ และเมื่อตรวจให้คะแนนความรุนแรงจากลักษณะของแผลที่เกิดขึ้นพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ทำให้ลักษณะของแผลเล็กไม่รุนแรงในทุกกรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 โดยมีคะแนนความรุนแรงของแผลในระดับเฉลี่ย 1.88 - 2.25 ยกเว้นที่เลี้ยงในอาหารNA ที่มีคะแนนความรุนแรงของแผลเฉลี่ย 3.00 ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบมีคะแนนความรุนแรงของแผลในระดับเฉลี่ย 3.63 (ตารางที่ 2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท 5102 สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคได้ แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ได้

3. ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 เพื่อควบคุมโรแคงเกอร์บนต้นส้มโอในเรือนทดลอง

การทดลองประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอในเรือนทดลอง พบว่า การฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท5102 มีจำนวนแผลจุดที่เกิดขึ้นบนใบยอดเฉลี่ย 21.86 จุดต่อใบ ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ฉีดด้วยน้ำมีจำนวนแผลจุดที่เกิดขึ้นบนใบยอดเฉลี่ย 79.19 จุดต่อใบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 สามารถควบคุมโรคแคงเกอร์ได้ในสภาพเรือนทดลองโดยแสดงจำนวนแผลจุดต่อใบน้อยกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้การฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ทำให้ต้นส้มโอมีการเจริญเติบโตดีโดยทำให้ใบยอดที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 มีใบจำนวนมากในแต่ละยอดเฉลี่ย 14.43 ใบ กรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบมีจำนวนใบในแต่ละยอดเฉลี่ย 8.29 ใบ ส่วนกรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อจะมีจำนวนใบในแต่ละยอดเฉลี่ย 9.29 ใบ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้การฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ทำให้ความยาวลำต้นส่วนยอดขยายตัวยาวกว่าปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีความยาวเฉลี่ย 25.99 ซม. ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบที่ฉีดพ่นด้วยน้ำการขยายตัวของลำต้นส่วนยอดเฉลี่ย 13.33 ซม. ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการเจริญของลำต้นส่วนยอดของต้นส้มโอปกติเฉลี่ย 15.66 ซม.(ตารางที่ 3) และจากการตรวจวัดขนาดของใบยอดที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ใบส้มโอมีความกว้างและยาวเฉลี่ย 5.67 ซม.และ 12.56 ซม. ซึ่งแตกต่างกับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับใบส้มโอที่ฉีดพ่นด้วยน้ำมีความกว้างและยาวของใบเฉลี่ย 5.04 ซม. และ 10.41 ซม. ส่วนใบปกติที่ไม่ได้ฉีดพ่นมีความกว้างและยาวของใบเฉลี่ย 4.32 ซม.และ 9.11 ซม. (ตารางที่ 3) จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท5102 สามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ส้มโอได้ และยังมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทำให้ส่วนของยอดมีจำนวนใบมาก, ลำต้นส่วนยอดมีการขยายตัวยาวและสมบูรณ์แข็งแรง ขนาดของใบยาวและสมบูรณ์ ดังนั้นจากการทดลองนี้จึงสามารถสรุปได้ว่าประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท 5102 สามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์แล้วยังสามารถผลิดสารที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่พืชได้

4. **จำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ด้วยวิธี 16S rDNA** พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท05102 เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain WD20

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้จากวิธีทดสอบใบส้มโอที่ตัดชำในห้องปฏิบัติการและต้นส้มโอในเรือนทดลอง PSB และ NB เป็นชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ช่วยให้เชื้อมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์ นอกจากนี้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของส้มโอโดยทำให้ส่วนของยอดมีจำนวนใบที่ยอดมากกว่ายอดปกติ ความยาวของลำต้นส่วนยอดมีขนาดใหญ่และยาวกว่าลำต้นปกติ ขนาดของใบยาวกว่าใบปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท 5102 มีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์แล้วสามารถผลิตสารเร่งการเจริญเติบโตให้แก่ต้นส้มโอได้ และจากการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท5102 นี้พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain WD20 ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ไอโซเลท 5102 จึงเป็นเชื้อที่มีความปลอดภัยและสามารถที่จะนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สารชีวภาพเฉพาะเจาะจงเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

สมคิด ดิสถาพร.2540. การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี. กรมวิชาการเกษตร. 92 หน้า

Uematsu, T.,Chuenchitt, S.Karnjanarat, S., Vivithajinda, S.,Nabheerong, S.,Benjathikul, S.,Nilmanee, S.,Dhirabhava, W. andBuanghuwon, D.1983.Bacterial Diseases on Economic Crops in Thailand, Topoical Agriculture Research Center, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Thailand.

ตารางที่ 1 แสดงประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 บนใบส้มโอที่ตัดชำ (Detached leaf technique)

กรรมวิธี	จำนวนแผลจุดที่เป็นโรค (%)				ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรค			
	4 วัน	5 วัน	6 วัน	7 วัน	4 วัน	5 วัน	6 วัน	7 วัน
ไอโซเลท 5102	7.64 %	12.5 %	16.67 %	19.44%	0.62	0.87	1.12	1.25
Control (น้ำ)	97.22%	99.3%	99.3%	99.3%	4	4	4	4

ตารางที่ 2 แสดงชนิดของอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ในการยับยั้งการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

กรรมวิธี	จำนวนแผลจุดที่เป็นโรค (%)	ระดับความรุนแรงของโรค
กรรมวิธีเปรียบเทียบ (control)	93.74 c	3.63
PDA	58.33 b	2.13
PDB	77.78 bc	2.00
PSA	61.81 b	2.25
PSB	30.56 a	1.88
NA	72.92 b	3.00
NB	34.72 a	2.25
เฉลี่ย	61.41	
CV.	20.4 %	

ตารางที่3 ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์และส่งเสริมการเจริญเติบโตบนต้นส้มโอในเรือนทดลอง

กรรมวิธี	จำนวนจุดแผลแคงเกอร์เฉลี่ย (จุดต่อใบ)	จำนวนใบยอด (ใบ)	ความยาวลำต้นส่วนยอด (ซม.)	ขนาดของใบยอด	
				กว้าง (ซม.)	ยาว (ซม.)
พ่นเชื้อไอโซเลท 5102	79.19 b	14.43 a	25.99 a	5.67 a	12.56 a
พ่นน้ำ	21.86 a	8.29 b	13.33 b	5.04 a	10.41 b
ไม่พ่น	0	9.29 b	15.66 b	4.32 b	9.11 b
ค่าเฉลี่ย	50.52	10.67	18.32	5.01	10.69
CV.	44.1 %	16.0 %	22.3 %	12.6 %	13.3 %

ศึกษาสาเหตุและเทคโนโลยีการจัดการโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอ

Study on the Causal Organism and Technology for Control Root Rot and Foot Rot of Pummelo.

สุพัตรา อินทวิมลศรี

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคโคนเน่าของส้มโอพบระบาดที่ อ.บางคนที จ.สมุทรสงคราม อ.เมือง จ.ชัยนาท อ.เขาสมิง จ.ตราด และโรครากเน่าที่ จ.กำแพงเพชร เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคโคนเน่าและรากเน่านำมาแยกเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ RNV โดยวิธี Tissue Transplanting จำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพบว่าเป็นเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และได้พิสูจน์โรคโดยการทำแผลที่โคนต้นในช่วงฝนตกทำให้เกิดแผลเน่าได้ การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 20 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* ในห้องปฏิบัติการพบว่าเมทาแลคซิล 25 %WP, อินเวนโต 66.8%WP, คาลิกซิน 75 %EC, ซีเทน–อี 12.5 %EC, แมนโคเซ็บ 80 %WP, ดาโคนิล 75 %WP, เทอราโซล 24 %EC สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดี การควบคุมโรคในสภาพไร่ทดลองที่สวนเกษตรกร อ.อัมพวา จ.สมุทรสงคราม โดยใช้สารป้องกันจำกัดเชื้อรา เมทาแลคซิล 25 %WP, ฟอสเอทธิล อลูมินัม 80 %WP, อินเวนโต 66.8 %WP, เทอราโซล 24 %EC โดยการทาแผลที่โคนต้นหลังถากแผลเน่าออก ทาอย่างน้อย 2 ครั้ง และคิวโปรฟอส 40 % ฉีดเข้าลำต้นในเวลา 45 วัน แผลจะแห้งและเริ่มสร้างเนื้อไม้ (Callus) ทดแทนได้ ต้นที่เคยเป็นโรคอาจมีการลุกลามของโรคโรคเน่าในต้นเดิมและต้นใกล้เคียงจึงใช้สารทาโคนต้นซ้ำอีกครั้งจนแผลแห้งและสร้างเนื้อไม้ทดแทนได้

การควบคุมโรกรากเน่าในสภาพไร่ ทดลองที่สวนเกษตร ต.ท่าชัย อ.เมือง จ.ชัยนาท ใช้สารเมทาแลคซิล 25%WP, เทอราโซล 24 %EC, อีทาบอกแซม รดดินรอบทรงพุ่มรัศมี 2 เมตร จำนวน 2 ครั้ง และใส่เชื้อราไตรโคเดอร์มาในรูปเชื้อสดในครั้งที่ 3 สามารถลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคในดินได้

รหัสโครงการ 01-10-49-02

คำนำ

โรครากเน่า, โคนเน่า ในพืชตระกูลส้ม เช่น ส้มเขียวหวาน ที่ปลูกในเขตชลประทานรังสิต จ.ปทุมธานี , จ.สระบุรี ในภาคเหนือพบที่ จ. น่าน, จ.แพร่ , อ. ฝาง , อ.แม่อาย จ.เชียงใหม่ มะนาว มะกรูด ในเขตอำเภอท่ายาง จ.เพชรบุรี กับส้มโอพบที่ จ. ชุมพร , สุราษฎร์ธานี พิจิตร ล่าสุดพบว่า อ.บางคนที จ.สมุทรสงคราม อ.เมือง จ. ชัยนาท และ อ.เขาสมิง จ.ตราด มีการเกิดโรคโคนเน่ามาก และเกษตรกรไม่ทราบสาเหตุ และไม่มีวิธีการควบคุมโรค ใช้วิธีตายก็ปลูกใหม่ทดแทนไปเรื่อยๆ การควบคุมโรคโคนเน่าในส้มเขียวหวานได้มีการศึกษาไว้แล้ว (สุพัตรา, 2529) โดยการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา เมทาแลคซิล 25 %WP , ฟอสเอทธิล อลูมินัม 80 %WP ทาโคนต้นก็สามารถทำให้แผลเน่าที่โคนต้นแห้งและสร้างเนื้อไม้ทดแทนได้ สำหรับส้มโอยังไม่มีการศึกษาและเนื่องจากมีสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพบางชนิดเข้ามาจำหน่าย และยังไม่ได้มีการทดลองกับส้มโอ และนำเทคโนโลยีใหม่ๆ มาทดลองเพื่อให้ควบคุมโรคโคนเน่าในส้มโอให้ได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นส้มโอที่เป็นโรคโคนเน่า
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ RNV, PDA
3. สารป้องกันกำจัดเชื้อรา เมทาแลคซิล 25 %WP, ฟอสเอทธิล อลูมินัม 80 %WP, อินเวนโต 66.8 %WP, คิวโปรฟอส 40 % และสารป้องกันกำจัดเชื้อราอื่นๆ อีก รวม 20 ชนิด
4. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ
5. อุปกรณ์ภาคสนาม และกระบอกฉีดยาพลาสติกขนาดใหญ่

วิธีการ

1.สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคโคนเน่าส้มโอจากแหล่งปลูกต่างๆ เลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช โดยวิธี Tissue Transplanting ใช้สารเลี้ยงเชื้อ RNV ให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์

2.จำแนกชนิดรา *Phytophthora* ที่พบ

3.พิสูจน์โรคโดยการทำแผล ที่โคนต้นในช่วงฝนตกชุก เมื่อเกิดแผลเน่าในระยะเวลา 15 วัน และนำเนื้อเยื่อที่แผลโคนต้นนั้นแยกเชื้ออีกครั้งในอาหาร RNV

4.ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 20 ชนิด บนอาหาร PDA ในห้องปฏิบัติการ ที่ความเข้มข้น 100, 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ppm.

5.ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา4 ชนิดต่อโรคโคนเน่า ทดสอบกับต้นส้มโอจำนวน 5 ต้น/สาร ในสภาพไร่ ได้แก่

- เมทาแลคซิล 25 %WP อัตรา 50 กรัม /น้ำ 1 ลิตร ทาแผลที่โคนต้นหลังจากถากแผลเน่าออก จำนวน 2 ครั้ง หรือจนกว่าแผลจะหาย
- ฟอสเอทธิล อลูมินัม 80 % WP 80 กรัม/น้ำลิตร ทาแผลที่โคนต้นหลังจากถากแผลเน่าออก จำนวน2 ครั้ง หรือจนกว่าแผลจะหาย
- อินเวนโต 66.8 % WP 80 กรัม/น้ำ 1 ลิตร ทาแผลที่โคนต้นหลังจากถากแผลเน่าออก จำนวน2 ครั้ง หรือจนกว่าแผลจะหาย
- คิวโปรฟอส 40% ฉีดเข้าลำต้นใกล้บริเวณแผลเน่าโคนต้นปริมาตร 60 CC จำนวน2 ครั้ง หรือจนกว่าแผลจะหาย
- ถากแผลเน่าออก และทาด้วยน้ำ (control)

6.ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 3 ชนิดต่อโรครากเน่า ทดสอบกับต้นส้มโอจำนวน 10 ต้น/สาร ในสภาพไร่ ได้แก่

- เมทาแลคซิล 25 %WP อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 60 ลิตร/ต้น รดดินบริเวณทรงพุ่มรัศมี 2 เมตร (6.28 ตร.ม.) จำนวน 2 ครั้ง หรือจนกว่าจะตรวจไม่พบเชื้อสาเหตุโรค
- เทอราโซล 24 %EC อัตรา 100 CC/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 60 ลิตร/ต้น รดดินบริเวณทรงพุ่มรัศมี 2 เมตร (6.28 ตร.ม.) จำนวน 2 ครั้ง หรือจนกว่าจะตรวจไม่พบเชื้อสาเหตุโรค
- อีทาบอกแซม อัตรา 100 CC/ น้ำ 20 ลิตร จำนวน 60 ลิตร/ต้น รดดินบริเวณทรงพุ่มรัศมี 2 เมตร (6.28 ตร.ม.) จำนวน 2 ครั้ง หรือจนกว่าจะตรวจไม่พบเชื้อสาเหตุโรค
- รดดินด้วยน้ำ จำนวน 60 ลิตร/ต้น (control)

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2551

ปฏิบัติงานที่ สวนส้มโอเกษตรกร ต.เหมืองใหม่ อ.อัมพวา จ.สมุทรสงคราม (โรคโคนเน่า)

และสวนส้มโอเกษตรกร ต.ท่าชัย อ.เมือง จ.ชัยนาท (โรครากเน่า)

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 20 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* ได้แก่ เมทาแลคซิล 25 %WP, อินเวนโต 66.8 %WP, เทอราโซล 24 %EC, คาลิกซิน 75%EC, เอซินแมก 80%WP และสารที่ให้ผลดีรองลงมา ได้แก่ ดาโคลนิล 75 %WP, ซิสเทนอี 12.5 %EC และ ฟอสเอธิล อลูมินัม 80%WP (ตารางที่ 1)

การถากแผลเน่าที่โคนต้นออกเป็นการช่วยลดการปริมาณของเชื้อโรคและการลุกลามของอาการแผลเน่าในระดับหนึ่ง การทาหรือฉีดลำต้นส้มโอด้วยสารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิด ในครั้งที่ 1 ยังมีการลุกลามของแผลเป็นบางต้น จึงถากแผลส่วนที่ลุกลามออกแล้วจึงใช้สารทั้ง 4 ชนิด ซ้ำอีกครั้ง ภายในเวลา 45 วันจนแผลแห้ง ไม่มีการลุกลามของโรคอีก และผลการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิดคือ เมทาแลคซิล 25 %WP, อินเวนโต 66.8 %WP, ฟอสเอธิล อลูมินัม 80%WP และคิวโปฟอส รดดินเพื่อลดประมาณเชื้อราสาเหตุโรค พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิดให้ผลการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคโคนเน่าได้ดีหลังการใช้สารครั้งที่ 3 (ตารางที่ 2) การใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราสามารถใช้ซ้ำอีกได้ถ้ามีการลุกลามของเชื้อโรคหากสภาพอากาศที่เอื้ออำนวยต่อเชื้อรา เช่นฝนตกหรือรดน้ำเปียกแผลที่โคนต้น

การใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรครากเน่าส้มโอ เพื่อต้องการลงปริมาณเชื้อรา *P. parasitica* ให้มากที่สุด ผลการทดลองพบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 3 ชนิดให้ผลการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าได้ดีหลังการใช้สารครั้งที่ 3 (ตารางที่ 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

โรคโคนเน่ารากเน่าส้มโอเกิดเชื้อรา *P. parasitica* การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช ทั้ง 4 ชนิดดังกล่าว สามารถควบคุมโรคโคนเน่าได้ในการถากแผลเน่าออกก่อนแล้วจึงทาโคนหรือฉีดเข้าลำต้นแล้วแต่ชนิดของสาร ๆ ที่ใช้และต้องใช้มากกว่า 1 ครั้ง หมั่นตรวจดูแผลอยู่เสมอ หากมีการลุกลามของแผลต้องใช้ซ้ำอีกจนกว่าและจะหาย แผลแห้งและสร้างเนื้อไม้ (Callus) ขึ้นรอบขอบแผล จากการที่มีโรคโคนเน่าเกิดขึ้นในต้นเดิม และต้นใกล้เคียง แสดงว่าเชื้อราโรคโคนเน่ายังคงมีอยู่ในดิน จึงควรมีการจัดการเชื้อโรคที่อยู่ในดินต่อไป

เอกสารอ้างอิง

สุพัตรา อินทวิมลศรี . 2529. โรครากเน่าและโคนเน่าของส้มเขียวหวานและการควบคุมด้วยสารเคมี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Erwin, D.C., Bartnicki-Garsia and P.H. Tsao., Phytopthora, Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology, 392 pp.

Whiteside, J.O., S.M. Gamsey, and L.M. Timmer. 1993. Compendium of citrus Diseases. APS. Press. The American Phytopathological society. 80 pp.

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.) ของเชื้อรา *P. parasitica* โรคโคนเน่าส้มโอ ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 20 ชนิด ในอาหาร PDA

สารป้องกันกำจัดเชื้อรา	ความเข้นข้น (ppm.)					หมายเหตุ
	100	500	1,000	1,500	2,000	
1. ซีสเทน - อี 12.5 %EC	0.66	0.5	0.5	0.5	0.5	จำนวน 5 ซ้ำ
2. สกอร์ 25 %EC	4.14	2.69	1.5	0.5	0.5	ต่อสาร ฯ
3. เจอราช 45 %EC	4.16	4.06	3.67	1.72	1.34	1 ชนิด
4. เบ็นท็อก 50 %SC	9.0	9.0	7.68	3.74	2.55	
5. อมิสตา 25 %SC	9.0	7.49	5.29	4.78	4.60	
6. เทอร์ราคลอร์ 24 % EC	9.0	2.68	0.5	0.5	0.5	
7. ดูมาร์ค 40 % EW	9.0	5.79	2.25	1.63	1.58	
8. คาลิกซิน 75 % EC	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
9. แอสเซ้นต์ 5 % SC	9.0	9.0	9.0	9.0	7.34	
10. เอซินแมค 80 % WP	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
11. อินเวนโต 66.8 % WP	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
12. ดาโคนิล 75 % WP	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
13. แอนทราโคล 70%WP	5.02	2.90	1.14	1.03	0.86	
14. สโตรบี้ 50 % WG	9.0	9.0	9.0	9.0	8.64	
15. ไวตาแวก 75 % WP	9.0	3.30	0.89	0.84	0.74	
16. เบโนมิล 50 % WP	8.49	4.76	0.5	0.5	0.5	
17. เมทาแลคซิล 25% WP	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
18. เทอร์ราโซล 24 % EC	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
19. ฟอสเอทซิล-อลูมินัม80%WP	4.26	2.66	0.5	0.5	0.5	
20. โปรฟิเน็บ 70% WP	5.83	3.99	2.78	1.27	0.78	

ตารางที่ 2 ผลการตรวจเชื้อรา *P. parasitica* โดยวิธีใช้เหยื่อล่อ (Baiting technique) จากดินบริเวณโคนต้นส้มโอ

สารเคมี	ก่อนใช้สารเคมี[1/]	หลังใช้สารเคมีครั้งที่ 1[1/]		หลังใช้สารเคมีครั้งที่ 2[1/]		หลังใช้สารเคมีครั้งที่ 3[1/]	
		ตรวจครั้งที่ 1	ตรวจครั้งที่ 2	ตรวจครั้งที่ 1	ตรวจครั้งที่ 2	ตรวจครั้งที่ 1	ตรวจครั้งที่ 2
1. เมทาแลกซิล	30.00	6.25	3.75	1.25	0	0	0
2. อินเวนโต	27.50	5.00	2.50	0	1.25	0	0
3. ฟอสเอทธีล-อะลูมินัม	27.50	7.50	5.00	2.50	0	1.25	0
4. คิวโปฟอส	26.25	5.00	6.25	3.75	1.25	0	0
5. ไม่ใช้สาร (control)	28.75	27.50	31.25	25.00	26.25	27.50	32.50

[1/] เปอร์เซ็นต์เชื้อที่ตรวจพบ

ตารางที่ 3 ผลการตรวจเชื้อรา *P. parasitica* โดยวิธีใช้เหยื่อล่อ (Baiting technique) จากดินบริเวณรอบทรงพุ่มต้นส้มโอ

สารเคมี	ก่อนใช้สารเคมี[1/]	หลังใช้สารเคมีครั้งที่ 1[1/]		หลังใช้สารเคมีครั้งที่ 2[1/]		หลังใช้สารเคมีครั้งที่ 3[1/]	
		ตรวจครั้งที่1	ตรวจครั้งที่ 2	ตรวจครั้งที่ 1	ตรวจครั้งที่ 2	ตรวจครั้งที่ 1	ตรวจครั้งที่ 2
1. เมทาแลกซิล	40.00	7.50	3.75	1.25	0	1.25	0
2. เทอร์ราโซล	37.50	13.75	7.50	5.00	0	2.50	0
3. อีทาบอกแซม	42.50	12.50	8.75	3.75	0	2.50	0
4. ไม่ใช้สาร (control)	38.75	35.00	41.25	33.75	36.25	43.75	47.50

[1/] เปอร์เซ็นต์เชื้อที่ตรวจพบ

การใช้พืชสมุนไพรในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

Controlling Canker Disease on Pomelo by Medicinal Plants

นลินี ศิวากรณ์ เพลินพิศ สงสังข์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การใช้สมุนไพรจำนวน 33 ชนิดในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ โดยใช้สมุนไพรซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลายฉีดบนแผลปลูกเชื้อแคงแกอร์บนใบยอดของส้มโอสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ที่แปลงปลูกส้มโอ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา พบว่าสมุนไพรที่ทดลองส่วนใหญ่ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ ยกเว้น ปูนแดง เกลือ กระเทียม ปลาไหลเผือก และกานพลู ที่สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ 90..80- 37.33% โดยมีสมุนไพรที่ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตหรือไม่มีความเป็นพิษต่อใบส้มโอคือ เกลือ และกระเทียม โดยใช้ในอัตราส่วน 400 กรัมต่อน้ำ 2 ลิตรหรือที่ความเข้มข้น 20 % โดยเกลือสามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ 89.62 % และกระเทียมสามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ 58.82 % ส่วนปูนแดง ปลาไหลเผือก และกานพลูอัตราส่วนที่ใช้มีผลต่อการเจริญเติบโต เช่น ทำให้ใบเปลี่ยนรูปร่าง ใบแข็งกระด้างและไม่แตกยอดอ่อน

รหัสโครงการ 01-10-49-02

คำนำ

ส้มโอเป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมในต่างประเทศโดยในปี 2547 ไทยได้ส่งส้มโอสดไปต่างประเทศปริมาณ 7,313 เมตริกตัน มูลค่า 102,039 พันบาท และปี 2548 มีปริมาณการส่งออกส้มโอสดจำนวน 6,293 เมตริกตัน มูลค่า 99,673 พันบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2549) ซึ่งประทศคู่ค้าหลายประเทศต้องการใบรับรองการปลอดศัตรูพืช โดยเฉพาะโรคแคงเกอร์เป็นโรคที่ถูกระบุในพืชตระกูลส้มทุกชนิดซึ่งเป็นข้อที่ใช้ในการกีดกันทางการค้าและเป็นข้อจำกัดที่สำคัญในการขยายการส่งออก โรคแคงเกอร์ของส้มโอมีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (hasse) Vauterin *et al.* (synonym *X. campestris* pv. *citri*) โรคนี้นับเป็นโรคเก่าแก่คู่มากับพืชตระกูลส้ม ลักษณะอาการของโรคที่พบเห็นทั่วไปเป็นแผลสะเก็ดสีน้ำตาลบนใบ กิ่ง ก้าน และผล ทำให้ใบร่วง การเจริญเติบโตช้า กิ่งก้านแห้งตาย หากเกิดบนผลทำให้ผลมีตำหนิไม่เป็นที่ต้องการของตลาด คุณภาพของผลผลิตตกเกรดและไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคแคงเกอร์มีหลายสายพันธุ์ สายพันธุ์ที่มีมากที่สุดเป็นพวก Asiatic canker (canker A) มีความรุนแรงมากกับพืชตระกูลส้มหลายชนิด พบระบาดในเอเชีย แอฟริกา หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก อินเดีย และในอเมริกาใต้ cankerB พบระบาดในอาร์เจนตินา อุรุกวัย และปารากวัย เกิดกับพวกมะนาวหวาน cankerC พบระบาดในบราซิล เกิดกับมะนาวMaxican lime (Whiteside *et al*, 1991) การป้องกันกำจัดโรคนี้ มีทั้งการใช้วิธีการเขตกรรม การกักกันโรคมิให้แพร่ระบาดเข้ามาในแหล่งปลูก การเผาทำลาย การใช้กิ่งพันธุ์ปลอดโรค รวมทั้งการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดจำพวกคอปเปอร์ ซึ่งการใช้สารเคมีดังกล่าวเพียงเพื่อป้องกันการติดเชื้อและต้องทำอย่างสม่ำเสมอ โดยยังไม่มีสารเคมีชนิดใดที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ การใช้สมุนไพรจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าจะได้นำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคในพืชเช่นเดียวกับการบำบัดรักษาโรคเบื้องต้นของมนุษย์ที่มีมาตั้งแต่โบราณกาลซึ่งสืบต่อกันมานับเป็นพันปี เช่น ปลาไหลเผือกส่วนของรากใช้แก้ไข้มาลาเรีย (พเยาว์,2529)

ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาหาสมุนไพรในการป้องกันและกำจัดเพื่อลดการเกิดโรคแคงเกอร์และเพื่อหาเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคทดแทนการใช้สารเคมี

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกส้มโอที่ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา

2. สมุนไพรจำนวน 33 ชนิดได้แก่ กระเพรา โหระพา ว่านชักมดลูก ขมิ้น ไพล ผักแพรว สะเดา เสลดพังพอน ต้อยติ่ง มันสำปะหลัง ลูกยอ น้อยหน่า ข่า บัวบก ใบยอ แป๊ะตำปึง ฟ้าทะลายโจร แมงลัก หมาก ว่านหางจระเข้ มะขาม บอระเพ็ด ตะไคร้หอม เหงือกปลาหมอ พยอม กระเทียม กระชาย ปลาไหลเผือก เศรษฐีพันล้าน กานพลู หนอนตายหยาก ปูนแดง และเกลือ

3. สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ PSA

5. เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ *Xanthomonas campestris* pv. *citri*

วิธีการ

1. การวางแผนการทดลอง

1.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD

1.2 สมุนไพรจำนวน 33 ชนิด สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ และกรรมวิธีเปรียบเทียบคือน้ำ รวมทั้งหมดมี 35 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ

2. การเตรียมแปลงปลูก

2.1 เตรียมแปลงปลูกส้มโอโดยขุดหลุมและใส่ปุ๋ยคอกรองก้นหลุม ที่อ.อุทัย จ. พระนครศรีอยุธยา

2.2 นำกิ่งตอนของส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งมาปลูกจำนวน 1 ต้น/หลุม

2.3 รดน้ำใส่ปุ๋ย พรวนดินและฉีดสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง

3. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์

3.1 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ *X. campestris* pv. *citri* โดยวิธี streak plate บนจานอาหาร PSA เป็นเวลา 3 วัน

3.2 นำเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *citri* ที่เลี้ยงไว้มาผสมในน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออัตรา 1 จานเชื้อต่อน้ำ 100 มล.

4. การเตรียมสมุนไพร

4.1 นำสมุนไพรแต่ละชนิดน้ำหนัก 400 กรัมผสมน้ำ 2 ลิตรแล้วปั่น จากนั้นทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วันแล้วกรองการนำไปฉีดพ่น โดยเตรียมน้ำสมุนไพรเพื่อนำไปใช้ในการฉีดพ่นทุกสัปดาห์

4.2 ฉีดพ่นน้ำสมุนไพรชนิดต่าง ๆ บนยอดส้มโอสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 3-4 วัน

4.3 ฉีดพ่นตามกรรมวิธีต่าง ๆ สัปปดาห์ละ 2 ครั้งจนแผลปลูกเชื้อแสดงอาการภายหลังปลูกเชื้อ 3 สัปดาห์

5. การทำแผลปลูกเชื้อ

5.1 ใช้เข็มที่อบฆ่าเชื้อจุ่มลงในสารละลายของเชื้อ *X. campestris* pv. *citri* ที่เตรียมในข้อ2.2 5.2 ทำแผลปลูกเชื้อบนใบของยอดส้มโอ โดยทำแผลปลูกเชื้อข้างละ 9 จุดรวม 18 จุด/ใบ ยอดละ 7-11 ใบ

6. การตรวจและบันทึกผลการทดลอง

6.1 ตรวจนับจำนวนจุดแผลแคงเกอร์บนจุดแผลที่ปลูกเชื้อในกรรมวิธีต่างๆ ในแต่ละใบที่ทำแผลปลูกเชื้อ

6.2 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนแผลปลูกเชื้อที่แสดงอาการโรคแคงเกอร์}}{\text{จำนวนแผลปลูกเชื้อทั้งหมด}} \times 100$$

6.3 ตรวจให้คะแนนความรุนแรงของแผลปลูกเชื้อในแต่ละยอดดังนี้

1 = เกิดแผลสะเก็ดขนาดเล็กพบด้านใดด้านหนึ่ง

2 = เกิดแผลสะเก็ดขนาดเล็ก

3 = เกิดแผลสะเก็ดขนาดปานกลาง

4 = เกิดแผลสะเก็ดขนาดใหญ่ฟูนูน ไม่มีวงสีเหลืองล้อมรอบ

5 = เกิดแผลสะเก็ดขนาดใหญ่ฟูนูนและมีวงสีเหลืองล้อมรอบ

6.4 นำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบสถิติ

เวลาและสถานที่ ธันวาคม 2550- กันยายน 2551

แปลงปลูกส้มโอที่อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ. กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้สมุนไพรเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอโดยทดสอบสมุนไพรเปรียบเทียบกับการการใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์และน้ำในแปลงปลูกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ อ.อุทัย จ.พระนครศรี อยุธยา ซึ่งจากการทดลองพบว่า ปูนแดงสามารถยับยั้งการเกิดโรคแคงเกอร์ได้ดีที่สุดโดยแสดงการเกิดโรค 5.49% และอยู่ในระดับเดียวกับเกลือที่แสดงการเกิดโรค 6.67% ซึ่งทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแคงเกอร์ลดลง 90.80% และ 89.62% ตามลำดับ

รองลงมา คือกระเทียม ปลาไหลเผือก และกานพลู แสดงการเกิดโรค 37.47%, 50.88% และ 58.96% ตามลำดับ ซึ่งทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง 58.82%, 45.41%, 40.36% และ 37.33% ตามลำดับ และจากการประเมินระดับความรุนแรงของแผลแคงเกอร์ที่เกิดขึ้นหลังจากการใช้สมุนไพรชนิดต่าง ๆ ก็ให้ผลเป็นไปในทำนองเดียวกับการประเมินโดยการนับจุดแผลที่เกิดขึ้น คือ ปูนแดงและเกลือให้ผลดีที่สุดโดยแผลสะเก็ดที่เกิดขึ้นมีขนาดเล็กในระดับ 1 รองลงมาได้แก่ กระเทียม ปลาไหลเผือก หนอนตายหยาก และกานพลู ส่วนกรรมวิธีการพ่นด้วยสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูง 97.53 % ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีเปรียบเทียบคือพ่นด้วยน้ำมีการเกิดโรค 96.29% และแสดงระดับความรุนแรงของโรคเป็น 4.33 และ4.00 ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ไม่สามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ได้เลย และจากการตรวจผลกระทบของสมุนไพรต่อการเจริญเติบโตโดยตรวจดูจากการแตกยอดอ่อนของส้มโอหลังจากฉีดพ่นสมุนไพรเป็นเวลา 1 เดือน โดยฉีดพ่นสัปดาห์ละ 2 ครั้ง พบว่า ปูนแดงไม่มีการแตกยอดเนื่องจากสารละลายปูนแดงขึ้นปกคลุมผิวใบทำให้ใบมีสีขาวมีผลทำให้การสังเคราะห์แสงบนใบน้อย ดังนั้นจึงอาจทำให้มีผลกระทบต่อการแตกยอดอ่อน ส่วนสารละลายเกลือ ต้นส้มโอมีการเจริญเติบโตปกติมีการแตกยอดอ่อน 3 ยอด/ต้นแต่บริเวณที่ทำแผลจะไหม้เล็กน้อย กระเทียมไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของส้มโอโดยใบส้มโอจะเป็นมันและแตกยอดได้ดีจำนวน 20 ยอด/ต้น แต่บริเวณที่ทำแผลจะไหม้เล็กน้อย ปลาไหลเผือกใบส้มโอมีรูปร่างผิดปกติ และกานพลูทำให้ใบแข็งกระด้าง ส่วนสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ที่ทดสอบส่วนใหญ่ไม่สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ โดยแสดงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงและมีระดับคะแนนความรุนแรงของโรคสูงดังแสดงในตารางที่ 1 และจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเกลือสามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคได้ ซึ่งสอดคล้องกับในสภาพธรรมชาติที่พบโรคแคงเกอร์น้อยในแหล่งปลูกส้มโอที่อยู่ใกล้ทะเลเช่นแหล่งปลูกส้มโอใน จ.สมุทรสงครามและทางภาคใต้ของประเทศ เนื่องจากได้รับผลจากความเค็มของดินเช่นเดียวกับผลการทดลองการใช้เกลือก็สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ได้แต่ในด้านผลต่อการเจริญเติบโตของต้นส้มโอ กระเทียมจะให้ผลที่ดีกว่า ดังนั้นจึงควรได้ปรับปรุงการใช้สูตรกระเทียมโดยผสมกับเกลือเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งโรคแคงเกอร์ได้ดีขึ้นและช่วยให้ต้นส้มโอเสามารถจริญเติบโตได้ดี และปรับปรุงการใช้ปูนแดงเพื่อร่วมกันป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดลองการใช้สมุนไพรจำนวน 33 ชนิดในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ โดยใช้สมุนไพรซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลายฉีดบนแผลปลูกเชื้อแคงแกอร์บนใบยอดของส้มโอสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ที่แปลงปลูกส้มโอ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา สามารถสรุปได้ว่าสมุนไพรที่ทดลองส่วนใหญ่ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ ยกเว้น ปูนแดง เกลือ กระเทียม ปลาไหลเผือก และกานพลู ที่สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ 90..80- 37.33% โดยมีสมุนไพรที่ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตหรือไม่มีความเป็นพิษต่อใบส้มโอคือ เกลือ และกระเทียม โดยใช้ในอัตราส่วน 400 กรัมต่อน้ำ 2 ลิตรหรือที่ความเข้มข้น 20 % โดยเกลือสามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ 89.62% และกระเทียมสามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ 58.82%

ตารางที่ 1 แสดงประสิทธิภาพของสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ต่อการควบคุมการเกิดโรคแคงเกอร์และการเจริญเติบโตของส้มโอ

กรรมวิธี	ลำดับ	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค	% การเกิดโรค เพิ่ม(ลด)	ลำดับ	ระดับความรุนแรง	การแตกยอด (ยอดอ่อน/ต้น)
กระเพรา	22	90.62 f-i	(5.67)	14	3.53 g-l	10
น้ำ (control)	26	96.29 hi	0	20	4.00 i-n	14
โหระพา	20	89.59 f-i	(6.7)	16	3.77 g-n	2
ว่านชักมดลูก	10	75.10 d-i	(21.29)	17	3.89 h-n	15
ขมิ้น	11	76.02 d-i	(20.27)	12	3.22 f-j	24
ไพล	14	82.34 e-i	(13.95)	17	3.89 h-n	16
ผักแพรว	7	68.52 c-f	(27.77)	11	3.11 f-i	4
เกลือ	2	6.67 a	(89.62)	2	1.00 ab	3
สะเดา	5	55.93 bcd	(40.36)	9	3.00 fgh	3
เสลดพังพอน	23	92.34 f-i	(3.95)	24	4.33 k-n	6
ต้อยติ่ง	12	76.64 d-i	(19.65)	10	3.00 fgh	4
มันสำปะหลัง	21	90.22 f-i	(6.07)	19	4.00 i-n	8
ลูกยอ	28	96.72 hi	0.43	21	4.00 i-n	0
น้อยหน่า	34	99.58 i	3.29	25	4.44 lmn	0
ข่า	32	97.54 hi	1.25	27	4.55 mn	4
บัวบก	27	96.58 hi	0.29	22	4.11 j-n	0
ใบยอ	19	87.74 f-i	(8.55)	26	4.55 mn	0
แป๊ะตำปึง	25	95.00 ghi	(1.29)	23	4.22 k-n	0
ฟ้าทะลายโจร	26	96.29 hi	0	27	4.55 mn	4
แมงลัก	33	97.72 hi	1.43	24	4.33 k-n	1
หมาก	30	97.32 hi	1.03	18	4.00 i-n	21
ว่านหางจระเข้	18	86.66 f-i	(9.63)	28	4.66 n	31
คอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์	31	97.53 hi	1.24	24	4.33 k-n	11

กรรมวิธี	ลำดับ	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค	% การเกิดโรคเพิ่ม(ลด)	ลำดับ	ระดับความรุนแรง	การแตกยอด (ยอดอ่อน/ต้น)
มะขาม	24	94.39 ghi	(1.90)	17	3.89 h-n	21
บอระเพ็ด	17	85.94 f-i	(10.35)	13	3.44 g-k	23
ตะไคร้หอม	13	81.20 e-i	(15.09)	15	3.66 g-m	9
เหงือกปลาหมอ	9	74.81 d-h	(21.42)	19	4.00 i-n	0
พยอม	16	83.95 f-i	(12.34)	7	2.55 def	1
กระเทียม	3	37.47 b	(58.82)	4	1.78 bcd	20
กระชาย	15	83.92 f-i	(12.37)	15	3.66 g-m	0
ปลาไหลเผือก	4	50.88 bc	(45.41)	3	1.33 abc	10
เศรษฐีพันล้าน	29	97.10 hi	0.81	8	2.89 efg	21
กานพลู	6	58.96 b-e	(37.33)	6	2.11 cde	0
หนอนตายหยาก	8	70.99 c-g	(25.30)	5	2.00 cd	7
ปูนแดง	1	5.49 a	(90.80)	1	0.78 a	0
ค่าเฉลี่ย		79.26			3.44	
CV.		15.50%			13.6%	

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2549. สถิติการค้าสินค้าเกษตรกรรมไทยกับต่างประเทศปี 2548. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. เอกสารสถิติการเกษตร เลขที่ 404. 373 หน้า.

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. 2529. ตำราวิทยาศาสตร์สมุนไพร. เมลิคัล มีเดีย. กรุงเทพฯ. 135 หน้า.

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

ศึกษาสาเหตุและเทคโนโลยีการจัดการโรคผลเน่าของส้มโอ

Study on Sour Rot Disease of Pummelo and Technology Management.

สุพัตรา อินทวิมลศรี
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคผลเน่าของส้มโอเป็นโรคใหม่ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานและการวิจัยมาก่อน พบครั้งแรกในปี 2546 ที่สวนส้มโอ อ.เขาสมิง จ.ตราด 2 สวน เกษตรกรยังไม่เคยรู้จักโรคนี้มาก่อน และยังมีการระบาดต่อเนื่องทุกๆ ปี แล้วยังพบการระบาดที่ อ. บางคนที จ.สมุทรสงคราม จากการเก็บตัวอย่างโรคศึกษาแยกเชื้อในอาหาร PDA โดยวิธี Tissue Transplanting ได้เชื้อบริสุทธิ์จำแนกชนิดแล้วพบว่าเป็นเชื้อรา *Geotrichum candidum* ทั้งหมดและได้พิสูจน์โรคกับผลส้มโอแล้วพบว่าเป็นสาเหตุของโรคจริง จากการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 18 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *G. candidum* พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อรา คาลิกซิน 75 %EC, อัลโต 10 %SL, ซีสเทน–อี 12.5 %EC, แมนโคเซ็ป 80 %WP ให้ผลการควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคดี การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 3 ชนิดได้แก่ คาลิกซิน, อัลโต และซินเทน–อี ในการควบคุมโรคผลเน่าของส้มโอในสภาพไร่ พบว่า คาลิกซินให้ผลการควบคุมโรคดีที่สุด

คำนำ

โรคผลเน่าของส้มโอ เป็นโรคใหม่ที่พบเป็นครั้งแรกที่ อ.เขาสมิง จ.ตราด ต่อมาพบที่ อ.บางคนที จ.สมุทรสงคราม แล้วยังพบว่าเกิดระบาดในสวนส้มสายน้ำผึ้งที่ อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ และมะนาวแป้นที่ จ. นครสวรรค์ อีกหลายๆ สวนทั้ง ๆ ที่อยู่ห่างไกลกัน เกษตรกรได้รับคำแนะนำจากนักวิชาการของบริษัทเคมีเกษตรและนักวิชาการในภาครัฐ ว่าเกิดจากการทำลายของเชื้อรา *Phytopthora* แต่เมื่อนำมาศึกษาหลายๆ สวน สามารถยืนยันได้ว่า เป็นเชื้อ *Geotrichum* เพียงชนิดเดียว โรคนี้มีรายงานในเอกสารของต่างประเทศมานานแล้ว แต่ในประเทศไทยเพิ่งจะพบปัญหา จึงต้องศึกษาทั้งข้อมูลเบื้องต้นและเทคโนโลยีการจัดการโรคผลเน่าด้วย

รหัสโครงการ 01-10-49-02

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างผลส้มโอที่เป็นโรคผลเน่า
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA
3. สารป้องกันกำจัดเชื้อรา 18 ชนิด
4. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ
5. อุปกรณ์ภาคสนาม และกระบอกฉีดยาพลาสติกขนาดใหญ่

วิธีการ

1.สำรวจแหล่งระบาดของโรคในแหล่งปลูกส้มโอต่าง ๆ

2.นำตัวอย่างโรคผลเน่าที่พบมาเลี้ยงเชื้อในอาการ PDA โดยวิธี Tissue Transplanting เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และจำแนกชนิดของเชื้อรา

3.พิสูจน์โรคกับผลส้มโอ

4.ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 18 ชนิดที่ความเข้มข้น 100, 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 ppm ในห้องปฏิบัติการ

5.ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด (กรรมวิธี) คือ อัลโต้, คาลิกซิน และ ซีสเทน-อี สารละ 10 ผล (ซ้ำ) ในสภาพไร่โดยการทำแผลผลละ 2 ตำแหน่งตรงข้ามกัน เปรียบเทียบ 2 วิธีการทำแผลคือ

- วิธีที่ 1 ทำแผลด้วยปลายมีด ใช้ชิ้นวุ้นมีเชื้อราสาเหตุโรคที่แผล และพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อราทันที คลุมด้วยถุงพลาสติกที่มีละอองน้ำอยู่ภายในเพื่อเพิ่มความชื้น
- วิธีที่ 2 ทำแผลด้วยปลายเข็มฉีดยา ใช้ spore suspension ของเชื้อราสาเหตุโรคทาให้ทั่วแผล และพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อราทันที คลุมด้วยถุงพลาสติกที่มีละอองน้ำอยู่ภายในเพื่อเพิ่มความชื้น

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2548 ถึง กันยายน 2551

ปฏิบัติงานที่ สวนส้มโอเกษตรกร จ.ตราด จ.สมุทรสงคราม และจ.ชัยนาท

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

โรคผลเน่าของส้มโอเกิดระบาดในแหล่งปลูกส้มของจังหวัด ตราด และ สมุทรสงคราม ในครั้งแรกอาการผลเน่าคล้ายคลึงกับการเกิดผลเน่า (Brown Rot) ที่เกิดจาก เชื้อรา *Phytopthora* มากโดยมีอาการผลเน่าช้ำ ฉ่ำน้ำ สีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลเข้ม เนื้อเยื่อยุบตัวอ่อนนุ่ม เน่าเละ ผลร่วงลงสู่พื้นดิน โรคเข้าทำลาย ผลส้มโอในฤดูฝนเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม ซึ่งเป็นระยะที่ผลส้มโอใกล้จะเก็บเกี่ยวได้แล้ว จากการเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการบนอาหาร PDA โดยวิธี Tissue Transplanting ได้เชื้อบริสุทธิ์ของเชื้อรา *Geotrichum sp*. และจำแนกชนิดเป็น *Geotrichum candidum* (Watanabe, 2002; Whiteside *et al*., 1993)

ผลการพิสูจน์โรคกับผลส้มโอโดยการทำแผล ก็พบว่า *G. candidum* เป็นเชื้อสาเหตุของโรคผลเน่า ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 18 ชนิด พบว่า ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm. ขึ้นไปสารคาลิกซิน 75 %EC, อัลโต 10 %SL, ซีสเทน-อี 12.5 %EC และ แมนโคเซ็ป 80 %WP สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *G.candidum* ได้โดยเชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้เลย (ตารางที่ 1) ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสาร 3 ชนิด คือ คาลิกซิน 75 %EC, อัลโต 10 %SL และ ซีสเทน-อี 12.5 %EC มาทดสอบที่ผลส้มโอในสภาพไร่ พบว่าวิธีทำแผลโดยการใช้ปลายมีดเชื้อเจริญลุกลามอย่างรวดเร็วจนสารป้องกันกำจัดเชื้อราทุดชนิดไม่สามารถควบคุมโรคได้ (ตารางที่ 2) ในขณะที่วิธีการทำแผลด้วยปลายเข็มฉีดยา คาลิกซินให้ผลการควบคุมดีที่สุด รองมาคืออัลโต้และ ซีลเทน-อี (ตารางที่ 3) ทั้งนี้เนื่องจากวิธีการทำแผลด้วยปลายมีดทำให้แผลมีขนาดใหญ่เชื้อลุกลามอย่างรวดเร็ว และชิ้นวุ้นที่ใส่ที่รอยแผลเป็นอุปสรรคต่อการดูดซึมของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา จึงทำให้สารไม่สามารถยับยั้งการเข้าทำลายผลส้มโอของเชื้อสาเหตุโรคได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

โรคผลเน่า (Sour Rot) ของส้มโอเกิดจากเชื้อรา *Geotrichum candidum* ทำให้ผลส้มโอเน่าช้ำ ฉ่ำน้ำ แผลสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้มเน่ายุบตัวผลส้มร่วงหล่นสู่พื้นดิน สารป้องกันกำจัดเชื้อราที่สามารถควบคุมโรคผลเน่าได้ดีที่สุดคือ คาลิกซิน อัลโต และซีนเทน- อี

การทำให้ผลส้มโอเกิดแผลด้วยวิธีการใดๆ ก็ตามจะทำให้เกิดโรคระบาดอย่างรวดเร็ว และการเกิดโรคอาจยืดเยื้อได้ถ้าฝนตกต่อเนื่องจนถึงเดือนพฤศจิกายน โรคก็จะระบาดต่อเนื่องเช่นกัน การควบคุมโรคจึงควรใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราเป็นอันดับแรกเพื่อให้ทันต่อสถานการณ์และเกษตรกรต้องหมั่นตรวจดูการการเกิดโรคในสวน ผลส้มโอที่เน่าและร่วงหล่นควรเก็บไปเผาทำลาย

อย่าทิ้งไว้ใต้ต้น เพราะเชื้อสามารถแพร่พันธุ์ได้เป็นจำนวนมากในดิน และไหลไปตามกระแสน้ำทำให้เกิดโรคได้ในวงกว้างและเกิดต่อเนื่องในปีต่อๆ ไป

เอกสารอ้างอิง

Watanabe, T 2002 Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. Second Edition.486 pp.

Whiteside, J.O., S.M. Gamsey, and L.M. Timmer. 1993. Compendium of Citrus Diseases. APS. Press. The American Phytopathological Society. 80 pp

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.) ของเชื้อรา *G. candidum* โรคผลเน่าส้มโอ ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 18 ชนิด ในอาหาร PDA

สารป้องกันกำจัดเชื้อรา	ความเข้นข้น (ppm.)					หมายเหตุ
	100	500	1,000	1,500	2,000	
1.เจอราช 45 %EC	3.99	3.33	2.52	1.35	1.35	จำนวน 5 ซ้ำ ต่อสาร ฯ 1 ชนิด
2. คาลิกซิน 75 %EC	0.70	0.61	0.64	0.53	0.50	
3.ฟารัล 50 %WP	6.99	6.44	4.89	5.28	4.94	
4.เบโนมิล 50 %WP	5.74	7.11	6.80	7.58	6.41	
5.สกอร์ 25 %EC	1.85	1.34	1.03	0.84	0.79	
6.เบ็นท็อก 50 %SC	6.85	7.88	6.51	5.86	5.01	
7.อมิสตา 25 %SC	6.94	1.06	6.11	4.06	3.51	
8.ไวตาแวก 75 %WP	3.26	3.03	2.20	5.34	7.39	
9. ดาโคนิล 75 %WP	8.72	4.51	2.20	1.42	1.46	
10.สโตรบี้ 50 %WG	3.01	2.58	1.42	1.19	0.99	
11.คูมาร์ค 40 %EW	3.69	3.76	3.36	2.69	2.44	
12.เทอร์ราคลอร์ 24 %EC	7.53	4.77	3.76	1.31	1.21	
13.ซีสเทน - อี 12.5 %EC	1.62	0.71	0.51	0.50	0.50	
14.อัลโต 10 %SL	0.75	0.53	0.53	0.53	0.51	
15.อินเวนโต 66.8 %WP	6.64	5.02	2.76	2.76	1.71	
16.โปรฟิเน็บ 70%WP	6.06	8.06	0.50	0.50	0.50	
17.แอสเซ้นต์ 5 %SC	3.72	3.57	2.91	2.91	2.64	
18.เอซินแมค 80 %WP	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	

ตารางที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 3 ชนิดต่อโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *G. candidum* โดยวิธีทำแผลด้วยปลายมีด (แปลงเกษตรกร จ.ชัยนาท)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยขนาดแผลที่ผลส้มโอ (ซม.)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	3.45	3.75	5.25	6.0	4.8	5.75	5.7	2.5	4.65	4.5
อัลโต 10 % SL	1.77	0.85	1.55	0.6	1.75	0.7	0.77	2.25	0.55	0.92
คาสิกซิน 75 % EC	0	0	0	0	1.65	0.8	2.0	0.65	0.85	1.5
ซีสเทน-อี 12.5 % EC	0	0	1.42	5.6	4.0	4.6	3.95	4.3	3.02	3.85

ตารางที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 3 ชนิดต่อโรคผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *G. candidum* โดยวิธีทำแผลด้วยปลายเข็มฉีดยา (แปลงเกษตรกร จ.ชัยนาท)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยขนาดแผลที่ผลส้มโอ (ซม.)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	2.5	5.2	6.0	3.4	4.6	5.7	6.1	7.0	4.5	5.0
อัลโต 10 % SL	0.1	0	0.2	0	0	0.1	0.	0	0	0.5
คาสิกซิน 75 % EC	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0	0
ซีสเทน-อี 12.5 % EC	0	0.1	0	0.2	0	0.2	0.1	0	0	0.1

ศึกษาช่วงเวลาการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอให้มีประสิทธิภาพ

Study on the Optimum Application Interval of Chemical Spraying to Control Canker Disease on Pummelo

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ [1/] **สุธามาศ ณ น่าน** [2/]
[1/]**กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**
[2/]**ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่1**

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ (Canker Disease) ของส้มโอที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย โดยมีการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชในช่วงระยะเวลาที่ต่างกัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ในส้มโอพันธุ์ขาวทองดี โดยพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช cuprous oxide 86.2% WG อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ในช่วงเวลาที่ต่างกัน คือพ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21, 28 วัน และกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ เริ่มพ่นสารทดลองครั้งแรกเมื่อส้มโอเริ่มแสดงอาการของโรค ในวันที่ 27 พฤษภาคม 2551 ประเมินความรุนแรงของโรคครั้งแรกในวันที่ 30 มิถุนายน 2551 ระยะเวลาในการประเมินความรุนแรงของโรค คือ 28 วัน พบว่าส้มโอในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.63, 2.26, 2.29 และ 2.35 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.05

รหัสการทดลอง 01-10-49-02-03-02-07-49

คำนำ

โรคแคงเกอร์หรือโรคขี้กลากของพืชตระกูลส้มมีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Hass) Vauterin พบระบาดทำความเสียหายทั่วไปใน ส้มเขียวหวาน ส้มสายน้ำผึ้ง ส้มโอ ส้มตรา มะนาว มะกรูด และส้มเช้ง เป็นต้น พบการระบาดในทุกแหล่งปลูกส้ม เช่น สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก บราซิล อาร์เจนตินา โบลิเวีย ปารากวัย ทันซาเนีย คองโก จีน ญี่ปุ่น เกาหลี เวียดนาม อินเดีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย ออสเตรเลีย และประเทศไทย (อำไพ วรรณ และคณะ, 2527; เตือนใจ และคณะ, 2545; Whiteside *et al*., 1988 และ Persley, 1993) ในประเทศไทยพบโรคแคงเกอร์ในทุกแหล่งที่ปลูกส้มโอ เช่น จังหวัดนครปฐม สมุทรสงคราม ราชบุรี ชัยนาท พิจิตร เป็นต้น (อำไพวรรณ และคณะ, 2527) โรคแคงเกอร์จะระบาดและทำความเสียหายรุนแรงในช่วงที่มีความชื้นสูงมีพายุหรือฝนตกชุกต่อเนื่องเป็นเวลานาน

ลักษณะอาการที่ใบ ในระยะแรกเป็นจุดแผลกลมเท่าหัวเข็มหมุดใสและฉ่ำน้ำ จุดแผลขยายใหญ่ขึ้นมีลักษณะฟูนูนคล้ายฟองน้ำ แผลปรากฏทั้งด้านบนและด้านล่างของใบ ต่อมาแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะฟูนูนยุบลงกลายเป็นสะเก็ดแข็งและขรุขระ กลางแผลบุ๋มลง รอบๆ แผลมีวงสีเหลืองล้อมรอบ (สุชาติ, 2545; ไมตรี, 2548; นิรนาม, 2549)

ลักษณะอาการที่กิ่ง เป็นแผลตกสะเก็ดแห้งแข็งสีน้ำตาลเช่นเดียวกับบนใบ แต่แผลมักลุกลามไปรอบกิ่ง และกระจายไปตามความยาวของกิ่ง (สุชาติ, 2545; ไมตรี, 2548; นิรนาม, 2549)

ลักษณะอาการที่ผล เป็นแผลตกสะเก็ดแห้งแข็งสีน้ำตาลเช่นเดียวกับบนใบ ผลที่เป็นโรคมักจะแตกและร่วงในเวลาต่อมา (สุชาติ, 2545; ไมตรี, 2548; นิรนาม, 2549)

เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแพร่ระบาดได้ง่ายโดยน้ำฝน หยดน้ำ แมลง นก เครื่องมือเครื่องใช้ในการเกษตร เช่น มีด กรรไกร เป็นต้น เชื้อเข้าทำลายพืชได้ทุกระยะ ตั้งแต่ในระยะกล้าจนกระทั่งต้นโตและต้นแก่ เชื้อสามารถอยู่ข้ามฤดูได้ทั้งบนใบ กิ่ง เปลือกหรือส่วนของพืชอื่นๆ ที่เป็นโรค อาจเป็นชิ้นส่วนของพืชที่มีชีวิตหรือส่วนของพืชที่ตายแล้ว แต่เชื้อนี้ไม่ติดไปกับเมล็ด (Whiteside *et al*., 1988)

การป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์โดยวิธีการเขตกรรม ได้แก่ การตัดแต่งกิ่งที่เป็นโรค กิ่งแก่และกิ่งแห้งตาย เพื่อให้ทรงต้นโปร่ง พร้อมด้วยการทำความสะอาดแปลง และกำจัดซากพืชที่เป็นโรคโดยการเผาทำลาย การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชพวก copper fungicides มีความจำเป็นมาก โดยเฉพาะในระยะแตกใบ / ยอดอ่อน (อำไพวรรณ และคณะ, 2527; สุชาติ, 2545; ไมตรี, 2548 และ Whiteside *et al*., 1988)

โรคแคงเกอร์เป็นโรคสำคัญที่ทำความเสียหายกับส้มโอ เชื้อสาเหตุของโรคสามารถเข้าทำลายได้ทั้งใบ กิ่ง และผลส้มโอ ถ้ามีการระบาดของโรครุนแรงใบส้มโอจะร่วงทำให้ต้นส้มโอไม่สมบูรณ์แข็งแรง เนื่องจากมีใบน้อยจึงสังเคราะห์แสงได้น้อย ผลผลิตก็จะน้อยตามไปด้วย นอกจาก

ใบจะร่วงแล้วผลส้มโอก็อาจจะแตกและร่วงได้ถ้ามีการระบาดของโรครุนแรง แต่ถ้าโรคระบาดไม่รุนแรงก็จะทำให้ใบและผลมีแผลตกสะเก็ดแห้งแข็งสีน้ำตาล ทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพไม่ดี ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ซึ่งการควบคุมโรคแคงเกอร์ให้ได้ผลนั้น วิธีการหนึ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ คือ การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีสารคอปเปอร์เป็นองค์ประกอบ แต่ช่วงเวลาในการพ่นสารนั้นไม่แน่นอน ทำให้การพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ไม่ได้ผลเท่าที่ควร จึงทำการทดลองเพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ให้มีประสิทธิภาพ และสามารถแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโออย่างได้ผล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเลือกสวนและต้นส้มโอเพื่อใช้เป็นแปลงทดลอง

ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึง เดือนกันยายน 2552 โดยเลือกทำการทดลองในสวนส้มโอของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 อำเภอเมือง จังหวัดเชียงรายซึ่งเป็นสวนส้มโอที่มีการระบาดของโรคแคงเกอร์ เลือกต้นส้มโอพันธุ์ขาวทองดีอายุ 3 ปีที่เป็นโรคแคงเกอร์เพื่อใช้ในการทดลอง

1. การเตรียมต้นส้มโอเพื่อใช้ในการทดลอง

เริ่มเตรียมต้นส้มโอในเดือนพฤศจิกายน โดยการตัดแต่งกิ่งส้มโอ ทารอยแผลที่ตัดแต่งกิ่งและพ่นด้วยสาร copper hydroxide 77% WP อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตร 1 ครั้งหลังจากตัดแต่งกิ่ง ปรับปรุงดินโดยการใส่ปุ๋ยคอก 20 กก./ ต้น ใส่ปุ๋ยทางดินสูตร 46-0-0 ผสมกับ 15-15-15 อัตราส่วน 1:1 โดยใส่ 2 กก./ ต้น (นิรนาม, 2545) หลังจากนั้นจะมีการตัดแต่งกิ่งและใส่ปุ๋ยทางดินทุกเดือน เพื่อให้ส้มโอแตกยอดอ่อน เนื่องจากมีการตรวจสอบการเกิดโรคแคงเกอร์ในใบเพสลาดทุก 28 วัน

2. การทดสอบสารป้องกันกำจัดโรคพืช

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยใช้ส้มโอพันธุ์ขาวทองดี 2 ต้นต่อ 1 ซ้ำ จำนวน 40 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี คือ ช่วงเวลาในการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช โดยพ่นสารทุก 7, 14, 21, 28 วัน และกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ โดยมีกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สาร cuprous oxide 86.2% WG อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 7 วัน

กรรมวิธีที่ 2 สาร cuprous oxide 86.2% WG อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 14 วัน
กรรมวิธีที่ 3 สาร cuprous oxide 86.2% WG อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 21 วัน
กรรมวิธีที่ 4 สาร cuprous oxide 86.2% WG อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นทุก 28 วัน
กรรมวิธีที่ 5 ไม่พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช (พ่นน้ำเปล่า)

ตรวจสอบการเกิดโรคที่ใบเพสลาด พบว่าส้มโอเริ่มเป็นโรคในช่วงต้นเดือนพฤษภาคม 2551 จึงเริ่มพ่นสารทดลองครั้งแรกเมื่อส้มโอเริ่มแสดงอาการของโรคคือใบอ่อนเป็นจุดแผลกลมใส และฉ่ำน้ำ โดยพ่นสารทดลองตามแผนการทดลองที่วางไว้ ใช้เครื่องพ่นสารชนิดเครื่องยนต์แบบสะพายหลัง

3. การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์

สุ่มยอดอ่อนที่ใบเริ่มคลี่พร้อมทำเครื่องหมายด้วยการนำป้ายพลาสติกมาผูกไว้จำนวน 10 ยอดต่อต้น ประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในใบเพสลาด โดยประเมินหลังจากผูกยอดอ่อนไว้ 28 วัน และสุ่มยอดอ่อนที่ใบเริ่มคลี่ใหม่ทุก 28 วัน เพื่อใช้ในการตรวจสอบการเกิดโรคในเดือนถัดไป เริ่มตรวจสอบการเกิดโรคแคงเกอร์ครั้งแรกในใบเพสลาดก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 6 ในกรรมวิธีที่ 1 และตรวจสอบการเกิดโรคในใบเพสลาดที่สุ่มใหม่ในทุก 28 วัน ประเมินความรุนแรงของโรคทั้งหมด 4 ครั้ง โดยประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เป็น 7 ระดับ ดังนี้

ระดับที่ 1 ใบส้มโอไม่แสดงอาการเป็นโรค
ระดับที่ 2 ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 1-10% ของพื้นที่ใบ
ระดับที่ 3 ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 11-20% ของพื้นที่ใบ
ระดับที่ 4 ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 21-30% ของพื้นที่ใบ
ระดับที่ 5 ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 31-40% ของพื้นที่ใบ
ระดับที่ 6 ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 41-50% ของพื้นที่ใบ
ระดับที่ 7 ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50% ของพื้นที่ใบ

นำข้อมูลระดับความรุนแรงของโรคที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการทดลองทำการตรวจสอบการเกิดโรคที่ใบเพสลาด เนื่องจากเชื้อสาเหตุของโรคแคงเกอร์เข้าทำลายใบส้มโอในช่วงที่เป็นใบอ่อน แต่ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรคไม่ชัดเจนเห็นเป็นจุดใสๆ ฉ่ำน้ำ ต่อมาจุดแผลขยายใหญ่ขึ้นมีลักษณะนูน รอบๆ แผลเนื้อใบมีสีเขียวซีดกว่าเนื้อใบปกติ เกิดเป็นวงสีเหลืองล้อมรอบแผล (halo) หลังจากนั้นแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มยุบตัวลงแตกเป็นสะเก็ดขรุขระแข็ง ตรงกลางบุ๋มลงไปเล็กน้อย (นิรนาม, 2549) ซึ่งอาการดังกล่าวจะเห็นชัดเจนในช่วงที่ใบส้มโอเป็นใบเพสลาด จึงจำเป็นต้องประเมินระดับการเกิดโรคในช่วงที่ใบส้มโอเป็นใบเพสลาด

ในการทดลองนี้แบ่งระดับความรุนแรงของโรคเป็น 7 ระดับ เนื่องจากต้องการประเมินความรุนแรงของโรคแบบละเอียด แต่ที่แบ่งระดับความรุนแรงของโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์เป็นระดับสุดท้าย เนื่องจากพบว่าเมื่อใบส้มโอเป็นโรคมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ใบจะร่วงทำให้ไม่สามารถประเมินความรุนแรงของโรคได้

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ พบว่าการตรวจสอบการเกิดโรคในใบเพสลาดตั้งแต่เดือนธันวาคมถึงเมษายน ไม่พบอาการของโรค เริ่มพบอาการของโรคตั้งแต่เดือนพฤษภาคม จึงเริ่มพ่นสารทดลองครั้งแรกในวันที่ 27 พฤษภาคม 2551 โดยพ่นสารทดลองตามแผนการทดลองที่วางไว้ และเริ่มตรวจสอบการเกิดโรคแคงเกอร์ในแปลงส้มโอตั้งแต่วันที่ 30 มิถุนายน 2551 และตรวจสอบการเกิดโรคในใบเพสลาดที่สุ่มใหม่ในทุกๆ 28 วัน

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ครั้งแรกในวันที่ 30 มิถุนายน พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.56, 2.08, 1.91 และ 2.03 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.32 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 21 วัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14 และ 28 วัน (ตาราง)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในวันที่ 28 กรกฎาคม พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.84, 2.92, 2.74 และ 2.75

ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.18 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน (ตาราง)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในวันที่ 25 สิงหาคม พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.69, 2.24, 2.52 และ 2.70 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.85 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14 วัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 21 และ 28 วัน (ตาราง)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในวันที่ 22 กันยายน พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.45, 1.78, 1.99 และ 1.92 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.85 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14 และ 28 วัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 21 วัน (ตาราง)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 4 เดือน พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.63, 2.26, 2.29 และ 2.35 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.05 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน (ตาราง)

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ แสดงให้เห็นว่าวิธีการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชนั้นสามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ดีกว่าวิธีการที่ไม่พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช และในการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช โดยมีการพ่นสาร cuprous oxide 86.2% WG ในช่วงระยะเวลาที่ต่างกัน พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ดี มีระดับความรุนแรงของโรคในช่วง 4 เดือนเท่ากับ 1.63 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21, 28 วัน และ กรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ

2.26, 2.29, 2.35 และ 4.05 ตามลำดับ (ตาราง) แต่กรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน ก็สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ ถึงแม้ว่าจะไม่ดีเท่ากรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วันก็ตาม ดังนั้นเกษตรกรจึงควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชกลุ่มที่มีสารประกอบทองแดง (Copper Fungicides) เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ในแปลงส้มโออย่างสม่ำเสมอ เนื่องจากส้มโอเป็นพืชตระกูลส้มที่อ่อนแอต่อโรคนี้ สอดคล้องกับนิพนธ์ (2542) และ เตือนใจ และคณะ (2545) ที่แนะนำให้ใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชกลุ่มที่มีสารประกอบทองแดงในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้ม และช่วงเวลาที่เหมาะสมในการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์นั้นก็สามารถเปลี่ยนแปลงได้ความต้องการของเกษตรกร แต่เกษตรกรควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์อย่างน้อยเดือนละครั้งในช่วงหน้าฝนซึ่งมีการระบาดของโรครุนแรงกว่าช่วงที่ไม่มีฝนตก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของนิพนธ์ (2542) ที่รายงานว่าสภาพที่มีฝนตกชุกทำให้โรคระบาดมาก เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียถูกพัดพาจากเนื้อเยื่อในส่วนของต้นที่เป็นโรคไปยังเนื้อเยื่อส่วนอื่นของลำต้นโดยลมและฝน

สรุปผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ โดยมีการพ่นสาร cuprous oxide 86.2% WG ในช่วงระยะเวลาที่ต่างกัน พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ และกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ดีที่สุด มีระดับความรุนแรงของโรคในช่วง 4 เดือนต่ำสุด

เอกสารอ้างอิง

เตือนใจ บุญ-หลง, สุชาติ วิจิตรานนท์ และ แสงมณี ชิงดวง. 2545. โรคไม้ผล. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 120 หน้า.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2542. โรคไม้ผลเขตกึ่งร้อน โรคทับทิม น้อยหน่า ลำไย ลิ้นจี่ ส้ม องุ่น และอะโวคาโด. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการหลักสูตร “หมอพืช-ไม้ผล” ฉบับที่ 2 ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 145 หน้า.

นิรนาม. 2545. เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับส้มโอ. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 28 หน้า.

นิรนาม. 2549. โรคแคงเคอร์ของส้มโอ. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. (เอกสารแผ่นพับ)

ไมตรี พรหมมินทร์. 2548. โรคที่สำคัญของส้ม. เอกสารวิชาการโรคทรุดโทรมของส้มและแนวทางฟื้นฟูการทำสวนส้มในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 88 หน้า.

สุชาติ วิจิตรานนท์. 2545. โรคแคงเคอร์ของพืชตระกูลส้ม. กลุ่มงานวิจัยโรคไม้ผลพืชสวน อุตสาหกรรมและสมุนไพร กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. (เอกสารแผ่นพับ)

อำไพวรรณ ภราดร์นุวัฒน์, วิชัย ก่อประดิษฐ์กุล, วิเชียร กำจายภัย, สุพัฒน์ อรรถธรรม และนิพนธ์ ทวีชัย. 2527. โรคส้มในประเทศไทย. ฟันนี่พับบลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ. 126 หน้า.

Persley, D. 1993. Diseases of Fruit Crops. Division of Crop Protection, Department of Primary Industries, Queenlands, Australia. 180 p.

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

ตาราง ระดับความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในส้มโอพันธุ์ขาวทองดีช่วงเดือนมิถุนายน-กันยายน พ.ศ. 2551

กรรมวิธี	อัตราที่ใช้ (ซีซี/กรัม) ต่อน้ำ 20 ลิตร	ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ของส้มโอ[1/]				
		มิถุนายน	กรกฎาคม	สิงหาคม	กันยายน	เฉลี่ย 4 เดือน
1. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 7 วัน	15	1.56a[2/]	1.84a	1.69a	1.45a	1.63a
2. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 14 วัน	15	2.08b	2.92b	2.24ab	1.78ab	2.26b
3. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 21 วัน	15	1.91ab	2.74b	2.52b	1.99b	2.29b
4. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 28 วัน	15	2.03b	2.75b	2.70b	1.92ab	2.35b
5. Control (พ่นน้ำเปล่า)	-	3.32c	4.18c	4.85c	3.85c	4.05c
CV (%)		17.12	22.49	20.22	20.56	11.22

1935

หมายเหตุ

1/ = ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคจากการประเมินโรคแคงเกอร์ในต้นส้มโอพันธุ์ขาวทองดี 2 ต้นต่อ 1 ซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีค่าระดับความรุนแรง ดังนี้

ระดับที่ 1 = ใบส้มโอไม่แสดงอาการเป็นโรค ระดับที่ 2 = ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 1-10% ของพื้นที่ใบ

ระดับที่ 3 = ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 11-20% ของพื้นที่ใบ ระดับที่ 4 = ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 21-30% ของพื้นที่ใบ

ระดับที่ 5 = ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 31-40% ของพื้นที่ใบ ระดับที่ 6 = ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรค 41-50% ของพื้นที่ใบ

ระดับที่ 7 = ใบส้มโอแสดงอาการเป็นโรคมากกว่า 50% ของพื้นที่ใบ

2/ = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ Duncan's Multiple Range Test

ศึกษาการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอ โดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Controlling Phytophthora Root Rot and Stem Rot of Pummelo by Antagonistic Microorganism

นลินี ศิวากรณ์ เพลินพิศ สงสังข์

บูรณี พั่วงษ์แพทย์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจแปลงปลูกส้มโอจังหวัดสมุทรสงคราม และจังหวัดชัยนาท พบโรครากเน่าและโคนเน่าเป็นปัญหาที่สำคัญมากต่อการปลูกส้มโอ โดยพบอาการเกิดขึ้นทั้งที่โคนต้นเหนือดินและราก ลักษณะอาการที่พบบริเวณโคนต้นเหนือดินมีรอยช้ำฉ่ำน้ำ เมื่อลอกผิวเปลือกจะพบแผลฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเป็นทางตามรอยเนื้อไม้ ทำให้ส้มโอให้ผลผลิตน้อยและต่อมาใบร่วงและยืนต้นตาย ส่วนลักษณะอาการที่พบบริเวณรากใต้ดินจะพบรากเน่าเปลือกรากร่อนหลุดง่าย ทำให้ลูกส้มโอขั้วเหลืองร่วงอย่างรุนแรง จากการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอพบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา*Phytophthora parasitica* Dastur (1913) เชื้อรานี้สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหาร PDA โคโลนีเต็มจานอาหารในเวลา 7 วัน สร้างเส้นใยสีขาว ไม่มีผนังกั้น sporangium มีลักษณะกลม รูปไข่ หรือลูกแพร์ขนาด 20.24-30.36 x 25.3-40.48 µm (25.63 X 33.57 µm) โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของ sporangium เป็น 1.30 ภายใน sporangium มี zoospore จำนวนมากและจะถูกปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน (papilla) zoospore จะว่ายน้ำเพื่อหาพืชอาศัยและเจริญเติบโตสร้างเส้นใยเข้าทำลายพืชต่อไป เชื้อสร้าง chlamydospore รูปร่างกลม มีผนังหนาขนาด 30.36 - 40.48 µm เชื้อที่แยกได้ทำให้ใบส้มโอที่ทำแผลวางเชื้อเป็นโรคโดยมีอาการช้ำฉ่ำน้ำภายใน 4 วัน จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 47 ไอโซเลท พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอได้แก่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ไอโซเลท 5908, 5907, 5807-1, 5914, 5805, 5807-2, 5919 และ 5806 โดยสร้างวงใสขนาด 10.2, 10.1, 10.0, 9.8, 9.7, 9.6, 9.4 และ 9.1 มม. ตามลำดับ

รหัสโครงการ 07-01-49-02

คำนำ

ส้มโอ [*Citrus maxima* (Burm.) Merill หรือ *C. grandis* (L.) Osbeck] จัดอยู่ในวงศ์ Rutace มีชื่อสามัญว่า pummelo (รวี,2523) พันธุ์ส้มโอที่ปลูกเพื่อการค้าแบ่งออกได้ดังนี้ พันธุ์การค้าหลัก ได้แก่ ขาวพวง ขาวทองดี ขาวน้ำผึ้ง เป็นต้น พันธุ์การค้าเฉพาะแห่ง ได้แก่ ขาวแป้น ขาวหอม ขาวแตงกวา ท่าข่อย ขาวใหญ่ หอมหาดใหญ่ เจ้าเสวย กรุ่น ขาวแก้ว เป็นต้น โดยพื้นที่การปลูกส้มโอที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดนครปฐม, จ.สมุทรสาคร,ราชบุรี, จ.ชัยนาท เป็นต้น (ทวีศักดิ์ และ สุนิสา,2537) ในปี 2550 ไทยส่งออกส้มโอปริมาณ 10,071 เมตริกตัน มูลค่า 119.953 ล้านบาท (นิรนาม,2550)

โรครากเน่าและโคนเน่านับเป็นโรคที่สร้างความเสียหายให้แก่ส้มโอโรคหนึ่ง เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasica* ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของการผลิตส้มโอ เกษตรกรมีวิธีป้องกำจัดเชื้อราดังกล่าวหลายวิธี เช่น การเฉือนเปลือกไม้ส่วนที่เป็นแผลออก ทาแผลและรดดินด้วยสารเคมี แต่โรครากเน่าและโคนเน่ายังคงระบาดเหมือนเดิม ซึ่งการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าจะให้ผลในระยะสั้นๆ และยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้น การควบคุมโดยชีววิธีจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งซึ่งจะนำมาใช้ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า ในปัจจุบันมีการนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมโรคนี้ เช่น *Trichoderma* ใส่ดิน เพื่อการควบคุมกันเองทางธรรมชาติระหว่างเชื้อดังกล่าวกับเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่นๆ ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าโดยไม่พึ่งสารเคมี เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ให้เป็นรูปธรรมได้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แหล่งปลูกส้มโอที่มีโรครากเน่าและโคนเน่าระบาด
2. ตัวอย่างโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอ, ใบส้มโอและดินปลูกจากต้นที่ไม่เป็นโรค
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ RNV, PDA, PSA, น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ แอลกอฮอล์
4. กล้องจุลทัศน์ และวัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1 การแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอ

1.1. สำรวจหาแหล่งปลูกส้มโอที่มีการระบาดของโรครากเน่าและโคนเน่า

1.2. ทำการแยกเชื้อจากต้นส้มโอที่เป็นโรคในแปลงปลูกโดยใช้มีดขูดลอกผิวเปลือกภายนอกบริเวณที่เป็นโรคทิ้ง

1.3 ใช้มีดที่สะอาดลอกบริเวณเนื้อเยื่อภายในที่เป็นโรคและตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 2 - 3 มม. และนำไปวางบนอาหารเฉพาะ RNV

1.4 จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 - 4 วัน สังเกตุดูเส้นใยของเชื้อราสาเหตุเจริญเติบโตขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RNV

1.5 นำเส้นใยของเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ในข้อ1.4 มาเลี้ยงขยายบนจานอาหาร PDA

2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุที่แยกได้

2.1 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา

1. ใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อลอกเอาเส้นใยของเชื้อราสาเหตุซึ่งเลี้ยงขยายบนจานอาหารในข้อ1.5 นำมาแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อที่ใส่ในจานอาหาร

2. นำจานอาหารที่มีเชื้อราสาเหตุในข้อ1 เข้าตู้เย็นที่อุณหภูมิ 18^0ซ. เป็นเวลา 1 ชม.

3. จากนั้นนำเส้นใยของเชื้อสาเหตุมาเขี่ยเชื้อลงบนแผ่นสไลด์เพื่อตรวจดูลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโดยตรวจและวัดขนาดของ sporangium, chlamydospore จำนวน 50 สปอร์ และหาค่าเฉลี่ย

2.2 ศึกษาความสามารถของเชื้อที่แยกได้ในการทำให้เกิดโรค

1. ตัดชำใบส้มโอแล้วใช้สำลีพันก้านใบด้วยวิธี detached leaf จากนั้นนำมาวางในกล่องพลาสติกใสที่มีกระดาษฟางที่เปียกวางให้ความชื้น

2. นำ cork borer มาเจาะทำแผลบนใบส้มโอโดยทำแผลระหว่างเส้นกลางใบทั้งสองข้างๆ ละ 1 จุด

3. นำ cork borer มาเจาะบนเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ที่เลี้ยงบนจานอาหารในข้อ 1.5 แล้วนำไปวางบนใบส้มโอที่จุดแผลเตรียมไว้ในข้อ 2 ข้างละ 1 ชิ้น

4. ส่วน control นำอาหารที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อมาเจาะวางบนใบส้มโอโดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2 และ 3

5. ตรวจผลการทำให้เกิดโรคบนแผลที่ปลูกเชื้อราสาเหตุและ control

3. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

3.1 โดยวิธีบด

1. นำใบส้มโอและทุเรียนมาล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จำนวน 1 กรัมบดกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มล.

2. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

3. .ใช้เข็มเขี่ยหัวกลม (loop) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแตะในน้ำใบส้มโอและทุเรียนบดในข้อ1 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. นำตัวอย่าใบส้มโอมาตัดให้มีขนาด 3-5 มม. และนำมาล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ

2. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

3. นำใบส้มโอในข้อ1 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. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าที่แยกได้บนอาหาร 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

แหล่งปลูกส้มโอของเกษตรกรในจังหวัดสมุทรสงคราม, ชัยนาท จ.นครปฐม

ห้องปฏิบัติงานกลุ่มเทคโนโลยีการจัดการโรคพืช สอพ. กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1 การแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอ จากการสำรวจแหล่งปลูกส้มโอในจังหวัดต่าง ๆ พบโรครากเน่าและโคนเน่าระบาดรุนแรงในเขตจังหวัดสมุทรสงครามและจังหวัดชัยนาท ลักษณะอาการของโรคที่พบในจังหวัดสมุทรสงครามจะแสดงอาการให้เห็นได้อย่างเด่นชัด บริเวณโคนต้นเหนือดินมีรอยช้ำฉ่ำน้ำ เมื่อลอกผิวเปลือกจะพบแผลฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเป็นทางตามรอยเนื้อไม้ ต้นที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตน้อย ถ้าไม่ได้รับการรักษาหรือเป็นโรคติดต่อกันนานต้นส้มโอจะยืนต้นแห้งตาย ส่วนในจังหวัดชัยนาทพบอาการเกิดขึ้นที่รากใต้ดินโดยเมื่อขุดดินลงไปจะพบรากเน่าเปลือกรากร่อนหลุดง่าย ทำให้ลูกส้มโอขั้วเหลืองร่วงอย่างรุนแรงจนเกษตรกรต้องล้มสวนส้มโอเพื่อปลูกพืชอื่นทดแทน

2. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุที่แยกได้

2.1 ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา จากการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอพบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา*Phytophthora parasitica* Dastur (1913) เชื้อรานี้สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารPDA โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารใช้เวลา 7 วัน สร้างเส้นใยสีขาว ไม่มีผนังกั้น sporangium มีลักษณะกลม รูปไข่ หรือลูกแพร์ขนาด 20.24-30.36 x25.3-40.48 µm (25.63 X 33.57 µm) โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของ sporangium เป็น 1.30 ภายใน sporangium มี zoospore จำนวนมากและจะถูกปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน

(papilla) zoospore จะว่ายน้ำเพื่อหาพืชอาศัยและเจริญเติบโตสร้างเส้นใยเข้าทำลายพืชต่อไป เชื้อสร้าง chlamydospore รูปร่างกลม มีผนังหนาขนาด 30.36 - 40.48 µm

2.2 ศึกษาความสามารถของเชื้อที่แยกได้ในการทำให้เกิดโรค เชื้อที่แยกได้ทำให้ใบส้มโอที่ทำแผลวางเชื้อเป็นโรคโดยมีอาการช้ำฉ่ำน้ำภายใน 4 วัน ส่วน control ไม่เป็นโรคใบยังคงปกติ

3. **การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์** จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากแหล่งปลูกส้มโอในสวนเกษตรกรจำนวน 5 สวน อำเภอบางคณฑี จังหวัดสมุทรสงคราม ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีการสร้างวงใสขึ้นล้อมรอบเชื้อที่ขึ้นปะปนบนอาหารจำนวน 27 ไอโซเลท สวนส้มโอพวงฉัตร จังหวัดชัยนาท ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 10 ไอโซเลท และแปลงปลูกทุเรียน จ.จันทบุรี ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 27 ไอโซเลท

4. **ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า** พบว่า จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จากส้มโอ จำนวน 25 ไอโซเลท และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้จากทุเรียน จำนวน 28 ไอโซเลท พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. parasitica* ซึ่งแยกได้จากแปลงปลูกทุเรียน ในจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ไอโซเลท 5908, 5907 , 5914 และ 5919 สร้างวงใสกว้างขนาด 10.2, 10.1, 9.8 และ 9.4 มม. ตามลำดับ ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากแปลงปลูกส้มโอ ได้แก่ ไอโซเลท 5807-1,2 และ 5806 สร้างวงใสกว้างขนาด 10.0, 9.6 และ 9.1 มม. ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

โรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอนับเป็นปัญหาที่สำคัญต่อการปลูกส้มโอมากในจังหวัดสมุทรสงคราม และจังหวัดชัยนาท โดยพบสวนส้มโอเกิดโรครากเน่าและโคนเน่าระบาดรุนแรง บริเวณโคนต้นเหนือดินมีรอยช้ำฉ่ำน้ำ เมื่อลอกผิวเปลือกจะพบแผลฉ่ำน้ำสีน้ำตาลเป็นทางตามรอยเนื้อไม้ ทำให้ส้มโอให้ผลผลิตน้อยและต่อมาใบร่วงและยืนต้นตาย ส่วนในจังหวัดชัยนาทพบอาการเกิดขึ้นที่รากใต้ดินโดยเมื่อขุดดินลงไปจะพบรากเน่าเปลือกรากร่อนหลุดง่าย ทำให้ลูกส้มโอขั้วเหลืองร่วงอย่างรุนแรง จากการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอพบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา*Phytophthora parasitica* เชื้อรานี้สามารถเจริญเติบโตได้บนอาหารPDA โคโลนีเจริญเต็มจานอาหารใช้เวลา 7 วัน สร้างเส้นใยสีขาว ไม่มีผนังกั้น sporangium มีลักษณะกลม รูปไข่ หรือลูกแพร์ขนาด 20.24-30.36 x25.3-40.48 µm (25.63 X 33.57 µm) โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างของ sporangium เป็น 1.30 ภายใน sporangium มี zoospore จำนวนมากและจะถูกปล่อยออกมาทางปากเปิดด้านบน (papilla) zoospore จะว่ายน้ำเพื่อหา

พืชอาศัยและเจริญเติบโตสร้างเส้นใยเข้าทำลายพืชต่อไป เชื้อสร้าง chlamydospore รูปร่างกลม มีผนังหนาขนาด 30.36 - 40.48 µm เชื้อที่แยกได้ทำให้ใบส้มโอที่ทำแผลวางเชื้อเป็นโรคโดยมีอาการช้ำฉ่ำน้ำภายใน 4 วัน และจากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากแหล่งปลูกส้มโอ อำเภอบางคณฑี จังหวัดสมุทรสงคราม ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 27 ไอโซเลท สวนส้มโอพวงฉัตร จังหวัดชัยนาท ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 10 ไอโซเลท และแปลงปลูกทุเรียน จ.จันทบุรี ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 28 ไอโซเลท และจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากส้มโอ จำนวน 25 ไอโซเลท และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากสวนทุเรียน จำนวน 28 ไอโซเลท พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. parasitica* ที่แยกได้จากแปลงปลูกทุเรียน ในจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ไอโซเลท 5908, 5907 , 5914 และ 5919 สร้างวงใสกว้างขนาด 10.2, 10.1, 9.8 และ 9.4 มม. ตามลำดับ ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากแปลงปลูกส้มโอ ได้แก่ ไอโซเลท 5807-1, 5805, 5807-2 และ 5806 สร้างวงใสกว้างขนาด 10.0, 9.7, 9.6 และ 9.1 มม. ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในไอโซเลทต่าง ๆ ที่แสดงปฏิกิริยายับยั้งต่อเชื้อราสาเหตุ *P. parasitica* (ตารางที่ 1)

ตารางที่1 ปฏิกิริยาของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอ

ไอโซเลท	แหล่งปลูก/พืช	ปฏิกิริยาการยับยั้ง (%)	บริเวณวงใส (มม.)
5803	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	54.14	6.2
5804	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.74	8.1
5805	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	64.60	9.7
5806	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	67.09	9.1
5807-1	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	67.32	10.0
5807-2	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	63.82	9.6
5808-1	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	68.26	8.2
5808-2	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	66.39	7.6
5808-3	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	67.67	7.6
5809-1	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	67.32	8.1
5809-3	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	67.32	8.2
5813	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	8.95	0
5814	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	6.42	0
5815	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	3.70	0
5816	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	0.19	0
5817	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	1.17	0
5818	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	5.45	0
5819	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	8.75	0
5820	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	17.90	0
5821	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	38.72	0
5822	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	56.23	0.8
5823	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	43.68	0
5824	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	63.81	6.7
5825	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	64.20	6.3
5826	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	61.67	6.8
5901	จันทบุรี/ทุเรียน	28.99	0

ไอโซเลท	แหล่งปลูก/พืช	ปฏิกิริยาการยับยั้ง (%)	บริเวณวงใส (มม.)
5902	จันทบุรี/ทุเรียน	7.39	0
5903	จันทบุรี/ทุเรียน	67.51	7.2
5904	จันทบุรี/ทุเรียน	66.54	7.9
5905	จันทบุรี/ทุเรียน	4.47	0
5906	จันทบุรี/ทุเรียน	70.43	8.5
5907	จันทบุรี/ทุเรียน	67.77	10.1
5908	จันทบุรี/ทุเรียน	64.20	10.2
5909	จันทบุรี/ทุเรียน	5.64	0
5910	จันทบุรี/ทุเรียน	59.53	5.8
5911	จันทบุรี/ทุเรียน	13.62	0
5912	จันทบุรี/ทุเรียน	62.06	8.2
5913	จันทบุรี/ทุเรียน	65.76	7.6
5914	จันทบุรี/ทุเรียน	62.06	9.8
5919	จันทบุรี/ทุเรียน	59.92	9.4
5920	จันทบุรี/ทุเรียน	57.39	7.8
5921	จันทบุรี/ทุเรียน	42.02	0
5922	จันทบุรี/ทุเรียน	61.28	6.5
5923	จันทบุรี/ทุเรียน	54.86	7.8
5926	จันทบุรี/ทุเรียน	63.81	6.1
5927	จันทบุรี/ทุเรียน	63.62	6.6
5928	จันทบุรี/ทุเรียน	43.00	1.3
5930	จันทบุรี/ทุเรียน	65.37	0
5932	จันทบุรี/ทุเรียน	57.20	8.8
5933	จันทบุรี/ทุเรียน	39.30	0
5934	จันทบุรี/ทุเรียน	57.20	8.9
5935	จันทบุรี/ทุเรียน	47.28	2.2
5936	จันทบุรี/ทุเรียน	22.37	0

เอกสารอ้างอิง

ทวีศักดิ์ ด้วงทองและ สุนิสา อธิวงศ์ธนวัฒน์. 2537. การปลูกส้มโอ.สำนักและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/tree_fruit/fruit27.pdf (23/03/52)

นิรนาม. 2550. การส่งออกสินค้าเกษตรไทย ตอนที่2. หน้า18. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศปี2550. ศูนย์สาระสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.

รวี เสรฐภักดี.2523.ไม้ผลทางอุตสาหกรรม II (ส้ม).เอกสารประกอบคำบรรยายวิชาพืชสวน 542. ภาควิชาพืชสวน.คณะเกษตร.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.108 หน้า

การใช้เหยื่อโปรตีน เพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในฝรั่ง

Study on Yeast Protein in Controlling Fruit Fly on Guava

วิภาดา ปลอดครบุรี สัญญาณี ศรีคชา เกรียงไกร จำเริญมา ศรุต สุทธิอารมณ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ผลิตเหยื่อโปรตีนจากกากเบียร์ของโรงงานอุตสาหกรรมเบียร์ โดยนำมาระงับปฏิกิริยาหมักด้วยเกลือ 5% ประมาณ 1 เดือน แล้วนำมาทดสอบหาสารฆ่าแมลงที่เหมาะสมที่ใช้ในการผสมเหยื่อโปรตีน เพื่อใช้ป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มกีฏและสัตววิทยา ในระหว่างปี 2549 - 2551 ทำสองการทดลอง โดยมี 10 กรรมวิธี 4 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ RCB โดยแต่ละกรรมวิธีใช้เหยื่อโปรตีน DOA Bait อัตรา 200 มิลลิลิตร ผสมสารฆ่าแมลงชนิดและอัตราต่างๆ ในน้ำ 5 ลิตร ดังนี้ ผสมด้วยสารฆ่าแมลง malathion 57%EC อัตรา 10 มิลลิลิตร, profenofos 50%EC อัตรา 7.5 มิลลิลิตร, triazophos 40%EC อัตรา 10 มิลลิลิตร, deltamethrin 3%EC อัตรา 5 มิลลิลิตร, lambda cyhalothrin 2.5%CS อัตรา 5 มิลลิลิตร, dinotefuran 10%WP อัตรา 1 กรัม, imidacloprid 70%WG อัตรา 0.125 กรัม และ thiamethoxam 25%WG อัตรา 1.25 กรัม โดยใช้ malathion 83%EC อัตรา 70 มิลลิลิตร เป็นสารเปรียบเทียบเดิมที่แนะนำไว้ และกรรมวิธีไม่ผสมสารฆ่าแมลง ตามลำดับ พบว่ากรรมวิธีที่ผสมด้วยสารฆ่าแมลงในกลุ่มออกาโนฟอสเฟต ได้แก่ malathion 57%EC, profenofos 50%EC และ triazophos 40%EC มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* ได้ดีทั้งสองการทดลอง สามารถนำมาใช้ทดแทนสารเปรียบเทียบเดิมได้

รหัสการทดลอง 07-01-49-02-09-01-01-49

คำนำ

แมลงวันผลไม้เป็นศัตรูพืชที่สำคัญของไม้ผลหลายชนิดโดยเฉพาะฝรั่ง ซึ่งเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูงและเป็นที่นิยมในการบริโภค จึงเป็นพืชเศรษฐกิจที่ทำรายได้ดี อีกทั้งเป็นพืชที่มีศักยภาพในการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ แต่เนื่องจากการปลูกไม้ผลในประเทศไทยนั้น มีปัญหาจากการทำลายของแมลงวันผลไม้ ทำให้ผลผลิตเสียหาย และคุณภาพต่ำ ทำให้มีการป้องกันกำจัดทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต ในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้มีการใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องจนเก็บเกี่ยว ส่งผลให้เกิดปัญหาของสารพิษตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาด้านกักกันพืชและถูกใช้เป็นเครื่องมือกีดกันทางการค้าจากต่างประเทศ เห็นได้ว่าแมลงวันผลไม้เป็นปัญหาในระดับประเทศที่ต้องให้ความสำคัญ ดังนั้น จึงทำการศึกษาการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยใช้เหยื่อพิษโปรตีนเพื่อช่วยลดความเสียหายของผลผลิต ทำให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพตรงตามความต้องการของตลาด และไม่มีปัญหาสารพิษตกค้าง

การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยใช้เหยื่อพิษโปรตีน อาศัยหลักการพื้นฐานทางชีววิทยาที่แมลงวันผลไม้เมื่อออกจากดักแด้ใหม่ ๆ จะมีความต้องการอาหารที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบเพื่อพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์และวางไข่ ตลอดจนใช้ในการดำรงชีพและขยายพันธุ์ ซึ่งเหยื่อโปรตีนที่ผลิตได้จากกากยีสต์ที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมเบียร์นั้นมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูง จึงนำมาใช้ดึงดูดแมลงวันผลไม้ให้มากิน ซึ่งเหยื่อโปรตีนได้ผสมสารฆ่าแมลงไว้ จึงทำให้แมลงวันผลไม้ตายก่อนที่จะมีอายุครบผสมพันธุ์และวางไข่ เป็นวิธีการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้วิธีการหนึ่งที่ได้ผลดี (มนตรี, 2533; Steiner, 1952) การศึกษาการใช้โปรตีนเป็นสารล่อแมลงวันผลไม้มีการศึกษากันมานาน Hegen and Finney (1950) พบว่าสิ่งขับถ่ายของแมลงพวกเพลี้ยหอย มีองค์ประกอบเป็น hydrolysate protein, mineral และวิตามินบีหลายชนิด ซึ่งแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera dorsalis* ต้องการเพื่อความสมบูรณ์ของไข่ และ Steiner (1955) รายงานว่า soy hydrolysate มีประสิทธิภาพต่ำกว่า yeast hydrolysate และสารฆ่าแมลง malathion สามารถใช้ร่วมกับ hydrolysate protein ในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในมะม่วง ฝรั่ง และแพสชั่นฟรุตที่ฮาวาย มนตรีและสาทร (2537) พบว่าสารฆ่าแมลงทุกชนิดที่ออกฤทธิ์เร็วสามารถใช้ผสมกับเหยื่อล่อแมลงวันผลไม้ได้แทบทั้งสิ้น โดยไม่ทำลายความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงนั้นๆ สารฆ่าแมลงที่สามารถผสมกับเหยื่อได้ดี และมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงวันผลไม้ ได้แก่ เมทโธมิล (methomyl) โมโนโครโตฟอส (monocrotophos) ไดเมทโธเอท (dimethoate) เดลต้าเมทริน (deltamethrin) คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan) ไตรคลอร์ฟอน (trichlorfon) มาลาไธออน (malathion) เอซินฟอสเอทธิล (azinphos-ethyl) คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) แต่เนื่องจากสารฆ่าแมลง โมโน

โครโตฟอส และไดเมทโธเอท ไม่แนะนำให้ใช้ เนื่องจากมีอันตรายสูงและจะถูกยกเลิกการใช้ในประเทศไทย และมาลาไทออน 83%EC ที่แนะนำให้ใช้มีพิษสูง จึงดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงบางชนิด เพื่อคัดเลือกสารที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดและเป็นอันตรายน้อยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม สำหรับผสมเหยื่อโปรตีนทดแทนสารที่มีความเป็นพิษสูงดังกล่าวข้างต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สวนฝรั่งที่กำลังให้ผลผลิต
2. กากเบียร์จากโรงงานผลิตเบียร์ของบริษัทบุญรอดบริวเวอรี่ และเหยื่อโปรตีนออโตฟาย (Autofly)
3. สารฆ่าแมลง malathion (Malafez 83%EC), malathion (Malathion 57%EC), profenofos (Supercron 50%EC), triazophos (Hostathion 40%EC), delamethrin (Decis 3%EC), lambda cyhalothrin (Karate Zeon 2.5%CS), dinotefuran (Starkle 10%WP), imidacloprid (Provado 70%WG) และ thiamethoxam (Actara 25%WG)
4. Sodium chloride
5. กรงเลี้ยงแมลงขนาด 35x35x50 เซนติเมตร
6. กล่องเลี้ยงแมลงขนาด 24x30x10 เซนติเมตร และขนาด 12x13x10 เซนติเมตร
7. จานเลี้ยงเชื้อ
8. กระบอกพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร สูง 8 เซนติดเมตร
9. ขี้เลื่อย ทรายละเอียด ตะแกรงร่อนเบอร์ 20
10. Brewer's yeast และน้ำตาลไอซ์ซิ่ง
11. กระดาษกรองเบอร์ 91
12. กล้องจุลทรรศน์ เครื่องชั่งน้ำหนัก และตู้เย็น
13. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น เช่น ปิเปต ปากคีบ พู่กัน ที่นับแมลง ถุงพลาสติก เป็นต้น

วิธีการ

1. เตรียมแมลงวันผลไม้และเหยื่อโปรตีนที่ใช้ในการทดสอบ

1.1 เตรียมแมลงวันผลไม้

โดยเก็บรวมรวมผลฝรั่งที่ถูกแมลงวันผลไม้เข้าทำลาย ใส่ในกล่องเลี้ยงแมลงด้านล่างรองด้วยทรายผสมขี้เลื่อยละเอียด สูงประมาณ 1 นิ้ว เพื่อให้หนอนออกมาเข้าดักแด้ ทิ้งไว้ประมาณ 10 วัน จึงนำมาร่อนโดยตะแกรงเพื่อหาดักแด้ และนำผลฝรั่งมาผ่าเพื่อหาดักแด้ที่ยังอยู่

ภายใน นำดักแด้ที่ได้ใส่กล่องพลาสติก กลบด้วยทรายผสมขี้เลื่อยละเอียด สูงประมาณ ½ นิ้ว เพื่อรักษาความชื้นไม่ให้ดักแด้แห้งตาย แล้วนำกล่องดักแด้ใส่ในกรงเลี้ยงแมลง รอให้ฟักออกจากดักแด้ เมื่อได้ตัวเต็มวัยแล้วเลี้ยงตัวเต็มวัยด้วย Brewer's yeast และน้ำตาลไอซ์ซิ่ง จนแมลงมีอายุประมาณ 7-10 วัน เพื่อให้ตัวเต็มวัยมีสีครบถ้วน จึงจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* แล้วนำไปเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อด้วยอาหารเทียมในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้ปริมาณมากสำหรับนำไปใช้ในการทดสอบ

1.2 เตรียมเหยื่อโปรตีนดีโอเอเบท (DOA Bait)

- ผลิตเหยื่อโปรตีนดีโอเอเบท ตามกรรมวิธีของ มนตรี และสาทร (2537) โดยใช้กากยีสต์ที่เหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตเบียร์ของบริษัทบุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด มาระงับปฏิกิริยาหมักของยีสต์ด้วย Sodium chloride ในอัตรา 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กวนให้เข้ากัน เปิดฝาภาชนะกวนทุก 3 วัน เป็นเวลาประมาณ 1 เดือน เริ่มรินน้ำใสที่แยกชั้นตั้งแต่ประมาณ 15 วัน จนเหลือแต่ตะกอนข้น แล้วทิ้งไว้อีกประมาณ 15 วัน นำมาทดสอบประสิทธิภาพการดึงดูดแมลงวันผลไม้ก่อนนำมาใช้ในการทดลอง

- การทดสอบประสิทธิภาพการดึงดูดแมลงวันผลไม้ ใช้แมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* อายุประมาณ 7-15 วันหลังฟักออกจากดักแด้ กรงละ 50 คู่ จำนวน 20 กรง เทเหยื่อโปรตีนดีโอเอเบท และเหยื่อโปรตีนออโตฟาย (เหยื่อโปรตีนเปรียบเทียบ) ในจานเลี้ยงเชื้อชนิดและใบ จานละ 30 มิลลิลิตร จุ่มชิ้นกระดาษกรองเบอร์ 91 ขนาด 2 ตารางนิ้ว ให้เปียกทั่ว แล้วใช้ปากคีบคีบชิ้นกระดาษกรองนั้นไปวางไว้ในกระบอกพลาสติกที่ปิดด้วยกรวยกระดาษกรองหยาบที่ตัดก้นกรวยออกเป็นรูกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร กระบอกละหนึ่งชิ้น แล้วนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลง กรงละ 2 ชนิดเหยื่อ ทิ้งไว้นาน 1 ชั่วโมง จึงนำออกจากกรงมาแช่ในช่องแข็งของตู้เย็น เพื่อทำให้แมลงสลบแล้วนำออกมาตรวจนับบันทึกจำนวนและเพศ นำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบด้วยวิธี T-Test

2. ศึกษาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงที่เหมาะสมในการผสมกับเหยื่อโปรตีนเพื่อใช้เป็นเหยื่อพิษ ในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ โดยทดสอบในห้องปฏิบัติการกับแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* อายุประมาณ 7-15 วันหลังฟักออกจากดักแด้ จำนวน 50 คู่/กรง วางแผนการทดลองแบบ RCB (Randomized Complete Block Design) จำนวน 4 ซ้ำ (ซ้ำละกรง) ดำเนินการ 2 การทดลองประกอบด้วย 10 กรรมวิธี ดังนี้

1. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร+ malathion 57%EC 10 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร
2. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร+ profenofos 50%EC 7.5 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร
3. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร+ triazophos 40%EC 10 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร
4. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร+ deltametrhin 3% EC 5 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร

5. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร+ lambda cyhalothrin 2.5%CS 5 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร
6. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร+ dinotefuran 10%WP 1 กรัม ในน้ำ 5 ลิตร
7. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร+ imidacloprid 70%WG 0.125 กรัม ในน้ำ 5 ลิตร
8. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร+ thiamethoxam 25%WG 1.25 กรัม ในน้ำ 5 ลิตร
9. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร+ malathion 83%EC 70 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร (สารเปรียบเทียบที่แนะนำไว้)
10. yeast protein อัตรา 200 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร (ไม่ผสมสารฆ่าแมลง)

จุ่มชิ้นกระดาษกรองเบอร์ 91 ขนาด 2 ตารางนิ้ว ในจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุด้วยสารทดสอบตามกรรมวิธีต่าง ๆ ข้างต้น แล้วนำไปวางไว้ในกระบอกพลาสติกปิดด้วยกรวยกระดาษกรองหยาบที่ตัดก้นกรวยออกเป็นรูกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร แล้วนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลง กรงละ 1 กระบอก แมลงวันผลไม้จะเข้าไปกินเหยื่อที่ผสมสารฆ่าแมลง แล้วตายอยู่ในภายในกระบอก บันทึกข้อมูลจำนวนตัวตายของแมลงวันผลไม้ในกระบอก ที่ 24 ชั่วโมง แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

- เริ่มต้น ตุลาคม 2548 สิ้นสุด กันยายน 2553
- แปลงฝรั่งของเกษตรกร ในภาคกลางและภาคตะวันตก และห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพการดึงดูดของเหยื่อโปรตีนดีโอเอเบทที่ผลิตได้ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง พบว่า เหยื่อโปรตีนดีโอเอเบทสามารถดึงดูดแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* ได้ไม่แตกต่างทางสถิติกับเหยื่อโปรตีนออโตฟาย (เหยื่อโปรตีนเปรียบเทียบ) โดยพบจำนวนตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เฉลี่ย 16.40 และ 20.90 ตัว ตามลำดับ แล้วนำเหยื่อโปรตีนดีโอเอเบทนั้นมาศึกษาหาสารฆ่าแมลงที่เหมาะสมในการใช้ผสมเหยื่อโปรตีน ในแต่ละกรรมวิธีผสมเหยื่อโปรตีนดีโอเอเบท อัตรา 200 มิลลิลิตร ด้วยสารฆ่าแมลงชนิดและอัตราต่างๆ ในน้ำ 5 ลิตร จากการศึกษา การทดลองที่ 1 (ตารางที่ 1) พบว่า กรรมวิธีที่ผสมเหยื่อโปรตีนด้วยสารฆ่าแมลง triazophos 40%EC, profenofos 50%EC, malathion 57%EC, lambda-cyhalothrin 2.5%CS, dinotefuran 10%WP และ thiamethoxam 25%WG อัตรา 10, 7.5, 10, 5 มิลลิลิตร, 1 และ 1.25 กรัม ตามลำดับ มีประสิทธิภาพดีในการกำจัดแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis* ที่ 24 ชั่วโมง พบจำนวนตัวเต็มวัยตายเฉลี่ยเท่ากับ 49.75, 49.00, 41.25, 40.50, 36.50 และ 29.75 ตัว ตามลำดับ ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีผสมด้วยสารเปรียบเทียบ malathion 83%EC อัตรา 70 มิลลิลิตร ที่พบจำนวนตัวเต็มวัย

ตายเฉลี่ย 43.00 ตัว และทุกกรรมวิธีที่ผสมสารฆ่าแมลงยกเว้นกรรมวิธีที่ผสมด้วยสาร imidacloprid 70%WG มีจำนวนตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ตายมากกว่าและแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีไม่ผสมสารฆ่าแมลง ซึ่งมีจำนวนตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ตาย 0.25 ตัว ส่วนในการทดลองที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ผสมเหยื่อโปรตีนด้วยสาร malathion 57%EC, profenofos 50%EC, triazophos 40%EC, deltametrhin 3% EC, และ lambda cyhalothrin 2.5%CS อัตรา 10, 7.5, 10, 5 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ มีประสิทธิภาพดีในการกำจัดแมลงวันผลไม้ ที่ 24 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ยจำนวนตัวเต็มวัยตายเท่ากับ 61.75, 60.50, 52.25, 41.75 และ 35.75 ตัว ตามลำดับ เทียบเท่ากับกรรมวิธีผสมด้วยสารเปรียบเทียบ มีค่าเฉลี่ยตัวเต็มวัยตาย เท่ากับ 58.00 ตัว และทุกกรรมวิธีที่ผสมสารฆ่าแมลงมีจำนวนตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ตายมากกว่าและแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีไม่ผสมสารฆ่าแมลง ซึ่งไม่มีตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ตาย ซึ่งทั้งสองการทดลองเหยื่อโปรตีนสามารถดึงดูดแมลงวันผลไม้ให้เข้ามากินในกระบอกพลาสติก ในกรรมวิธีที่ใช้เหยื่อไม่ผสมสารฆ่าแมลง มีค่าเฉลี่ยจำนวนแมลงวันผลไม้ ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 19.13 ตัว จากการทดลองทั้งสองครั้งจะเห็นได้ว่าสารฆ่าแมลงในกลุ่มออกาโนฟอสเฟต ได้แก่ สาร malathion, profenofos และ triazophos มีประสิทธิภาพดีในการกำจัดแมลงวันผลไม้ ขณะที่สารฆ่าแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ ได้แก่ สาร deltamethrin และ lamda cyhalothrin และกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoid) ได้แก่ สาร dinotefuran และ thiamethoxan ที่นำมาใช้ในการผสมกับเหยื่อโปรตีน มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้รองลงมา โดยสารเหล่านี้มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม แต่การออกฤทธิ์จะช้ากว่า ส่วนสาร malathion 57% EC อัตรา 10 มิลลิลิตร สามารถใช้ทดแทนสารเปรียบเทียบ malathion 83% EC ซึ่งในปัจจุบันในท้องตลาดหาซื้อได้ยาก

สรุปผลการทดลองและแนะนำ

พบว่า สารฆ่าแมลงที่เหมาะสมในการนำมาผสมเหยื่อโปรตีนเพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ ชนิด *B. dorsalis* ได้ดี เทียบเท่ากับกรรมวิธีที่ผสมด้วย malathion 83%EC อัตรา 70 มิลลิลิตร (สารเปรียบเทียบ) ได้แก่ สาร triazophos 40%EC, profenofos 50%EC และ malathion 57%EC อัตรา 10, 7.5 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยใช้ผสมกับเหยื่อโปรตีน อัตรา 200 มิลลิลิตรในน้ำ 5 ลิตร ตามลำดับ สามารถใช้ทดแทนสารเปรียบเทียบ malathion 83% EC ได้ ซึ่งปัจจุบันในท้องตลาดหาซื้อได้ยาก

เอกสารอ้างอิง

มนตรี จิรสุรัตน์ 2533. การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยใช้เหยื่อพิษ. เอกสารประกอบการบรรยายการฝึกอบรมการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 3-4 พฤษภาคม 2533 ณ ห้องประชุมหน่วยป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ 3 อ.เมือง จ.ชลบุรี. 12 หน้า.

มนตรี จิรสุรัตน์ และสาทร สิริสิงห์. 2537. การใช้ยีสต์โปรตีนในการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้. หน้า 270-295. *ใน* : การประชุมสัมมนาทางวิชาการ แมลงและสัตว์ศัตรูพืช 2537 ครั้งที่ 9. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร 21-24 มิถุนายน 2537 ณ โรงแรม จอมเทียนพาเลซ จ. ชลบุรี.

Hagen, K. S. and G. L. Finney. 1950. A food supplement for effectively increasing the fecundity of certain tephritid species. J. Econ. Entomol. 43(5): 735-739.

Steiner, L. F. 1952. Fruit fly control with poisoned-bait sprays containing protein hydrolysates. J. Econ. Entomol. 45(5) : 838-43

_____. 1955. Bait Spray For Fruit Fly Control. Agri. Chem. 10(11): 32-34.

ตารางที่ 1 จำนวนตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera dorsalis* (Hendel) ตายเฉลี่ยที่ 24 ชั่วโมง ในการทดสอบผสมเหยื่อโปรตีนดีโอเอเบท (DOA bait) อัตรา 200 มิลลิลิตร ในน้ำ 5 ลิตร กับสารฆ่าแมลงชนิดและอัตราต่าง ๆ

กรรมวิธี	อัตรา	ค่าเฉลี่ยตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ตาย (ตัว)[1]	
		การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2
malathion 57 %EC	10 มิลลิลิตร	41.25 a	61.75 a
profenofos 50%EC	7.5 มิลลิลิตร	49.00 a	60.50 a
triazophos 40%EC	10 มิลลิลิตร	49.75 a	52.25 abc
deltamethrin 3%EC	5 มิลลิลิตร	12.25 bc	41.75 a-d
lambda-cyhalothrin 2.5%CS	5 มิลลิลิตร	40.50 a	35.75 bcd
dinotefuran 10%WP	1 กรัม	36.50 a	23.50 d
imidacloprid 70%WG	0.125 กรัม	8.00 c	6.00 e
thiamethoxam 25%WG	1.25 กรัม	29.75 ab	33.25 cd
malathion 83%EC (สารเปรียบเทียบที่แนะนำไว้)	70 มิลลิลิตร	43.00 a	58.00 ab
ไม่ผสมสารฆ่าแมลง	-	0.25 c	0.00 f
CV (%)		31.03	16.61

[1] ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

การจัดการโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

อรพรรณ วิเศษสังข์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรคเหี่ยวของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในแหล่งปลูกพริกทั่วประเทศ วิธีการทางเขตกรรมต่างๆเพื่อลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียในดินก่อนการปลูกพืช จะช่วยลดความเสียหายของโรคนี้ได้ การปรับปรุงดินด้วยปูนขาว + ยูเรียเป็นวิธีการหนึ่งที่เคยมีรายงานว่าสามารถลดการระบาดของโรคนี้ในขิงได้ จึงนำมาทดสอบกับโรคเหี่ยวของพริกที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง พบว่าการใช้ปูนขาว + ยูเรียปรับปรุงดินนั้น อัตราการใช้ยิ่งสูงขึ้นประสิทธิภาพในการลดความเสียหายจากโรคเหี่ยวเพิ่มขึ้นด้วย โดยเมื่อใช้ปูนขาว 50 กก. + ยูเรีย 500 กก.ต่อไร่ ปูนขาว 60 กก. + ยูเรีย 600 กก.ต่อไร่ ปูนขาว 70 กก. + ยูเรีย 700 กก.ต่อไร่และปูนขาว80 กก.+ยูเรีย 800 กก.ต่อไร่ หลังจากย้ายปลูก 90 วันมีต้นพริกเหลืออยู่ร้อยละ 61.67 73.13 88.33 และ 95 ตามลำดับ ในขณะที่แปลงที่ไม่ได้ปรับปรุงดินเกิดโรคร้อยละ 100 ส่วนแปลงที่ไม่ได้ใส่เชื้อไม่มีต้นเป็นโรคเลย

รหัสโครงการ 07-01-49-02

คำนำ

พริกมีการปลูกอย่างกว้างขวางทั่วทั้งประเทศ และมีปัญหาจากศัตรูพืชหลากหลายชนิด ทั้งปัญหาจากโรคและ แมลงศัตรูพิช สำหรับทางด้านโรคพืชแล้วปัญหาจากโรคพืชมีจากทุกสาเหตุไม่ว่าจะเป็น เชื้อรา บักเตรี ไส้เดือนฝอย และ ไวรัส และรวมไปถึงปัญหาจากความไม่สมดุลของธาตุอาหารหลายชนิด หนึ่งในหลายๆโรคที่พบอยู่เสมอและเป็นปัญหาที่ส่งผลให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก คือโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* และการแก้ปัญหาหลังจากพบโรคในแปลงปลูกแล้วค่อนข้างเป็นไปได้ยาก วิธีการที่ดีที่สุดคือการป้องกัน โดยการลดปริมาณเชื้อในแปลงปลูกโดยวิธีการทางเขตกรรมต่างๆ

การปรับปรุงดิน (soil amendment) เป็นวิธีการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อลดความเสียหายเนื่องจากโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* เช่นการใช้ปูนขาวอัตรา 2,000 ปอนด์ต่อเอเคอร์ (Lacoscio *et. al* , 1988) หรือใช้ปูนเผา (CaO) อัตรา 5,000 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ กับยูเรียอัตรา 428 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ผสมให้เข้ากันในดินที่ความลึก 30 เซนติเมตร ก่อนปลูกมะเขือเทศ (Elphinstone and Aley, 1993 ; Michel et.al,1997) ในประเทศไทย Thaveechai *et. al* (1997) ได้ทดสอบโดยใช้ปูนเผากับยูเรียในอัตราเดียวกันนี้ในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ในสภาพที่มีการปรับปรุงดินมีต้นมะเขือเทศรอดตายร้อยละ 63 ส่วนดินที่ไม่ได้ปรับปรุงมีต้นรอดตายเพียงร้อยละ 6.7

จากการทดสอบเพื่อลดความเสียหายจากโรคเหี่ยวของขิง ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปางในปี พ.ศ. 2547 พบว่า วิธีการรมดินด้วยยูเรีย + ปูนขาว อัตรา 80 + 800 กก.ต่อไร่ สามารถลดปริมาณเชื้อลงได้ร้อยละ 23.02 การการรมดินด้วยยูเรีย + ปูนขาว อัตรา 50 + 500 กก.ต่อไร่ สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 64.57 การรมดินในแปลงที่เพิ่มปริมาณเชื้อด้วยสาร Dazomet สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียลงได้ร้อยละ 67.85 การใช้ยูเรีย 50 กก. + ปูนขาว 500 กก.ต่อไร่ หรือ ยูเรีย 80 กก. + ปูนขาว 800 กก.ต่อไร่ รมดินก่อนปลูกสามารถลดความเสียหายเนื่องจากแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของขิงได้ การใช้สารปฏิชีวนะ bactral ราดดิน ให้ผลในการลดความเสียหายได้ดีเช่นกันแต่ไม่แตกต่างจากการใช้ยูเรีย 80 กก. + ปูนขาว 800 กก.ต่อไร่ ส่วนการใช้ยูเรีย + ปูนขาว ทุกอัตราร่วมกับการราดดินด้วยสารปฏิชีวนะให้ผลในการลดความเสียหายเนื่องเชื้อแบคทีเรียโรคเหี่ยวของขิงได้ดีที่สุด (อรพรรณ 2547)

การทดสอบในปี พ.ศ. 2548 พบว่า หลังจากปลูก 50 วันในแปลงเปรียบเทียบไม่เพิ่มเชื้อ มีต้นขิงงอกร้อยละ100 แปลงเปรียบเทียบที่เพิ่มเชื้อแบคทีเรียในดินมีจำนวนต้นขิงงอกร้อยละ 77.09 แตกต่างจากกรรมวิธีอื่นๆทุกกรรมวิธีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีรมดินด้วยยูเรีย 50 กก. + ปูนขาวอัตรา 500 กก ต่อไร่ มีต้นขิงรอดตายร้อยละ 85.40 แตกต่างจากกกรมวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน การรมดินด้วยยูเรีย 80 กก + ปูนขาว 800 กก.ต่อไร่ มีจำนวนต้นขิงที่

งอกร้อยละ 91.66 ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารปฏิชีวนะราดดินก่อนปลูก และทุก 15 วันหลังปลูกจำนวน 3 ครั้ง ที่มีจำนวนต้นขิงงอกร้อยละ 93.74 และการใช้สารปฏิชีวนะราดดินมีจำนวนต้นขิงงอกไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้ยูเรีย + ปูนขาวทุกอัตราร่วมกับการราดดินด้วยสารปฏิชีวนะ โดยการใช้ยูเรีย 50 กก. + ปูนขาวอัตรา 500 กก ต่อไร่ + bactral มีจำนวนต้นขิงงอกร้อยละ 95.74 และ ยูเรีย 80 กก + ปูนขาว 800 กก.ต่อไร่ + bactral มีจำนวนต้นขิงงอกร้อยละ 97.74 (อรพรรณ 2548) การใช้ ยูเรีย + ปูนขาวเป็นการลงทุนที่ไม่สูงนัก ดังนั้นจึงได้นำวิธีการปรับปรุงดินด้วย ยูเรีย + ปูนขาวมาใช้เพื่อลดความเสียหายจากโรคเหี่ยวของพริกซึ่งเป็นโรคที่เป็นปัญหาสำคัญในการปลูกพริก โดยได้ดำเนินงานทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง

วิธีดำเนินการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 6กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ปูนขาว 50 กก. + ยูเรีย 500 กก.ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 2 ปูนขาว 60 กก. + ยูเรีย 600 กก.ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 3 ปูนขาว 70 กก. + ยูเรีย 700 กก.ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4 ปูนขาว 80 กก. + ยูเรีย 800 กก.ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 5 ใส่เชื้อแบคทีเรีย

กรรมวิธีที่ 6 ไม่ใส่เชื้อแบคทีเรีย

-เตรียมแปลงปลูกขนาด 1x 5 เมตร จำนวน แปลง

-เพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียในแปลงทดลอง หว่านมะเขือเทศสีดา เมื่อมะเขือเทศอายุ 25 วัน ราดเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ในแต่ละแปลงปลูก (ยกเว้นแปลงเปรียบเทียบในกรรมวิธีที่ 6) ปล่อยให้เชื้อแบคทีเรียเข้าทำลายต้นมะเขือเทศ หลังจากนั้นอีก 4 สัปดาห์ สับต้นมะเขือเทศกลบลงไปในแปลงปลูก แล้วหว่านมะเขือเทศอีกครั้งหนึ่งเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อให้มากขึ้น

- เมื่อสับมะเขือเทศครั้งที่ 2 ลงกลบในแปลงปลูกเรียบร้อยแล้ว ใช้ปูนขาวและยูเรียหว่านให้ทั่วแปลงปลูกและกลบหน้าดินทั่ว รดน้ำบางๆเพื่อปิดรูดิน ตามอัตราต่างๆที่วางแผนไว้ในแต่ละกรรมวิธี (ยกเว้นกรรมวิธีที่ 5 และ 6) ทิ้งดินไว้ 2 สัปดาห์

- เปิดหน้าดินและขุดหลุมทิ้งไว้ 2 วัน ก่อนย้ายปลูกพริกแปลงละ 10 ต้น

-การเก็บตัวอย่างดินตรวจในห้องปฏิบัติการ

1. ก่อนปรับปรุงดินด้วยยูเรียและปูนขาว

2. ก่อนย้ายปลูก เก็บตัวอย่างปบริเวณหลุมปลูกกรรมวิธีละ 12 ตัวอย่าง

3. หลังจากย้ายปลูกทุก 30 วัน เก็บจากโคนต้นเดิมที่เก็บตัวอย่างก่อนปลูก

4.ตรวจนับจำนวนต้นพริกที่แสดงอาการเหี่ยวและนำมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการทุกต้น ว่าเป็นอาการเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นระยะๆพบว่า

1.1. ก่อนปรับปรุงดินด้วยปูนขาว + ยูเรีย ในแปลงที่ไม่ได้ใส่เชื้อสาเหตุไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ส่วนในแปลงของกรรมวิธีอื่นๆมีปริมาณเชื้อบักเตรีเฉลี่ยมากกว่า 10^6 cfu.

1.2. ก่อนย้ายปลูก ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ทุกกรรมวิธีลดลง เนื่องจากย้ายปลูกพริกในเดือนกุมภาพันธ์ สภาพอากาศร้อนมากก่อนปลูกแปลงปลูกระหว่างที่ปรับปรุงดินทิ้งไว้แปลงปลูกได้รับแดดโดยตรงทำให้ปริมาณเชื้อลดลงอย่างมากในแต่ละกรรมวิธีที่ปรับปรุงดินมีปริมาณเชื้อระหว่าง 0 – 2.0 x 10^2 cfu. ส่วนในแปลงที่ไม่ได้ปรับปรุงดินมีปริมาณเชื้อระหว่าง 1.5 x 10^2 - 8.5 x 10^2 cfu. แปลงที่ไม่ได้เพิ่มเชื้อไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*

1.3. หลังจากย้ายปลูก 1 เดือน ดูแลพืชมีการรดน้ำทุกวันปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ในแปลงที่ไม่ได้ปรับปรุงดินเพิ่มมากขึ้นโดยมีปริมาณเชื้อระหว่าง 1.1 x 10^2 - 9.0 x10^3 ปริมาณเพิ่มขึ้นไม่มากนักเนื่องจากเป็นช่วงฤดูร้อน(เริ่มปลูกเดือนกุมภาพันธ์) เมื่อต้นพริกเริ่มเหี่ยวตายไป

1.4. เมื่อต้นพริกเริ่มเหี่ยวตายไป ตัวอย่างดินที่บริเวณที่ถอนต้นที่แสดงอาการเหี่ยวออกแล้ว พบว่าทุกหลุมที่ถอนต้นออกไปแล้วไม่พบเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวเลย

2. การประเมินการเกิดโรคเหี่ยวของพริก

พริกเริ่มเหี่ยวหลังจากปลูก 28 วันและทยอยเหี่ยวอย่างต่อเนื่อง ดินที่ไม่ได้ใส่เชื้อบักเตรีสาเหตุโรคเหี่ยวไม่มีต้นตาย แสดงว่าในดินก่อนการทดลองไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุโรคพืช ดินที่ไม่ได้ปรับปรุงดินด้วย ปูนขาว + ยูเรีย มีต้นตายร้อยละ 100 แสดงว่าการเพิ่มปริมาณเชื้อสาเหตุในแปลงปลูกนั้นมีปริมาณเชื้อมากเพียงพอที่จะทำให้พืชตายได้ ในกรรมวิธีต่างๆที่ปรับปรุงดินด้วยปูนขาวและยูเรียมีจำนวนต้นพริกที่เหี่ยวแหลือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้ยูเรียที่อัตรา 800 กก. + 80 กก. ต่อไร่ มีจำนวนต้นเหลือร้อยละ 95.00 ไม่แตกต่างจากการไม่ใส่เชื้อและใช้ปูนขาว 700 กก. + ยูเรีย 70 กก.ต่อไร่ ซึ่งผลการทดลองใกล้เคียงการทดลองในขิงที่มีต้นของงอกร้อยละ 91.66 (อรพรรณ 2548) ส่วนการปรับปรุงดินด้วยปูนขาว50 + ยูเรีย500 กก. ต่อไร่ หรือ ปูนขาว 60 กก. + ยูเรีย 600 กก.ต่อไร่ สามารถลดความเสียของโรคได้เช่นกัน ถึงแม้จะดี

ไม่เทียบเท่ากับการใช้ในอัตราสูงกว่า เพราะมีจำนวนต้นที่เหลือแตกต่างจากการใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในแปลงที่เพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียแต่ไม่ได้ปรับปรุงดินต้นพริกจะทยอยตายหมดในเวลา 70 วันหลังจากย้ายปลูก

จากการทดลองครั้งนี้พบว่ายิ่งใช้ในอัตราสูงขึ้นประสิทธิภาพในการลดความเสียหายของโรคเพิ่มมากขึ้นแต่อย่างไรก็ตาม หลังจากย้ายปลูกแล้วค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อแบคทีเรียในดินไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนต้นที่เป็นโรค เนื่องจากบริเวณต้นที่เป็นโรคเมื่อถอนต้นออกแล้วปล่อยให้ดินถูกแดดโดยตรงทำให้เชื้อถูกทำลายหมด หรือมีปริมาณเชื้อน้อยมาก

ตาราง จำนวนต้นพริกที่เหลือจากการปรับปรุงดินด้วยกรรมวิธีต่างๆ

กรรมวิธี	**จำนวนต้นเหลือ (ร้อยละ)**
1. ปูนขาว 50 กก. + ยูเรีย 500 กก.ต่อไร่	61.67 d
2. ปูนขาว 60 กก. + ยูเรีย 600 กก.ต่อไร่	73.133 c
3. ปูนขาว 70 กก. + ยูเรีย 700 กก.ต่อไร่	88.33 b
4. ปูนขาว 80 กก. + ยูเรีย 800 กก.ต่อไร่	95.0 ab
5. ใส่เชื้อแบคทีเรีย	0 e
6. ไม่ใส่เชื้อแบคทีเรีย	100 a
CV.(%)	18.01

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้ปูนขาว 800 กก. + ยูเรีย 80 กก.ต่อไร่ปรับปรุงดินก่อนปลูกสามารถลดความเสียหายของโรคเหี่ยวของพริกได้ร้อยละ 95 ไม่แตกต่างทางสถิติจากการปรับปรุงดินด้วยปูนขาว70 กก. + ยูเรีย 700 กก.ต่อไร่ที่สามารถลดความเสียหายของโรคได้ร้อยละ 88.33 ดังนั้นในการปลูกพริกในแหล่งที่เคยมีประวัติของโรคเหี่ยวเนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ควรจะปรับปรุงดินก่อนปลูกด้วยปูน + ยูเรียอัตราดังกล่าว จะทำให้เกิดโรคเหี่ยวกับต้นพริกน้อยลงได้ และเมื่อพบต้นเป็นโรคควรถอนออกจากแปลงปลูกและปล่อยให้ดินตากแดดโดยตรงจะทำให้เชื้อสาเหตุที่หลุมปลูกนั้นตายได้

เอกสารอ้างอิง

อรพรรณ วิเศษสังข์ จุมพล สาระนาค และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล.2547. การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของขิง รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2547 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 639 – 645.

อรพรรณ วิเศษสังข์ จุมพล สาระนาค และ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล.2548. การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของขิง รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม 2547 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 1036 -1041.

Elphinstone,J.G and P. Aley. 1993 Integrated control of bacterial wilt of potato in the warm tropic of Peru, pp 276 – 283 .*In* G.L. Hartman and A.C.Hayward (eds.). Bacterial wilt, Proceedings of an Interanational Conference held at Kaohsiung, Taiwan, 28-31 October 1992.ACIAR Proceeding No. 45.

Hoitink. H.A.J. and P.C. Fahy. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. Ann. Rev. Phytopath. 24:93-114.

Locascio,S.J., R.E. Stall and W.M. Stall. 1998. Bacterial wilt expression in tomsto as influenced by cultivar and line, pp. 356-358. *In* Proceeding of Florida State Hort. Society.

Michel,V.V., J.F. Wang, D.J. Midnore and G.L. Hartman. 1997 Effect of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil borne Pseudomonas solanacearum in Taiwan. Plant Pathology 46:600-610

Taveechai, N., W. Kositratana, V. Phuntumart, C. Leksomboon and P. Khongplean. 1997. Management of bacterial wilt of tomato, pp. 397-407. in E.M. Libas (eds.). Collaboratative vegetable research in southeast Asia. Proceedings of the AVNET II Final workshop, Bangkok,Thailand.

วิจัยพัฒนาการผลิตขยายแตนเบียนเป็นปริมาณมาก เพื่อควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว, *Brontispa longissima*, โดยชีววิธี

Research and Development on mass production of parasitoids for biological control of the coconut hispine, *Brontispa longissima*

อัมพร วิโนทัย รจนา ไวยเจริญ รุจ มรกต ประภัสสร เชยคำแหง
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในปีงบประมาณ 2551 โครงการกำหนดแผนงานวิจัยพัฒนาการผลิตขยายแตนเบียน *A. hispinarum* เป็นปริมาณมาก โดยการวิจัยพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าวให้มีปริมาณมากสำหรับนำไปใช้เลี้ยงแตน จากการทดลองเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 31, 34 และ 37 องศาเซลเซียส พบว่าตัวหนอนทั้งหมดจะตายภายใน 5-11 วัน การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 และ 28 องศาเซลเซียส ให้ผลไม่แตกต่างกัน และมีอัตรารอดชีวิตร้อยละ 76.25-100 จากการศึกษาชนิดพืชอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว พบว่า ใบแก่มะพร้าวเป็นพืชอาหารที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวเพื่อใช้เพาะเลี้ยงแตนเบียน เนื่องจากหนอนแมลงแมลงดำหนามมะพร้าวเจริญเติบโตได้เร็วใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยธูปฤาษี และมีเจริญเติบโตเร็วกว่าเลี้ยงด้วยใบอ่อนมะพร้าว หนอนแมลงดำหนามที่เลี้ยงด้วยใบอ่อนมะพร้าว โดยใช้เวลา 21-23 วัน อัตรารอดตาย 56-67% ส่วนหนอนที่เลี้ยงด้วยใบแก่มะพร้าว ใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 15-17 วัน อัตราความหนาแน่นของหนอนในการเลี้ยงประมาณ 300 ตัวต่อกล่อง จะได้หนอนแมลงดำหนามมะพร้าวมีนำไปใช้เลี้ยงแตนเบียน *A. hispinarum* ได้ 85-96% และมีอัตราการเบียนสูง 82-100% จากการตรวจนับจำนวนแตนเบียนที่ออกมาจากแต่ละมัมมี่ พบว่า มีแตนเบียนออกจากแต่ละมัมมี่จำนวน 44-154 ตัว เฉลี่ย 103.4 ± 22.81 ตัว เป็นแตนเบียนเพศผู้ 14-61 ตัว เฉลี่ย 33.25 ± 12.59 ตัว แตนเบียนเพศเมีย 5-105 ตัว เฉลี่ย 70.15 ± 27.11 ตัว

รหัสการทดลอง 07-01-49-06-03-01-01-51

คำนำ

แมลงดำหนามมะพร้าว *Brontispa longissima* Gestro (Coleoptera: Chrysomelidae) มีชื่อสามัญว่า Coconut Hispid Beetle เป็นแมลงศัตรูพืชต่างถิ่นที่ระบาดเข้ามาทำความเสียหายกับมะพร้าว และพืชตระกูลปาล์มหลายชนิดในประเทศไทย เชื่อกันว่าแมลงชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินโดนีเซีย และปาปัวนิวกีนี ที่ระบาดเป็นแมลงศัตรูพืชในหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย ซามัว โซโลมอน ตาฮิติ มัลดิฟส์ นารัว เวียดนาม เกาะไหหลำ กวางโจว ในประเทศจีน และประเทศไทย แมลงดำหนามมะพร้าว *B. longissima* แพร่กระจายรวดเร็ว ทำความเสียหายรุนแรงต่อเกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวของประเทศต่างๆ ปัจจุบันพบการระบาดเพิ่มในพม่า กัมพูชา ลาว และ ฟิลิปปินส์ มีแนวโน้มจะแพร่ระบาด ไปยังประเทศบังคลาเทศ อินเดีย และศรีลังกา ต่อไป (Liebregts and Chapman, 2004) ในประเทศไทยมีรายงานการพบแมลงดำหนามมะพร้าว *B. longissima* เป็นครั้งแรกที่จังหวัดนราธิวาส เมื่อปี 2545 ต่อมาในเดือนกุมภาพันธ์ 2547 ตั้งแต่ปี 2547-2549 พบว่า *B. longissima* ระบาดทำลายมะพร้าวใน 21 จังหวัด ที่สำคัญได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี ชุมพร นครศรีธรรมราช สงขลา กระบี่ ภูเก็ต เพชรบุรี นครปฐม กรุงเทพมหานคร ปทุมธานี นนทบุรี ชลบุรี และฉะเชิงเทรา เป็นต้น รวมพื้นที่ทั้งประเทศ ประมาณ 300,000 ไร่ จากพื้นที่ปลูกมะพร้าว ทั้งประเทศ 2.4 ล้านไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2545) สำหรับความเสียหายของต้นมะพร้าวที่พบในเกาะสมุยและเกาะพะงัน นั้นส่งผลกระทบทั้งในด้านท่องเที่ยวและผลผลิตมะพร้าวที่ลดลงอย่างชัดเจน

การป้องกันและกำจัดแมลงดำหนามมะพร้าวที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ ได้แก่ การควบคุมโดยชีววิธี สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรได้ดำเนินการนำเข้าแตนเบียนตัวหนอนแมลงดำหนาม *Asecodes hispinarum* (Hymenoptera: Eulophidae) จากประเทศเวียดนาม เข้ามาศึกษาทดสอบความปลอดภัยเพื่อนำมาใช้ควบคุมแมลงดำหนามในประเทศไทย เมื่อเดือนสิงหาคม 2547 ปัจจุบันได้มีการผลิตและนำแตนเบียนชนิดนี้ออกปล่อยในภาคสนามแล้ว และเริ่มเห็นผลการใช้แตนเบียนหนอนควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว เนื่องจากการดำเนินการในช่วงที่ผ่านมา กรมวิชาการเกษตรมุ่งเน้นในเรื่องการผลิตแตนเบียน *A. hispinarum* เพื่อปล่อยให้ครอบคลุมพื้นที่ที่พบแมลงดำหนามระบาดโดยเร็ว จึงขาดข้อมูลพื้นฐานทางวิชาการที่สำคัญ จำเป็นต้องศึกษาหาข้อมูลเพิ่มเติมสำหรับนำมาใช้พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงแตนเบียน *A. hispinarum* ให้ได้ปริมาณมากและมีคุณภาพดี เพื่อการผลิตขยายแตนเบียนเป็นปริมาณมากและมีต้นทุนการผลิตลดลง

ศัตรูธรรมชาติของแมลงดำหนามมะพร้าวที่มีการสำรวจพบ ได้แก่ แตนเบียนไข่ 3 ชนิด คือ *Haeckelia brontispa* Ferriere หรือ *Hispidopphila brontispae* และ *Trichogrammatoidea nana* Zelrntner (Hymenoptera: Trichogramatidae) และ *Ooencyrtus* sp. (Hymenoptera:

Encyrtidae) แตนเบียนดักแด้ *Tetrastichus brontispa* Ferriere (Hymenoptera: Eulophidae) พบในหลายพื้นที่ เช่น มาเลเซีย ในจังหวัดสุลาเวสีประเทศอินโดนีเซีย ซามัว ไต้หวัน ปาปัวนิวกีนี ซามัวตะวันตก เป็นต้น (CABI, 2003) การสำรวจศัตรูธรรมชาติของแมลงดำหนามมะพร้าวในประเทศไทย พบว่ามีศัตรูธรรมชาติหลายชนิด เช่นแตนเบียนดักแด้ และแตนเบียนไข่แมลงดำหนามมะพร้าว น่าจะนำมาศึกษาถึงศักยภาพในการควบคุมแมลงดำหนาม และศึกษาหาวิธีการเพาะเลี้ยงเพื่อนำมาใช้ในการควบคุมโดยชีววิธีควบคู่กับแตนเบียน *A. hispinarum* คาดว่าแตนเบียนเหล่านี้จะช่วยสนับสนุนให้เกิดผลในการควบคุมแมลงดำหนามได้ดีและเร็วขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบเทคโนโลยีการผลิตขยายแมลงอาศัย คือแมลงดำหนามที่มีคุณภาพเป็นปริมาณมากเพื่อใช้สำหรับผลิตขยายแตนเบียน
2. เพื่อทราบเทคโนโลยีการผลิตขยายแตนเบียนที่ลงทำลายไข่ หนอนและดักแด้ของแมลงดำหนามมะพร้าวเป็นปริมาณมาก
3. เพื่อทราบและกำหนดมาตรฐานคุณภาพแตนเบียนที่สำหรับใช้ควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าวโดยชีววิธี

เป้าหมาย

สำหรับปี 2551 โครงการฯ มีเป้าหมายเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตแตนเบียนที่มีคุณภาพอย่างน้อย 2 ชนิด สำหรับใช้ควบคุมแมลงดำหนามโดยชีววิธี

การดำเนินงาน แบ่งงานวิจัยออกเป็น 3 การทดลองได้

- ศึกษาความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว
- ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนาม
- ศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าว

อุปกรณ์

- แตนเบียนหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว *Asecodes hispunarum*
- แมลงดำหนามมะพร้าว *Brontispa longissima*
- ใบอ่อนมะพร้าว
- ใบแก่มะพร้าว
- ใบธูปฤาษี
- กล่องพลาสติกขนาด 10 x 16 x 6 ซม.

- กล้องจุลทรรศน์
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น (Incubators)
- อุปกรณ์ขนาดเล็ก เช่น ปากคีบ พู่กัน กรรไกร เข็มเขี่ย และ เครื่องวัดอุณหภูมิ- ความชื้น

วิธีการทดลอง

ศึกษาความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว

ก. เลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าวโดยใช้ใบอ่อนมะพร้าวที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงกล่องละ 100, 200, และ 300 ตัวต่อกล่อง

ข. เปลี่ยนอาหารหนอน หรือใบมะพร้าวทุก 3 วัน

ค. ตรวจนับจำนวนดักแด้ และตัวเต็มวัยของแมลงดำหนามมะพร้าวที่เลี้ยงในแต่ละกล่อง บันทึกข้อมูล ดังนี้:

- ระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงดำหนามที่ระดับความหนาแน่นต่าง ๆ
- จำนวนหนอนแมลงดำหนามเมื่อเลี้ยงในระดับความหนาแน่นต่าง ๆ

ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว

1. เลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าวโดยใช้ใบอ่อนมะพร้าวที่อุณหภูมิ 25, 28, 31, 34, 37 องศาเซลเซียส
2. เก็บรวบรวมตัวหนอนวัย 4 และ 5 เพื่อนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงแตนเบียน
3. นำตัวหนอนแมลงดำหนามที่เพาะเลี้ยงได้ใช้ผลิตแตนเบียนเพื่อให้ได้แตนเบียนในรูปของมัมมี่หนอนแมลงดำหนามมะพร้าวที่มีดักแด้แตนเบียนอยู่ภายใน
4. นำมัมมี่ที่ได้ไปตรวจสอบคุณภาพ โดยตรวจนับจำนวนแตนเบียนเพศผู้เพศเมียที่เจาะออกจากแต่ละมัมมี่ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผล และนำไปเป็นแนวทางในการกำหนดมาตรฐานแตนเบียนที่มีคุณภาพ

บันทึกข้อมูล ดังนี้

1. ระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงดำหนามและแตนเบียนชนิดต่าง ๆ
2. จำนวนหนอนแมลงดำหนามเมื่อเลี้ยงในระดับอุณหภูมิต่าง ๆ
3. จำนวนแตนเบียนที่ได้จากแต่ละมัมมี่

ศึกษาชนิดอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าว

ปฏิบัติเหมือนการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม แต่ใช้ใบอ่อนมะพร้าว ใบแก่มะพร้าว และ ใบธูปฤษีสำหรับเป็นอาหารของแมลงดำหนามมะพร้าว

บันทึกข้อมูล ดังนี้:

1. ระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงดำหนามที่เลี้ยงด้วยใบอ่อนมะพร้าว ใบแก่มะพร้าว และใบฐูปฤษี
2. จำนวนหนอนแมลงดำหนามที่เจริญเติบโตในแต่ละระยะเมื่อเลี้ยงด้วยใบอ่อนมะพร้าว ใบแก่มะพร้าว และใบฐูปฤษี
3. จำนวนแตนเบียนที่ได้จากแต่ละมัมมี่ ซึ่งเลี้ยงจากหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวที่เลี้ยงด้วยใบอ่อนมะพร้าว ใบแก่มะพร้าว และฐูปฤษี

สรุปผลการทดลอง

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว:

การเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 31, 34 และ 37 องศาเซลเซียส แมลงดำหนามมะพร้าวไม่สามารถเจริญเติบโต เมื่ออุณหภูมิ 21, 34, และ 37 องศาเซลเซียส โดยตัวหนอนทั้งหมดจะตายภายใน 5-11 วัน การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 และ 28 องศาเซลเซียส ให้ผลไม่แตกต่างกัน หนอนแมลงดำหนามมะพร้าวมีอัตรารอดชีวิตร้อยละ 76.25-100 หนอนแมลงดำหนามมะพร้าวที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส จะได้หนอนวัย 4-5 ที่สามารถนำไปใช้เพาะเลี้ยงแตนเบียน *A. hispinarum* ใช้เวลาเลี้ยง 20-23 วัน เฉลี่ย 21.56 วัน ส่วนหนอนที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเลี้ยง 21-28 วัน เฉลี่ย 23.14 วัน

ความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว

การเลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าวเพื่อเพาะเลี้ยงแตนเบียน *Asecodes hispinarum* พบว่า การเลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าวในกล่องพลาสติกขนาด 10 x 16 x 6 ซม โดยใช้หนอนแมลงดำหนามมะพร้าวอัตราความหนาแน่น 100 ตัวต่อกล่อง ตัวหนอนจะเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ร้อยละ 74-100 เฉลี่ย 93.50 $\pm$ 21.84 เมื่อเลี้ยงที่อัตราความหนาแน่น 200 ตัวต่อกล่อง ตัวหนอนจะเจริญเป็นตัวเต็มวัยร้อยละ 50-100 เฉลี่ย 80.50 $\pm$ 21.84 และเมื่อเลี้ยงที่อัตราความหนาแน่น 300 ตัวต่อกล่อง ตัวหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวจะเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ร้อยละ 55.33-92.33 เฉลี่ย 77.33 $\pm$ 20.83

ชนิดอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าว

จากการศึกษาชนิดพืชอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว โดยการเลี้ยงด้วย ใบอ่อนมะพร้าว ใบแก่มะพร้าว และใบฐูปฤาษี พบว่า ใบแก่มะพร้าวสามารถใช้เป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าวได้ดี แมลงเจริญเติบโตได้เร็วใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยฐูปฤาษี ตัวหนอนแข็งแรง และมีเจริญเติบโตเร็วกว่าเลี้ยงด้วยใบอ่อนมะพร้าว หนอน

แมลงดำหนามที่เลี้ยงด้วยใบอ่อนมะพร้าว โดยใช้เวลา 21-23 วัน อัตรารอดตาย 56-67% ส่วนหนอนที่เลี้ยงด้วยใบแก่มะพร้าว ใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 15-17 วัน อัตราความหนาแน่นของหนอนในการเลี้ยงประมาณ 300 ตัวต่อกล่อง จะได้หนอนแมลงดำหนามมะพร้าวมีนำไปใช้เลี้ยงแตนเบียน *A. hispinarum* ได้ 85-96% และมีอัตราการเบียนสูง 82-100% จากการตรวจนับจำนวนแตนเบียนที่ออกมาจากแต่ละมัมมี่ พบว่า มีแตนเบียนออกจากแต่ละมัมมี่จำนวน 44-154 ตัว เฉลี่ย 103.4 ± 22.81 ตัว เป็นแตนเบียนเพศผู้ 14-61 ตัว เฉลี่ย 33.25 ± 12.59 ตัว แตนเบียนเพศเมีย 5-105 ตัว เฉลี่ย 70.15 ± 27.11 ตัว ผลที่ได้จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการสามารถนำมาปรับใช้ในการเพาะเลี้ยงแตนเบียนหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวโดยการใช้ใบแก่มะพร้าว ขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

การเพาะเลี้ยงแตนเบียนหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว *Asecodes hispinarum*

แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน

1. การเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว
2. การเพาะเลี้ยงแตนเบียน

วัสดุอุปกรณ์

1. ใบแก่มะพร้าว
2. แมลงดำหนามมะพร้าว
3. กล่องเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว และกล่องเบียน เป็นกล่องพลาสติกขนาดกว้าง 10 ซม. ยาว 16 ซม. สูง 6 ซม. กล่องเลี้ยงหนอนฯ ไม่จำเป็นต้องมีฝาปิด หากเลี้ยงในห้องที่มีประตูปิด ป้องกันหนู หรือสัตว์อื่นๆ รบกวนแมลงที่เพาะเลี้ยง

กล่องเบียน ต้องมีฝาปิดสนิท ที่ฝากล่องเจาะเป็นช่องสี่เหลี่ยม กว้าง 6 ซม. ยาว 10 ซม. และบุด้วยผ้าขาวบางเนื้อละเอียด ป้องกันแตนเบียนหนีเล็ดลอดออกจากกล่อง

กล่องเลี้ยงตัวเต็มวัยแมลงดำหนามมะพร้าว ใช้กล่องขนาด 20 x 30 x 10 ซม มีฝาปิดสนิท ที่ฝากล่องเจาะเป็นช่องสี่เหลี่ยม กว้าง 6 ซม. ยาว 10 ซม. และบุด้วยผ้าขาวบาง หรือตะแกรงขนาด 32 เมช ป้องกันแมลงหนีออกจากกล่อง

4. น้ำผึ้งเข้มข้นประมาณ 20%
5. กระดาษชำระเนื้อละเอียด ตัดเป็นแผ่นกว้างประมาณ 4 ซม. ยาว ประมาณ 2 ซม
6. พู่กัน เบอร์ 1 และ 5
7. ยางวง
8. ลวดดัดเป็นที่วางใบมะพร้าว
9. กรรไกรสำหรับตัดใบมะพร้าว
10. ชั้นวางกล่องเลี้ยงแมลง

วิธีการเพาะเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว

1. เก็บรวบรวมแมลงดำหนามมะพร้าวจากแหล่งที่พบการทำลาย นำมาคัดแยก แมลงดำหนามมะพร้าว ระยะไข่ หนอนวัยต่าง ๆ ดักแด้ และตัวเต็มวัย นำไปแยกเลี้ยงในกล่องเลี้ยงแมลง

2. ตัดใบมะพร้าวแก่เป็นชิ้นสั้น ๆ มีความยาวประมาณ 15 ซม. จำนวน 60-65 ชิ้น นำแต่ละชิ้นมาเรียงซ้อนกัน และมัดรวมกันเป็นท่อนด้วยยางวง สำหรับใช้เลี้ยงแมลงดำหนามมะพร้าว

3. การเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว:

3.1 นำขวดลวดที่เตรียมไว้วางใบกล่องเลี้ยงแมลง

3.2 นำใบมะพร้าวที่เตรียมไว้ตามข้อ 2 วางบนขดลวด เพื่อให้มีช่องว่างระหว่างก้นกล่องกับใบมะพร้าวที่วางเรียงไว้บนขดลวด

3.3 เขี่ยตัวหนอนขนาดใกล้เคียงกัน 300 ตัว ใส่บนใบมะพร้าวที่มัดรวมกันไว้ หนอนจะเข้าไปซ่อนตัวอยู่ซอกระหว่างใบมะพร้าวที่ซ้อนทับกัน กัดกินใบ และเจริญเติบโตเข้าดักแด้ภายในซอกใบมะพร้าว

3.4 เปลี่ยนอาหารทุก 4-5 วัน หรือเมื่อสังเกตเห็นใบมะพร้าวแห้ง หรือเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ต้องเปลี่ยนกล่องพลาสติกเลี้ยงหนอนใหม่ทุกครั้งที่เปลี่ยนใบมะพร้าว

3.5 คัดแยกและเก็บรวบรวมดักแด้แมลงดำหนามมะพร้าวไว้ในกล่องเดียวกัน ภายในกล่องใส่ใบมะพร้าว 7-10 ใบ เพื่อเป็นอาหารของตัวเต็มวัยแมลงดำหนามที่ออกจากดักแด้

4. การเลี้ยงตัวเต็มวัยแมลงดำหนามมะพร้าว

4.1 ตัดใบมะพร้าวเป็นชิ้น ๆ มีความยาวประมาณ 20 ซม นำมาวางเรียงให้ชิดกันบนขดลวดที่เตรียมไว้

4.2 คัดแยกตัวเต็มวัยแมลงดำหนามมะพร้าว ประมาณ 1000 ตัว ควรเลือกตัวเต็มวัยแมลงดำหนามมะพร้าวที่ออกจากดักแด้ในระยะเวลาใกล้เคียงกัน หรือมีอายุใกล้เคียงกัน นำมาเลี้ยงในกล่องเลี้ยงแมลงปิดฝาให้สนิท นำไปวางไว้บนชั้นเลี้ยงแมลง

4.3 ตรวจเช็คใบมะพร้าวทุก 2 วัน ตัวเต็มวัยแมลงดำหนามมะพร้าวจะแทะกินใบผิวใบมะพร้าว และวางไข่บนใบมะพร้าวที่ใส่ไว้ในกล่องเลี้ยงหลังออกจากดักแด้ 9-10 วัน

4.4 คัดแยกไข่แมลงดำหนามมะพร้าวทุก 2 วัน และนำมาเก็บรวมไว้ เพื่อเพาะเลี้ยงเป็นหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวสำหรับใช้เพาะเลี้ยงแตนเบียน

4.5 เปลี่ยนใบมะพร้าวใหม่ทุก 4-5 วัน หรือเมื่อสังเกตเห็นใบมะพร้าวเหี่ยวหรือมีสีน้ำตาล

5. การเลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวจากไข่

5.1 คัดแยกใบมะพร้าวที่มีไข่แมลงดำหนามมะพร้าวออกจากกล่องเลี้ยงตัวเต็มวัย ใช้พู่กันเขี่ยมูลแมลงดำหนามออกจากแผ่นใบ จะทำให้สะดวกในการตรวจเช็ค และเก็บแยกไข่ออกจากใบมะพร้าว

5.2 เก็บรวบรวมไข่แมลงดำหนามมะพร้าวทุก 2 วัน

5.3 นำไข่แมลงดำหนามมะพร้าวที่ได้มาโรยใส่ในใบมะพร้าวที่ตัดเป็นชิ้น ๆ ยาวประมาณ 15 ซม. ใบละประมาณ 20-30 ฟอง

5.4 นำใบมะพร้าวที่มีไข่แมลงดำหนามอยู่ภายในเรียงซ้อนกันและมัดรวมกันไว้ด้วยยางวง ใส่ในกล่องปิดฝา นำไปวางไว้บนชั้นเลี้ยงแมลง บันทึกวันที่เก็บไข่บนใบมะพร้าว เพื่อสะดวกในการตรวจเช็คระยะเวลาที่หนอนฟักออกจากไข่ รอจนกระทั่งไข่ฟักเป็นตัวหนอน ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3-4 วัน ทั้งนี้ขึ้นกับอุณหภูมิในห้องเพาะเลี้ยง

5.5 เมื่อตรวจพบหนอนฟักออกจากไข่ นำใบมะพร้าวที่เตรียมไว้ตามข้อ 2 ใส่กล่องเลี้ยงหนอน และใช้พู่กันเบอร์ 1 เขี่ยหนอนประมาณ 300 ตัว ใส่ในใบมะพร้าวที่มัดรวมกันเป็นท่อน ไม่ต้องปิดฝากล่อง แล้วนำไปเก็บไว้บนชั้นวางกล่อง

5.6 เปลี่ยนอาหารทุก 4-5 วัน หรือเมื่อสังเกตเห็นใบมะพร้าวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

5.7 เลี้ยงหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวด้วยใบแก่มะพร้าวประมาณ 15-17 วัน จะได้หนอนแมลงดำหนามขนาดยาวประมาณ 1 ซม. หรือหนอนวัย 4 ซึ่งเป็นวัยที่เหมาะสำหรับนำไปใช้เพาะเลี้ยงแตนเบียน

หมายเหตุ: ทุกครั้งที่เปลี่ยนอาหารหนอนและตัวเต็มวัยแมลงดำหนามมะพร้าวจะต้องเปลี่ยนกล่องเลี้ยงแมลงใหม่ และล้างกล่องที่ใช้แล้วให้สะอาด นำไปผึ่งแดดให้แห้งสนิท ก่อนนำไปใช้ใหม่

วิธีการเพาะเลี้ยงแตนเบียนหนอนแมลงดำหนาม *Asecodes hispinarum*

1. คัดแยกมัมมี่ของแตนเบียน จำนวน 2 ตัวใส่ในหลอดพลาสติก เพื่อรอให้ตัวเต็มวัยเจาะออกจากมัมมี่

2. นำกระดาษชำระละเอียด 2 แผ่นเรียงซ้อนกัน และใช้พู่กันชุบน้ำผึ้งหยดลงบนแผ่นกระดาษชำระที่ปะติดอยู่ข้างกล่องเบียน เพื่อเป็นอาหารของแตนเบียน ควรหยดน้ำผึ้งบนกระดาษให้ชื้นเพียงพอที่แผ่นกระดาษจะยึดติดกับข้างกล่อง ไม่ควรหยดน้ำผึ้งให้มากเกินไป จะทำให้ปีกและขาของแตนเบียนเปื้อนน้ำผึ้ง และตายติดบนกระดาษ

3. ใส่ใบมะพร้าวที่ตัดเป็นชิ้น ยาวประมาณ 10-11 ซม. 4-5 ใบในกล่องเบียน

4. ใช้พู่กันเบอร์ 1 เขี่ยหนอน 80 ตัวใส่บนใบมะพร้าวที่เตรียมไว้

5. ใส่แตนเบียนที่เจาะออกจากมัมมี่ใหม่ ๆ ตามที่เตรียมไว้ในข้อ 1. ใส่ในกล่องเบียน ปิดฝาให้สนิท และนำไปวางไว้ในชั้นวางเลี้ยงแมลง

6. เก็บรอไว้ประมาณ 4-5 วัน

7. ตัดใบแก่มะพร้าวเป็นชิ้น ๆ ยาวประมาณ 10-11 ซม. ประมาณ 30-40 ใบ นำมาเรียงซ้อนสลับกัน มัดด้วยยางวงให้เป็นท่อนกลม ๆ นำไปวางไว้ในกล่องเลี้ยงหนอนกล่องใหม่

8. เขี่ยหนอนแมลงดำหนามมะพร้าวที่ถูกเบียนแล้วจากกล่องเบียนในข้อ 4 จำนวน 300 ตัว ลงบนใบมะพร้าวที่เตรียมไว้ ปิดฝาและนำไปเก็บไว้ที่ชั้นวางกล่องเลี้ยงแมลง

9. เก็บไว้ประมาณ 2-3 วัน จึงตรวจเช็ค และคัดแยก มัมมี่ออกจากกล่องเบียนที่เตรียมตามข้อ 8 นำมัมมี่ที่เพาะเลี้ยงได้มารวมกัน และนำไปเก็บไว้ในกล่องพลาสติกขนาดเล็กที่มีฝาปิด

10. คัดแยกมัมมี่ จากกล่องเบียนทุกวัน ประมาณ 2-3 ครั้ง บันทึกวันที่เก็บมัมมี่ทุกครั้งเก็บ

11. แบ่งมัมมี่ที่เพาะเลี้ยงได้ประมาณ 10% เก็บไว้สำหรับเป็นแตนเบียนพ่อ-แม่พันธุ์เลี้ยงขยายแตนเบียน ส่วนมัมมี่ที่เหลือประมาณ 90% ให้นำไปปล่อยในสวนมะพร้าว

12. ควรเก็บมัมมี่ไว้ในกล่องสะอาด เก็บในที่ร่ม มัมมี่ที่นำไปปล่อยควรมีอายุประมาณ 7-8 วันหลังจากเก็บแยกจากกล่องเลี้ยงหนอนตามข้อ 8

13. มัมมี่แตนเบียนที่ใช้สำหรับเลี้ยงขยายพันธุ์ ให้นำไปแยกใส่ในหลอดพลาสติกที่มีฝาปิดสนิท หลอดละ 2 มัมมี่ เมื่อตรวจพบตัวเต็มวัยแตนเบียนเจาะออกจากมัมมี่ ให้นำไปเพาะเลี้ยงต่อ โดยทั่วไปตัวเต็มวัยแตนเบียนจะเจาะออกจากมัมมี่ประมาณ 10 วัน หลังจากเก็บแยกจากกล่องเลี้ยงหนอนตามข้อ 8

14. การเพาะเลี้ยงแตนเบียนในช่วงที่หน้าฝน หรือช่วงที่สภาพอากาศมีความชื้นสูง อาจพบเชื้อราลงทำลายมัมมี่ ให้ป้องกันเชื้อราโดยชุบมัมมี่ในสารละลายคลอร็อก 10% (คลอร็อก 1 ส่วน + น้ำสะอาด 9 ส่วน) และผึ่งให้แห้งก่อนนำไปเก็บรักษาเพื่อรอการนำไปปล่อย

15. นำหนอนที่ไม่ถูกเบียน และเข้าดักแด้ไปเลี้ยงต่อจนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2545. สถิติการเกษตรประจำปี 2545. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. CABI. 2003. Crop Protection Compendium 2003.

FAO 2004. Recommentations. Page6-7. In : Report of the Expert Consultation on Coconut Beetle Outbreak in APPPC Member Countries. 26-27 October, 2004, Bangkok, Thailand.

Liebregts W. and K.Chapman. 2004. Impact and control of the coconut hispine beetle, *Brontispa longissima* Gestro (Coleoptera: Chrysomelidae). p. 19-26. In: Report of the Expert Consultation on Coconut Beetle Outbreak in APPPC Member Countries. 26-27 October, 2004, Bangkok, Thailand.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของส้มสายพันธุ์อุนชู นำเข้าจากประเทศญี่ปุ่น

Pest Risk Analysis for the importation of Unshu Orange from Japan

วลัยกร รัตนเดชากุล อุดร อุณหวุฒิ[1]
วรัญญา มาลี สุคนทิพย์ สมบัติ
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ประเทศญี่ปุ่นมีความประสงค์จะส่งออกผลส้มสดมาประเทศไทยจำนวน 8 สายพันธุ์ได้แก่ Unshu Natsumikan Iyokan Hassaku Shiranuhi Kiyomi Setoka และ Amakusa ซึ่งมีพื้นที่ทำการเพาะปลูกอยู่บนเกาะฮอนชู ชิโกกุ คิวชิว และเกาะโอกินาวา จากการสืบค้นข้อมูลรายชื่อศัตรูส้มในประเทศญี่ปุ่นและประเทศไทย รวมทั้งสืบค้นข้อมูลด้านชีววิทยา การแพร่ กระจาย การบริหารจัดการศัตรูพืชก่อนและหลังเก็บเกี่ยว และความสำคัญทางเศรษฐกิจ ผลสรุปในขั้นตอนนี้พบว่ามีศัตรูพืชกักกันของผลส้มสดทั้งหมด 96 ชนิด จัดกลุ่มได้ดังนี้ ไร 5 ชนิด แมลง 83 ชนิด รา 30 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด ไวรอยด์ 6 ชนิด และหอย 3 ชนิด ในเบื้องต้นพบว่าแมลงวันผลไม้ส้ม citrus fruit fly, *Dacus tsuneonis* Miyake มีความเสี่ยงสูงและมีโอกาสเข้ามากับผลส้มสดจากญี่ปุ่น การประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชและการกำหนดมาตรการควบคุมที่เหมาะสมเพื่อป้องกันไม่ให้ศัตรูพืชเข้ามาแพร่ระบาดในประเทศไทยจะดำเนินการต่อไป

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-03-01-51

1 สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร

คำนำ

กรมวิชาการเกษตรมีการปรับปรุงระเบียบและเงื่อนไขการนำเข้าส้มเพื่อเป็นการค้าจากต่างประเทศ ส้มเป็นสิ่งต้องห้ามตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ซึ่งประกาศไว้ในราชกิจจานุเบกษา ฉบับที่ 124, ตอนพิเศษ 66 ง ลงวันที่ 1 มิถุนายน พ.ศ. 2550 การพิจารณาอนุญาตนำเข้าส้มจากแต่ละประเทศต้องผ่านการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช ตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกรมวิชาการเกษตรกำหนด การวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชเป็นมาตรการสุขอนามัยพืชสากลที่กำหนดโดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ

ปัจจุบัน กรมวิชาการเกษตรอนุญาตให้นำเข้าผลส้มสดจากสหรัฐอเมริกาและออสเตรเลีย เท่านั้น ในปี พ.ศ. 2549 กระทรวงเกษตรป่าไม้ และประมงของญี่ปุ่นได้ยื่นคำขอเปิดตลาดผลส้มสด 8 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ Unshu Natsumikan Iyokan Hassaku Shiranuhi Kiyomi Setoka และ Amakusa ดังนั้น การอนุญาตการนำเข้าผลส้มสดต้องทำการศึกษาเพื่อวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชที่มีโอกาสติดมากับผลส้มสดจากญี่ปุ่น เมื่อทราบชนิดของศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงสูงที่มีโอกาสเข้ามาแพร่ระบาดและขยายพันธุ์ในประเทศไทยแล้ว จึงสามารถกำหนดมาตรการควบคุมและเงื่อนไขการนำเข้าเพื่อจัดการความเสี่ยงศัตรูพืชที่เหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ฐานข้อมูลพืชและศัตรูพืชอิเล็กทรอนิกส์ ซีดี และฐานข้อมูลกลางขององค์กร หน่วยงานราชการ สถาบันการศึกษา หรือสถาบันต่างๆทั้งในและต่างประเทศ
2. ตำรา วารสารและ/หรือเอกสารวิชาการ รายงานการประชุมสัมมนา วิทยานิพนธ์ กฎหมาย กฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการกักกันพืชทั้งในและต่างประเทศ
3. ข้อมูลศัตรูพืชที่กระทรวงเกษตรป่าไม้ ประมงของประเทศญี่ปุ่นส่งมาให้กรมวิชาการเกษตรเพื่อขออนุญาตการนำเข้าประเทศไทย
4. ระบบอินเตอร์เน็ต เครื่องคอมพิวเตอร์ และสมัครเป็นสมาชิกของแหล่งข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์หรือวารสาร (Journal) เพื่อให้สามารถสืบค้นข้อมูลได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลจากฐานข้อมูลพืชและศัตรูพืชอิเล็กทรอนิกส์ และฐานข้อมูลกลางทั้งในและต่างประเทศ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ รายงานการประชุมสัมมนา วิทยานิพนธ์ กฎหมาย กฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการกักกันพืชทั้งในและต่างประเทศ ข้อมูลศัตรูพืชที่กระทรวง

เกษตรป่าไม้ ประมงของประเทศญี่ปุ่นส่งมาให้กรมวิชาการเกษตร เพื่อขออนุญาตการนำเข้าประเทศไทย โดยดำเนินการวิจัยในหัวข้อดังต่อไปนี้

1. สืบค้นข้อมูลการเพาะปลูกและลักษณะประจำพันธุ์ของส้มสายพันธุ์อุนชูและสายพันธุ์ส้มที่จะส่งออกมาประเทศไทย
2. สืบค้นข้อมูลรายชื่อศัตรูส้มของประเทศญี่ปุ่น ข้อมูลด้านชีววิทยา พืชอาหาร ส่วนที่ถูกทำลาย การเคลื่อนย้ายและแพร่กระจาย การบริหารจัดการศัตรูพืชก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว และความสำคัญทางเศรษฐกิจ
3. สืบค้นข้อมูลรายชื่อศัตรูส้มของประเทศไทย ข้อมูลด้านชีววิทยา พืชอาหาร ส่วนที่ถูกทำลาย การเคลื่อนย้ายและแพร่กระจาย การบริหารจัดการศัตรูพืชก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว และความสำคัญทางเศรษฐกิจ
4. จัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูส้มที่มีความเสี่ยงและมีโอกาสเข้ามากับผลส้มสดนำเข้าจากญี่ปุ่นเพื่อเป็นข้อมูลในการวิเคราะห์ประเมินความเสี่ยงขั้นตอนต่อไป

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มต้น – สิ้นสุด
	ตุลาคม 2550– กันยายน 2551
สถานที่	- กลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
	- ด่านตรวจพืช สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลการเพาะปลูกและลักษณะประจำพันธุ์ของส้มสายพันธุ์อุนชูและสายพันธุ์ส้มที่จะส่งออกมาประเทศไทย

ส้มสายพันธุ์อุนชูเป็นส้มพื้นเมืองของญี่ปุ่น มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus unshiu* Marc. ชื่อสามัญ Unshu orange Satsuma orange Satsuma mandarin อยู่ในวงศ์ Rutaceae มีเปลือกบาง ปอกเปลือกง่าย รูปทรงผลกลมแป้น (oblate) น้ำหนักผล 200-250 กรัม เพาะปลูกในเขตกิวชิว (Kyushu district) ถึงเขตคันโต (Kanto district) ได้แก่จังหวัด (Prefecture) Chiba Aichi Shizuoka Kanagawa Mie Hyogo Kagawa Osaka Wakayama Hiroshima Kochi Tokushima Ehime Miyazaki Oita Kumamoto Kagoshima Nagasaki Saga Fuguoka และ Yamauchi ฤดูเก็บเกี่ยวตุลาคม ถึงกุมภาพันธ์ของปีต่อมา สายพันธุ์อุนชูใช้รับประทานสด บรรจุกระป๋อง และทำน้ำส้มคั้น

ส้มลูกผสมสายพันธุ์ Shiranuhi มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus unshiu* Marc.× *Citrus reticulata* 'Shiranuhi' รูปทรงผลไข่กลับ (obovate) มี collar ที่ผลด้านบน เปลือกมีผิวขรุขระ ปอกเปลือกง่าย น้ำหนักผล 230 กรัม เพาะปลูกในจังหวัด Chiba Aichi Shizuoka Kanagawa Mie Nara Hyogo Kagawa Wakayama Okayama Hiroshima Kochi Tokushima Ehime Miyazaki Oita Kumamoto Kagoshima Nagasaki Saga Fuguoka Yamauchi และเกาะ Okinawa ฤดูเก็บเกี่ยวกลางกุมภาพันธ์ถึงต้นเดือนมีนาคม

ส้มลูกผสมสายพันธุ์ Kiyomi มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus unshiu* Marc.× *Citrus sinensis* (L.) Osbeck รูปทรงกลมแป้น หนักผล 200 กรัม เปลือกสีส้มเหลือง ปอกเปลือกค่อนข้างยาก เพาะปลูกในจังหวัด Aichi Shizuoka Kanagawa Mie Hyogo Kagawa Wakayama Okayama Hiroshima Osaka Tokushima Ehime Miyazaki Oita Kumamoto Kagoshima Nagasaki Saga Fuguoka Yamauchi และเกาะOkinawa ผลแก่เก็บเกี่ยวกลางเดือนมีนาคม

ส้มสายพันธุ์ Natsumikan มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus natsudaidai* Hayata รูปทรงกลมแป้น หนักผลประมาณ 400 กรัม ผิวเปลือกมีรอยบุ๋ม (dimple) เปลือกสีเหลืองค่อนข้างหนา ปอกเปลือกค่อนข้างยาก มีกรดสูง เพาะปลูกในเขตกิวชิว ถึงเขตคันโต ได้แก่จังหวัด Shizuoka Mie Wakayama Hiroshima Yamaguchi Ehime Oita Kumamoto และKagoshima ผลแก่เก็บเกี่ยวเดือนมีนาคม – เมษายน

ส้มสายพันธุ์ Iyokan มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus iyo* Hort รูปทรงกลมแป้น หนักผลประมาณ 250-300 กรัม เปลือกสีส้มเข้ม ปอกเปลือก เพาะปลูกในเขตกิวชิว ถึงเขตคันโต ได้แก่จังหวัดHiroshima Kagawa Ehime และWakayama ผลแก่เก็บเกี่ยวเดือนธันวาคม – มกราคมของปีต่อมา

ส้มสายพันธุ์ Hassaku มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus hassaku* Hort รูปทรงผลกลมแป้น หนักผลประมาณ 400 กรัม เปลือกสีส้มเหลือง เปลือกปอกยาก เนื้อแน่น รสหวานอมขม เล็กน้อยเขตเพาะปลูกหลักอยู่ที่จังหวัด Wakayama Hiroshima และ Ehime ฤดูเก็บเกี่ยวเดือนธันวาคม – มกราคมของปีต่อมา

ส้มลูกผสมสายพันธุ์ Setoka มีชื่อวิทยาศาสตร์ 'Kiyomi' ×'Encore')×'Murcott' หนักผลประมาณ 250 กรัม เปลือกสีส้มถึงส้มเข้ม ปอกเปลือกง่าย เขตเพาะปลูกอยู่ที่จังหวัด Aichi Okeyama Hiroshima Kochi Kagawa Ehime Miyazaki Nagasaki และ Saga ผลแก่เดือนกุมภาพันธ์

ส้มลูกผสมสายพันธุ์ Amakusa มีชื่อวิทยาศาสตร์ 'Kiyomi'×(*Citrus unshiu* Marc.×*Poncirus trifoliata* (L.) Rafin)×'Page' รูปทรงผลกลมแป้น หนักผลประมาณ 200 กรัม เปลือกสีส้มอมแดง ผิวเปลือกเรียบ ปอกเปลือกค่อนข้างยาก เขตเพาะปลูกอยู่ที่จังหวัด Aichi

Ehime Miyazaki Oita Nagasaki Saga Fuguoka และเกาะOkinawa ผลแก่ประมาณปลายเดือนธันวาคมถึงต้นมกราคมของปีต่อมา

2. สืบค้นข้อมูลรายชื่อศัตรูส้มของประเทศญี่ปุ่น

รายชื่อศัตรูส้มของประเทศญี่ปุ่นทั้งหมด 374 ชนิด แบ่งเป็นไร 15 ชนิด แมลง 261 ชนิด หอย 4 ชนิด ไส้เดือนฝอย 11 ชนิด รา 75 ชนิด แบคทีเรีย 8 ชนิด ไวรัส 8 ชนิด ไวรอยด์ 7 ชนิด

ญี่ปุ่นมีแผนการบริหารจัดการศัตรูพืชในแปลงปลูกส้มด้วยวิธีการกำจัดศัตรูพืชแบบผสมผสาน กำจัดด้วยสารเคมี การวางกับดักเหยื่อพิษ มาตรการด้านสุขอนามัยพืชสำหรับแมลงวันผลไม้ส้ม citrus fruit fly, *Dacus tsuneonis* ที่เมือง Fujieda จังหวัด Shizuoka ซึ่งพื้นที่ปลูกส้มส่งออก มีระบบป้องกันกำจัดและควบคุมประชากรแมลงวันผลไม้ส้มอย่างเข้มงวด

3. สืบค้นข้อมูลรายชื่อศัตรูส้มของประเทศไทย

รายชื่อศัตรูส้มของประเทศไทยทั้งหมด 157 ชนิด เป็นไร 7 ชนิด แมลง 113 ชนิด ไส้เดือนฝอย 4 ชนิด รา 27 ชนิด แบคทีเรีย 5 ชนิด ไวรัส 1 ชนิด

4. จัดทำบัญชีรายชื่อและจัดกลุ่มศัตรูส้มที่มีความเสี่ยงและมีโอกาสเข้ามากับผลส้มนำเข้าจากญี่ปุ่น

ศัตรูกักกันของส้มจากประเทศญี่ปุ่นทั้งหมด 96 ชนิด เป็นไร 5 ชนิด แมลง 83 ชนิด หอย 3 ชนิด รา 30 ชนิด แบคทีเรีย 3 ชนิด ไวรัส 6 ชนิด ไวรอยด์ 6 ชนิด

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดพืชและพาหะจากแหล่งที่กำหนด เป็นสิ่งต้องห้าม ข้อยกเว้นและเงื่อนไขตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 (ฉบับที่ 5) พ.ศ. 2550. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับที่ 124, ตอนพิเศษ 66 ง ลงวันที่ 1 มิถุนายน พ.ศ. 2550 หน้า 1-3.

Anon (Anonymus). 2003. Common Pests of Summer Fruit in Western Australia. Western Australian Department of Agriculture. 24 pp. http://agspsrv38.agric.wa.gov.au/pls/portal30/docs/FOLDER/IKMP/PW/INS/PP/HORT/BULLETIN4585.PDF

AFFA. 2002. Unshu mandarin fruit from Japan: Draft Import Risk Analysis Report Part B. (July, 2003). Australian Government, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry; http://www.affa.gov.au

AFFA. 2003. Citrus fruit from Florida, USA: Technical Issues Paper (December 2002). Australian Government, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry; http://www.affa.gov.au

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

CABI/EPPO. 1997. Quarantine Pests for Europe. second edtion. CAB International in association with the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO).1425 pp.

Charanasri, V. 1996. Plant Feeding Mites of Thailand: A manual for Identification to the Genera of Plant Feeding Mites of Thailand. Division of Entomology and Zoology, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand. 61 pp.

Futch, S. H., C. C. Childers and C. W. McCoy1. A Guide to Citrus Mite Identification. Horticultural Sciences Department, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, 32611. http://edis.ifas.ufl.edu/CH179

Gyeltshen, J and Hodges, A. 2006. Fuller rose beetle. University of Florida (http://creatures.ifas.ufl.edu/orn/beetles/fuller_rose_beetle.htm#dist)

Ito, I., Ieki, H., Ozaki, Iwanami, T., Nakahara, K., Hataya, T., T., Isaka, M., and Kano, T. 2002. Mutiple citrus viroids in citrus from Japan and their anility to produce exocortis-like symptoms in citron. Phytopathology 92: 542-547.

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

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

Kueprakon, U., S.Tontyaporn and P. Pongam. 1990. Phytophthora disease of citrus in Thailand. Pages 258-262 in : Proceeding of the 4th International Asia Pacific

Conference on Citrus Rehabilitation. Chiangmai Thailand(Aubert, B., S. Tontyaporn and D. Buangsuwon eds.). Dept of Agriculture, Bangkok.

Kuroko, H. and A. Lewvanich. 1993. Lepidopterous pests of tropical fruit trees in Thailand. Japan International Cooperation Agency. Tokyo. 132 pp.

Laosinchai, B. and C. Unhawutti. 2000. Important mealybugs and scale insects. Entomology and Zoology Division. Departmnet of Agriculture, Bangkok. 70 pp. (In Thai).

MAFF. 2005. The List of Citrus Pests. Plant Protection Division, Food Safety and Consumer Affairs Bureau, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan.

MAFF, 2005. Support Information of Citrus in Japan for Pest Risk Analysis. Plant Protection Division, Food Safety and Consumer Affairs Bureau, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan.

Poonchaisri, S. 2001. Thrips in Suborder Terebantia Division of Entomology and Zoology , Department of Agriculture, Bangkok, Thailand. 75 pp.

Smith, D., GAC Beattie, and R.Broadly, (eds.).1997. Citrus pests and their natural enemies. State of Queensland, Department of Primary Industries and Horticultural Research and Development Corporation. Brisbane. 272 pp.

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

Sontirat, S. 1995. Plant parasitic nematodes of Thailand. Department of plant pathology, Kasetsart University, Bangkok.275 pp (In Thai)

Timmer, L.W., S.M. Garnsey, J.H.Graham, (eds). 2000. Compendium of Citrus Diseases. 2nd ed. American Phytopathological Society Press, Inc., Minnesota. 92 pp.

Thawechai, N., A. Bharadornuvuth and P. Hummerink. 2001. Manual of the Management on Citrus Orchard. Technical Bulletin of “The Technology Transfer Program on Sweet Tangerine”. Under the cooperative program of The Ministry of Agriculture and Cooperative and Kasetsart University. Bangkok. 112 pp. (In Thai)

USDA . 2002. Expansion of the Importation of Fresh Unshu Orange Fruit (Citrus reticulata Blanco var. unshu Swingle) from the Republic of Korea into Citrus Producing States of the Continental United States. A Pathway-Initiated Pest Risk Assessment . United States Department of Agriculture

USDA . 2003. Importation of Fresh Commercial Citrus Fruit: Grapefruit (*Citrus* x *paradisi* Macfad.); Lime (*C. aurantiifolia* [Christm.] Swingle); Mandarin Orange or Tangerine (*C. reticulate* Blanco); Sweet Orange (*C. sinensis* [L.] Osbeck); Tangelo (*C.* x *tangelo* J.W. Ingram & H.E. Moore); from Peru into the United States. A Pathway-Initiated Plant Pest Risk Analysis. United States Department of Agriculture

USDA. 2003. Unshu Oranges From Honshu Island, Japan. Electronic Code of Federal Register: Rules and Regulations. Volume 68, Number 41, 9851-9854

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

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

Weems, Jr. H.V., 2002. Japanese orange fly. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry; and T.R. Fasulo, University of Florida. (http://creatures.ifas.ufl.edu/fruit/tropical/japanese_orange_fly.htm)

Yasuda T. ; Narahara M. ; Tanaka S. ; Wakamura S., 1994. Thermal responses in the citrus fruit fly, *Dacus tsuneonis*: evidence for a pupal diapause. Entomol. exp. appl. vol. 71(3), 257-261.

การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุภัณฑ์ไม้

Pest Risk Analysis of Wood Packaging Material

วลัยกร รัตนเดชากุล อุดร อุณหวุฒิ[1]
กลุ่มวิจัยการกักกันพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ผลการสืบค้นข้อมูลแมลงและโรคศัตรูป่าไม้ในประเทศไทยและต่างประเทศรวมถึงข้อมูลศัตรูผลิตภัณฑ์ไม้ (ไม้แปรรูป ไม้ซุง ฯลฯ) มีดังนี้ พบว่าแมลงศัตรูป่าไม้อันดับ Coleoptera ส่วนใหญ่เป็นแมลงเจาะเนื้อไม้ (wood boring) เจาะเปลือกไม้ (bark boring) ได้แก่ วงศ์ Cerambicidae, Scolytidae, Buprestidae, Bostrichidae, Curculionidae อันดับ Lepidoptera ได้แก่ วงศ์ Noctuidae (กินใบและต้นอ่อน), Pyralidae (กินยอดและผล), Sesiidae (เจาะไม้ส่วนราก), วงศ์ Cossidae (เจาะลำต้นและกิ่ง) อันดับ Hymenoptera ได้แก่ วงศ์ Formicidae (กัดกินใบต้นอ่อนและเนื้อไม้), วงศ์ Sericidae (เจาะเนื้อไม้) โรคป่าไม้ในประเทศไทยและต่างประเทศมีสาเหตุมาจากเชื้อโรคพืชกลุ่มราและแบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย ศัตรูผลิต ภัณฑ์ไม้ได้แก่แมลง อันดับ Coleoptera วงศ์ Cerambicidae, Scolytidae, Buprestidae, Bostrichidae อันดับ Hymenoptera ได้แก่ วงศ์ Formicidae

---

รหัสการทดลอง 07-01-49-07-03-03-01-51

1 สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร

คำนำ

ปัจจุบัน การใช้วัสดุบรรจุภัณฑ์ไม้มีการใช้กันแพร่หลายทั่วโลก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อป้องกันความเสียหายที่อาจจะเกิดขึ้นกับสินค้าที่ส่งออกระหว่างการขนส่งระหว่างประเทศ ในอดีตวัสดุบรรจุภัณฑ์ไม้มักจะไม่ใช่เป้าหมายในการตรวจสินค้า ณ จุดนำเข้า แต่ทางด้านกักกันพืชนั้นวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ทำจากไม้ซึ่งมีการเคลื่อนย้ายหรือมีการขนส่งทางเรือและทางอากาศระหว่างประเทศเป็นที่อาศัยหรือหลบซ่อนของศัตรูพืชชนิดที่มีความสำคัญ และเป็นเส้นทางในการเข้ามาแพร่ระบาดของศัตรูพืชต่างถิ่น (Invasive alien species)

วัสดุบรรจุภัณฑ์ไม้มักพบว่าทำมาจากวัตถุดิบไม้ผ่านขบวนการแปรรูปที่ไม่ได้มาตรฐานหรือไม่ได้ผ่านการกำจัดศัตรูพืชที่ทำให้ศัตรูพืชถูกกำจัดไป ทำให้มีความเสี่ยงของเป็นเส้นทางในการเข้ามาและแพร่กระจายของศัตรูพืชกักกันร้ายแรง นอกจากนี้ วัสดุบรรจุภัณฑ์ไม้ที่มีการใช้ในปัจจุบันมักจะเป็นวัสดุที่นำมาใช้ซ้ำอีก หรือนำกลับมาใช้ใหม่ เช่น ลังไม้ แท่นรอง เป็นต้น ไม้เหล่านี้ยากที่จะทราบถึงแหล่ง กำเนิดที่แท้จริงของผลิตวัสดุบรรจุภัณฑ์ไม้นั้นๆ จึงทำให้เกิดความไม่มั่นใจในสถานภาพด้านสุขอนามัยพืชของวัสดุบรรจุภัณฑ์ไม้ซึ่งเชื่อว่าเป็นแหล่งอาศัยของศัตรูพืชกักกัน เช่น ซึ่งหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทยได้ตระหนักถึงผลกระทบที่จะเกิดตามมาทั้งทางด้านเศรษฐกิจ การเกษตรกรรม การส่งออก และสิ่งแวดล้อม

งานวิจัย “การวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของวัสดุบรรจุภัณฑ์ไม้จากต่างประเทศเพื่อการค้า” โดยดำเนินการตามมาตรฐานระหว่างประเทศด้านสุขอนามัยพืช ฉบับที่ 2: Guidelines for pest risk analysis ฉบับที่ 11: Pest risk analysis for quarantine pests including analysis of environmental risks and living modified organisms และ ฉบับที่ 15 Guidelines for Regulating Wood Packaging Material in International Trade ผลการศึกษาทำให้ทราบศัตรูพืชที่มีความเสี่ยงและมีโอกาสเข้ามา และนำข้อมูลประกอบการพิจารณากำหนดเงื่อนไขวิธีการควบคุมและการตรวจสอบวัสดุบรรจุภัณฑ์ไม้ให้เป็นไปตามกฎระเบียบข้อบังคับมาตรการจัดการความเสี่ยงที่เหมาะสมสอดคล้องกับมาตรฐานระหว่างประเทศด้านสุขอนามัยพืช กำหนดศัตรูพืชกักกัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ฐานข้อมูลพืชและศัตรูพืชอิเล็กทรอนิกส์ ซีดี และฐานข้อมูลกลางขององค์กร หน่วยงานราชการ สถาบันการศึกษา หรือสถาบันต่างๆทั้งในและต่างประเทศ

2. ตำรา วารสาร/เอกสารวิชาการ รายงานการประชุมสัมมนา วิทยานิพนธ์ เอกสารวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขององค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ กฎหมาย กฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการกักกันพืชทั้งในและต่างประเทศ
3. ระบบอินเตอร์เน็ต เครื่องคอมพิวเตอร์ และสมัครเป็นสมาชิกของแหล่งข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์หรือวารสาร (Journal) เพื่อให้สามารถสืบค้นข้อมูลได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลจากฐานข้อมูลพืชและศัตรูพืชอิเล็กทรอนิกส์ และฐานข้อมูลกลางทั้งในและต่างประเทศ ตำรา วารสาร เอกสารวิชาการ รายงานการประชุมสัมมนา วิทยานิพนธ์ เอกสารวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชขององค์กรอารักขาพืชแห่งชาติ กฎหมาย กฎระเบียบที่เกี่ยวข้องกับการกักกันพืชทั้งในและต่างประเทศ โดยบันทึกข้อมูลโรคและแมลงศัตรูพืชทางด้านชีววิทยา พืชอาหาร ส่วนที่ถูกทำลาย การเคลื่อนย้ายและแพร่กระจาย การบริหารจัดการศัตรูพืช และความสำคัญทางเศรษฐกิจ การสืบค้นดำเนินการในหัวข้อดังต่อไปนี้

1. สืบค้นข้อมูลแมลงศัตรูป่าไม้ในประเทศไทยและต่างประเทศ
2. สืบค้นข้อมูลโรคศัตรูป่าไม้ในประเทศไทยและต่างประเทศ
3. สืบค้นข้อมูลศัตรูผลิตภัณฑ์ไม้ (ไม้แปรรูป ไม้ซุง ฯลฯ)

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มต้น – สิ้นสุด
	ตุลาคม 2550– กันยายน 2551
สถานที่	กลุ่มงานวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช กลุ่มวิจัยการกักกันพืช
	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. สืบค้นข้อมูลแมลงศัตรูป่าไม้ในประเทศไทยและต่างประเทศ

แมลงศัตรูป่าไม้ในประเทศไทยและต่างประเทศจัดอยู่ใน อันดับ Coleoptera Lepidoptera Hymenoptera Isoptera แมลงอันดับ Coleoptera ส่วนใหญ่เป็นแมลงเจาะเนื้อไม้ (wood boring) เจาะเปลือกไม้ (bark boring) ได้แก่ วงศ์ Cerambicidae, Scolytidae, Buprestidae, Bostrichidae, Curculionidae อันดับ Lepidoptera ได้แก่ วงศ์ Noctuidae (กินใบและต้นอ่อน), Pyralidae (กินยอดและผล), Sesiidae (เจาะไม้ส่วนราก), วงศ์ Cossidae (เจาะ

ลำต้นและกิ่ง) อันดับ Hymenoptera ได้แก่ วงศ์ Formicidae (กัดกินใบ ต้นอ่อนและเนื้อไม้), วงศ์ Sericidae (เจาะเนื้อไม้)

2. สืบค้นข้อมูลโรคศัตรูป่าไม้ในประเทศไทยและต่างประเทศ

จากรายงานพบว่าโรคป่าไม้ในประเทศไทยมีสาเหตุมาจากเชื้อโรคพืชกลุ่มราและแบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย

3. สืบค้นข้อมูลศัตรูผลิตภัณฑ์ไม้ (ไม้แปรรูป ไม้ซุง ฯลฯ)

ศัตรูผลิตภัณฑ์ไม้ได้แก่แมลง อันดับ Coleoptera วงศ์ Cerambicidae, Scolytidae, Buprestidae, Bostrichidae อันดับ Hymenoptera ได้แก่ วงศ์ Formicidae

โรคผลิตภัณฑ์ไม้ได้แก่ ราแบคทีเรีย และไส้เดือนฝอย

เอกสารอ้างอิง

กฤษณา พงษ์พานิช, อนิวรรต เฉลิมพงษ์ และ ธีรวัฒน์ บุญทวีคุณ. 2530. โรคของกล้าไม้ใน เรือนเพาะชำสะแกราช. หน้า 157-169. ใน รายงานการสัมมนาทางวนวัฒนวิทยา ครั้งที่ 4, 2531. โรงแรมรีเจนท์มารีนา. พัทยา จ.ชลบุรี. 510 หน้า.

กฤษณา พงษ์พานิช. 2534. โรคของไม้กระถินณรงค์. หน้า 83-91. ใน รายงานการประชุมวิชาการป่าไม้ประจำปี 2534. โรงแรมเอเชียพัทยา จ.ชลบุรี. 405 หน้า.

กฤษณา พงษ์พานิช. 2541. การควบคุมโรคของกล้าไม้ประดู่และพะยูงโดยใช้สารเคมี. หน้า 93-100. ใน รายงานการประชุม วิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4, 2542. โรงแรมแอมบาสเดอร์ ซิตี้ จอมเทียน. พัทยา จ.ชลบุรี. 377 หน้า.

กฤษณา พงษ์พานิช. 2542. โรคของไม้ยูคาลิปตัสในประเทศไทย และแนวทางในการลดผลกระทบ. หน้า 101-106. ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 4, 2542. โรงแรมแอมบาสเดอร์ ซิตี้ จอมเทียน. พัทยา จ.ชลบุรี. 377 หน้า.

ฉวีวรรณ หุตะเจริญ 2533. แมลงป่าไม้ของไทย. แสงเทียนการพิมพ์ : กรุงเทพฯ 171 หน้า

ทวี ไชยเรืองศิริกุล. 2542. การศึกษาความเสียหายของไม้สัก ที่เกิดจากมอดป่าเจาะไม้สักที่สวนผลิตเมล็ดพันธุ์ไม้ป่าแม่กา จังหวัดพะเยา รายงานวนวัฒนวิจัย ประจำปี 2542 หน้า 123-136.

เดชา วิวัฒน์วิทยา 2542 การสำรวจและการติดตามตรวจสอบแมลงศัตรูไม้ต่างถิ่น บริเวณดอยอ่างขาง จังหวัดเชียงใหม่ วารสารวนศาสตร์ หน้า 1-8

เดชา วิวัฒน์วิทยา. 2543. แมลงศัตรูป่าไม้และไม้ให้ร่มที่สำคัญในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นิรนาม 2551. โรคพืชป่าไม้ในประเทศไทย. กลุ่มงานกีฏวิทยาและจุลชีววิทยาป่าไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมป่าไม้ จตุจักร กรุงเทพฯ

วลัยกร รัตนเดชากุล 2551 ศัตรูป่าไม้ของวัสดุบรรจุภัณฑ์ไม้ที่มีความสำคัญและร้ายแรงระดับโลก. วารสารอารักขาพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หน้า 69-89

สุรชัย ชลดำรงค์กุล รัตนะ ไทยงาม ฉวีวรรณ หุตะเจริญ. 2540. แมลงศัตรูที่สำคัญทางเศรษฐกิจของไม้ตะเคียนทอง : การทำลายและรูปแบบการกระจายของปลวกเจาะลำต้นภายใต้ร่มไม้ป่าชนิดต่าง ๆ วารสารเทคโนโลยีสุรนารี ปีที่ 4 ฉบับที่ 1 หน้า 29-33

Anon, 2005. Distribution of selected forest-associated species. Criteria and indicator of sustainable of forest management in Canada. Canadian Council of Forest Ministers. http;//www.ccfm.org/ci/rprt2005/English

Bergdahl, D.R. 1988. Impact of pinewood nematode on North America: Present and future. Journal of Nematology 20:260-265.

CABI, 2005. Crop Protection Compendium, 2005 Ed. Wallingford, UK. CD_ROM.

CABI, 2005. Forest Compendium, 2005 Ed. Wallingford, UK. CD_ROM.

FAO, 2006. International Standard for Phytosaniatry Measure, ISPM No.2: Guidelines for Pest Risk Analysis (Revise FAO, 1995). Rome.

FAO, 2006. International Standard for Phytosaniatry Measure, ISPM No.11: Guidelines Pest Risk Analysis for Quarantine Pests Including Analysis of Environmental Risks and Living Modified Organisms (2004) Rome.

FAO, 2006. International Standard for Phytosaniatry Measure, ISPM No.15: Guidelines for Regulating Wood Packaging Material in International Trade (Revise FAO, 2002). Rome.

USDA, 2007. CITES I-II-III Timber Species Manual. United States Department of Agriculture, Marketing and Regulatory Programs, Animal and Plant Health Inspection Service Plant Protection and Quarantine 294 pp.

การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งส้มโดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย

Antiserum production of causal agent of citrus greening disease using bacterial cell system

วันเพ็ญ ศรีทองชัย ศรีเมฆ ชาวโพงพาง ดารุณี ปุญญพิทักษ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการ subclone ยีน *omp* ขนาด 996 คู่เบส เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen) ซึ่งเป็น protein expression vector (ขนาด 5.8 กิโลเบส) และ transform เข้า *E. coli* Top 10 พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1128 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วยยีน *omp* ขนาด 996 คู่เบส + Lumio tag 132 คู่เบส จากนั้นคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน พบว่าระยะเวลาที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้สูงสุด คือ 24 ชั่วโมง โดยให้โปรตีนที่มีขนาดประมาณ 41 กิโลดาลตัน จากนั้นนำไปผ่าน Ni-NTA column ได้โปรตีนที่มีขนาด 41 กิโลดาลตัน ใน fraction ที่ 3-13 และมีปริมาณ 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ได้จากการคำนวณโดยใช้สูตร Bradford แล้วนำโปรตีน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไปฉีดเข้าใต้ผิวหนัง บริเวณคอของกระต่าย โดยผสมกับ Freund's adjuvant ทุก 2 สัปดาห์ รวม 5-6 ครั้ง และเจาะเลือดเพื่อแยกแอนติบอดีออกมาจากเม็ดเลือดแดง ขณะนี้กำลังทดสอบไตเตอร์ของแอนติบอดีจากการเจาะเลือดแต่ละครั้ง ก่อนจะนำไปตรวจสอบกับพืชตระกูลส้มต่อไป

รหัสการทดลอง 09-01-49-02-03-04-02-49

คำนำ

โรคกรีนนิ่ง (greening disease) หรือโรคใบเหลืองต้นโทรม จัดเป็นโรคสำคัญที่ทำความเสียหายให้กับธุรกิจการปลูกส้มของประเทศไทย โดยเนื้อใบมีสีเหลือง แต่เส้นใบยังมีสีเขียวอยู่ ซึ่งคล้ายกับอาการที่เกิดจากการขาดธาตุสังกะสี ผลมีขนาดเล็กและบิดเบี้ยว ถ้าเป็นโรครุนแรงใบมีขนาดเล็ก หนา และต้นทรุดโทรม มีรายงานว่าโรคนี้เกิดจากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ แต่ไม่สามารถเลี้ยงหรือเจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์ได้ จัดอยู่ใน alpha subdivision *Proteobacteria* มี 2 สายพันธุ์คือ *Candidatus* Liberibacter asiaticus ซึ่งทนร้อน (heat tolerant strain) มีเพลี้ยไก่แจ้ส้ม (*Diaphorina citri*) เป็นพาหะ โดยทั่วไปพบในทวีปเอเชีย และ *Candidatus* Liberibacter africanus เป็นสายพันธุ์ที่ไวต่อความร้อน (heat sensitive strain) และมีเพลี้ยไก่แจ้ (*Trioza erytreaei*) เป็นพาหะ แพร่ระบาดในทวีปอัฟริกา (ไมตรี, 2540; Murray and Schleifer, 1994) การตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคนี้มีหลายวิธี เช่น โดยติดตาทาบกิ่งบนพืชที่อ่อนแอต่อโรค หรือโดยการตรวจหาอนุภาคของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แต่ต้องใช้เวลาในการตรวจสอบนานนับเดือน ปัจจุบันเทคนิคทางเซรุ่มวิทยาเป็นที่นิยมใช้ในการตรวจสอบเชื้อสาเหตุของโรคนี้ เพราะ เป็นวิธีที่แม่นยำ ประหยัด รวดเร็วและสามารถตรวจสอบตัวอย่างพืชได้เป็นจำนวนมาก (Chippindall and Whitlock, 1989; Ohtsu *et al.,* 1995) แต่ไวรัสที่สกัดได้มีปริมาณน้อย ไม่เพียงพอที่จะใช้ในการผลิตแอนติซีรัม ในปัจจุบันอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพทำให้สามารถผลิตโปรตีนต่างๆในเซลล์แบคทีเรียในปริมาณมากได้ และมีความบริสุทธิ์สูง เป็นการเพิ่มปริมาณแอนติเจนเพื่อนำไปผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลองต่อไป

แอนติซีรัมของเชื้อสาเหตุ (greening organism, GO) ของโรคกรีนนิ่งส้ม มีรายงานว่าสามารถผลิตจากเส้นกลางใบของส้มหรือแพงพวยที่เป็นโรค เช่น ในประเทศแอฟริกาใต้ มีการแยกเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งแบบกึ่งบริสุทธิ์จากส้ม โดยใช้เอนไซม์ช่วยแยก sieve tube ซึ่งมีเชื้อออกจากเนื้อเยื่อส่วนอื่นของพืชและผลิตแอนติซีรัม ซึ่งสามารถใช้ตรวจสอบโรคกรีนนิ่งโดยวิธี ELISA และ immuno-blot assays (Chippindall & Whitlock, 1989) Villechanoux และคณะ (1990) ได้แยกเชื้อ GO (Poona strain) จากแพงพวยที่เป็นโรค โดยใช้วิธี affinity chromatography กับโมโนโคลนอลแอนติบอดี (10A6 strain) และพบอนุภาคของเชื้อสาเหตุทั้งแบบท่อนยาว (1-4 X 0.15-0.3 ไมครอน) และแบบทรงกลมที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0 ไมครอน แต่ยังไม่มีการนำไปผลิตแอนติซีรัม C.Ke และคณะ (1993) ได้แยกเชื้อ GO จากแพงพวยและผลิตโพลิโคลนอลแอนติบอดี แต่มีคุณภาพต่ำทำให้การวิเคราะห์ผลการตรวจหาเชื้อโดยวิธีทางเซรุ่มวิทยาไม่แม่นยำ Ohtsu และคณะ (2002) ได้ทดสอบเกี่ยวกับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเชื้อ GO ในแพงพวยสำหรับนำมาใช้เป็นแหล่งของ GO ในการแยกเชื้อกึ่งบริสุทธิ์ และใช้เอนไซม์ cellulase และ

macerozyme ในการแยกเนื้อเยื่อที่มี GO ออกจากเนื้อเยื่อพืชส่วนอื่น แอนติซีรัมที่ผลิตได้สามารถตรวจหาเชื้อสาเหตุของโรคกรีนนิ่งได้แต่ต้องใช้ตัวอย่างพืชในการทดสอบในปริมาณค่อนข้างสูง

Druka และคณะ (1996) รายงานการผลิตแอนติซีรัมจากชิ้นของ coat protein ยีน จากสายพันธุ์ข้าวของประเทศฟิลิปปินส์ โดยนำมาโคลนเข้า vector แล้วนำไปเชื่อมกับ MBP fusion proteinsจากนั้นนำไปฉีดกระตุ้นกระต่ายให้สร้างแอนติบอดี แอนติซีรัมที่ผลิตได้สามารถตรวจวินิจฉัยไวรัสใบสีส้มรูปทรงกลมได้โดยวิธี ELISA, Western blotting และ IEM นอกจากนี้ ลำพึง และคณะ (2547) ได้ทำการสังเคราะห์โปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองกระเจี๊ยบเขียวในระบบเซลล์แบคทีเรีย และแยกโปรตีนออกจากเซลล์แบคทีเรีย และนำไปฉีดกระตุ้นกระต่ายทดลองเพื่อผลิตแอนติซีรัมที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจเชื้อไวรัสสาเหตุโรค ฉะนั้นควรพัฒนาวิธีการผลิตแอนติซีรัมของ GO โดยอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพ ได้แก่ การเพิ่มปริมาณโปรตีนของเชื้อในเซลล์แบคทีเรีย ก่อนนำไปฉีดเข้ากระต่าย เพราะในปัจจุบันยังไม่มีแอนติซีรัมของ GO ที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับใช้ตรวจสอบโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้มในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นส้มและแพงพวยที่เป็นโรคกรีนนิ่ง
2. ไพรเมอร์
3. พลาสมิดพาหะ (cloning และ expression vectors)
4. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนของการโคลนยีน
5. กระต่าย อุปกรณ์และสารเคมีในการผลิตแอนติซีรัม
6. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

วิธีการ

1. การ Subclone ยีน outer membrane protein (*omp*)

หลังจาก subclone ยีน *omp* ขนาด 856 คู่เบส เข้าสู่ pGEX-2T(Amersham) ซึ่งเป็น protein expression vector (ขนาด 4.9 กิโลเบส) ที่ตำแหน่ง *Bam*H I-*Sac* I พบว่ามี 2 โคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* (Rosetta strain) และผลจากการตรวจสอบโดยวิธี SDS-PAGE พบ band ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 59 กิโลดาลตัน แต่เมื่อนำไป purify โปรตีน ปรากฏว่า ได้ปริมาณโปรตีนน้อยมาก จึงได้ทำ subclone ใหม่ โดยนำพลาสมิดที่สกัดได้ (pTrcHis2-TOPO, Invitrogen) มาทำการเพิ่มจำนวนยีนด้วยเทคนิค PCR ใช้ไพรเมอร์ Lumi_OMPF 5’ CA CCGAAGTTGA TAAGGGTATG GGCG 3’ และ Lumi_OMPR 5’ CTACATGC

GATTACCTAT ACGAAAACC 3' และใช้ Deep Vent DNA Polymerase (Proof reading) แทน *Taq* Polymerase เพื่อให้ได้ PCR Product ที่เป็น blunt ends โดยใช้ปฏิกิริยาดังนี้

dNTPs (10 mM)	1.0	ไมโครลิตร
Lumi_OMPF (20 uM)	1.0	ไมโครลิตร
Lumi_OMPR (20 uM)	1.0	ไมโครลิตร
Deep Vent DNA Polymerase	1.0	ไมโครลิตร
Buffer	1.0	ไมโครลิตร
template	1.0	ไมโครลิตร
dH_2O	19.0	ไมโครลิตร
รวม	**25.0**	ไมโครลิตร

นำหลอดที่ผสมปฏิกิริยามาใส่ในเครื่อง Thermal cycler เพื่อสังเคราะห์ DNA ตาม program ดังนี้

94° ซ	5	นาที	
Denature 94° ซ	1	นาที	30 รอบ
Annealing 58 ° ซ	1	นาที	
Extension 72 ° ซ	1	นาที	
Final extension 72° ซ	5	นาที	

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

นำ PCR product นำมาเชื่อมต่อ (ligation) เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen) และถ่ายเข้าสู่ (transformation)เข้า *E. coli* Top 10 โดยใช้ $CaCl_2$ ที่ 42°C นาน 90 วินาที และแช่บนน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที จากนั้นทำการคัดเลือกโคลนบนอาหาร 2XYT ที่มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมอยู่ (ขั้นตอนเหมือนข้อ 1.5) ตรวจสอบโคลนด้วยเทคนิค PCR และส่งหาลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง จากนั้น transform เข้า competent cell ของ *E. coli* BL21 (DES 3) โดยใช้ $CaCl_2$ ที่ 42°C นาน 90 วินาที และแช่บนน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที คัดเลือกโคโลนีของพลาสมิดบนอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อนำไปสังเคราะห์โปรตีนในขั้นตอนต่อไป

2. การวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนำการสังเคราะห์ recombinant protein ในเซลล์แบคทีเรีย

เลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* BL21 (DES 3) ที่มีพลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO® - *omp* ในอาหารเหลว 2XYT 100 มิลลิลิตร ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เขย่า 170 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็น starter จากนั้นแบ่งใส่ในอาหารเหลว 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ในอัตราส่วนของเชื้อ 10 % ของอาหาร เขย่าต่ออีก 2 ชั่วโมง จากนั้นเติม Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1 มิลลิโมลาร์ เลี้ยงเชื้อต่อโดยการเขย่าบนเครื่อง shaker และเก็บตัวอย่างเซลล์หลังการเติม IPTG ที่ 2 4 6 และ 24 ชั่วโมง ครั้งละ 1 มิลลิลิตร นำมาปั่นตกตะกอน ที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 2 นาที ละลายตะกอนเซลล์ด้วยน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 50 ไมโครลิตร และเก็บไว้ที่ -20 °ซ จากนั้นแล้วเติม 2xSDS-PAGE sample buffer (0.125 Tris-HCl pH 6.8, 20% glycerol, 4% SDS, 0.02% bromophenol blue R250, 5% β-Mercaptoethanol) 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 10 นาที แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE (Laemmli, 1970)

3. การแยกโปรตีนของเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column

นำแบคทีเรีย *E. coli* BL21 (DES 3) ที่มีพลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO® - *omp* หลังจากลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT ที่เวลาอันเหมาะสมในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน มาปั่นตกตะกอนที่ 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที (4°ซ) นำตะกอนมาผสมกับน้ำที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (ตะกอน 1 กรัม/น้ำ 10 มิลลิลิตร) จากนั้นเติม lysozyme เพียงเล็กน้อยประมาณเท่าหัวไม้ขีดไฟ (ต่ออาหารเหลว 1 ลิตร) และกวนให้เข้ากันจนเหนียว เก็บที่ -20 °ซ ข้ามคืน จากนั้นนำมาเติมด้วย lysis buffer (Buffer B : 50 mM $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, 10 mM Tris-HCl (MW.=121.1) และ 8 M Urea, pH 8.0) ในอัตรา 50 มิลลิลิตร/อาหารเหลว 1 ลิตร และนำมาทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่อง sonicator แบบ probe (power 45-50, cycle 50%) ครั้งละ 5 นาที จนกว่าเซลล์จะหายหนืดและใส แล้วนำไปปั่นที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที (4 °ซ) เก็บน้ำใสไปแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column (อัตรา 2 มิลลิลิตร/อาหารเหลว 1 ลิตร) เริ่มจากการล้าง column หลังแพ็คแล้ว ด้วย buffer B จากนั้นเทส่วนน้ำใสให้ผ่าน column และล้าง column ด้วย buffer C (pH 6.3) และ buffer D (pH 5.9) ก่อนที่จะใส่ buffer E (pH 3.9) เพื่อแยกโปรตีนออกจากเจลใน column เก็บเป็น fraction หลอดละ 500 ไมโครลิตร เพื่อนำไปตรวจสอบขนาดของโปรตีนว่าอยู่ใน fraction ใด โดยเทคนิค SDS-PAGE และคำนวณปริมาณโปรตีนที่ผ่าน column โดยใช้สูตรของ Bradford's

4. การผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลอง

ผสมโปรตีนของเชื้อที่บริสุทธิ์ (1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)กับ complete Freund's adjuvant ในอัตรา 1:1 ให้เข้ากันเป็น emulsion สำหรับการฉีดกระต่ายครั้งแรก และใช้ incomplete Freund's adjuvant ในอัตรา 1:1 สำหรับการฉีดครั้งต่อๆไปอีก 4 ครั้ง การฉีดทุกครั้งเป็นการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous) บริเวณคอ ประมาณ 4-5 จุดต่อการฉีดแต่ละครั้ง ทำการฉีดทุก 2 สัปดาห์ เริ่มทำการเจาะเลือดที่เส้นเลือดบริเวณใบหู หลังจากการฉีดครั้งที่ 2 และดำเนินการเจาะเลือดทุก 2 สัปดาห์อีก 5 ครั้ง นำเลือดที่เจาะได้มาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บที่ 4 °C อีก 24 ชั่วโมง รินส่วนน้ำใสมาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 g นาน 10 นาที เก็บน้ำใสที่เป็นส่วนของแอนติบอดีไว้ที่ -80 °C

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2548 - กันยายน 2552
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การ Subclone ยีน outer membrane protein (*omp*)

หลังจาก subclone ยีน *omp* ขนาด 996 คู่เบส เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen) ซึ่งเป็น protein expression vector (ขนาด 5.8 กิโลเบส) (ภาพที่ 1) และ transform เข้า *E. coli* Top 10 พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1128 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วยยีน *omp* ขนาด 996 คู่เบส + Lumio tag 132 คู่เบส (ภาพที่ 2) จากนั้นคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน

2. การวิเคราะห์ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการชักนำการสังเคราะห์ recombinant proteinในเซลล์แบคทีเรีย

หลังจากการเติมสาร IPTG เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการแสดงออกของยีน จากนั้นทำการเก็บเซลล์ที่ 2 4 6 และ 24 ชั่วโมง เมื่อนำมาตรวจหาระยะเวลาที่เริ่มมีการสังเคราะห์โปรตีน

ตั้งแต่ 4 ชั่วโมง และพบมากที่สุดเมื่อปล่อยให้เกิดการชักนำข้ามคืน โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE พบ band ที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 41 กิโลดาลตัน ซึ่งมีค่าเท่ากับปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้พลาสมิดสายผสม (41.3 กิโลดาลตัน) (ภาพที่ 3)

3. การแยกโปรตีนของเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column

จากการตรวจปริมาณโปรตีนทีหลังการแยกให้บริสุทธิ์ด้วย Ni-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ปรากฏว่า เริ่มพบ band ขนาด 41 กิโลดาลตันตั้งแต่ fraction ที่ 3 -13 (F3-F13) แต่มีปริมาณโปรตีนสูงตั้งแต่ F7-F10 จึงเก็บน้ำใสของ F4-F11 มารวมกัน และจากการคำนวนหาปริมาณโปรตีนที่สังเคราะห์ได้ พบว่ามีปริมาณ 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งนำไปผสมกับ Freund's adjuvant ครั้งละ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

4. การผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลอง

ดำเนินการฉีดกระต่าย จำนวน 5-6 ครั้ง และเจาะเลือดครั้งละประมาณ 30-40 มิลลิลิตร เพื่อนำไปปั่น และเก็บน้ำใส ได้แอนติบอดีครั้งละ 10-15 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่ -80 °ซ เพื่อจะนำไปตรวจหาไตเตอร์ของแอนติบอดีจากการเจาะเลือดแต่ละครั้ง จากนั้นจึงทำการตรวจสอบประสิทธิภาพของแอนติบอดีในการตรวจสอบกับพืชตระกูลส้มต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการ subclone ยีน *omp* ขนาด 996 คู่เบส เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen) ซึ่งเป็น protein expression vector (ขนาด 5.8 กิโลเบส) และ transform เข้า *E. coli* Top 10 พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1128 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วยยีน *omp* ขนาด 996 คู่เบส + Lumio tag 132 คู่เบส จากนั้นคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน พบว่าระยะเวลาที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้สูงสุด คือ 24 ชั่วโมง โดยให้โปรตีนที่มีขนาดประมาณ 41 กิโลดาลตัน จากนั้นนำไปผ่าน Ni-NTA column ได้โปรตีนที่มีขนาด 41 กิโลดาลตัน ใน fraction ที่ 3-13 และมีปริมาณ 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ได้จากการคำนวณโดยใช้สูตร Bradford แล้วนำโปรตีน 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไปฉีดเข้าใต้ผิวหนัง บริเวณคอของกระต่ายโดยผสมกับ Freund's adjuvant ทุก 2 สัปดาห์ รวม 5-6 ครั้ง และเจาะเลือดเพื่อแยกแอนติบอดีออกมาจากเม็ดเลือดแดง ขณะนี้กำลังทดสอบไตเตอร์ของแอนติบอดีจากการเจาะเลือดแต่ละครั้งก่อนจะนำไปตรวจสอบกับพืชตระกูลส้มต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ไมตรี พรหมมินทร์. 2540. โรคไวรัสและโรคคล้ายไวรัสของส้ม เอกสารวิทยาการส้มทางเลือกปัจจุบันสู่อนาคต สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกับศูนย์วิจัยและพัฒนาไม้ผลเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 7-11 กรกฎาคม 2540 ณ โรงแรมมารวย การ์เด้น กรุงเทพฯ 16 หน้า.

ลำพึง เรียงวงษ์ สุภาภรณ์ เอี่ยมเข่ง และ อรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์. 2547. การสังเคราะห์โปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองกระเจี๊ยบเขียวในระบบเซลล์แบคทีเรีย. รายงานการประชุมทางวิขาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. 3-6 กุมภาพันธ์ 2547.หน้า 110-117.

Bastianel, C., M. Garnier-Semancik, J. Renaudin, J.M. Bove and S. Eveillard. 2005. Diversity of "*Candidatus* Liberibacter asiaticus," Based on the *omp* gene sequence. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 6473-6478.

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

Druka, A., Burns, T., Zhang, S. and R. Hull. 1996. Immunological characterization of rice tungro spherical virus coat proteins and differentiation of isolates from the Philippines and India. *J. Gen. Virology*. 77: 1975-1983.

Ke, C., Ke, S., Wu, R.J., Yang, H. and P.T. Hsu. 1993. Purification and serology of the organism associated with citrus Huanglongbing. *In* Proc. 12th Conf. Int. Organ. Citrus Virol., pp. 220-223, University of California, Riverside.

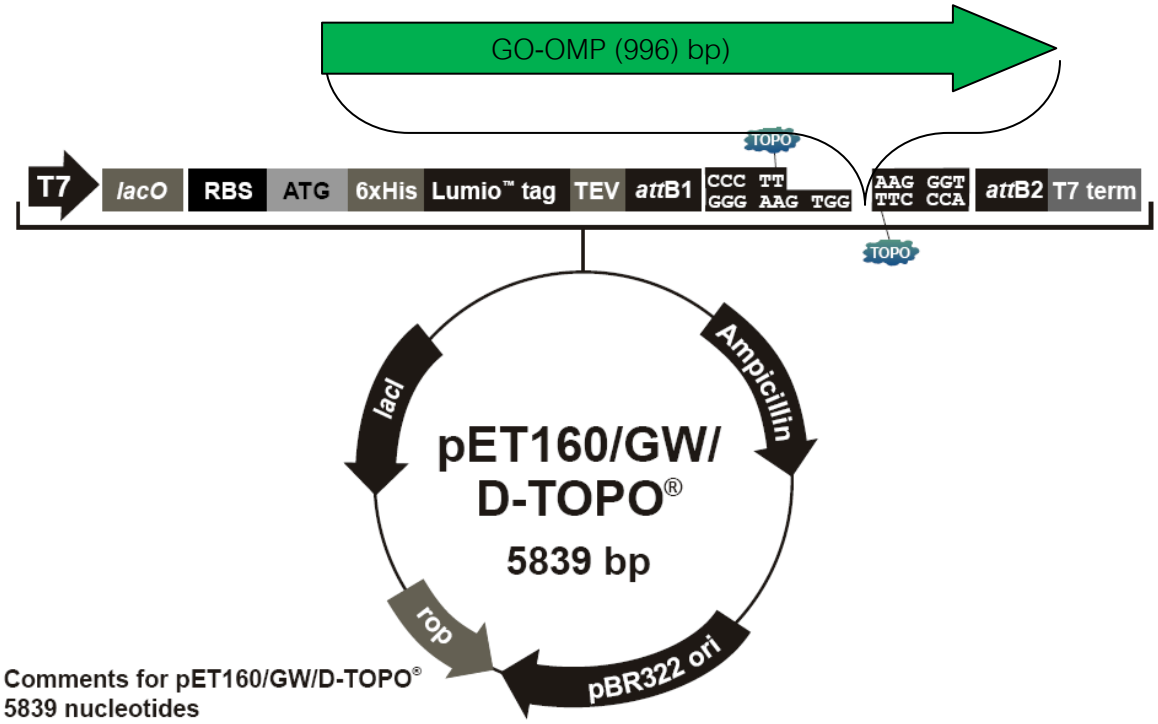
Laemmli, E.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T 4. *Nature.* 227: 680-685.

Murray, R.G.E. and K.H. Schleifer. 1994. Taxonomic notera proposal for recording the properties of pulative taxa of prokaryotes. *J. Sys. Bacteriol.* 44: 174-176.

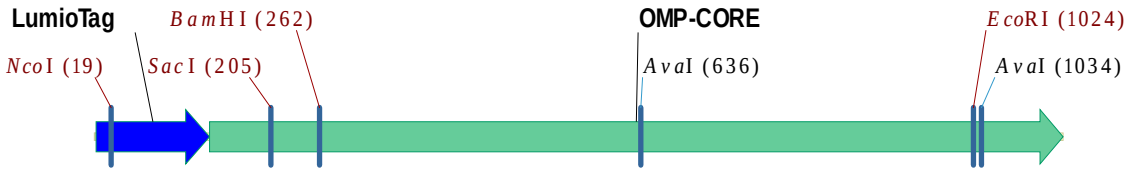
Ohtsu, Y., Prommintara, M., Kawashima, K., Okuda, S., Goto, T., Yamamoto, M., Kiratiya-angul, S., Choopanya, D. and T. Kano. 1995. Development of methods for the diagnosis and control of citrus greening disease in Thailand. Final report under the cooperation research program between Thailand and Japan. 63 p.

Ohtsu, Y., Prommintara, M., Okuda, S., Goto, T., Kano, T. Nakashima, K., Koiszumi, M. Imada, J. and K. Kawashima. 2002. Partial purification of Thai isolate of citrus huanglongbing (greening) bacterium and antiserum production for serological diagnosis. J. Gen. Plant Pathol. 68 : 372-377.

Villechanoux, S., Garnier, M. and J.M. Bove. 1990. Purification of bacterium-like organism associated with greening disease of citrus by immunoaffinity chromatography and monoclonal antibodies. Curr. Microbiol. 21 : 175-180.



ภาพที่ 1. subcloning ยีน *OMP* ขนาด 996 คู่เบส เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen)

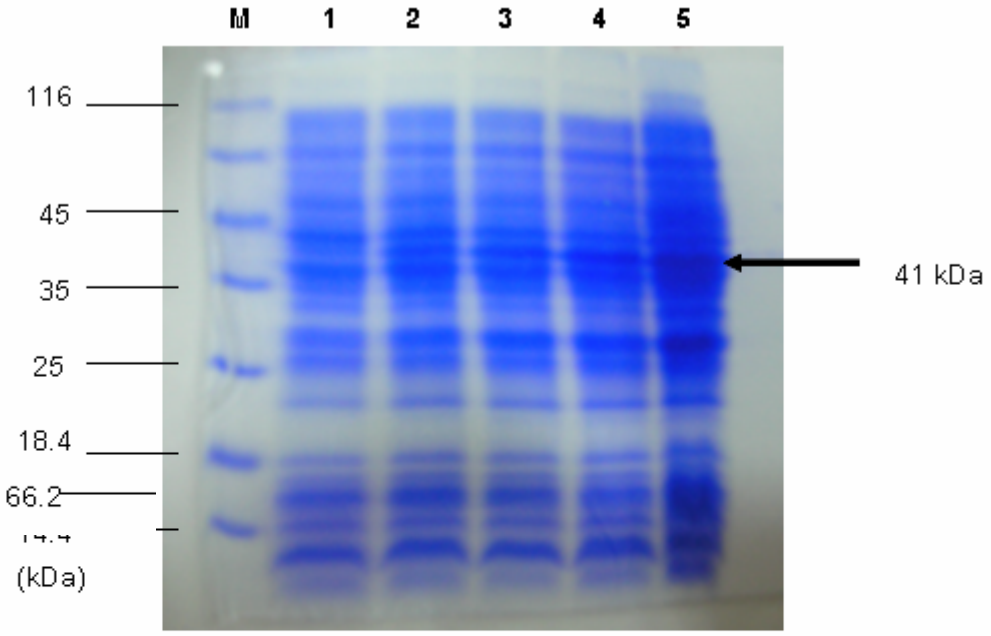


OMP-CORE+132

1128 bp

```
                M H H H H H H G A G G C C P G C C G G G
1               ATGCATCATC ACCATCACCA TGGTGCTGGT GGCTGTTGTC CTGGCTGTTG CGGTGGCGGC
                TACGTAGTAG TGGTAGTGGT ACCACGACCA CCGACAACAG GACCGACAAC GCCACCGCCG
                  E N L Y F Q G I I T S L Y K K A G S A A
61              GAAAACCTGT ATTTTCAGGG AATTATCACA AGTTTGTACA AAAAAGCAGG CTCCGCGGCC
                CTTTTGGACA TAAAAGTCCC TTAATAGTGT TCAAACATGT TTTTTCGTCC GAGGCGCCGG
                  A P F T E V D K G M G V E G H I D D N N
121             GCCCCCTTCA CCGAAGTTGA TAAGGGTATG GGCGTAGAAG GGCATATTGA TGATAATAAC
                CGGGGGAAGT GGCTTCAACT ATTCCCATAC CCGCATCTTC CCGTATAACT ACTATTATTG
                  F F G Q G Y R A R L A A G F G R H A V Q
181             TTTTTTGGTC AGGGGTATAG AGCTCGTTTA GCGGCAGGGT TTGGACGTCA TGCAGTACAA
                AAAAAACCAG TCCCCATATC TCGAGCAAAT CGCCGTCCCA AACCTGCAGT ACGTCATGTT
                  N Y T F S V E D P Y F L G S P I S A G F
241             AACTATACTT TTAGTGTTGA GGATCCATAT TTTTTAGGGA GTCCTATATC CGCGGGTTTT
                TTGATATGAA AATCACAACT CCTAGGTATA AAAAATCCCT CAGGATATAG GCGCCCAAAA
                  D L Q K T H L E D G S L D I N D E S A A
301             GATCTCCAAA AAACCCATCT TGAAGATGGC TCTCTTGACA TAAATGATGA ATCTGCTGCT
                CTAGAGGTTT TTTGGGTAGA ACTTCTACCG AGAGAACTGT ATTTACTACT TAGACGACGA
                  V R M I V P I T E S I S T S F K Y D L R
361             GTACGTATGA TAGTTCCTAT TACTGAAAGC ATATCGACAA GTTTTAAGTA TGATCTTAGG
                CATGCATACT ATCAAGGATA ATGACTTTCG TATAGCTGTT CAAAATTCAT ACTAGAATCC
                  F L Q Y G A I S E K E K I P S I Y T T L
421             TTTTTACAAT ATGGTGCTAT ATCAGAAAAA GAAAAGATCC CTTCGATATA TACAACGTTA
                AAAAATGTTA TACCACGATA TAGTCTTTTT CTTTTCTAGG GAAGCTATAT ATGTTGCAAT
                  I E H G K F S S H S I S Q S I I Y N T L
481             ATAGAACATG GAAAATTCAG CAGCCATTCT ATTTCCCAAA GTATCATCTA TAATACACTA
                TATCTTGTAC CTTTTAAGTC GTCGGTAAGA TAAAGGGTTT CATAGTAGAT ATTATGTGAT
                  D N P I V P R K G M L I S S S Y D Y A G
541             GATAACCCAA TTGTGCCACG TAAAGGCATG TTGATATCAT CTTCTTATGA TTATGCAGGT
                CTATTGGGTT AACACGGTGC ATTTCCGTAC AACTATAGTA GAAGAATACT AATACGTCCA
                  F G G D S Q Y H R I G S R A S Y F Y L L
601             TTTGGAGGAG ATTCTCAATA TCATCGGATT GGATCTCGAG CATCGTATTT TTATCTTCTA
                AAACCTCCTC TAAGAGTTAT AGTAGCCTAA CCTAGAGCTC GTAGCATAAA AATAGAAGAT
                  S D D S D I V G S L R F G Y G C V I P S
661             TCAGATGATT CTGATATTGT CGGTTCTTTA CGATTTGGAT ATGGATGTGT CATTCCTAGC
                AGTCTACTAA GACTATAACA GCCAAGAAAT GCTAAACCTA TACCTACACA GTAAGGATCG
                  N K N L Q L F D Q F S V S S N Y Y L R G
721             AATAAAAATT TGCAATTGTT TGATCAGTTC TCAGTGAGTT CGAATTATTA TCTGAGGGGA
                TTATTTTTAA ACGTTAACAA ACTAGTCAAG AGTCACTCAA GCTTAATAAT AGACTCCCCT
                  F A Y K G I G P R V D K K Y A I G G K I
781             TTTGCATATA AGGGTATAGG TCCGCGTGTG GATAAGAAAT ATGCGATTGG AGGTAAGATT
                AAACGTATAT TCCCATATCC AGGCGCACAC CTATTCTTTA TACGCTAACC TCCATTCTAA
                  Y S S A S A A V S F P M P L V P E R A G
841             TATTCGTCTG CAAGTGCAGC AGTGAGTTTT CCCATGCCTC TTGTTCCTGA AAGGGCTGGT
                ATAAGCAGAC GTTCACGTCG TCACTCAAAA GGGTACGGAG AACAAGGACT TTCCCGACCA
                  L R G A F F V D S A T L Y A N H V A L G
901             TTGCGTGGTG CTTTTTTTGT TGATTCTGCG ACTCTTTATG CAAATCATGT TGCTCTCGGT
                AACGCACCAC GAAAAAAACA ACTAAGACGC TGAGAAATAC GTTTAGTACA ACGAGAGCCA
                  A D K L E G N D S F W R V S T G V E I M
961             GCCGATAAGC TGGAAGGGAA TGATTCTTTC TGGCGTGTTT CTACTGGAGT AGAAATAATG
                CGGCTATTCG ACCTTCCCTT ACTAAGAAAG ACCGCACAAA GATGACCTCA TCTTTATTAC
                  W N S P L G M M G V Y Y G I P L R H R E
1021            TGGAATTCTC CACTCGGGAT GATGGGTGTC TATTATGGTA TACCATTGCG TCACCGAGAG
                ACCTTAAGAG GTGAGCCCTA CTACCCACAG ATAATACCAT ATGGTAACGC AGTGGCTCTC
                  G D K I Q Q F G F R I G N R M *
1081            GGTGATAAAA TTCAGCAGTT TGGTTTTCGT ATAGGTAATC GCATGTAG
                CCACTATTTT AAGTCGTCAA ACCAAAAGCA TATCCATTAG CGTACATC
```

ภาพที่ 2. ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดนิวคลิอิคของยีน *OMP* (996 bp) + Lumio tag 132 bp

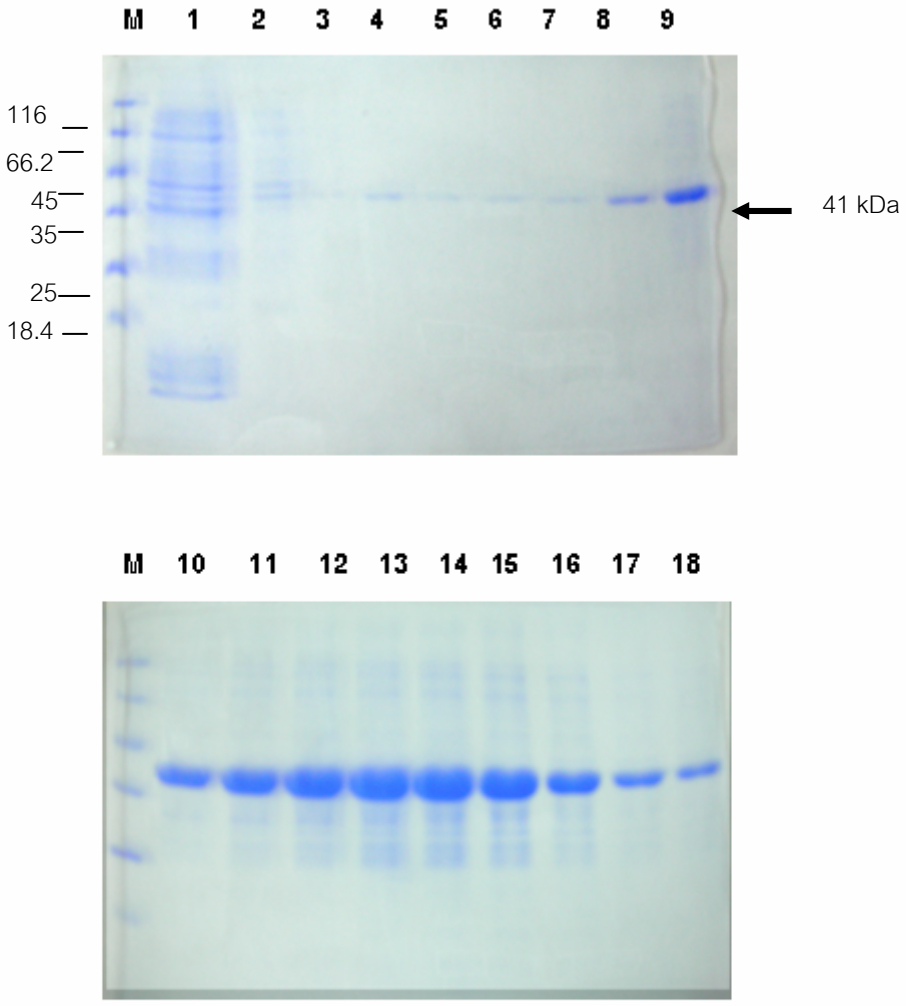


ภาพที่ 3. ผลการชักนำให้สร้างโปรตีนในพลาสมิดสายผสม pET160/GW/D-TOPO® - *omp* ด้วยสาร IPTG ที่ระยะเวลาต่างๆกัน ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

M : โปรตีนมาตรฐาน (Fermentas)

1 : โปรตีนที่แยกได้ก่อนการชักนำด้วย IPTG

2-5 : โปรตีนที่แยกได้หลังการชักนำ 2 4 6 และ 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 4. ปริมาณโปรตีนที่สังเคราะห์ได้หลังจากผ่านNi-NTA column ด้วยเทคนิค SDS-PAGE

M : โปรตีนมาตรฐาน (Fermentas)

1-5 : โปรตีนที่แยกได้หลังจากล้าง column ด้วย washing buffer

6-18 : โปรตีนที่แยกได้ในแต่ละ fraction ตั้งแต่ 1-13 หลังการใช้ eluting buffer

การผลิตแอนติซีรัมของไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus*-2 สาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรดโดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย

Antiserum production of *Pineapple mealybug wilt-associated virus*-2 causing pineapple wilt disease by bacterial cell system

วันเพ็ญ ศรีทองชัย ศรีเมฆ ชาวโพงพาง เยาวภา ตันติวานิช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

นำใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวมาแยกสกัดอาร์เอ็นเอ โดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (RNeasy Kit ของ QIAGEN) แล้วนำไปเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์จากส่วนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่Lumi_PMWaV2F (5' CACCGCTCA GAATTACGTAGCCGTAGTAGA 3') และ Lumi_PMWaV2R (5' CCCTGAAACAGCTCCCTG GTTCAGCT 3') สังเคราะห์ ได้ชิ้นของดีเอ็นเอ ขนาด 909 คู่เบส จากนั้นนำไปโคลนเข้าสู่ cloning vector (pCR®8/GW/TOPO® , Invitrogen) และคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Miniprep แล้วส่งไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 909 คู่เบส หลังจากนั้น subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-2 เข้าสู่ protein expression vector (pET160/GW/D-TOPO® , Invitrogen) ซึ่งมีขนาด 5.8 กิโลเบส และ transform เข้า *E. coli* Top 10 ตรวจพบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1041 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วยยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส PMWaV-2 ขนาด 909 คู่เบส + Lumio tag 132 คู่เบส ขณะนี้กำลังดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร- และที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน

รหัสการทดลอง 09-01-49-02-03-04-10-51

คำนำ

สับปะรด [*Ananas comosus* (L.) Merr.] อยู่ในวงศ์ Bromeliaceae เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถปลูกและเก็บผลผลิตได้ตลอดปี เพื่อใช้บริโภคสดภายในประเทศและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ มีมูลค่าส่งออกประมาณปีละ13,000-15,000 ล้านบาท โดยประเทศไทยครองความเป็นผู้นำในการผลิตและส่งออกสับปะรดเป็นอันดับหนึ่งของโลก เป็นเวลานานกว่า 10 ปีจนถึงปัจจุบัน โดยมีตลาดผู้นำเข้าที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป ญี่ปุ่น และสาธารณรัฐประชาชนจีน (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2547)

ศัตรูพืชเป็นอุปสรรคสำคัญในการปลูกสับปะรด ทำให้ผลผลิตและคุณภาพสับปะรดเสียหายอย่างรุนแรง จนบางครั้งไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ ศัตรูสำคัญที่สุดที่กำลังเป็นปัญหาสำคัญต่อการปลูกสับปะรดของไทยในปัจจุบัน ได้แก่ โรคเหี่ยวสับปะรด (Pineapple wilt disease หรือ Mealybug wilt of pineapple) พบระบาดเป็นครั้งแรกในรัฐฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา เมื่อต้นปี พ.ศ. 2443 และปัจจุบันโรคนี้แพร่ระบาดทั่วไปในประเทศที่มีการปลูกสับปะรดเป็นการค้า เช่น ออสเตรเลีย ไทยและคิวบา เป็นต้น สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่าพบการระบาดของโรคเหี่ยวในแหล่งปลูกสับปะรดของจังหวัดชลบุรีตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 และทำความเสียหายให้แก่ผลผลิตอย่างสูง ต่อมาในปี พ.ศ. 2546 โรคนี้ระบาดรุนแรงในแปลงปลูกสับปะรดของภาคตะวันตกบริเวณจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และเพชรบุรี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสำคัญของประเทศ โดยมีพื้นที่ปลูกสับปะรดเป็นอันดับ 1 และ 3 ของประเทศ คือ 492,058 และ 56,192 ไร่ ตามลำดับ จากพื้นที่ปลูกทั้งประเทศ 962,693 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2546; กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547) นอกจากนี้เริ่มพบการเข้าทำลายของโรคนี้ในเขตจังหวัดชลบุรี ระยอง และตราด ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสับปะรดที่สำคัญเพื่อส่งโรงงานแปรรูปของภาคตะวันออก พันธุ์ที่พบว่ามีการระบาดของโรคเหี่ยวคือพันธุ์ปัตตาเวีย หรือรู้จักแพร่หลายในนามสับปะรดศรีราชา ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มพันธุ์ Smooth Cayenne เป็นพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 70 ของผลผลิตรวมของสับปะรด เพราะนอกจากนิยมปลูกเพื่ออุตสาหกรรมแปรรูปแล้ว ยังเป็นพันธุ์ที่นิยมใช้บริโภคผลสดอีกด้วย (วันเพ็ญ, 2546)

โรคนี้เกิดจากไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus* (PMWaVs ได้แก่ PMWaV-1 และ PMWaV-2) ซึ่งมีอนุภาคแบบท่อนยาวคด (flexuous rod) ขนาดประมาณ 1,200 X 12 นาโนเมตร กรดนิวคลีอิคเป็นแบบอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (single-stranded RNA, ssRNA) และมีน้ำหนักโมเลกุล 8.35 x 10^6 ดาลตัน (dalton) จัดอยู่ในสกุล คลอสเตอโรไวรัส (*Closterovirus*) วงศ์ คลอสเตอโรวิริดี (*Closteroviridae*) กระจายอยู่หนาแน่นเฉพาะภายในเซลล์ท่ออาหารของพืช (Beardsley, 1993)

ลักษณะอาการของโรค ใบเริ่มแสดงอาการอ่อนนิ่ม มีสีเขียวอ่อนหรือสีเหลือง ปลายใบแห้งตายเป็นสีน้ำตาลหรือสีแดงลามเข้าสู่โคนใบ (die back) ใบลู่ลงและแผ่แบนไม่ตั้งขึ้นเหมือนใบปกติ

ต่อมาต้นเหี่ยวและแห้งตายในที่สุด รากมีขนาดสั้นและแตกแขนงน้อยมาก ทำให้ถอนต้นขึ้นมาได้ง่าย ซึ่งตรงข้ามกับต้นปกติที่มีรากจำนวนมากยึดเกาะดินแน่น ทำให้ถอนต้นขึ้นมาได้ยาก ผลมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้ (Dilokkunanant *et al*., 1996) ในธรรมชาติพืชอาศัยที่สำคัญและอ่อนแอต่อไวรัส คือ สับปะรด และโรคนี้สามารถถ่ายทอดโดยมีเพลี้ยแป้ง [pink pineapple mealybug, *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) และ gray pineapple mealybug, *D. neobrevipes* (Beardsley)] เป็นพาหะ (German *et al*, 1992)

วิธีการที่สามารถใช้จำแนกไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2 คือ วิธีอิมมูโนวิทยา (Immunology) โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อไวรัส PMWaV-1 และ PMWaV-2 (Sether & Hu, 2002) และวิธี RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับไวรัสแต่ละชนิด (Beardsley, 1993; Hu *et al*., 1996) ซึ่งให้ผลที่แม่นยำ และรวดเร็ว แต่ต้องอาศัยความชำนาญเฉพาะด้านรวมทั้งต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการตรวจสอบหน่อพันธุ์สับปะรดเป็นจำนวนมาก และในฮาวายมีรายงานว่า สับปะรดจะแสดงอาการเหี่ยว เมื่อได้รับเชื้อไวรัส PMWaV-2 และไม่แสดงอาการของโรคถ้าได้รับเชื้อ PMWaV-1 เพียงชนิดเดียว แต่ถ้าได้รับเชื้อทั้งสองชนิด สับปะรดจะแสดงอาการเหี่ยวอย่างรุนแรง ฉะนั้นควรมีการผลิตแอนติซีรัมของ PMWaV-2 เพื่อใช้ในการคัดเลือกหน่อพันธุ์ปลอดโรคเพื่อนำไปปลูกในปริมาณมาก เพราะเป็นวิธีที่ง่าย ค่าใช้จ่ายไม่สูง และสามารถตรวจตัวอย่างได้ครั้งละเป็นจำนวนมาก แต่เนื่องจากปริมาณของคลอสเตอโรไวรัสในพืชมีน้อย ทำให้ประสิทธิภาพของแอนติซีรัมที่ผลิตได้ยังไม่ดีที่สุด ในปัจจุบันอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพทำให้สามารถผลิตโปรตีนต่างๆในเซลล์แบคทีเรียในปริมาณมากได้ และมีความบริสุทธิ์สูง จึงเป็นการเพิ่มปริมาณแอนติเจนเพื่อนำไปผลิตแอนติซีรัมในสัตว์ทดลองต่อไป

Druka และคณะ (1996) รายงานการผลิตแอนติซีรัมจากชิ้นของ coat protein ยีน จากสายพันธุ์ข้าวของประเทศฟิลิปปินส์ โดยนำมาโคลนเข้า vector แล้วนำไปเชื่อมกับ MBP fusion proteinsจากนั้นนำไปฉีดกระตุ้นกระต่ายให้สร้างแอนติบอดี แอนติซีรัมที่ผลิตได้สามารถตรวจวินิจฉัยไวรัสใบสีส้มรูปทรงกลมได้โดยวิธี ELISA, Western blotting และ IEM ต่อมา Cerovska และคณะ (2003) ได้ทำการผลิตโพลีคลอนอลแอนติบอดีจากยีนโปรตีนห่อหุ้มไวรัส (ยีน CP) ของเชื้อ *Potato mop-top virus* (PMTV) โดยโคลนชิ้นของยีน CP เข้าสู่ expression vector แล้วเพิ่มปริมาณโปรตีนในเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* จากนั้นนำมาแยกให้บริสุทธิ์และฉีดเข้าสัตว์ทดลองเพื่อผลิตแอนติซีรัม จากการทดสอบพบว่าแอนติซีรัมที่ได้สามารถใช้ตรวจหาไวรัส PMTVได้ผลดีโดยใช้เทคนิค ELISA หรือ Osmar และคณะ (2004) ได้นำยีน CP ของเชื้อ *Apple stem grooving virus* (ASGV) มาเพิ่มปริมาณโดยเทคนิค RT-PCR นำไปโคลนใน vector ตรวจหาลำดับเบส และ โคลนเข้าสู่ expression vector แล้วเพิ่มปริมาณโปรตีนในเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* จากนั้นนำมาแยกให้บริสุทธิ์และฉีดเข้าสัตว์ทดลองเพื่อผลิตแอนติซีรัม จากการทดสอบพบว่าแอนติซีรัมที่ได้สามารถใช้

ตรวจหาไวรัส ASGV ได้ผลดีโดยใช้เทคนิค ELISA นอกจากนี้ ลำพึง และคณะ (2547) ได้ทำการสังเคราะห์โปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองกระเจี๊ยบเขียวในระบบเซลล์แบคทีเรีย และแยกโปรตีนออกจากเซลล์แบคทีเรีย และนำไปฉีดกระตุ้นกระต่ายทดลองเพื่อผลิตแอนติซีรัมที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจเชื้อไวรัสสาเหตุโรค ฉะนั้นควรพัฒนาวิธีการผลิตแอนติซีรัมของ PMWaV-2 โดยอาศัยเทคโนโลยีชีวภาพ ได้แก่ การโคลนยีน และนำมาเพิ่มปริมาณโปรตีนของเชื้อในเซลล์แบคทีเรีย ก่อนนำไปฉีดเข้ากระต่าย เพื่อให้ได้แอนติซีรัมที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับใช้ในการคัดเลือกหน่อพันธุ์ปลอดโรคเพื่อนำไปปลูกในปริมาณมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวที่เกิดจากไวรัส PMWaV-2
2. ไพรเมอร์
3. พลาสมิดพาหะ (cloning และ expression vectors)
4. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนของการโคลนยีน
5. กระต่าย อุปกรณ์และสารเคมีในการผลิตแอนติซีรัม
6. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

วิธีการ

1. การโคลนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (coat protein gene, CP)

1.1 การออกแบบไพรเมอร์

ออกแบบไพรเมอร์ จำนวน 1 คู่ จากส่วนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค(cp gene) ของเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคเหี่ยวสับปะรด ซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงกับ PMWaV-2 ได้แก่

Lumi_PMWaV2F 5' CACCGCTCAGAATTACGTAGCCGTAGTAGA 3'

Lumi_PMWaV2R 5' CCCTGAAACAGCTCCCTGGTTCAGCT 3'

เพื่อนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณของชิ้นดีเอ็นเอ ในกระบวนการ cloning เข้าสู่ vector

1.2 การแยกสกัดอาร์เอ็นเอของเชื้อ

โดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (RNeasy Kit ของ QIAGEN) มีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งใบสับปะรดที่มีอาการของโรค ประมาณ 0.1 กรัม บดในโกร่งที่เย็นโดยการเติมไนโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียด ใช้ช้อนสเตนเลสที่ผ่านเผาด้วยเปลวไฟ ตักผงละเอียดที่บดไว้ใส่หลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2. เติม buffer RLT ที่เติม beta mercaptoethanol (10 ไมโครลิตร/1 มิลลิลิตร RLT) 450 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยและนำหลอดไปแช่ที่ 56 °ซ นาน 1-3 นาที จากนั้นดูดส่วนผสมทั้งหมดใส่ใน QIAshredder spin column (สีม่วง) นำ column ซ้อนบนหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร หมุนเหวี่ยงตะกอนที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที น้ำไสจะผ่าน column ลงในหลอดที่รองรับขนาด 2 มิลลิลิตร ส่วนเศษชิ้นส่วนพืชติดอยู่ด้านบนcolumn

3. เติม absolute ethanol ในหลอดที่รองรับน้ำใส ปริมาตร 0.5 เท่า (225 ไมโครลิตร) ผสมให้เข้ากันโดยใช้ micropipette ดูดขึ้นลง

4. ดูดส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงใน RNeasy mini column (สีชมพู) และวางซ้อนบนหลอดขนาด 2 มิลลิลิตร และนำไปหมุนเหวี่ยงตะกอนที่ 12,00 รอบ/นาที นาน 15 วินาที

5. เททิ้งส่วนที่ผ่าน column แล้วเติมสารละลาย RW1 ลงใน column ปริมาตร 700 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,00 รอบ/นาที 15 วินาที

6. เททิ้งส่วนที่ผ่าน column แล้วล้าง column ด้วย RPE 500 ไมโครลิตร โดยการหมุนเหวี่ยง 12,000 รอบ/นาที 15 วินาที

7. ย้าย column ซ้อนบนหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำ (RNase-free water) 50 ไมโครลิตร ใน column เพื่อชะล้าง RNAจาก column รอประมาณ 1 นาที ก่อนนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 12,000 รอบ/นาที นาน 1 นาที อาร์เอ็นเอ ที่ได้ละลายในน้ำผ่าน column และถูกเก็บไว้ในหลอดรองรับ จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่ -80 °ซ

1.3 การเพิ่มปริมาณอาร์เอ็นเอด้วยเทคนิค RT-PCR และการโคลนยีน

นำอาร์เอ็นเอของเชื้อที่ได้จากการแยกสกัด มาทำปฏิกิริยา RT-PCR โดยใช้ชุด OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN) เพิ่มปริมาณของชิ้น cDNA โดยใช้ไพรเมอร์

Lumi_PMWaV2F 5' CACCGCTCAGAATTACGTAGCCGTAGTAGA 3'

Lumi_PMWaV2R 5' CCCTGAAACAGCTCCCTGGTTCAGCT 3'

โดยใช้ปฏิกิริยาดังนี้

RNase free water	15.0	ไมโครลิตร
5x QIAGEN OneStep RT-PCR Buffer	5.0	ไมโครลิตร
dNTPs (10 mM)	1.0	ไมโครลิตร

Lumi_PMWaV2F (20 uM)	0.5	ไมโครลิตร
Lumi_PMWaV2R (20 uM)	0.5	ไมโครลิตร
QIAGEN OneStep RT-PCR enz. Mix	1.0	ไมโครลิตร
RNA template	2.0	ไมโครลิตร
รวม	**25.0**	ไมโครลิตร

นำหลอดที่ผสมปฏิกิริยามาใส่ในเครื่อง Thermal cycler เพื่อสังเคราะห์ cDNA ตาม program ดังนี้

50 ° ซ 30 นาที

94° ซ 15 นาที (activated hot start *Taq* DNA pol, deactivated reverse)

Denature 94° ซ	45	วินาที	30 รอบ
Annealing 58 ° ซ	45	วินาที	
Extension 72 ° ซ	45	วินาที	
Final extension 72° ซ	5	นาที	

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

1.4 การต่อเชื่อม (ligation) PCR product เข้าสู่ พลาสมิดพาหะ (plasmid vector)

นำ PCR product 2 ไมโครลิตร ผสมกับ โคลนนิ่งเวคเตอร์ pCR®8/GW/TOPO® (Invitrogen) 1 ไมโครลิตร และ salt solution 1 ไมโครลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว / ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที จากนั้นดูดมา 3 ไมโครลิตรใส่ในหลอดของ One Shot® cell แช่ในน้ำแข็ง นาน 30 นาที แล้วทำการ heat shock cell โดยการแช่หลอดในน้ำที่มีอุณหภูมิ 42°C นาน 30 วินาที ก่อนย้ายไปแช่บนน้ำแข็งทันที เติมอาหาร SOC ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ก่อนนำไปเขย่าที่ 37°C นาน 30 นาที ดูดมา 50 ไมโครลิตร และเทแผ่ลงบนอาหารแข็ง 2XYT Agar (ที่มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร) บ่มที่ 37 °C ข้ามคืน

1.5 การสกัดโคลนของพลาสมิด และการเพิ่มจำนวนยีนโดยเทคนิค PCR

คัดเลือกเฉพาะโคโลนีสีขาวบนอาหารแข็ง 2XYT โดยใช้ไม้จิ้มฟันที่ปราศจากเชื้อแล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว 2XYT (มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมอยู่) เขย่าด้วยความเร็ว 170 รอบต่อนาที ที่ 37°ซ ข้ามคืน นำเชื้อที่อยู่ในอาหารเหลว 1 มิลลิลิตร มาหมุนเหวี่ยง

ที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เก็บตะกอนที่ได้มาละลายใน Solution I (25 mM Tris HCl pH 8.0, 50 mM glucose และ 10 mM EDTA) 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม Solution II (0.2 N NaOH, 1% SDS) 200 ไมโครลิตร เขย่าหลอดก่อนที่จะเติม Solution III (3 M potassium acetate pH 5.2) 150 ไมโครลิตร และ chloroform : isoamyl alcohol (24 :1) 150 ไมโครลิตร เขย่าและแช่บนน้ำแข็ง 10 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำส่วนของน้ำใสมาเติมด้วย หนึ่งเท่าโดยปริมาตรของ isopropanol และนำไปหมุนเหวี่ยง ที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที ล้างตะกอนที่ได้ด้วย 70% ethanol และหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม แล้วละลายตะกอนพลาสมิดด้วยน้ำ (มี RNase 2 % ผสมอยู่) 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่ 37 °ซ นาน 30 นาที

นำพลาสมิดที่สกัดได้ส่งตรวจเพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ จากนั้นทำการเพิ่มจำนวนยีนด้วยเทคนิค PCR ใช้ไพรเมอร์ Lumi_PMWaV2F และ Lumi_PMWaV2R และใช้ Deep Vent DNA Polymerase (Proof reading) แทน *Taq* Polymerase เพื่อให้ได้ PCR Product ที่เป็น blunt ends โดยใช้ปฏิกิริยาดังนี้

dNTPs (10 mM)	1.0	ไมโครลิตร
Lumi_PMWaV2F (20 uM)	1.0	ไมโครลิตร
Lumi_PMWaV2R (20 uM)	1.0	ไมโครลิตร
Deep Vent DNA Polymerase	1.0	ไมโครลิตร
Buffer	1.0	ไมโครลิตร
template	1.0	ไมโครลิตร
dH_2O	19.0	ไมโครลิตร
รวม	**25.0**	ไมโครลิตร

นำหลอดที่ผสมปฏิกิริยามาใส่ในเครื่อง Thermal cycler เพื่อสังเคราะห์ DNA ตาม program ดังนี้

94° ซ 5 นาที

Denature 94° ซ 1 นาที
Annealing 58 ° ซ 1 นาที } 30 รอบ
Extension 72 ° ซ 1 นาที

Final extension 72° ซ 5 นาที

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

1.6 การ subclone เข้าสู่ protein expression vector

นำ PCR product ที่ได้จากข้อ1.5 นำมาเชื่อมต่อ (ligation) เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen) และถ่ายเข้าสู่ (transformation)เข้า *E. coli* Top 10 โดยใช้ $CaCl_2$ ที่ 42°C นาน 90 วินาที และแช่บนน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที จากนั้นทำการคัดเลือกโคลนบนอาหาร 2XYT ที่มี ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร ผสมอยู่ (ขั้นตอนเหมือนข้อ 1.5) ตรวจสอบโคลนด้วยเทคนิค PCR และส่งหาลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง จากนั้น transform เข้า competent cell ของ *E. coli* BL21 (DES 3) โดยใช้ $CaCl_2$ ที่ 42°C นาน 90 วินาที และแช่บนน้ำแข็งทันที นาน 3 นาที คัดเลือกโคโลนีของพลาสมิดบนอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อนำไปสังเคราะห์โปรตีนในขั้นตอนต่อไป

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2551 - กันยายน 2553
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

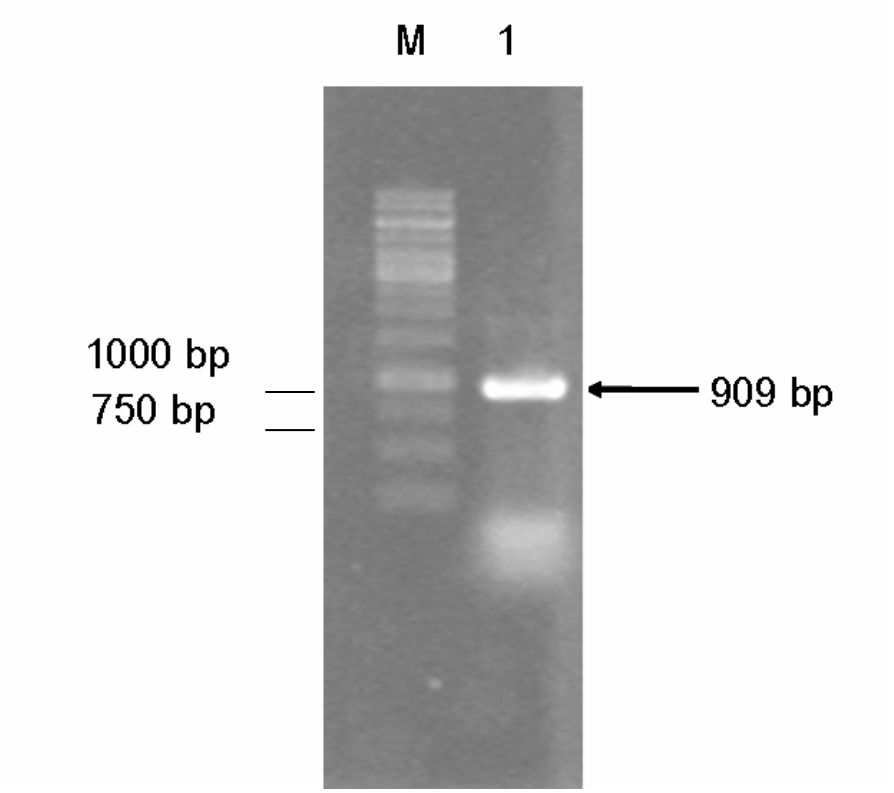
1. การโคลนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (coat protein gene, CP)

ปริมาณอาร์เอ็นเอของใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวที่เกิดจากไวรัส PMWaV-2 ที่ได้จากการสกัด และเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR ใช้ไพรเมอร์ Lumi_PMWaV2F และ Lumi_PMWaV2R จากการตรวจวิเคราะห์ขนาดของดีเอ็นเอ ด้วย agarose gel electrophoresis พบ แถบดีเอ็นเอขนาด 909 คู่เบส (bp) (ภาพที่ 1)

การตรวจสอบโคลนต่างๆของพลาสมิด pCR®8/GW/TOPO® หลังต่อเชื่อมกับ PCR product (909 คู่เบส) โดยการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส ด้วยเครื่อง Sequencer พบว่าเป็นลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-2 (ภาพที่ 2)

หลังจาก subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-2 ขนาด 909 คู่เบส เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen) ซึ่งเป็น protein expression vector (ขนาด 5.8 กิโลเบส) (ภาพที่ 3) และ transform เข้า *E. coli* Top 10 พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์

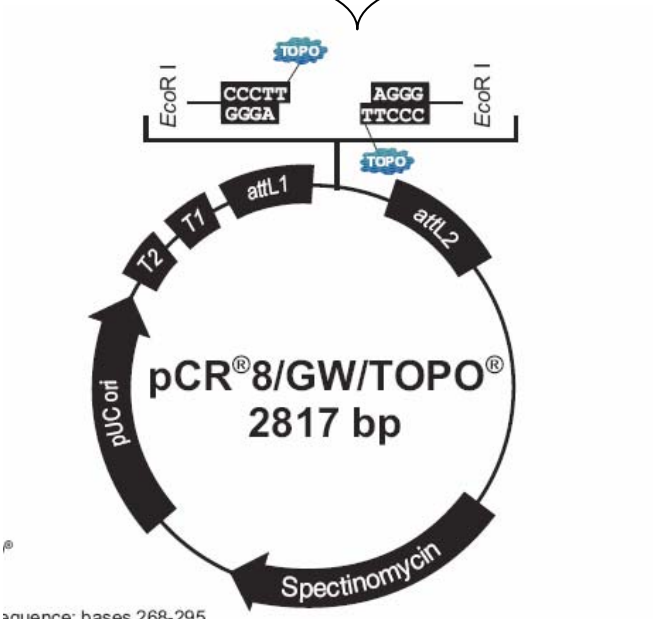
1041 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วยยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส PMWaV-2 ขนาด 909 คู่เบส + Lumio tag 132 คู่เบส (ภาพที่ 4) ขณะนี้กำลังดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร- และที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน



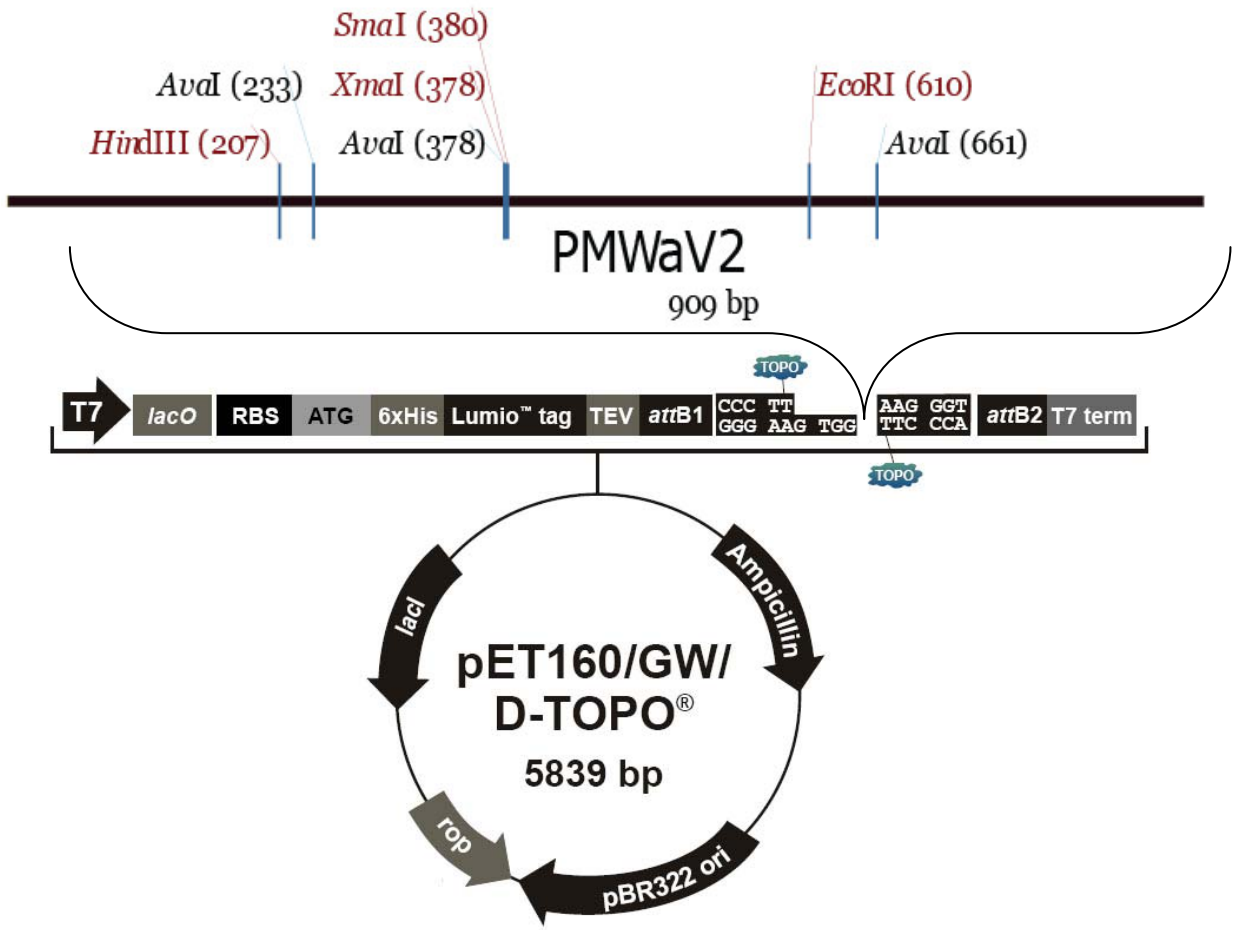
ภาพที่ 1. การเพิ่มปริมาณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส โดยใช้ไพรเมอร์ Lumi_PMWaV2F และ Lumi_PMWaV2R วิเคราะห์ขนาดดีเอ็นเอด้วย agarose gel electrophoresis
M = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1 kb Ladder, Fermentas)
1 = ดีเอ็นเอของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส จากสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยว

ภาพที่ 2. ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (909 bp) ที่เชื่อมต่อเข้าสู่พลาสมิด pCR®8/GW/TOPO®

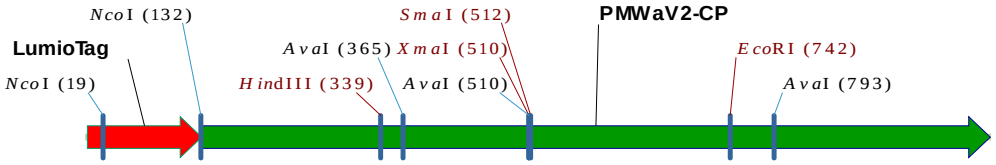
```
      M  A  Q  N  Y  V  A  V  V  E  G  T  I  L  E  S  L  T  A  P
1     ATGGCTCAGA ATTACGTAGC CGTAGTAGAA GGCACTATTC TCGAAAGTTT GACGGCTCCA
      TACCGAGTCT TAATGCATCG GCATCATCTT CCGTGATAAG AGCTTTCAAA CTGCCGAGGT
      P  K  R  F  R  V  A  T  S  D  V  G  K  Y  Y  D  S  S  K  Y
61    CCTAAACGAT TTAGAGTGGC GACGTCTGAT GTGGGGAAAT ATTACGATAG TAGCAAATAC
      GGATTTGCTA AATCTCACCG CTGCAGACTA CACCCCTTTA TAATGCTATC ATCGTTTATG
      R  S  V  T  G  V  A  T  A  E  R  D  R  L  P  A  I  E  E  T
121   CGCTCTGTAA CGGGCGTAGC TACAGCCGAG AGGGATCGGT TACCAGCGAT AGAGGAAACT
      GCGAGACATT GCCCGCATCG ATGTCGGCTC TCCCTAGCCA ATGGTCGCTA TCTCCTTTGA
      E  L  L  A  T  I  P  T  E  A  S  T  D  K  G  V  I  P  E  T
181   GAACTATTGG CAACAATCCC AACGGAAGCT TCAACAGATA AGGGTGTTAT TCCCGAGACT
      CTTGATAACC GTTGTTAGGG TTGCCTTCGA AGTTGTCTAT TCCCACAATA AGGGCTCTGA
      V  K  R  S  S  N  K  P  E  I  V  D  D  V  S  T  L  L  L  N
241   GTTAAGAGGT CGAGTAATAA ACCAGAAATA GTAGATGATG TATCAACGTT GCTGTTAAAT
      CAATTCTCCA GCTCATTATT TGGTCTTTAT CATCTACTAC ATAGTTGCAA CGACAATTTA
      P  R  K  N  V  V  L  N  I  G  S  V  K  T  V  P  K  V  V  N
301   CCTAGAAAGA ACGTTGTACT AAATATTGGA TCGGTTAAAA CCGTGCCAAA GGTAGTTAAT
      GGATCTTTCT TGCAACATGA TTTATAACCT AGCCAATTTT GGCACGGTTT CCATCAATTA
      Q  P  G  L  I  S  R  E  I  A  I  R  I  G  E  A  L  K  E  H
361   CAGCCGGGTT TGATATCCCG GGAGATTGCT ATCCGTATAG GAGAGGCTCT GAAGGAACAT
      GTCGGCCCAA ACTATAGGGC CCTCTAACGA TAGGCATATC CTCTCCGAGA CTTCCTTGTA
      C  K  Q  V  M  G  S  D  S  S  T  D  L  A  T  Y  F  I  H  L
421   TGCAAACAAG TTATGGGTTC GGATAGTAGT ACGGACTTAG CTACATACTT TATACATTTG
      ACGTTTGTTC AATACCCAAG CCTATCATCA TGCCTGAATC GATGTATGAA ATATGTAAAC
      I  Q  L  A  I  T  F  S  T  S  K  N  S  E  Y  K  E  F  D  Y
481   ATTCAACTCG CTATTACGTT CTCTACATCC AAAAATAGCG AATACAAAGA GTTTGACTAT
      TAAGTTGAGC GATAATGCAA GAGATGTAGG TTTTTATCGC TTATGTTTCT CAAACTGATA
      I  E  T  E  T  Q  K  K  I  Y  I  K  D  V  S  E  V  V  E  R
541   ATAGAAACAG AGACGCAAAA GAAAATATAC ATCAAGGACG TGAGTGAGGT GGTTGAGAGA
      TATCTTTGTC TCTGCGTTTT CTTTTATATG TAGTTCCTGC ACTCACTCCA CCAACTCTCT
      A  A  M  N  S  G  Y  E  N  P  F  R  Q  Y  M  R  Y  F  T  S
601   GCGGCGATGA ATTCGGGGTA CGAAAACCCG TTTAGGCAAT ATATGCGTTA TTTTACAAGC
      CGCCGCTACT TAAGCCCCAT GCTTTTGGGC AAATCCGTTA TATACGCAAT AAAATGTTCG
      S  S  I  T  L  T  L  N  G  K  I  T  P  N  E  R  T  M  A  H
661   TCGAGTATAA CACTAACTTT AAATGGTAAA ATAACACCTA ACGAGAGAAC TATGGCTCAT
      AGCTCATATT GTGATTGAAA TTTACCATTT TATTGTGGAT TGCTCTCTTG ATACCGAGTA
      H  G  V  P  K  Q  F  F  A  Y  T  Y  D  F  I  D  P  D  Y  S
721   CACGGAGTAC CCAAGCAGTT CTTTGCATAT ACTTACGATT TTATTGACCC CGACTATAGC
      GTGCCTCATG GGTTCGTCAA GAAACGTATA TGAATGCTAA AATAACTGGG GCTGATATCG
      L  M  N  H  S  A  I  N  A  Y  N  L  T  R  I  Q  A  F  K  N
781   CTCATGAATC ATTCGGCGAT TAATGCTTAC AACTTAACGA GGATTCAAGC ATTTAAGAAT
      GAGTACTTAG TAAGCCGCTA ATTACGAATG TTGAATTGCT CCTAAGTTCG TAAATTCTTA
      K  I  A  S  V  N  N  T  M  H  N  T  Y  Q  L  N  Q  G  A  V
841   AAGATAGCTT CAGTGAACAA TACTATGCAT AACACATACC AGCTGAACCA GGGAGCTGTT
      TTCTATCGAA GTCACTTGTT ATGATACGTA TTGTGTATGG TCGACTTGGT CCCTCGACAA
      S  G  *
901   TCAGGGTAG
      AGTCCCATC
```



aquence: bases 268-295



ภาพที่ 4. subcloning ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส ขนาด 909 คู่เบส เข้าสู่ expression vector pET160/GW/D-TOPO® (Invitrogen)



PWMaV2AF283103+132

1041 bp

NcoI

~~~~~~~

M H H H H H H G A G G C C P G C C G G G

1 ATGCATCATC ACCATCACCA TGGTGCTGGT GGCTGTTGTC CTGGCTGTTG CGGTGGCGGC
TACGTAGTAG TGGTAGTGGT ACCACGACCA CCGACAACAG GACCGACAAC GCCACCGCCG

E N L Y F Q G I I T S L Y K K A G S A A

61 GAAAACCTGT ATTTTCAGGG AATTATCACA AGTTTGTACA AAAAAGCAGG CTCCGCGGCC
CTTTTGGACA TAAAAGTCCC TTAATAGTGT TCAAACATGT TTTTTCGTCC GAGGCGCCGG

NcoI

~~~~~~

A P F T M A Q N Y V A V V E G T I L E S

121 GCCCCCTTCA CCATGGCTCA GAATTACGTA GCCGTAGTAG AAGGCACTAT TCTCGAAAGT
CGGGGGAAGT GGTACCGAGT CTTAATGCAT CGGCATCATC TTCCGTGATA AGAGCTTTCA

L T A P P K R F R V A T S D V G K Y Y D

181 TTGACGGCTC CACCTAAACG ATTTAGAGTG GCGACGTCTG ATGTGGGGAA ATATTACGAT
AACTGCCGAG GTGGATTTGC TAAATCTCAC CGCTGCAGAC TACACCCCTT TATAATGCTA

S S K Y R S V T G V A T A E R D R L P A

241 AGTAGCAAAT ACCGCTCTGT AACGGGCGTA GCTACAGCCG AGAGGGATCG GTTACCAGCG
TCATCGTTTA TGGCGAGACA TTGCCCGCAT CGATGTCGGC TCTCCCTAGC CAATGGTCGC

HindIII

~~~~~~~

I E E T E L L A T I P T E A S T D K G V

301 ATAGAGGAAA CTGAACTATT GGCAACAATC CCAACGGAAG CTTCAACAGA TAAGGGTGTT
TATCTCCTTT GACTTGATAA CCGTTGTTAG GGTTGCCTTC GAAGTTGTCT ATTCCCACAA

AvaI

~~~~~~

I P E T V K R S S N K P E I V D D V S T

361 ATTCCCGAGA CTGTTAAGAG GTCGAGTAAT AAACCAGAAA TAGTAGATGA TGTATCAACG
TAAGGGCTCT GACAATTCTC CAGCTCATTA TTTGGTCTTT ATCATCTACT ACATAGTTGC

L L L N P R K N V V L N I G S V K T V P

421 TTGCTGTTAA ATCCTAGAAA GAACGTTGTA CTAAATATTG GATCGGTTAA AACCGTGCCA
AACGACAATT TAGGATCTTT CTTGCAACAT GATTTATAAC CTAGCCAATT TTGGCACGGT

SmaI

~~~~~~~

XmaI

~~~~~~~

AvaI

~~~~~~~

K V V N Q P G L I S R E I A I R I G E A

481 AAGGTAGTTA ATCAGCCGGG TTTGATATCC CGGGAGATTG CTATCCGTAT AGGAGAGGCT
TTCCATCAAT TAGTCGGCCC AAACTATAGG GCCCTCTAAC GATAGGCATA TCCTCTCCGA

L K E H C K Q V M G S D S S T D L A T Y

541 CTGAAGGAAC ATTGCAAACA AGTTATGGGT TCGGATAGTA GTACGGACTT AGCTACATAC
GACTTCCTTG TAACGTTTGT TCAATACCCA AGCCTATCAT CATGCCTGAA TCGATGTATG

F I H L I Q L A I T F S T S K N S E Y K

601 TTTATACATT TGATTCAACT CGCTATTACG TTCTCTACAT CCAAAAATAG CGAATACAAA
AAATATGTAA ACTAAGTTGA GCGATAATGC AAGAGATGTA GGTTTTTATC GCTTATGTTT

E F D Y I E T E T Q K K I Y I K D V S E

661 GAGTTTGACT ATATAGAAAC AGAGACGCAA AAGAAAATAT ACATCAAGGA CGTGAGTGAG
CTCAAACTGA TATATCTTTG TCTCTGCGTT TTCTTTTATA TGTAGTTCCT GCACTCACTC

EcoRI

~~~~~~

V V E R A A M N S G Y E N P F R Q Y M R

721 GTGGTTGAGA GAGCGGCGAT GAATTCGGGG TACGAAAACC CGTTTAGGCA ATATATGCGT
CACCAACTCT CTCGCCGCTA CTTAAGCCCC ATGCTTTTGG GCAAATCCGT TATATACGCA

AvaI

~~~~~~

Y F T S S S I T L T L N G K I T P N E R

781 TATTTTACAA GCTCGAGTAT AACACTAACT TTAAATGGTA AAATAACACC TAACGAGAGA
ATAAAATGTT CGAGCTCATA TTGTGATTGA AATTTACCAT TTTATTGTGG ATTGCTCTCT

T M A H H G V P K Q F F A Y T Y D F I D

841 ACTATGGCTC ATCACGGAGT ACCCAAGCAG TTCTTTGCAT ATACTTACGA TTTTATTGAC
TGATACCGAG TAGTGCCTCA TGGGTTCGTC AAGAAACGTA TATGAATGCT AAAATAACTG

P D Y S L M N H S A I N A Y N L T R I Q

901 CCCGACTATA GCCTCATGAA TCATTCGGCG ATTAATGCTT ACAACTTAAC GAGGATTCAA
GGGCTGATAT CGGAGTACTT AGTAAGCCGC TAATTACGAA TGTTGAATTG CTCCTAAGTT

A F K N K I A S V N N T M H N T Y Q L N

961 GCATTTAAGA ATAAGATAGC TTCAGTGAAC AATACTATGC ATAACACATA CCAGCTGAAC
CGTAAATTCT TATTCTATCG AAGTCACTTG TTATGATACG TATTGTGTAT GGTCGACTTG

Q G A V S G *

1021 CAGGGAGCTG TTTCAGGGTA G
GTCCCTCGAC AAAGTCCCAT C

ภาพที่ 4. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (909 bp) + Lumio tag 132 bp
~~~~~~

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

นำใบสับปะรดที่เป็นโรคเหี่ยวมาแยกสกัดอาร์เอ็นเอ โดยใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอสำเร็จรูป (RNeasy Kit ของ QIAGEN) แล้วนำไปเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์จากส่วนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัส PMWaV-2 ได้แก่Lumi_PMWaV2F (5' CACCGCTCA GAATTACGTAGCCGTAGTAGA 3') และ Lumi_PMWaV2R (5' CCCTGAAACAGCTCCCTG GTTCAGCT 3') สังเคราะห์ ได้ชิ้นของดีเอ็นเอ ขนาด 909 คู่เบส จากนั้นนำไปโคลนเข้าสู่ cloning vector (pCR®8/GW/TOPO® , Invitrogen) และคัดเลือกเฉพาะโคลนที่มีชิ้นดีเอ็นเอที่ใส่เข้าไปใน vector นำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Miniprep แล้วส่งไปตรวจสอบลำดับเบส พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 909 คู่เบส หลังจากนั้น subclone ยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของไวรัส PMWaV-2 เข้าสู่ protein expression vector (pET160/GW/D-TOPO® , Invitrogen) ซึ่งมีขนาด 5.8 กิโลเบส และ transform เข้า *E. coli* Top 10 ตรวจพบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ 1041 คู่เบส ซึ่งประกอบด้วยยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคไวรัส PMWaV-2 ขนาด 909 คู่เบส + Lumio tag 132 คู่เบส ขณะนี้กำลังดำเนินการคัดเลือกโคลนที่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ในเซลล์ของ *E. coli* BL 21 (DES 3) ในอาหาร 2XYT ที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร- และที่เติมสารปฏิชีวนะ ampicillin 100 มิลลิกรัม/ลิตร และใช้สาร Isopropyl-β-D thiogalactopyranoside (IPTG) ในการชักนำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. ยุทธศาสตร์สับปะรด Pineapple National Strategy 2547-2551. 51 หน้า.

ลำพึง เรียงวงษ์ สุภาภรณ์ เอี่ยมเข่ง และ อรวรรณ ชัชวาลการพาณิชย์. 2547. การสังเคราะห์โปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองกระเจี๊ยบเขียวในระบบเซลล์แบคทีเรีย. รายงานการประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. 3-6 กุมภาพันธ์ 2547. หน้า 110-117.

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.

Cerovska, N., T. Moravec, P. Rosecka, P. Dedic and M. Filigarova. 2003. Production of polyclonal antibodies to a recombinant coat protein of *Potato mop-top virus*. *Journal of Phytopathology* 151 (4) : 195-200.

Dilokkunanant, U., S. Kladpan, R. Prateepasen and U. Suwanwong. 1996. Pineapple wilt disease in Thailand. *Thai. J. Agric*. 29: 337-348.

Druka, A., T. Burns, S. Zhang and R. Hull. 1996. Immunological characterization of rice tungro spherical virus coat proteins and differentiation of isolates from the Philippines and India. *J. Gen. Virology*. 77: 1975-1983.

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. pp. 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.

Nickel Osmar, Maria, L.P.N. Targon, Thor V.M. Fajardo, Marcos A. Machado and A. Trivilin. 2004. Polyclonal antibodies to the coat protein of *Apple stem grooving virus* expressed in *Escherichia coli* : production and use in immunodiagnosis. *Fitopatologia Brasileira* 29 (5) : 558-562.

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.

การคัดเลือกและขยายหน่อพันธุ์สับปะรดปลอดจากไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยว

Selection and Propagation of Pineapple Suckers Free From *Pineapple mealybug wilt-associated virus*

วันเพ็ญ ศรีทองชัย มัลลิกา นวลแก้ว สาวิตรี เขมวงศ์ เขมิกา โขมพัตร
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บต้นสับปะรดที่มีลักษณะสมบูรณ์ในพื้นที่ปลูกสับปะรดจากจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สงขลาและพัทลุง จำนวน 69 67 8 และ 12 ต้น ตามลำดับ รวมเป็น 156 หน่อ หลังจากนำมาตรวจสอบไวรัสของโรคเหี่ยวทั้ง 2 strain (PMWAV-1 & PMWAV-2) ด้วยเทคนิค RT-PCR ผลปรากฏว่า การตรวจพบไวรัส PMWAV-1 ใน 93 หน่อ (55 33 0 5 ตามลำดับ) และไวรัส PMWAV-2 ใน 31 หน่อ (6 25 0 0 ตามลำดับ) หลังจากนั้นจึงนำหน่อสับปะรดปลอดไวรัส 32 หน่อ มาขยายในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับหน่อสับปะรดปลอดไวรัส ด้วย 0.3% ไฟซาน , 10 % และ 5% คลอร็อกซ์ และ 70% แอลกอฮอล์ สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดีกว่าการฟอกด้วย 1% คอปเปอร์ออสซีคลอไรด์ 0.1% เมอร์คิวริค คลอไรด์ และ 10 % และ 5% คลอร็อกซ์ หลังจากเลี้ยงหน่อปลอดโรคในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรชักนำให้เกิดการแตกกอ (สูตรอาหาร MS + BA 1 ppm) ตาเจริญเป็นหน่ออ่อนภายใน 6 สัปดาห์ จึงทำการตัดแยก (subculture) ลงเลี้ยงในสูตรอาหารชักนำให้เกิดการแตกกอ เพื่อเพิ่มปริมาณต้นอ่อน และย้ายอาหารทุก 1-2 เดือน ขณะนี้กำลังเพิ่มขยายปริมาณต้นอ่อนสับปะรดให้ได้ปริมาณมากพอ ก่อนจะย้ายเป็นต้นเดี่ยวลงเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดราก (MS+IBA 0.5 ppm) เพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ต่อไป

รหัสการทดลอง 01-08-49-01-02-01-04-51

คำนำ

สับปะรด [*Ananas comosus* (L.) Merr.] อยู่ในวงศ์ Bromeliaceae เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สามารถปลูกและเก็บผลผลิตได้ตลอดปี เพื่อใช้บริโภคสดภายในประเทศและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ มีมูลค่าส่งออกประมาณปีละ13,000-15,000 ล้านบาท โดยประเทศไทยครองความเป็นผู้นำในการผลิตและส่งออกสับปะรดเป็นอันดับหนึ่งของโลก เป็นเวลานานกว่า 10 ปีจนถึงปัจจุบัน โดยมีตลาดผู้นำเข้าที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา สหภาพยุโรป ญี่ปุ่น และสาธารณรัฐประชาชนจีน (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2547)

ศัตรูพืชเป็นอุปสรรคสำคัญในการปลูกสับปะรด ทำให้ผลผลิตและคุณภาพสับปะรดเสียหายอย่างรุนแรง จนบางครั้งไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ ศัตรูสำคัญที่สุดที่กำลังเป็นปัญหาสำคัญต่อการปลูกสับปะรดของไทยในปัจจุบัน ได้แก่ โรคเหี่ยวสับปะรด (Pineapple wilt disease หรือ Mealybug wilt of pineapple)โรคนี้เกิดจากไวรัส *Pineapple mealybug wilt-associated virus* (PMWaVs ได้แก่ PMWaV-1 และ PMWaV-2) ซึ่งมีอนุภาคแบบท่อนยาวคด (flexuous rod) ขนาดประมาณ 1,200 X 12 นาโนเมตร กรดนิวคลีอิคเป็นแบบอาร์เอ็นเอสายเดี่ยว (single-stranded RNA, ssRNA) และมีน้ำหนักโมเลกุล 8.35 x 10^6 ดาลตัน (dalton) จัดอยู่ในสกุล คลอสเตอโรไวรัส (*Closterovirus*) วงศ์ คลอสเตอโรวิริดี (*Closteroviridae*) กระจายอยู่หนาแน่นเฉพาะภายในเซลล์ท่ออาหารของพืช (Beardsley, 1993) สามารถตรวจสอบและจำแนกชนิดของ PMWaVs โดยเทคนิค RT-PCR (Sether and Hu, 2002a, 2002b)

ลักษณะอาการของโรค ใบเริ่มแสดงอาการอ่อนนิ่ม มีสีเขียวอ่อนหรือสีเหลือง ปลายใบแห้งตายเป็นสีน้ำตาลหรือสีแดงลามเข้าสู่โคนใบ (die back) ใบลู่ลงและแผ่แบนไม่ตั้งขึ้นเหมือนใบปกติ ต่อมาต้นเหี่ยวและแห้งตายในที่สุด รากมีขนาดสั้นและแตกแขนงน้อยมาก ทำให้ถอนต้นขึ้นมาได้ง่าย ซึ่งตรงข้ามกับต้นปกติที่มีรากจำนวนมากยึดเกาะดินแน่น ทำให้ถอนต้นขึ้นมาได้ยาก ผลมีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้ (Dilokkunanant *et al*., 1996) ในธรรมชาติพืชอาศัยที่สำคัญและอ่อนแอต่อไวรัส คือ สับปะรด และโรคนี้สามารถถ่ายทอดโดยมีเพลี้ยแป้ง [pink pineapple mealybug, *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) และ gray pineapple mealybug, *D. neobrevipes* (Beardsley)] เป็นพาหะ (German *et al*, 1992)

โรคเหี่ยวสับปะรดสามารถติดไปกับหน่อพันธุ์ ในปัจจุบันมีการนำหน่อพันธุ์จากแหล่งที่มีโรคระบาดไปปลูกหรือขยายพันธุ์ในแหล่งที่ยังไม่มีโรคนี้ระบาด ทำให้โรคเหี่ยวแพร่ระบาดจากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่งได้รวดเร็วยิ่งขึ้น เนื่องจากอาจมีไวรัสแฝงอยู่ในหน่อพันธุ์แม้ว่าจะไม่แสดงอาการของโรคให้ก็ตาม (วันเพ็ญ, 2546) ถ้าสับปะรดมีราคาสูงขึ้น ยิ่งทำให้เกิดความขาดแคลนหน่อพันธุ์ที่จะนำมาปลูก ทำให้เกษตรกรซื้อหน่อพันธุ์จากแหล่งที่มีโรคระบาดมาปลูกและเก็บหน่อพันธุ์เหล่านี้ไว้ใช้ในฤดูถัดไป ปัญหาดังกล่าวนี้เคยเกิดขึ้นในฮาวาย จึงได้มีการผลิตหน่อพันธุ์ปลอดโรค

โดยอาศัยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อนำไปปลูกขยายในแปลงและใช้ในงานทดลองด้านการถ่ายทอดโรค (Sether *et al*., 1998) ในประเทศไทยมีนักวิจัยทำการศึกษาเรื่องการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากหน่อพันธุ์สับปะรด (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2546) ซึ่งสามารถนำมาใช้ในกระบวนการขยายพันธุ์สับปะรดปลอดโรคเหี่ยวได้ ฉะนั้นควรมีการดำเนินการคัดเลือกและขยายหน่อพันธุ์สับปะรดปลอดโรค เพื่อปลูกทดแทนหน่อที่มีเชื้อไวรัสติดไปและแพร่ระบาดอย่างรุนแรงในแหล่งปลูกสับปะรดที่สำคัญของประเทศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หน่อพันธุ์สับปะรดที่ปลอดโรค
2. อุปกรณ์และสารเคมีในการเพาะเลี้ยงเยื่อพืช
3. ห้องควบคุมอุณหภูมิสำหรับการเพาะเลี้ยงเยื่อพืช
4. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อไวรัสโดยเทคนิคอณูชีววิทยา
5. สารเคมีสำหรับใช้ป้องกันกำจัดศัตรูพืชในโรงเรือนทดลอง

วิธีการ

1. การตรวจสอบหน่อพันธุ์สับปะรดที่ได้จากแหล่งปลูกที่ไม่มีโรคเหี่ยวระบาด โดยเทคนิคอณูชีววิทยา (RT-PCR)

สำรวจพื้นที่ปลูกสับปะรด ในจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สงขลา พัทลุง และตรัง จากนั้นเก็บตัวอย่างต้นสับปะรดที่มีลักษณะสมบูรณ์ ไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยวในพื้นที่ดังกล่าว และนำมาตรวจสอบไวรัสของโรคเหี่ยวทั้ง 2 strain (PMWAV-1 & PMWAV-2) ด้วยเทคนิค RT-PCR โดยมีขั้นตอนการปฏิบัติ ดังนี้

1.1 การแยกสกัดอาร์เอ็นเอของไวรัสจากใบสับปะรด

โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป (MasterPure^{TM}RNA Purification Kit ของบริษัท EPICENTRE)

1. เก็บตัวอย่างพืช 1 – 5 มิลลิกรัม ใช้ทำได้ทันที หรือจะแช่เก็บที่ – 70 °ซ
2. ดูด Proteinase K (50 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร) 1 ไมโครลิตร ทำให้เจือจางใน 300 ไมโครลิตรของ Tissue and Cell Lysis Solution (1 ตัวอย่าง) ใส่ 5 ไมโครลิตร ในหลอด 1.5 มิลลิลิตร
3. บดตัวอย่างพืชใน ไนโตรเจนเหลว และเก็บใส่หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร
4. เติมสารละลาย Tissue and Cell Lysis Solution ซึ่งผสมกับ Proteinase K แล้ว (ข้อ 2) 300 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากัน

5. นำไปบ่มที่ 65 °ซ นาน 15 นาที (ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex ทุกๆ 5 นาที) นำสารละลายเซลล์พืชที่ได้มาแช่ในน้ำแข็ง นาน 3 – 5 นาที
6. เติม MPC Protein Precipitation Reagent 175 ไมโครลิตร. ในสารละลายของ RNA ของเซลล์พืช 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex นาน 10 วินาที
7. นำมาปั่นที่ 10,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที
8. ทิ้งตะกอน และเก็บส่วนใสใส่หลอดใหม่
9. เติม Isopropanal 500 ไมโครลิตร โดยต้องเย็นจัดโดยแช่ที่ -20 °ซ แล้วพลิกหลอดขึ้นลง 30-40 ครั้ง
10. นำสารละลายข้อ 4 มาปั่น 10,000 รอบ/นาที ที่ 4°ซ นาน 10 นาที
11. ล้างตะกอนด้วย 75 % ethanol 500 ไมโครลิตร แล้ว quick spin (ล้าง 2 ครั้ง)
12. dry ตะกอนใน 37°ซ นานประมาณ 2 ชั่วโมง
13. ละลายตะกอนของ RNA ที่ได้ใน TE buffer 15-20 ไมโครลิตร

1.2 การเพิ่มปริมาณ cDNA ด้วยเทคนิค RT-PCR

นำอาร์เอ็นเอของเชื้อที่ได้จากการแยกสกัด มาทำปฏิกิริยา RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ที่มีความจำเพาะกับไวรัส PMWaV แต่ละ strain (Sether and Hu, 2002a) ได้แก่

Pa222-F1	5′-ACA GGA AGG ACA ACA CTC AC-3′	PMWaV-1
Pa223-R1	5′-CGC ACA AAC TTC AAG CAA TC-3′	
Pa224-F2	5′-CAT ACG AAC TAG ACT CAT ACG-3′	PMWaV-2
Pa225-R2	5′-CCA TCC ACC AAT TTT ACT AC-3′	

โดยใช้ปฏิกิริยาดังนี้

RT-PCR Profile

<u>20 ul. Reaction</u> (ใช้ชุดของ Bioneer)

dH_2O	6 ไมโครลิตร
Primer R (100 พิโคโมล)	1 ไมโครลิตร
RNA template	5 ไมโครลิตร

บ่มที่ 95 °ซ 3 นาที แล้วแช่บนน้ำแข็ง.อีก 5 นาที จากนั้นเติม

5X RT buffer	4 ไมโครลิตร

10 mM dNTP	1 ไมโครลิตร
DTT	2 ไมโครลิตร
บ่มที่ 37 °ซ 10 นาที แล้วเติม	
M-MLV Reverse Transcriptase	1 ไมโครลิตร
บ่มที่ 45 °ซ 50 นาที	

PCR Profile

<u>20 ul. Reaction</u>

GoTaq®Green Master Mix (Promega)	10.0 ไมโครลิตร
Primer R (100 พิโคโมล)	0.5 ไมโครลิตร
Primer F (100 พิโคโมล)	0.5 ไมโครลิตร
dH_2O	6.0 ไมโครลิตร
Template (ที่ได้จาก RT-PCR)	3.0 ไมโครลิตร

นำหลอดที่ผสมปฏิกิริยามาใส่ในเครื่อง Thermal cycler เพื่อสังเคราะห์ cDNA ตาม program ดังนี้

94 °ซ	5 นาที	
94 °ซ	1.30 นาที	} 35 รอบ
55 °ซ	1.30 นาที .	
72 °ซ	1.30 นาที.	
72 °ซ	10 นาที	

ตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ด้วย 2 % agarose gel electrophoresis ที่กระแสไฟฟ้า 100 โวล์ท ใน TAE บัฟเฟอร์ เป็นเวลา 30 นาที

การตรวจสอบหาไวรัส PMWaVs เริ่มตรวจสอบ PMWaV-1 ที่ติดมากับหน่อพันธุ์ก่อน หลังจากนั้นนำหน่อที่ตรวจไม่พบไวรัส PMWaV-1 มาตรวจหา PMWaV-2 อีกครั้ง

สำหรับการตรวจสอบไวรัส PMWaV1,2 ในจังหวัดสงขลา พัทลุง และตรัง ใช้ชุดสกัดอาร์เอ็นเอของบริษัท Rochs และเพิ่มปริมาณ cDNA และอ่านค่าวิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง Real-time PCR

2. ขยายหน่อพันธุ์ปลอดโรคเหี่ยวโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำหน่อสับปะรดที่ผ่านการตรวจแล้วว่าปลอดไวรัส มาฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับหน่อพันธุ์ โดยแช่หน่อใน 1% คอปเปอร์ออสซีคลอไรด์ (copper oxychloride) นาน 1 นาที แล้วย้ายหน่อมาแช่

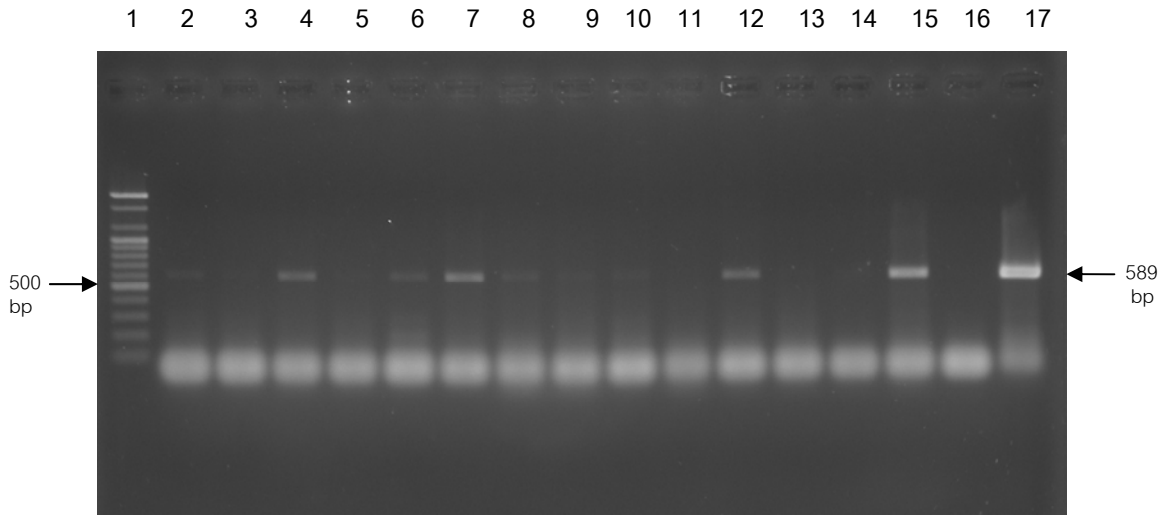
ใน 0.1% เมอร์คิวริค คลอไรด์ (mercuric chloride) นาน 1 นาที จากนั้นนำหน่อมาแช่ใน 10 % คลอร็อกซ์ (clorox) ที่มี 0.01% ทวีน 20 (Tween 20) ผสมอยู่ และเขย่าด้วยเครื่องเขย่า นาน 15 นาที ฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งใน 5% คลอร็อกซ์ ที่มี 0.01% ทวีน 20 ผสมอยู่ และเขย่าด้วยเครื่องเขย่า นาน 10 นาที ล้างหน่อด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆละ 5 นาที ผึ่งให้แห้งพอหมาดๆ แล้วตัดแบ่งหน่อเป็น 4 ส่วน จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรชักนำให้เกิดการแตกกอ (สูตรอาหาร MS + BA 1 ppm) (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2546) นอกจากนี้ยังได้ทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับหน่อ โดยเปลี่ยนขั้นตอนจากสาร คอปเปอร์ออสซีคลอไรด์ และ เมอร์คิวริค คลอไรด์ เป็นสาร ไฟซาน (physan) และ แอลกอฮอล์ (ethanol) โดยเริ่มจากการแช่หน่อใน 70% แอลกอฮอล์ นาน 15 นาที ก่อนย้ายไปแช่ใน 0.3% ไฟซาน นาน 30 นาที เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ติดอยู่ในหน่อพันธุ์ หลังจากตาเจริญเป็นหน่อใหม่ ประมาณ 6 สัปดาห์ ทำการตัดแยก (subculture) ลงเลี้ยงในสูตรอาหารชักนำให้เกิดการแตกกอ และย้ายอาหารทุก 1-2 เดือน จนได้จำนวนต้นอ่อนในปริมาณมากพอ ให้ย้ายเป็นต้นเดี่ยวลงเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดราก (MS+IBA 0.5 ppm) และสุ่มตรวจสอบว่าต้นเหล่านี้ยังปลอดไวรัสหรือไม่ โดยใช้เทคนิคอณูชีววิทยา (RT-PCR)

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2550 - กันยายน 2553
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
ศูนย์วิจัยพืชสวนเพชรบุรี
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 8

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การตรวจสอบหน่อพันธุ์สับปะรดที่ได้จากแหล่งปลูกที่ไม่มีโรคเหี่ยวระบาด โดยเทคนิคอณูชีววิทยา (RT-PCR)

จากการสำรวจพื้นที่ปลูกสับปะรด ในจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สงขลาและพัทลุง จากนั้นเก็บต้นสับปะรดที่มีลักษณะสมบูรณ์ในพื้นที่ดังกล่าว จำนวน 69 67 8 และ 12 ต้น ตามลำดับ จากนั้นนำมาตรวจสอบไวรัสของโรคเหี่ยวทั้ง 2 strain (PMWAV-1 & PMWAV-2) ด้วยเทคนิค RT-PCR ผลปรากฏว่า การตรวจสอบไวรัส PMWAV-1 โดยใช้ไพรเมอร์ Pa222-F1 และ Pa223-R1 จะให้แถบ band ขนาด 589 คู่เบส ในการวิเคราะห์ผลด้วย agarose gel electrophoresis (ภาพที่ 1) และการตรวจหาไวรัส PMWAV-2 โดยใช้ไพรเมอร์ Pa224-F2 และ Pa225-R2 ให้แถบ band ขนาด 609 คู่เบส (ภาพที่ 2) พบว่า มีหน่อสับปะรดที่ผ่านการตรวจแล้วว่าปลอดไวรัส 32 ต้น จากจำนวนทั้งหมด 156 หน่อ (ตารางที่ 1)



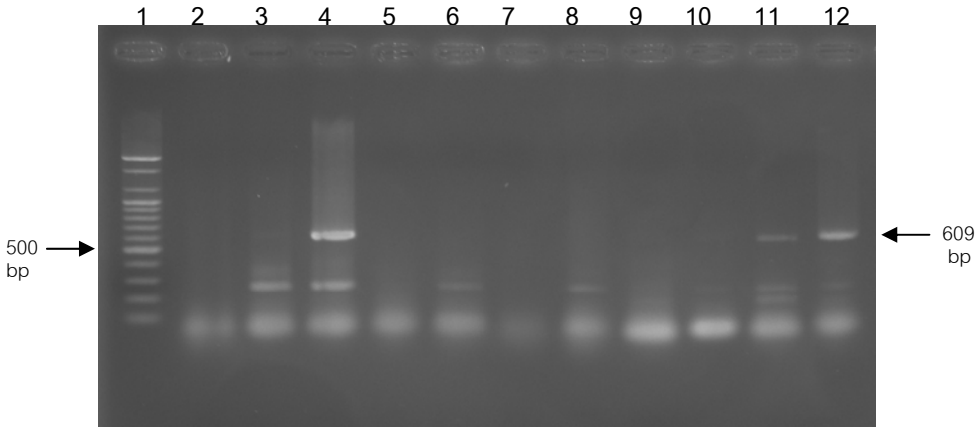
ภาพที่ 1. ผลวิเคราะห์การตรวจสอบดีเอ็นเอของไวรัส PMWaV-1 ของสับปะรดโดยใช้ไพรเมอร์ Pa222-F1 และ Pa223-R1

1 : ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp. DNA Ladder)

2-15 : ตัวอย่างสับปะรดที่เก็บจากแปลง

16 : ต้นปกติ

17 : ต้นเป็นโรคที่เกิดจาก PMWaV-1



ภาพที่ 2. ผลวิเคราะห์การตรวจสอบดีเอ็นเอของไวรัส PMWaV-2 ของสับปะรดโดยใช้ ไพรเมอร์ Pa224-F1 และ Pa225-R1

1 : ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp. DNA Ladder)

2-15 : ตัวอย่างสับปะรดที่เก็บจากแปลง

16 : ต้นปกติ

17 : ต้นเป็นโรคที่เกิดจาก PMWaV-2

ตารางที่ 1. ผลการตรวจวิเคราะห์ไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยว (PMWaV-1 และ PMWaV-2) ของสับปะรดจากแหล่งปลูกต่างๆ

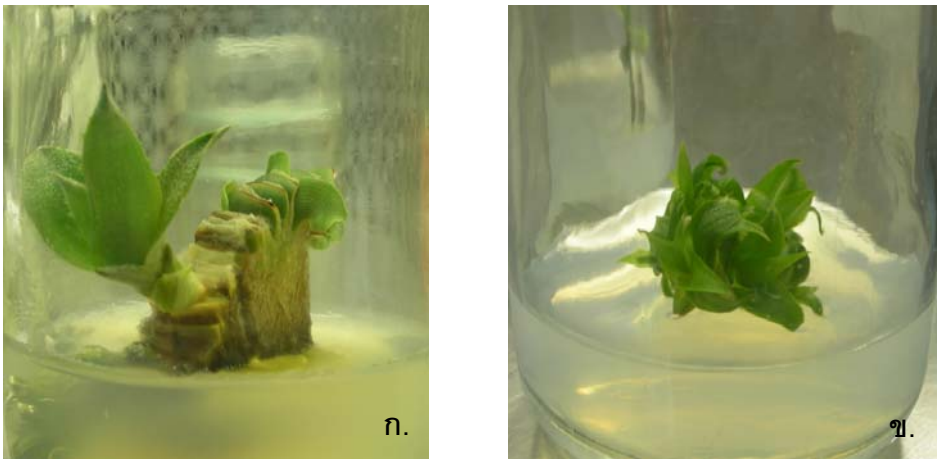
แหล่งปลูก	จำนวนต้นทั้งหมด	ผลการตรวจไวรัส [1]		
		PMWaV-1	PMWaV-2	ปลอดไวรัส
เพชรบุรี	69	55	6	8
ประจวบคีรีขันธ์	67	33	25	9
สงขลา	8	0	0	8
พัทลุง	12	5	0	7
รวม	**156**	**93**	**31**	**32**

[1] นำตัวอย่างสับปะรดทั้งหมด มาตรวจสอบไวรัส PMWaV-1 ก่อน ถ้าต้นใดตรวจไม่พบเชื้อจึงนำมาตรวจสอบไวรัส PMWaV-2

2. ขยายหน่อพันธุ์ปลอดโรคเหี่ยวโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

จากการทดลองพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับหน่อสับปะรดปลอดไวรัส ด้วย 0.3% ไฟซาน , 10 % และ 5% คลอร็อกซ์ และ 70% แอลกอฮอล์ สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดีกว่าการฟอกด้วย 1% คอปเปอร์ออสซีคลอไรด์ 0.1% เมอร์คิวริค คลอไรด์ และ 10 % และ 5% คลอร็อกซ์ อาจเป็นเพราะว่า ไฟซาน สามารถใช้ในการฆ่าเชื้อราแบคทีเรีย และสาหร่าย ซึ่งนิยมใช้กับกล้วยไม้ และเป็นสารไม่มีสีทำให้หน่อหลังฟอกดูสะอาด ไม่เหมือนกับการใช้คอปเปอร์ออสซีคลอไรด์ ซึ่งทำให้หน่อมีสีฟ้าปนเปื้อน

หลังจากเลี้ยงหน่อปลอดโรคในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรชักนำให้เกิดการแตกกอ (สูตรอาหาร MS + BA 1 ppm) ตาเจริญเป็นหน่ออ่อนภายใน 6 สัปดาห์ (ภาพที่ 3 ก) จึงทำการตัดแยก (subculture) ลงเลี้ยงในสูตรอาหารชักนำให้เกิดการแตกกอ เพื่อเพิ่มปริมาณต้นอ่อน (ภาพที่ 3 ก) และย้ายอาหารทุก 1-2 เดือน ขณะนี้กำลังเพิ่มขยายปริมาณต้นอ่อนสับปะรดให้ได้ปริมาณมากพอก่อนจะย้ายเป็นต้นเดี่ยวลงเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดราก (MS+IBA 0.5 ppm) เพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ต่อไป



ภาพที่ 3. การเจริญของหน่ออ่อนที่ได้จากหน่อสับปะรดปลอดไวรัส
ก. หน่ออ่อนอายุ 6 สัปดาห์ หลังเลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 1 ppm
ข. ต้นอ่อนที่ได้จากการ subculture

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและเก็บต้นสับปะรดที่มีลักษณะสมบูรณ์ในพื้นที่ปลูกสับปะรดจากจังหวัดเพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สงขลาและพัทลุง จำนวน 69 67 8 และ 12 ต้น ตามลำดับ รวมเป็น 156 หน่อ หลังจากนำมาตรวจสอบไวรัสของโรคเหี่ยวทั้ง 2 strain (PMWAV-1 & PMWAV-2) ด้วยเทคนิค RT-PCR ผลปรากฏว่า การตรวจพบไวรัส PMWAV-1 ใน 93 หน่อ และไวรัส PMWAV-2 ใน 31 หน่อ สรุปว่า มีหน่อสับปะรดที่ผ่านการตรวจแล้วว่าปลอดไวรัส 32 หน่อ จึงนำมาขยายหน่อพันธุ์ปลอดโรคในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับหน่อสับปะรดปลอดไวรัส ด้วย 0.3% ไฟซาน , 10 % และ 5% คลอร็อกซ์ และ 70% แอลกอฮอล์ สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดีกว่าการฟอกด้วย 1% คอปเปอร์ออสซีคลอไรด์ 0.1% เมอร์คิวริค คลอไรด์ และ 10 % และ 5% คลอร็อกซ์ หลังจากเลี้ยงหน่อปลอดโรคในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรชักนำให้เกิดการแตกกอ (สูตรอาหาร MS + BA 1 ppm) ตาเจริญเป็นหน่ออ่อนภายใน 6 สัปดาห์ จึงทำการตัดแยก (subculture) ลงเลี้ยงในสูตรอาหารชักนำให้เกิดการแตกกอ เพื่อเพิ่มปริมาณต้นอ่อน และย้ายอาหารทุก 1-2 เดือน ขณะนี้กำลังเพิ่มขยายปริมาณต้นอ่อนสับปะรดให้ได้ปริมาณมากพอ ก่อนจะย้ายเป็นต้นเดี่ยวลงเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำให้เกิดราก (MS+IBA 0.5 ppm) เพื่อให้ได้ต้นที่สมบูรณ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2547. ยุทธศาสตร์สับปะรด Pineapple National Strategy 2547-2551. 51 หน้า.

สถาบันวิจัยพืชสวน. 2546. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสวน เอกสารวิชาการ กรมวิชาการเกษตร. 156 หน้า.

วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2546. โรคเหี่ยว : ภัยคุกคามต่อการปลูกสับปะรดของไทย. วารสารโรคพืช 17 (1-2) : 48-53.

Beardsley, J.W. 1993. The pineapple mealybug complex; taxonomy, distribution and host relationships. *Acta Hort*. (ISHS) 334:383-386.

Dilokkunanant, U., S. Kladpan, R. Prateepasen and U. Suwanwong. 1996. Pineapple wilt disease in Thailand. *Thai. J. Agric*. 29: 337-348.

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. pp. 241-258 ed. by K.F. Harris. Springer-Verlag New York.

Sether, D.M., D.E. Ullman and J.S. Hu. 1998. Transmission of pineapple mealybug wilt-associated virus by two species of mealybug (*Dysmicoccus* spp.). Phytopathology 88: 1224-1230.

Sether, D.M. and J.S. Hu. 2002a. Closterovirus infection and mealybug exposure are necessary for the development of mealybug wilt of pineapple disease. Phytopathology 92: 928-935.

Sether, D.M. and J.S Hu. 2002b. Yield impact and spread of pineapple mealybug wilt assoiated virus-2 and mealybug wilt of pineapple in Hawii. *Plant Dis*. 86: 867-874.

2019

การบริหารจัดการโรคใบหงิกเหลืองของพริก

Pest Management for Yellow Leaf Curl Disease on Chili

วันเพ็ญ ศรีทองชัย อำนวย อรรถลังรอง อุดม คำชา สมพงษ์ สุขเขตต์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ปลูกพริกจำนวน 10 สายพันธุ์/พันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCP) มี 3 ซ้ำ ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ พันธุ์พริกส่วนใหญ่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในโครงการวิจัยของ ศวส. ศรีสะเกษ และ ศวส. พิจิตร มีการบริหารจัดการศัตรูพืชโดยใช้สารเคมีที่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ และปลูกต้นพริกขี้หนูกาญจนบุรี ซึ่งค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคนี้โดยรอบแปลง เพื่อใช้เป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรค เริ่มประเมินการเข้าทำลายของโรคโดยเริ่มพบต้นพริกแสดงอาการใบหงิกเหลืองบริเวณรอบนอกของแปลงปลูกใน 1 เดือนหลังย้ายปลูก ความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 2-5 และในเดือนที่ 6 พบว่าทุกสายพันธุ์เป็นโรคในระดับ 4 คือแสดงอาการของโรค 100 % และต้นแคระแกร็น ผลการประเมินความรุนแรงของโรคในเดือนที่ 5 พบว่า สายพันธุ์พริกที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรค คือ CV 3-14, CV 7-5, หัวเรือเบอร์ 13 และ พริกขี้หนูเลย ศก. 40-2 สายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค คือ ยอดสน ศก. 119-1, ศก 165-1, จินดา ศก. 24 และ พริกขี้หนูกาญจนบุรี เบอร์ 5 สำหรับพันธุ์ จินดา ศก. 24 ให้ผลผลิตสูง แม้จะอ่อนแอต่อโรค สาเหตุที่เก็บเกี่ยวผลผลิตได้น้อยกว่าปกติ เพราะมีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ในช่วงแตกช่อดอกจำนวนมาก ทำให้ผลพริกร่วงก่อนสุกแก่ เมล็ดของพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทาน/ทนทานจะได้นำมาทดสอบความต้านทานในเรือนทดลองโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะต่อไป

รหัสการทดลอง 01-16-49-01-01-01-01-50

คำนำ

โรคใบหงิกเหลืองของพริกที่เกิดจากไวรัส สังเกตพบในประเทศไทยมานานแล้ว เดิมเข้าใจว่าเกิดจากแมลงจำพวกเพลี้ยไฟ ไรขาว และเพลี้ยอ่อนเท่านั้น แต่จากการสำรวจโรคไวรัสของพริกในปี พ.ศ. 2534 (เครือพันธุ์ และ นวลจันทร์, 2534) และตรวจหาไวรัสจำนวน 8 ชนิด โดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) กลับไม่พบไวรัสเหล่านั้น ในตัวอย่างโรคที่แสดงอาการใบด่างขีดหรือหย่อมโปร่งแสงระหว่างเส้นใบ เส้นใบเหลือง ใบเล็ก โค้งงอ หดย่นบิดเบี้ยว ยอดเป็นกระจุกและต้นแคระแกร็น ซึ่งอาการของโรคดังกล่าวพบในทุกแหล่งปลูกแทบทุกแห่งในอัตรา 10-100 เปอร์เซ็นต์ จากการตรวจเอกสารพบว่า มีโรคใบหงิกของพริกแพร่ระบาดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียตะวันออก เช่น ในประเทศอินเดีย (Mishra *et al.,* 1963) และศรีลังกา (Sugiura *et al.,* 1975) โดยเฉพาะในหลายท้องที่ของอินเดียตอนเหนือ โรคนี้ทำให้ผลผลิตเสียหายถึง 80 % อาการของโรคนี้ ได้แก่ ต้นเตี้ยแคระแกรน ใบหงิกย่นม้วนงอและด่างเขียวอ่อนหรือเหลือง ใบแก่มีลักษณะเหมือนหนังและเปราะฉีกขาดง่าย โรคใบหงิกเหลืองพบระบาดในแหล่งปลูกพริกทั่วไปของประเทศ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดกาฬสินธุ์ สกลนคร ศรีสะเกษ และอุบลราชธานี ซึ่งทำความเสียหายต่อการปลูกพริกอย่างรุนแรงถ้าเชื้อเข้าทำลายในระยะกล้า โดยพริกแสดงอาการใบด่างหงิกเหลือง ต้นแคระแกร็น และผลผลิตลดลงถึง 80% โรคนี้เกิดจากไวรัสใบหงิกเหลืองพริก (Pepper yellow leaf curl virus, PeYLCV) มีอนุภาคเป็นรูปทรงกลม อยู่ติดกันเป็นคู่ๆ ขนาดประมาณ 18 x 30 นาโนเมตร จัดอยู่ในสกุลบีโกโมไวรัส (*Begomovirus*) (เครือพันธุ์ และ วันเพ็ญ, 2545)

ในการบริหารจัดการโรคให้มีประสิทธิภาพสูง จำเป็นต้องอาศัยข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของพืชอาศัยทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจและวัชพืชของโรคนี้ ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของไวรัสและแมลงพาหะ และถ้าได้สายพันธุ์/พันธุ์พริกที่มีแนวโน้มว่าทนทานหรือต้านทาน จะยิ่งช่วยให้อัตราการแพร่ระบาดในแปลงปลูกลดลงอย่างมาก และทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพตามที่ตลาดต้องการ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. พริกสายพันธุ์/พันธุ์ต่างๆจากศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และพิจิตร
2. แปลงปลูกพริก ที่ ศวส. ศรีสะเกษ
3. ปุ๋ยและสารกำจัดศัตรูพืช
4. อุปกรณ์ในการเก็บผลพริก
5. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCP) มี 10 กรรมวิธี 3 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 CV 3-14
กรรมวิธีที่ 2 CV 7-5
กรรมวิธีที่ 3 หัวเรือเบอร์ 13
กรรมวิธีที่ 4 หัวเรือเบอร์ 25
กรรมวิธีที่ 5 ยอดสน ศก. 165-1
กรรมวิธีที่ 6 ยอดสน ศก. 119-1
กรรมวิธีที่ 7 จินดา ศก. 19-1
กรรมวิธีที่ 8 จินดา ศก. 24
กรรมวิธีที่ 9 พริกขี้หนูเลย ศก. 40-2
กรรมวิธีที่ 10 พริกขี้หนูกาญจนบุรี เบอร์ 5

1. การเตรียมแปลง

แบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 2 x 6 ตารางเมตร จำนวนทั้งหมด 30 (10 x 3) แปลง ระยะระหว่างแปลง 0.5 เมตร ระยะระหว่างซ้ำ 1 เมตร ใช้ระยะปลูก 1 x 0.75 เมตร (แถว x ต้น) จำนวนต้นกล้า 16 ต้นต่อแปลงย่อย ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ต่อครั้ง (375 กรัม/แปลง/ครั้ง) โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง

ครั้งที่ 1 ใส่รองก้นหลุม พร้อมปุ๋ยคอก 1,500 กิโลกรัม/ไร่
ครั้งที่ 2 ใส่เมื่อเริ่มออกดอกหรือหลังย้ายปลูก 20 วัน

2. การเพาะกล้าและการดูแลรักษา

ได้เริ่มทำการเพาะกล้าพริก เมื่อวันที่ 12 พฤศจิกายน 2550 และทำการปลูกลงแปลงเมื่อวันที่ 25 ธันวาคม 2550 เมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 20 วัน ทำการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 1 ช้อนชา/หลุม ทำการตัดแต่งกิ่งล่างให้ทรงพุ่มห่างจากพื้นประมาณ 10 เซนติเมตร โดยทำการตัดแต่งวันที่ 15-16 มกราคม 2551 มีการพ่นยาป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยใช้พอสซ์ อัตรา 20 CC/น้ำ 20 ลิตร ผสมกับแมนโคเซฟ อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ผสมสารจับใบ เอบิตอล อัตรา 20 CC/น้ำ 20 ลิตร และพ่นสารกำจัดแมลงทุก 2 สัปดาห์ และโดยรอบแปลงปลูกมีต้นพริกที่แสดงอาการใบหงิกเหลือง เพื่อใช้เป็นแหล่งของเชื้อในการแพร่ระบาดเข้าไปในแปลงปลูก

3. การประเมินอัตราการเข้าทำลายของไวรัสสาเหตุโรคใบหงิกเหลือง

ตรวจนับและให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคใบหงิกเหลืองจำนวน 12 ต้น/treatment โดยกำหนดอัตราความรุนแรงของโรคเป็น 5 ระดับ (0 = ไม่แสดงอาการของโรค, 1 = แสดงอาการของโรค 20 % , 2 = แสดงอาการของโรค 21-50 % , 3 = แสดงอาการของโรค 51-75 % และ 4 = แสดงอาการของโรค 100 % และต้นแคระแกร็น) ทุกเดือนหลังย้ายปลูก เก็บต้นที่แสดงอาการไม่ชัดเจน มาตรวจสอบอีกครั้งในห้องปฏิบัติการ โดยมีขั้นตอนการตรวจสอบไวรัสด้วยวิธี ELISA มีดังนี้

1. เคลือบเพลท (microplate, Nunc) ด้วยโพลีคลอนอลแอนติบอดีของ pumpkin yellow leaf puckering virus (PYLPV) อัตรา 1:5,000 ใน 0.05 M carbonate buffer pH 9.6 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 2 ชั่วโมง

2. ล้างเพลทด้วย washing buffer (phosphate buffer saline, PBS + 0.05% Tween 20) 4 ครั้งๆละ 3 นาที

3. หยอด 2% BSA (Albumin, Bovine Fraction V) ใน washing buffer หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

4. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

5. หยอดน้ำคั้นพืชที่ต้องการตรวจสอบ (บดใบพืช 1 กรัมใน 2.5 มิลลิลิตรของ 0.05 M Tris-HCl, 0.06 M sodium sulphite, pH 8.5 ปั่นที่ 10,000 rpm นาน 5 นาที เก็บน้ำใส) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

6. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

7. หยอดโมโนคลอนอลแอนติบอดี (M1 & D2) อัตรา 1: 200 ใน 0.5% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

8. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

9. หยอด goat anti-mouse conjugate alkaline phosphatase อัตรา 1:2,000 ใน 0.05% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

10. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

11. หยอด substrate (p-nitrophenyl phosphate) ใน diethanolamine buffer อัตรา 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อ่านผลด้วยเครื่องอ่าน ELISA ที่ 405 nm

4. เก็บเกี่ยวผลผลิต

ทำการเก็บผลผลิตพริกของทุกกรรมวิธี จำนวน 4 ครั้ง ตากแดด และเก็บเมล็ด เพื่อนำมาปลูกทดสอบความต้านทานต่อโรคใบหงิกเหลืองอีกครั้งในโรงเรือนทดลอง ถ่ายทอดไวรัสโดยใช้แมลง

หวี่ขาวเป็นพาหะ

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2549 - กันยายน 2552
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เริ่มพบต้นพริกแสดงอาการใบหงิกเหลืองบริเวณรอบนอกของแปลงปลูกใน 1 เดือนหลังย้ายปลูก ความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 2-5 และในเดือนที่ 6 พบว่าทุกสายพันธุ์เป็นโรคในระดับ 4 สาเหตุที่มีการระบาดของโรคอย่างรวดเร็ว เนื่องจากอากาศช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน ร้อนอบอ้าว ทำให้มีประชากรของแมลงหวี่ขาวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ประกอบด้วยมีต้นพริกเป็นโรคล้อมรอบแปลงพริก ทำให้เป็นแหล่งของเชื้อเป็นอย่างดี ผลการประเมินความรุนแรงของโรคในเดือนที่ 5 พบว่า สายพันธุ์พริกที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรค คือ CV 3-14, CV 7-5, หัวเรือเบอร์ 13 และพริกขี้หนูเลย ศก. 40-2 สายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค คือ ยอดสน ศก. 119-1, ศก 165-1, จินดา ศก. 24 และ พริกขี้หนูกาญจนบุรี เบอร์ 5 สำหรับพันธุ์ จินดา ศก. 24 ให้ผลผลิตสูง แม้จะอ่อนแอต่อโรค สาเหตุที่เก็บเกี่ยวผลผลิตได้น้อยกว่าปกติ เพราะมีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ในช่วงแตกช่อดอกจำนวนมาก ทำให้ผลพริกร่วงก่อนสุกแก่ เมล็ดของพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทาน/ทนทานจะได้นำมาทดสอบความต้านทานในเรือนทดลองโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะต่อไป

ตารางที่ 1. ระดับความรุนแรงของโรคใบหงิกเหลือง และผลผลิตของพริกสายพันธุ์/พันธุ์ต่างๆ

สายพันธุ์พริก	ระดับความรุนแรงของโรค[1]	ผลผลิต (กก.) [2]
CV 3-14	1.8 b	12.7 a
CV 7-5	1.9 b	7.0 b
หัวเรือเบอร์ 13	2.0 b	8.7 b
หัวเรือเบอร์ 25	3.4 a	3.1 c
ยอดสน ศก. 119-1	2.5 a	2.5 c
ยอดสน ศก. 165-1	3.0 a	1.6 d
จินดา ศก. 19-1	2.6 ab	2.8 c
จินดา ศก. 24	3.0 a	3.1 c
พริกขี้หนูเลย ศก. 40-2	1.5 c	6.0 b
พริกขี้หนูกาญจนบุรี เบอร์ 5	2.5 b	1.1 d

กำหนดอัตราความรุนแรงของโรคเป็น 5 ระดับ

0 = ไม่แสดงอาการของโรค

1 = แสดงอาการของโรค 20 %

2 = แสดงอาการของโรค 21-50 %

3 = แสดงอาการของโรค 51-75 %

4 = แสดงอาการของโรค 100 % และต้นแคระแกร็น

[1]ระดับความรุนแรงของโรค ของเดือนที่ 5

[2]ผลผลิตรวมจากการเก็บเกี่ยว 4 ครั้ง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ปลูกพริกจำนวน 10 สายพันธุ์/พันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCP) มี 3 ซ้ำ ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ พันธุ์พริกส่วนใหญ่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในโครงการวิจัยของ ศวส. ศรีสะเกษ และ ศวส. พิจิตร มีการบริหารจัดการศัตรูพืชโดยใช้

สารเคมีที่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ และปลูกต้นพริกขี้หนูกาญจนบุรี ซึ่งค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคนี้โดยรอบแปลง เพื่อใช้เป็นแหล่งแพร่ระบาดของโรค เริ่มประเมินการเข้าทำลายของโรคโดยเริ่มพบต้นพริกแสดงอาการใบหงิกเหลืองบริเวณรอบนอกของแปลงปลูกใน 1 เดือนหลังย้ายปลูก ความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นในเดือนที่ 2-5 และในเดือนที่ 6 พบว่าทุกสายพันธุ์เป็นโรคในระดับ 4 ผลการประเมินความรุนแรงของโรคในเดือนที่ 5 พบว่า สายพันธุ์พริกที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรค คือ CV 3-14, CV 7-5, หัวเรือเบอร์ 13 และ พริกขี้หนูเลย ศก. 40-2 สายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค คือ ยอดสน ศก. 119-1, ศก 165-1, จินดา ศก. 24 และ พริกขี้หนูกาญจนบุรี เบอร์ 5 สำหรับพันธุ์ จินดา ศก. 24 ให้ผลผลิตสูง แม้จะอ่อนแอต่อโรค สาเหตุที่เก็บเกี่ยวผลผลิตได้น้อยกว่าปกติ เพราะมีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ในช่วงแตกช่อดอกจำนวนมาก ทำให้ผลพริกร่วงก่อนสุกแก่ เมล็ดของพันธุ์ที่มีแนวโน้มต้านทาน/ทนทานจะได้นำมาทดสอบความต้านทานในเรือนทดลองโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ นวลจันทร์ ดีมา. 2534. การศึกษาโรคไวรัสของพริกในบางแหล่งปลูกของประเทศไทย. รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2534. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 36-41.

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

Mishra, M.D., S.P. Raychaudhuri and A. Jha.1963. Virus causing leaf curl of chilli (*Capsicum annuum* L.) *Indian J. Microbiol.*2: 73-76.

Sugiura, M, C.M. Bandaranayke and G.H. Hemashandra. 1975. Chilli virus diseases in Sri Lanka. Trop. Agric. Res. Cent. Ministry of Agric. And Forestry, Japn. Tech. Bull. 8: 62.

ความสัมพันธ์ของไวรัสสาเหตุโรคเส้นใบเหลืองกับพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในแต่ละแหล่งปลูก

Relationship between *Okra yellow vein virus* and okra varieties in planting areas

วันเพ็ญ ศรีทองชัย อำนวย อรรถลังรอง

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างโรคเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียว จาก จ. พิจิตร 1 ไอโซเลท (OYVV-PC) และ 2 ไอโซเลท (OYVV-KB1 แล OYVV-KB2) จาก จ. กาญจนบุรี และนำมาถ่ายทอดโดยแมลงหวี่ขาวลงบนกระเจี๊ยบพันธุ์ พิจิตร 03 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคนี้ พบว่า OYVV-PC เริ่มแสดงอาการเส้นใบเหลืองและเนื้อใบมีสีเขียวเข้ม และไอโซเลท OYVV-KB1 แสดงอาการเส้นใบเหลืองและเนื้อใบมีสีเขียวอ่อนหลังการถ่ายทอดโรคโดยแมลงหวี่ขาว ภายใน 2-3 สัปดาห์ แต่ OYVV-KB2 พบอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลังการถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-4 สัปดาห์ โดยเส้นใบมีสีเขียวอ่อนหรือสีขาว เนื้อในมีสีเขียวเข้ม ผลการทดสอบความต้านทานของกระเจี๊ยบเขียว จำนวน 18 พันธุ์/สายพันธุ์ จาก ศวส. พิจิตร ต่อโรคเส้นใบเหลือง โดยใช้พันธุ์พิจิตร 03 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ โดยใช้ไอโซเลท OYVV-KB1 และ OYVV-PC พบว่า สายพันธุ์ กาญจนบุรี กรีนสตาร์ 152 (F3) พันธุ์ Star 691 และ No. 25 ค่อนข้างต้านทานต่อโรคเส้นใบเหลืองทั้ง 2 ไอโซเลท สูง 95-100 % ส่วนสายพันธุ์อื่นๆค่อนข้างอ่อนแอทั้งสองไอโซเลท OYVV-PC ยกเว้น สายพันธุ์ 2-1-3-12-3-8-B ค่อนข้างต้านทานต่อไอโซเลท OYVV-KB1 แต่อ่อนแอต่อไอโซเลท OYVV-PC (ตารางที่ 1) ซึ่งสามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปใช้ในการแนะนำพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวต้านทานโรคเส้นใบเหลืองที่เหมาะต่อการปลูกในแต่ละแหล่งของประเทศ ขณะนี้กำลังดำเนินการทดสอบความต้านทานของพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวต่อไวรัสไอโซเลท OYVV-KB1

รหัสการทดลอง 01-16-49-02-02-02-05-51

คำนำ

กระเจี๊ยบเขียว (Okra, *Abelmoschus esculentus* Moench ExS) มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามแต่ละภาคของประเทศไทย เช่น กระเจี๊ยบมอญ กระต๊าด มะเขือมอญ มะเขือมื่น และถั่วเละ เป็นต้น เป็นผักพื้นบ้านของไทยที่ปลูกง่าย สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปีและเจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิด แต่เดิมคนไทยนิยมบริโภคเป็นผักจิ้มน้ำพริก แกงส้มและแกงเลียง เป็นต้น กระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชผักที่มีคุณค่าอาหารสูงโดยเฉพาะวิตามินซีและแคลเซียม นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารจำพวกกัม (gum) และเพคติน (pectin) ในปริมาณสูง ซึ่งช่วยป้องกันอาการหลอดเลือดตีบตัน บรรเทาอาการของโรคกระเพาะ และช่วยขับพยาธิตัวตืดและพยาธิตัวจี๊ดอีกด้วย (อำภา และคณะ, 2533 ; จิราภา และธงชัย, 2543)

การผลิตกระเจี๊ยบเขียวเพื่อบริโภคภายในประเทศ แต่เดิมนิยมใช้พันธุ์พื้นเมือง พันธุ์ที่ปรับปรุงเพื่อใช้ในประเทศ หรือพันธุ์ที่เกษตรกรเก็บเมล็ดพันธุ์เอง แหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ในเขตจังหวัดนครสวรรค์และปลูกกันประปรายในจังหวัดอื่นๆ ต่อมาในปี พ.ศ. 2526 ประเทศไทยเริ่มมีการส่งออกกระเจี๊ยบเขียวไปยังต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น อังกฤษ เยอรมัน ฝรั่งเศส เนเธอร์แลนด์ บาร์เรน บรูไน และอิหร่าน เป็นต้น โดยส่วนใหญ่ส่งออกในรูปฝักสด คิดเป็นร้อยละ 83.77 ของปริมาณการส่งออกทั้งหมด ส่วนที่เหลือส่งออกในรูปแช่แข็ง ซึ่งตลาดส่งออกที่สำคัญ คือ ประเทศญี่ปุ่น คิดเป็นร้อยละ 98 ของปริมาณการส่งออกทั้งหมด พันธุ์ที่ปลูกเพื่อการส่งออกนั้น เกษตรกรต้องใช้เมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ เพราะมาตรฐานกระเจี๊ยบเขียวที่ผลิตเพื่อการส่งออกมีดังนี้ ฝักต้องมีห้าเหลี่ยม สีเขียว ฝักต้องไม่โค้งงอ ไม่มีรอยตำหนิและปราศจากโรคและแมลง ขนาดความยาวฝักอยู่ระหว่าง 7-11 เซนติเมตร และเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 1.5 เซนติเมตร (ปิยรัตน์และคณะ, 2533 ; นิรนาม, 2540 ; จิราภา และธงชัย, 2543 ; กรมวิชาการเกษตร, 2545) แหล่งปลูกกระเจี๊ยบเขียวเพื่อการส่งออก ได้แก่ นนทบุรี ปทุมธานี สมุทรสาคร ราชบุรี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี นครปฐม อ่างทอง สระบุรี พิจิตร และเชียงใหม่ เป็นต้น

ปัจจุบัน กระเจี๊ยบเขียวจัดเป็นพืชผักส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย มีตลาดรองรับแน่นอน และมีการประกันราคา ในปี 2546 มีปริมาณส่งออกกระเจี๊ยบเขียวฝักสด 3,121 ตัน และกระเจี๊ยบเขียวแช่แข็ง 539.02 ตัน คิดเป็นมูลค่า 273.65 และ 40.42 ล้านบาทตามลำดับ (กรมศุลกากร, 2547) แต่มีปริมาณการส่งออกน้อยกว่าในปี พ.ศ. 2537 ซึ่งมีปริมาณการส่งออก 4,409 ตัน ทั้งนี้เนื่องจากมีการระบาดของโรคเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียว ทำให้ฝักมีสีเหลืองไม่ตรงกับความต้องการของตลาด (เครือพันธุ์ และคณะ, 2543) โรคนี้เกิดจากไวรัส *Okra yellow vein virus* (OYVV) อนุภาคเป็นทรงกลมหลายเหลี่ยม มักอยู่เป็นคู่ ขนาดประมาณ 18 x 30 นาโนเมตร จัดอยู่ในสกุลบีโกโมไวรัส (*Begomovirus*) กระเจี๊ยบเขียวแสดงอาการใบด่าง เส้นใบมีสีเหลือง ยอดเหลือง ใบและยอดม้วนงอ ฝักมีสีเหลือง ต้นที่ติดเชื้อขณะที่ยังเป็นต้นกล้าอายุน้อย จะแสดงอาการ

โครุนแรง ต้นเตี้ยแคระแกร็น ติดฝักน้อยและไม่สมบูรณ์ ในสภาพธรรมชาติโรคแพร่ระบาดโดยมีแมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ และระบาดรุนแรงในฤดูร้อน (เครือพันธุ์ และวันเพ็ญ, 2545) จากการสำรวจพบว่าลักษณะอาการของโรคบนกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์เดียวกันในแต่ละแหล่งปลูกมีความรุนแรงแตกต่างกัน ฉะนั้นควรมีการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของเชื้อและพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวในแต่ละแหล่งปลูก เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการแนะนำพันธุ์ต้านทาน/ทนทานต่อไวรัสให้เหมาะสมกับสภาพแปลงปลูกในแต่ละพื้นที่

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แมลงหวี่ขาวที่ปลอดไวรัส
2. ต้นมะเขือสำหรับเลี้ยงแมลงหวี่ขาว
3. กระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์/พันธุ์ต่างๆจากศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร
4. อุปกรณ์ในการถ่ายทอดไวรัสโดยแมลงหวี่ขาว
5. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบเชื้อ โดยวิธีทางเซรุ่มวิทยา
6. กรงเลี้ยงแมลง

วิธีการ

1. แหล่งของเชื้อไวรัส

เก็บตัวอย่างกระเขียวเขียวที่แสดงอาการเส้นใบเหลืองจาก จ. พิจิตร 1 ไอโซเลท (OYVV-PC) และ จ.กาญจนบุรี 2 ไอโซเลท (OYVV-KB1 & OYVV-KB2) จากนั้นนำมาถ่ายทอดเชื้อโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ (5-10 ตัว/ต้น) ลงบนกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์พิจิตร 03 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคนี้อย่างรุนแรง และไวรัสทั้ง 3 ไอโซเลทจะนำมาใช้เป็นแหล่งของเชื้อในการทดลองต่อไป

2. ทดสอบความต้านทานต่อโรคเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้แมลงหวี่ขาวในเรือนทดลอง

เพาะเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ หลังจากนั้นประมาณ4-6 วัน นำมาทดสอบความต้านทานต่อโรคเส้นใบเหลือง โดยให้แมลงหวี่ขาวรับเชื้อและถ่ายทอดเชื้อนาน 48 ชั่วโมง จำนวน 5 ตัว/ต้น 30 ต้น/พันธุ์ ถ้าต้นใดไม่แสดงอาการของโรคหลังการถ่ายทอดโรคแล้ว 45 วัน ให้นำมาตรวจสอบด้วยวิธี ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) กับโมโนคลอนอลแอนติบอดี (Mab) D2 ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับบีโกโมไวรัสทุกชนิด (broad spectrum) โดยขั้นตอนการตรวจสอบ มีดังนี้

1. เคลือบเพลท (microplate, Nunc) ด้วยโพลีคลอนอลแอนติบอดีของ pumpkin yellow leaf puckering virus (PYLPV) อัตรา 1:5,000 ใน 0.05 M carbonate buffer pH 9.6 หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 2 ชั่วโมง

2. ล้างเพลทด้วย washing buffer (phosphate buffer saline, PBS + 0.05% Tween 20) 4 ครั้งๆละ 3 นาที

3. หยอด 2% BSA (Albumin, Bovine Fraction V) ใน washing buffer หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

4. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

5. หยอดน้ำคั้นพืชที่ต้องการตรวจสอบ (บดใบพืช 1 กรัมใน 2.5 มิลลิลิตรของ 0.05 M Tris-HCl, 0.06 M sodium sulphite, pH 8.5 ปั่นที่ 10,000 rpm นาน 5 นาที เก็บน้ำใส) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

6. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

7. หยอดโมโนคลอนอลแอนติบอดี (M1 & D2) อัตรา 1: 200 ใน 0.5% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

8. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

9. หยอด goat anti-mouse conjugate alkaline phosphatase อัตรา 1:2,000 ใน 0.05% BSA หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มที่ 37^{O}C นาน 1 ชั่วโมง

10. ล้างเพลทด้วย washing buffer 4 ครั้งๆละ 3 นาที

11. หยอด substrate (p-nitrophenyl phosphate) ใน diethanolamine buffer อัตรา 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อ่านผลด้วยเครื่องอ่าน ELISA ที่ 405 nm

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2550 - กันยายน 2553
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. แหล่งของเชื้อไวรัส

ไอโซเลทของกระเจี๊ยบเขียวที่เป็นโรคเส้นใบเหลืองจากจังหวัดพิจิตร (OYVV-PC) เริ่มแสดงอาการเส้นใบเหลือง และเนื้อใบมีสีเขียวเข้ม หลังจากการถ่ายทอดโรคลงบนกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ พิจิตร 03 ประมาณ 2-3 สัปดาห์ ในขณะที่ไอโซเลทจาก จ.กาญจนบุรี (OYVV-KB1) แสดงอาการเส้นใบเหลืองและเนื้อใบมีสีเขียวอ่อน หลังการถ่ายทอดโรคโดยแมลงหวี่ขาว 2-3 สัปดาห์ แต่

อีกไอโซเลท (OYVV-KB2) พบอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลังการถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-4 สัปดาห์ โดยเส้นใบมีสีเขียวอ่อนหรือสีขาว เนื้อในมีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1. ลักษณะอาการของโรคเส้นใบเหลืองบนกระเจี๊ยบเขียว พันธุ์ พิจิตร 03 ที่เกิดจากไวรัส OYVV ไอโซเลทจาก จ. พิจิตร (OYVV-PC) และ จ. กาญจนบุรี (OYVV-KB1 & OYVV-KB2)

2. ทดสอบความต้านทานต่อโรคเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์/สายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้แมลงหวี่ขาวในเรือนทดลอง

ทดสอบความต้านทานของกระเจี๊ยบเขียว จำนวน 18 พันธุ์/สายพันธุ์ จาก ศวส. พิจิตร ต่อโรคเส้นใบเหลือง โดยใช้พันธุ์พิจิตร 03 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ โดยใช้ไอโซเลท OYVV-KB1 และ OYVV-PC พบว่า สายพันธุ์ กาญจนบุรี กรีนสตาร์ 152 (F3) พันธุ์ Star 691 และ No. 25 ค่อนข้างต้านทานต่อโรคเส้นใบเหลืองทั้ง 2 ไอโซเลท สูง 95-100 % ส่วนสายพันธุ์อื่นๆค่อนข้างอ่อนแอทั้งสองไอโซเลท OYVV-PC ยกเว้น สายพันธุ์ 2-1-3-12-3-8-B ค่อนข้างต้านทานต่อไอโซเลท OYVV-KB1 แต่อ่อนแอต่อไอโซเลท OYVV-PC (ตารางที่ 1) ซึ่งสามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปใช้ในการแนะนำพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวต้านทานโรคเส้นใบเหลืองที่เหมาะต่อการปลูกในแต่ละแหล่งของประเทศ ขณะนี้กำลังดำเนินการทดสอบความต้านทานของพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวต่อไวรัสไอโซเลท OYVV-KB1

ตารางที่ 1. ปฏิกิริยาของกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์/พันธุ์ต่างๆต่อไวรัส OYVV-PC และ OYVV-KB1

พันธุ์กระเจี๊ยบเขียว	OYVV-PC	OYVV-KB1
	ลักษณะอาการของโรค (จำนวนต้นเป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด)	ลักษณะอาการของโรค (จำนวนต้นเป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด)
No. 4	YV (2/15)	YV (14/14)
No. 25	YV, YM (3/20)	- (0/27)
No. 42	YV, LC (5/22)	YV, YM (13/27)
No. 55	YV (1/25)	YV, YM (18/21)
No. 75	- (0/27)	YV (11/14)
กระเจี๊ยบเขียว กาญจนบุรี	YV (1/25)	- (0/25)
กรีนสตาร์ 152 (F3)	- (0/24)	- (0/25)
NE 3-4-6-2-2-B	CS, LC (30/30)	CS, LC, YV, YM (28/28)
NE 3-5-6-11-1-B	CS, YV, YM (30/30)	CS, YV, YM (22/25)
NE 3-4-15-7-1-B	CS, LC (28/28)	CS, YV, YM (30/30)
NE 3-4-2-7-1-B	CS, LC, YV (30/30)	CS, YV (28/28)
PN 6-12-2-3-3-B	CS, LC, YV (27/27)	CS, LC, YV, YM (30/30)
PN 6-3-10-1-3-B	CS, YV, LC (30/30)	YV, YM, LC (18/18)
PN 6-1-1-2-B	CS, LC, YV (30/30)	CS, LC, YV, YM (20/20)
A9-33-55-34-3-B	CS, LC (27/27)	CS, YV, LC (19/20)
2-1-3-12-3-8-B	CS, YV, YM (27/27)	YV, YM (3/19)
9-1-3-9-7-7-B	YV, YM (29/29)	YV, YM, LC (13/13)
Star 691	YV (1/20)	- (0/23)
พิจิตร 03	YV, YM, LC (30/30)	YV, YM, LC (30/30)

CS = Chlorotic spot (จุดเหลือง)

LC = Leaf curl (ใบม้วนงอ)

VY = Vein yellowing (เส้นใบเหลือง)

YM = Yellow mosaic (ใบด่างเหลือง)

- = No symptom (ไม่แสดงอาการ)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บตัวอย่างโรคเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียว จาก จ. พิจิตร 1 ไอโซเลท (OYVV-PC) และ 2 ไอโซเลท (OYVV-KB1 แล OYVV-KB2) จาก จ. กาญจนบุรี และนำมาถ่ายทอดโดยแมลงหวี่ขาว ลงบนกระเจี๊ยบพันธุ์ พิจิตร 03 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคนี้ พบว่า OYVV-PC เริ่มแสดงอาการเส้นใบเหลือง และเนื้อใบมีสีเขียวเข้ม ประมาณ 2-3 สัปดาห์ ในขณะที่ไอโซเลท OYVV-KB1 แสดงอาการเส้นใบเหลืองและเนื้อใบมีสีเขียวอ่อน หลังการถ่ายทอดโรคโดยแมลงหวี่ขาว 2-3 สัปดาห์ แต่ OYVV-KB2 พบอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลังการถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-4 สัปดาห์ โดยเส้นใบมีสีเขียวอ่อนหรือสีขาว เนื้อในมีสีเขียวเข้ม ผลการทดสอบความต้านทานของกระเจี๊ยบเขียว จำนวน 18 พันธุ์/สายพันธุ์ จาก ศวส. พิจิตร ต่อโรคเส้นใบเหลือง โดยใช้พันธุ์พิจิตร 03 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ โดยใช้ไอโซเลท OYVV-KB1 และ OYVV-PC พบว่า สายพันธุ์ กาญจนบุรี กรีนสตาร์ 152 (F3) พันธุ์ Star 691 และ No. 25 ค่อนข้างต้านทานต่อโรคเส้นใบเหลืองทั้ง 2 ไอโซเลท สูง 95-100 % ส่วนสายพันธุ์อื่นๆค่อนข้างอ่อนแอทั้งสองไอโซเลท OYVV-PC ยกเว้น สายพันธุ์ 2-1-3-12-3-8-B ค่อนข้างต้านทานต่อไอโซเลท OYVV-KB1 แต่อ่อนแอต่อไอโซเลท OYVV-PC (ตารางที่ 1) ซึ่งสามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปใช้ในการแนะนำพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวต้านทานโรคเส้นใบเหลืองที่เหมาะต่อการปลูกในแต่ละแหล่งของประเทศ ขณะนี้กำลังดำเนินการทดสอบความต้านทานของพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวต่อไวรัสไอโซเลท OYVV-KB1

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2545. เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับกระเจี๊ยบเขียว เกษตรดีที่เหมาะสม ลำดับที่ 31. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ. 22 หน้า.

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ อำนวย อรรถลังรอง และ พิสสวรรณ เจียมสมบัติ. 2543. โรคเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียว. วารสารโรคพืช. 14-15 (1-2) : 16-30.

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และวันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. กองโรคพืชและจุลชีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 88 หน้า.

จีราภา จอมไธสง และ ธงชัย สถาพรวรศักดิ์. 2543. กระเจี๊ยบเขียว. กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพฯ. 24 หน้า.

นิรนาม. 2540. แผนพัฒนากระเจี๊ยบเขียว. หน้า 57-60 ในแผนพัฒนาพืช ในช่วงแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 พ.ศ. 2540-2544 เล่มที่ 2. คณะกรรมการประสานงานวิจัยและส่งเสริมการเกษตรระหว่างกรมวิชาการเกษตรและกรมส่งเสริมการเกษตร.

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

อำภา ตันติสิระ เฉลิมเกียรติ โภคาวัฒนา ภัสรา ชวประดิษฐ์ ปิยรัตน์ เขียนมีสุข และ นิยมรัฐ ไตรศรี. 2533. กระเจี๊ยบเขียวเพื่อการส่งออก. กองส่งเสริมพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ. 20 หน้า.

Clark, M.F and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *J .Gen. Virol.* 34 : 475-483.

พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ควบคุมโรคเหี่ยวในขิง

Development of Powder Formulation of *Bacillus subtilis* for Controlling Bacterial Wilt of Ginger

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์[2/] บุษราคัม อุดมศักดิ์[1/]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช[1/]
กลุ่มวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาข้าว[2/]

บทคัดย่อ

การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 โดยเพิ่มปริมาณ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 บนอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar และ บนอาหารเหลว Tryptic Soy Broth ผสม magnesium sulfate ความเข้มข้น 0.1 M, methylcellulose ความเข้มข้น 2.5 % และผง talcum 1:4 (V:W) ได้ปริมาณแบคทีเรียในผงเชื้อ คือ$1.1x10^{10}$ และ $0.7x10^{10}$ CFU/กรัม ตามลำดับ นำผงเชื้อ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 ที่ได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C มาตรวจสอบการมีชีวิตของเชื้อ *B. subtilis* เป็นระยะเวลา 15 เดือน พบว่า ผงเชื้อที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีชีวิตอยู่รอดได้ 12 เดือน โดยปริมาณเชื้อแบคทีเรียในเดือนที่ 12 เหลือเพียง 1.0×10^{2} CFU/กรัม ในขณะที่ผงเชื้อที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C ยังคงมีชีวิตอยู่รอดได้ถึง 15 เดือนโดยปริมาณเชื้อแบคทีเรียเหลือ 4.3×10^{7} CFU/กรัม ในเดือนที่ 15

นำผงเชื้อ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 ที่ผลิตได้ไปทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในเรือนทดลองพบว่าสัปดาห์ที่ 7 หลังการปลูกขิง ผงเชื้อมีประสิทธิภาพของในการควบคุมโรคเหี่ยว 60 % โดยมีปริมาณของเชื้อ *B. subtilis* 3.5×10^{5} CFU/ดิน 1 กรัม นำผงเชื้อไปทดสอบประสิทธิภาพในในสภาพแปลงทดลอง ที่ ศูนย์บริการวิชาการและปัจจัยการผลิตห้างฉัตร จังหวัดลำปาง โดยวางแผนการทดลอง RCB 3 กรรมวิธี 4 :ซ้ำ โดยทำการทดลอง 2 ปี (2550-2551) พบว่า ผงเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวของขิง ในปีแรก สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 30-37 % .และ 67.5-72.5% ในปีที่สอง

รหัสโครงการ 07-01-49-06

คำนำ

โรคเหี่ยวของขิงเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* Syn. *(Pseudomonas solanacearum)* เป็นโรคที่ทำความเสียหายอย่างสูงต่อการผลิตและการส่งออกขิง การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยากเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคสามารถมีชีวิตอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวกับพืชเศรษฐกิจอื่น ๆ เช่น ปทุมมา มันฝรั่ง ไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรค มีรายงานการใช้พันธุ์ต้านทาน การเขตกรรม และการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรค ซึ่งพบว่าการใช้ชีววิธีควบคุมโรคเหี่ยวมีความเป็นไปได้สูง

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ไม่ถูกต้องเหมาะสม และเป็นการนำเอาจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นantagonist ซึ่งในปัจจุบันได้มีการนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย จนกระทั่งแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ และจำหน่ายเป็นการค้ากันอย่างแพร่หลาย เช่น เชื้อรา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

ณัฏฐิมาและคณะ (2547) ได้ศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงถึง 60% แต่การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการทดลองนี้เตรียมในรูปเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียแล้วนำไปจุ่มหัวพันธุ์และราดลงบนดินซึ่งเป็นการไม่สะดวกต่อเกษตรกรที่จะนำไปใช้ในสภาพแปลงและทำให้ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไม่คงที่เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมซึ่งส่วนใหญ่ประสิทธิภาพมักจะลดลงอันเนื่องมาจากเซลแบคทีเรียตายลง การศึกษาวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นการพัฒนาสูตรสำเร็จในรูปแบบผงในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงที่ง่ายต่อการใช้งาน และประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* คงที่ สามารถเก็บรักษาไว้ได้ในระยะเวลานาน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย
3. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
4. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

5. วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน กระถางต้นไม้ ปุ๋ย หัวพันธุ์ขิง

6. โรงเรือนปลูกพืชทดลอง

วิธีการ

1. การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*

การเพิ่มปริมาณ *B.subtilis* บนอาหารแข็ง

เลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* บนอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง เติมสารละลาย magnesium sulfate (0.1 M) 10 มล.ต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียบนผิวอาหารให้ผสมในสารละลายจากนั้นนำไปผสมกับ methylcellulose 2.5% ในน้ำ ในปริมาตรที่เท่ากัน พักไว้ 20 นาที จึงผสมกับสารพาผงทัลคัม (Talcum) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในอัตรา 1:4 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ผสมให้เข้ากันดีก่อนนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดให้เป็นผงละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh เก็บไว้ถุงพลาสติกก่อนนำไปศึกษาต่อไป (Xu and Gross, 1986)

การเพิ่มปริมาณ *B.subtilis* บนอาหารเหลว

เลี้ยงเชื้อ *B.subtilis* ในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) นำไปวางบนเครื่องเขย่าที่ 150 rpm. นาน 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ผสม carboxymethylcellulose 10 กรัมกับผง talc 1 กิโลกรัม นำส่วนผสมไปนึ่งฆ่าเชื้อนาน 30 นาที 2 วัน ติดต่อกันวันละครั้ง จากนั้นนำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปริมาณ 400 มล. เทลงในส่วนผสมของผงทัลคัม (Talcum) และ carboxymethylcellulose 1 กิโลกรัม ผสมให้เข้ากันดีในสภาพปลอดเชื้อ บรรจุในถุงพลาสติก (Vidhyasekaran and Muthamilan, 1995)

การตรวจปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่ผลิตได้

นำส่วนผสมผงเชื้อ 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับเชื้อ *B. subtilis* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร

2. การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

หลังจากตรวจนับปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ในผงเชื้อที่ผลิตได้แล้ว นำผงเชื้อแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) อีกส่วนหนึ่งเก็บรักษาในตู้เย็น (4-6 องศาเซลเซียส) และทำการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในผงเชื้อสูตรต่าง ๆ ที่แบ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิและในตู้เย็นทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา 6-12 เดือน

3. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในเรือนทดลอง

การเตรียมดินผสมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

เลี้ยงเชื้อ *R. solanacearum* บนอาหารแข็ง Wakimoto's semisynthetic potato medium (PSA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติมน้ำนึ่ง 10 มล.ต่อจานเลี้ยงเชื้อ กวาดเซลล์แบคทีเรียผสมในน้ำเพื่อเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ปรับให้มีความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml. นำไปผสม

คลุกเคล้ากับดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วที่อัตรา 1:10 (ปริมาตร:น้ำหนัก) นำดินที่ผสมเชื้อสาเหตุโรคไปตรวจหาปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* โดยวิธี soil dilution plates ก่อนนำดินไปบรรจุในกระถางเพื่อเตรียมไว้ปลูกพืชทดสอบต่อไป

การคลุกหัวพันธุ์ขิงด้วยผงเชื้อ *B.subtilis*

นำหัวพันธุ์ขิง พันธุ์ขิงหยวกล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้งมาคลุกด้วยผงเชื้อ *B. subtilis* ที่อัตรา 1% โดยน้ำหนัก นำไปปลูกในดินที่เตรียมไว้ข้างต้น จากนั้นนำผงเชื้อ *B. subtilis* ผสมน้ำนึ่งเพื่อเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ที่มีความเข้มข้น $1x10^9$ cfu/มิลลิลิตร นำไปรดพืชทดสอบที่ปลูกไว้ในกระถางทุก 1 สัปดาห์ สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกด้วยหัวพันธุ์ขิงที่ไม่ได้คลุกด้วยผงเชื้อ *B. subtilis* และใช้น้ำนึ่งรดพืชทดสอบแทนการใช้เซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย

การบันทึกข้อมูล

บันทึกปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ในดินที่เตรียมไว้ก่อนนำไปใช้ปลูกพืชทดสอบ บันทึกปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* และ *B. subtilis* ในดินที่ใช้ปลูกพืชทดสอบแล้วทุกสัปดาห์ บันทึกจำนวนต้นพืชที่เป็นโรคเหี่ยวทุกสัปดาห์

4. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis*ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพแปลงทดลอง

การเตรียมดินผสมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

เตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียสาเหตุโรค *R.solanacearum* ปลูกเชื้อกับต้นกล้ามะเขือเทศเพื่อให้เป็นโรคเหี่ยว แล้วนำต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคสับให้ละเอียดผสมคลุกเคล้ากับดินในแปลงทดลอง สุ่มตัวอย่างดินไปตรวจนับปริมาณเชื้อ *R.solanacearum* ด้วยวิธี soil dilution plates

การปลูกขิง

ทำการปลูกหัวพันธุ์ขิงในแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 4 ซ้ำ 3กรรมวิธีๆละ 18 หัว ดังรายเอียดกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผงเชื้อ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no 4 จำนวน 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร รดทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 2 ผงเชื้อ *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no 4 จำนวน 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร รดทุก 30 วัน

กรรมวิธีที่ 3 กรรมวิธีควบคุม น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

นำหัวพันธุ์ขิง ที่มีตาเริ่มงอก มาล้างให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง คลุกด้วยผงเชื้อ *B.subtilis* ที่อัตรา 1% โดยน้ำหนัก นำไปปลูกในแปลงทดลองตามแผนการทดลอง

การบันทึกข้อมูล

บันทึกปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงทดสอบก่อนนำพืชไปปลูก บันทึกปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* และ *B. subtilis* จากตัวอย่างดินที่สุ่มเก็บจากแปลงทดสอบที่ใช้ปลูกพืชทดสอบทุกเดือน บันทึกจำนวนต้นพืชที่เป็นโรคเหี่ยวทุกเดือน

เวลาและสถานที่

ต.ค.48 – เม.ย.52 ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis*

การเตรียมผงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* โดยเพิ่มปริมาณ *B. subtilis* บนอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar (TSA) และ บนอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) และปรับปริมาณเชื้อให้ได้ 10^9 CFU/กรัม ผสม magnesium sulfate ความเข้มข้น 0.1 M, methylcellulose ความเข้มข้น 2.5 % และผงทัลคัม (Talcum) 1:4 (V:W) ผึ่งให้แห้งสนิทในตู้ปลอดเชื้อ นำไปตรวจนับปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่ผลิตโดย นำส่วนผสมผงเชื้อ 1 กรัม มาตรวจนับปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ด้วยวิธี dilution plating บนอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วตรวจนับเชื้อ *B. subtilis* ที่เจริญบนผิวหน้าอาหารได้ พบว่า ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เตรียมจากอาหารแข็ง TSA และ อาหารเหลว TSB คือ1.1×10^{10} และ 0.7×10^{10} CFU/กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

2. การตรวจเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

นำผงเชื้อแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) อีกส่วนหนึ่งเก็บรักษาในตู้เย็น (4-6 องศาเซลเซียส) ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียในผงเชื้อสูตรต่าง ๆ ที่แบ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิและในตู้เย็นทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา 15 เดือน ผลการทดลองผงเชื้อที่ได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีชีวิตอยู่รอดได้ 12 เดือน แต่ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนที่ 3 โดยลดลงจาก 0.2×10^{10} CFU/กรัม เหลือ 5.3×10^9 CFU/กรัมและลดลงอย่างรวดเร็วในตั้งแต่เดือนที 8 จนถึงเดือนที่ 12 จาก 0.9×10^8 CFU/กรัม เหลือเพียง 1.0×10^2 CFU/กรัม (ตารางที่ 2) ในขณะที่ผงเชื้อที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 $^{\circ}$C ยังคงมีชีวิตอยู่รอดได้ถึง 15 เดือนโดยที่ความเข้มข้นลดลงจากเริ่มต้นเพียงเล็กน้อย จากปริมาณเริ่มต้น1.1×10^{10}CFU/กรัม ลดลงเหลือ 4.3×10^7 CFU/กรัม ในเดือนที่ 15 (ตารางที่ 2)

3. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในเรือนทดลอง

นำผงเชื้อที่ผลิตได้ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในเรือนปลูกพืชทดลอง โดยปริมาณประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* ในดินผสม ซึ่งเป็นประชากรเริ่มต้นคือ 3.5×10^6 CFU/ดิน 1 กรัม พบว่า ประสิทธิภาพของผงเชื้อในการควบคุมโรคเหี่ยวในสัปดาห์ที่ 7 หลังการปลูกขิง มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรค 60 % โดยมีปริมาณของเชื้อ *B. subtilis* 3.5×10^5 CFU/ดิน 1 กรัม และมีปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* เหลืออยู่เพียง 5.6×10^3 CFU/ดิน 1 กรัม ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรค 0% ปริมาณของเชื้อ *R.*

solanacearum มีอยู่ 2.6 x 10^4 CFU/ดิน 1 กรัม(ตารางที่ 3) จากผลการทดลองพบว่าผงเชื้อ *B. subtilis* สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของของในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองได้ถึง 60% ซึ่งการทดลองสอดคล้องกับ ณัฏฐิมา และคณะ (2547) ได้รายงานผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ *B. subtilis* โดยได้รายงานว่า *B. subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ 60% เช่นกัน

4. ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพแปลงทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 ในสภาพแปลงทดลองเป็นเวลา 2 ปี (ปี 2550 และ 2551) โดยทดลองในแปลงทดลองของศูนย์บริการวิชาการและปัจจัยการผลิตห้างฉัตร จังหวัดลำปาง การทดลองใช้แปลงเดิมทั้งสองปี จากการทดลองพบว่า การควบคุมโรคเหี่ยวของผงเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 โดยการคลุกหัวพันธุ์ด้วย 1% ผงเชื้อและราดด้วยผงเชื้อทุก 15 วัน และ 30 วัน ในปีที่ 1 (2550) พบเกิดโรคเหี่ยว 70 และ 63 % และสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ 30 และ 37 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และมีปริมาณเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 อยู่ประมาณ 2.4 x10^4 และ 1.3 x 10^4 CFU/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อพบเกิดโรคเหี่ยว 91.25% โดยควบคุมโรคเหี่ยวได้เพียง 8.75% (ตารางที่ 4) ประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* ในแปลงทดลองลดลงทุกกรรมวิธี จากเดิมที่มีอยู่ 0.2-3.4 x10^5 cfu/ ดิน 1 กรัม เหลือ 1.3 x10^2-3.4 x 10^4 cfu/ ดิน 1 กรัม (ตารางที่ 6) โดยแปลงทดลองที่ใส่ผงเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 ทุกกรรมวิธี ประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* ลดลงมากกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่ได้ใส่ผงเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4

ปีที่ 2(2551) พบเกิดโรคเหี่ยว 32.5 และ 27.5 % และสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ 67.5 และ 72.5 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และมีปริมาณเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 อยู่ประมาณ 2.3 x10^5 และ 1.6 x 10^5 CFU/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อพบเกิดโรคเหี่ยว 41.25% โดย ควบคุมโรคเหี่ยวได้ 58.75% (ตารางที่ 4) ประชากรของเชื้อ *R. solanacearum* ในแปลงทดลองลดลงทุกกรรมวิธี จากเดิมที่มีอยู่ 1.1-6.4 x10^5 cfu/ ดิน 1 กรัม เหลือ 1.6 -5.4 x10^3 cfu/ ดิน 1 กรัม (ตารางที่ 6)

จากผลการทดลองการทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 ทั้ง 2 ปี (2550-2551) พบว่า ผงเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no. 4 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวของขิง ในปีแรก สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 30-37 % .และ 67.5-72.5% ในปีที่สอง จะเห็นได้ว่าในการทดลองในปีที่สองซึ่งเป็นการทดลองในแปลงเดิมนั้นจะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคเพิ่มมากขึ้น ประชากรของเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ

no. 4 ที่อยู่ในแปลงเพิ่มขึ้นเช่นกัน ซึ่งอาจจะเกิดจากการสะสมของเชื้อ *B.subtilis* ดินรากยาสูบ no.4 ที่เพิ่มมากขึ้นทำให้ความสามารถในการควบคุมโรคเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากสภาพอากาศที่มีความผันแปรสูงมาก โดยในปี 2551 ในช่วงเดือน ตุลาคม 2551 – มกราคม 2552 มีอากาศหนาวเย็นมากกว่าปกติ โดยอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ที่ 13-16 องศาเซลเซียส ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเกิดโรคเหี่ยว โดยสังเกตได้จากเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแปลงเปรียบเทียบที่ไม่ได้ใส่ผงเชื้อ พบเกิดโรคน้อยเพียง 41.25%ซึ่งน้อยกว่าในปี 2551ที่เกิดโรคถึง 91.25%

เอกสารอ้างอิง

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2534. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการหลักสูตร การควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี.หน้า 1-13. ระหว่างวันที่13-17 พฤษภาคม 2534 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม.

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล,วงศ์ บุญสืบสกุล, อรพรรณ วิเศษสังข์ และ ทัศนาพร ทัศคร. 2547. การศึกษาการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงและมะเขือเทศ. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2547 . กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช . (อยู่ระหว่างการตีพิมพ์)

สุธัญญา ฉายาชวลิตร. 2527. การศึกษาโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อบักเตรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

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

Sanaina,V.,V.Kishore and G.S. Shekhawat. 1997. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and other Bacteria. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

Xu, G.W. and D.C. Gross.1986. Field evaluation of the interaction among fluorescent Pseudomonas, Erwinia calotovora and potato yield. Phytophathology 76 : 423-430.

Vidhyasekaran, P. and M. Huthamilan. 1995. Development of formulations of Pseudomonas fluorescens for control of Chickpea wilt. Plant Dis. 79: 782-786.

ตารางที่ 1 ปริมาณแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เตรียมมาจากอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar และอาหารเหลว Tryptic Soy Broth

อาหารเตรียมผงเชื้อ	**ปริมาณแบคทีเรีย (CFU/ผงเชื้อ 1 กรัม)**
อาหารแข็ง Tryptic Soy Agar	1.1×10^{10}
อาหารเหลว Tryptic Soy Broth	0.7×10^{10}

ตารางที่ 2 ปริมาณแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่มีชีวิตรอดในผงเชื้อที่เก็บที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ

เดือนที่	**ปริมาณแบคทีเรีย (โคโลนี/มิลลิลิตร)**	
	อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส)	**ตู้เย็น (4-6 องศาเซลเซียส)**
0 [1/]	1.1×10^{10}	1.1×10^{10}
1	0.7×10^{10}	1.3×10^{10}
2	0.2×10^{10}	1.9×10^{10}
3	5.3×10^{9}	1.5×10^{10}
4	2.8×10^{9}	1.5×10^{10}
5	3.3×10^{9}	1.7×10^{10}
6	1.2×10^{8}	0.3×10^{10}
7	0.9×10^{8}	0.9×10^{10}
8	1.7×10^{7}	9.0×10^{9}
9	2.2×10^{5}	8.0×10^{9}
10	1.3×10^{4}	8.6×10^{9}
11	3.2×10^{3}	8.3×10^{9}
12	1.0×10^{2}	3.0×10^{8}
13	-	2.5×10^{8}
14	-	1.5×10^{8}
15	-	4.3×10^{7}

[1/] ปริมาณเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้น

ตารางที่ 3 ทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อ *Bacillus subtislis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในเรือนปลูกพืชทดลอง

สัปดาห์ที่	ผงเชื้อ *Bacillus subtislis*			น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	
	เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคเหี่ยว	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU* / ดิน 1 กรัม)[2/]		เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคเหี่ยว	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU* / ดิน 1 กรัม)[2/]
		Ralstonia solanacearum	*Bacillus subtislis*		*Ralstonia solanacearum*
1	100[1/]	3.6×10^6	2.97×10^4	100	3.6×10^6
2	100	1.2×10^5	2.7×10^4	100	4.9×10^6
3	90	1.4×10^5	2.6×10^4	80	1.2×10^7
4	80	8.9×10^4	8.7×10^4	40	7.2×10^7
5	70	5.6×10^4	1.75×10^5	0	9.6×10^6
6	60	2.3×10^4	2.5×10^5	0	4.7×10^5
7	60	5.6×10^3	3.5×10^5	0	2.6×10^4

1/ การควบคุมโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นรอดตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

2/ CFU = หน่วยโคโลนี

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการควบคุมโรคของผงเชื้อ *Bacillus subtislis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในแปลงทดลอง

Treatment	2007(2550)					2008(2551)				
	เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคเหี่ยว					เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรคเหี่ยว				
	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov
T1	80	63.75	45	38.75	30	71.25	66.25	71.25	68.75	67.5
T2	67.5	56.25	47.5	46.75	37.5	82.5	77.5	75	73.75	72.5
T3	28.75	16.25	12.5	12.5	8.75	68.75	63.75	61.25	61.25	58.75

T1 ผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 จำนวน 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร รดทุก 15 วัน

T2 ผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 จำนวน 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร รดทุก 30 วัน

T3 กรรมวิธีควบคุม รดด้วยน้ำเปล่า

ตารางที่ 5 จำนวนประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtislis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 ในแปลงทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในแปลงทดลอง

Treatment	2007(2550)					2008(2551)				
	ปริมาณแบคทีเรีย (CFU* / ดิน 1 กรัม)					**ปริมาณแบคทีเรีย (CFU* / ดิน 1 กรัม)**				
	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov
T1	$2.3x10^4$	$1.2x10^4$	$2.7x10^4$	$1.9x10^4$	$2.4x10^4$	$1.1x10^5$	$3.1x10^5$	$2.7x10^5$	$2.1x10^5$	$2.3.x10^5$
T2	$0.2x10^4$	$2.0x10^4$	$1.5x10^4$	$1.8x10^4$	$1.3x10^4$	$2.2x10^5$	$1.6x10^5$	$1.9x10^5$	$3.1x10^5$	$1.6x10^5$

T1 ผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 จำนวน 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร รดทุก 15 วัน

T2 ผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 จำนวน 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร รดทุก 30 วัน

T3 กรรมวิธีควบคุม รดด้วยน้ำเปล่า

ตารางที่ 6 จำนวนประชากรของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ในแปลงทดสอบประสิทธิภาพของผงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtislis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในแปลงทดลอง

Treatment	2007(2550)					2008(2551)				
	ปริมาณ *Ralstonia solanacearum* (CFU* / ดิน 1 กรัม)					**ปริมาณ *Ralstonia solanacearum* (CFU* / ดิน 1 กรัม)**				
	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov	Jul	Aug	Sept	Oct	Nov
T1	$2.3x10^5$	$1.2x10^4$	$2.7x10^3$	$1.9x10^3$	$2.4x10^2$	$1.1x10^5$	$3.1x10^4$	$1.7x10^4$	$2.1x10^3$	$2.3.x10^3$
T2	$0.2x10^5$	$2.0x10^4$	$1.5x10^3$	$1.8x10^2$	$1.3x10^2$	$2.2x10^5$	$1.6x10^4$	$1.9x10^4$	$3.1x10^3$	$1.6x10^3$
T3	$3.4x10^5$	$5.4x10^5$	$2.2x10^4$	$1.4x10^4$	$3.4x10^4$	$6.4x10^5$	$2.4x10^4$	$2.6x10^4$	$3.4x10^3$	$5.4x10^3$

T1 ผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 จำนวน 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร รดทุก 15 วัน

T2 ผงเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ดินรากยาสูบ no 4 จำนวน 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร รดทุก 30 วัน

T3 กรรมวิธีควบคุม รดด้วยน้ำเปล่า

การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของแบคทีเรีย *Pantoea stewartii*

Surveillance and Dissemination of *Pantoea stewartii*

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล พีระวรรณ พัฒนวิภาส
ณัฏฐพร อุทัยมงคล[1/] ชลธิชา รักใคร่[1/]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* สาเหตุโรคเหี่ยวของข้าวโพด (stewart's bacterial wilt disease of corn) เป็นเชื้อที่มีความสำคัญทางกักกันพืช จากการที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นส้นทาง(pathway) ของเชื้อนี้ที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ เนื่องจากเป็นโรคที่ถ่ายทอดได้ทางเมล็ดพันธุ์(seed transmission) จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจติดตามและเฝ้าระวังโรคเหี่ยวของข้าวโพดเชื้อนี้อย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช วิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช และการกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 5 แหล่ง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2550- กันยายน 2551 จำนวน 70 แปลง ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 15 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 13 แปลง จังหวัดเชียงราย จำนวน 10 แปลง จังหวัดตาก จำนวน 20 แปลง และจังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 12 แปลง ไม่พบอาการโรคเหี่ยวบนต้นกล้าของข้าวโพด ได้ทำการเก็บตัวอย่างที่มีอาการใบไหม้ (leaf blight) ที่มีลักษณะอาการคล้ายกับอาการโรคเหี่ยวในต้นข้าวโพด จำนวน 82 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *P. stewartii* ด้วยวิธี enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปจากบริษัท Agdia, Elkhart, Indiana, USA พบว่าทุกตรวจอย่างตรวจไม่พบเชื้อ *P. stewartii*

รหัสโครงการ 07-01-51-01

[1/] กลุ่มวิจัยการกักกันพืช

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตข้าวโพดที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีพื้นที่ปลูกประมาณ 7ล้านไร่ ในปี 2547 มีปริมาณการส่งออกข้าวโพด 871,791 ตันต่อปี มูลค่าการส่งออกประมาณ 4,651 ล้านบาท(ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร) นอกจากนี้ประเทศไทยยังมีการสั่งนำเข้าเมล็ดข้าวโพดมีมูลค่านำเข้า เพื่อการบริโภคและเพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์แม่พันธุ์ เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม สำหรับใช้ในประเทศและส่งออก โดย ในปี 2547 มีปริมาณนำเข้า 75,753 ตัน มีมูลค่าการนำเข้า 212 ล้านบาท จากการที่ประเทศไทยมีการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ทำให้มีความเสี่ยงในการเป็นส้นทาง(pathway) ของศัตรูพืชที่สำคัญที่อาจติดมากับเมล็ดพันธุ์ เช่นโรคเหี่ยวของข้าวโพด (stewart's bacterial wilt of corn)ได้ เนื่องจากเป็นโรคที่ถ่ายทอดได้ทางเมล็ดพันธุ์(seed transmission) ในข้าวโพดทุกพันธุ์ เชื้อสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* ที่มีแหล่งกำเนิดดั้งเดิมในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยมีรายงานว่ามีแมลง corn flea bettle (*Chaetocnema pulicaria*) เป็นแมลงพาหะ มีรายงานการระบาดของโรคเหี่ยวของข้าวโพดในประเทศอิตาลี ในปี 1950 สาเหตุจากการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากประเทศอเมริกา (FAO, 1983) ประเทศไทยมีรายงานการพบโรคเหี่ยวของข้าวโพดตั้งแต่ปี 1967 (Bradbury, 1967) หลังจากนั้นมาไม่มีรายงานการพบโรคนี้อีก(CMI.1987)ต่อมาในปี 2547 สุดฤดีและคณะ ได้รายงานการพบโรคเหี่ยวของข้าวโพดในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ อ.ปากช่อง จ. นครราชสีมา จากรายงานการตรวจพบโรคเหี่ยวของข้าวโพดนี้จึงจำเป็นต้องมีการสำรวจติดตามและเฝ้าระวังโรคเหี่ยวของข้าวโพดและเชื้อแบคทีเรีย *Pantoea stewartii* อย่างเป็นระบบ เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ในการจัดทำวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช การกำหนดพื้นที่ปลอดศัตรูพืช และใช้ในการจัดเตรียมบัญชีรายชื่อศัตรูพืช

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อชนิดปลอดเชื้อ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven) อุปกรณ์การแยกเชื้อแบคทีเรีย

2. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น

3.สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

4. ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปจากบริษัท Agdia, Elkhart, Indiana, USA

วิธีการ

1. ศึกษา รวบรวมข้อมูลการนำเข้าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดจากแหล่งผลิตที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อ *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* ระหว่างปี 2544 – ปี 2549

2. จัดทำแบบฟอร์มรายละเอียดของข้อมูลที่ต้องการบันทึกได้แก่ แหล่งปลูก ตำบล อำเภอ จังหวัด ช่วงเวลาในการสำรวจ พิกัดของแหล่งปลูก(GPS) ลักษณะอาการ เป็นต้น

3. การสำรวจ การสำรวจโรคเหี่ยวของข้าวโพดดำเนินการสำรวจแบบเฉพาะเจาะจง (specific survey) เพื่อให้ทราบข้อมูลโรคเหี่ยวของข้าวโพดและเชื้อสาเหตุโรค*P. stewartii* ในพื้นที่สำรวจและในเวลาที่กำหนด กำหนดพื้นที่สำรวจโดยเป็นแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ที่สำคัญของประเทศ จำนวน 8 แหล่งปลูก ใน 4 จังหวัด ได้แก่ ตาก นครราชสีมา สระบุรี และลพบุรี วางแผนการสำรวจในพื้นที่อย่างน้อย 20 ไร่ แบ่งพื้นที่ออกเป็น 4 ส่วนๆละประมาณ 5 ไร่ แต่ละส่วนทำการสุ่มสำรวจโดยวิธี completely randomized design (CRD) . จำนวน 10 จุดขนาดพื้นที่จุดละ 2x2 เมตร สุ่มตรวจ จุดละ 20 ตัวอย่าง ตรวจแบบตัวอักษร W ซ้าย ตามวิธีของ Delp *et.al*. (1986) ทำการสุ่มตรวจทุกเดือน

.4. วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคเหี่ยวของข้าวโพดในแปลงปลูก จัดทำรูปภาพลักษณะอาการของโรคทุกระยะของพืชจัดทำเป็นคู่มือในการสำรวจ เมื่อออกสำรวจให้สังเกตจากลักษณะอาการของโรคเปรียบเทียบกับคู่มือ และบันทึกลักษณะอาการที่พบ ถ่ายรูป เก็บตัวอย่างโรคที่พบใส่ถุงหรือภาชนะที่ใช้เก็บตัวอย่างพร้อมเขียนรายละเอียดกำกับ รีบนำกลับมาตรวจสอบในห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันผล

5. การตรวจจำแนกในห้องปฏิบัติการ ตรวจสอบตัวอย่างด้วยวิธี ELISA โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปจากบริษัท Agdia, Elkhart, Indiana, USA และ วิธี PCR ตามวิธีของ Blakemore *et.al.* (1992) ยืนยันโดยการทำการแยกเชื้อสาเหตุจากตัวอย่างโรคที่เก็บมาโดยใช้อาหารเฉพาะ Nigrosine medium

6. เก็บข้อมูลที่ได้ในรูปdata sheet เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ทางสถิติ จัดทำรายงานผลการวิจัย

เวลาและสถานที่

ต.ค.50 – ก.ย.53 ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ แปลงปลูกข้าวโพด ในแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ของประเทศไทย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 5 แหล่ง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2550- กันยายน 2551 จำนวน 70 แปลง ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 15 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 13 แปลง จังหวัดเชียงราย จำนวน 10 แปลง จังหวัดตาก จำนวน 20 แปลง และจังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 12 แปลง ไม่พบอาการโรคเหี่ยวบนต้นกล้าของข้าวโพด ได้ทำการเก็บตัวอย่างที่มีอาการใบไหม้ (leaf blight) ที่มีลักษณะอาการคล้ายกับอาการโรคเหี่ยวในต้นข้าวโพด จำนวน 82 ตัวอย่าง นำมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *P. stewartii* ด้วยวิธี enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) โดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูปจากบริษัท Agdia, Elkhart, Indiana, USA พบว่าทุกตรวจอย่างตรวจไม่พบเชื้อ *P. stewartii*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจแหล่งปลูกข้าวโพด 5 แหล่ง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2550- กันยายน 2551 จำนวน 70 แปลง ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 15 แปลง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 13 แปลง จังหวัดเชียงราย จำนวน 10 แปลง จังหวัดตาก จำนวน 20 แปลง และจังหวัดนครสวรรค์ จำนวน 12 แปลง ไม่พบอาการของโรคเหี่ยวของข้าวโพด และยังไม่พบเชื้อแบคทีเรีย *P. stewartii*

เอกสารอ้างอิง

สุดฤดี ประเทืองวงศ์ ประชุม จุฑาวรรธนะ กุลชนา เกศสุวรรณ์ และ สุพจน์ กาเซ็ม. 2547. การระบาดของโรคข้าวโพดจากแบคทีเรียชนิดใหม่ในประเทศไทยใ ใน การประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการข้าวโพดข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ม 19-21 พฤษภาคม 2547. จ.อยุธยา 249-262.

Block CC, Hill JH, McGee DC, 1998. Seed transmission of Pantoea stewartii in field and sweet corn. Plant Disease, 82(7):775-780.

Bradbury JF, 1967. Erwinia stewartii. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No. 123. Wallingford, UK: CAB International

Claflin LE, 1999. Stewart's bacterial wilt. In: Compendium of Corn Diseases. 3rd Edition. St. Paul, Minnesota, USA: American Phytopathological Society, 4-5.

CMI, 1987. Distribution Maps of Plant Diseases, No. 41, Edition 4. Wallingford, UK: CAB International.

Elliot C, Poos FW, 1940. Seasonal development, insect vectors, and host range of bacterial wilt of corn. Journal of Agricultural Research, 645-686

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

FAO, 1983. Reappearance of *Erwinia stewartii* in the Po valley. FAO Plant Protection Bulletin 31,96.

Guo YF, Liang ZQ, Lu GQ, Xie BC, 1987. Survival conditions of *Erwinia stewartii* in stored corn. Acta Phytophylactica Sinica, 14(1):39-44.

OEPP/EPPO, 1987. Data sheet on quarantine organisms No. 54, *Erwinia stewartii*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 8:2.

Pepper EH, 1967. Stewart's Bacterial Wilt of Corn. Monogr. 4. St. Paul, Minnesota, USA: American Phytopathological Society.

Robert AL, 1955. Bacterial wilt and Stewart's leaf blight of corn. USDA Farmer's Bulletin, 2092.

ภาคผนวก

ภาพที่ 1 ลักษณะอาการของโรคเหี่ยวบนต้นกล้าข้าวโพด

ภาพที่ 2 ลักษณะอาการของโรคเหี่ยวบนต้นข้าวโพด

การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมา โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

Control of Phatumma bacterial wilt disease by antagonist bacteria

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล วิภาดา ทองทักษิณ[1/] สุธามาศ ณ น่าน[2/]
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดิน ปุ๋ยคอก และรากพืช เพื่อหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก 4 จังหวัดภาคเหนือ สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ได้ 100 ไอโซเลท นำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ*Ralstonia solanacearum* ในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Direct bioassay (Disc diffusion method) ได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 8 ไอโซเลท นำเชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 ไอโซเลท ที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ได้โดยสามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 60% นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลทไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4415 และรากอ้อย no.6 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงทดลองได้ 43 และ 40 % ตามลำดับ

รหัสโครงการ 01-15-49-03

1/ กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน

2/ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

คำนำ

ปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*, Gagnep) เป็นไม้พื้นบ้านของไทย อยู่ในกลุ่มพืชสกุลกระเจียวเป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae เช่นเดียวกับขิง ข่า มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบอีสานของประเทศไทย(วิภาดาและนิพัฒน์, 2537) ปัจจุบันนำมาใช้เป็นไม้ตัดดอก ไม้กระถาง และไม้ประดับแปลง(วิภาดาและนิพัฒน์, 2537) เป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ โดยเริ่มมีการส่งออกเหง้าหรือหัวพันธุ์ ปทุมมา ในปี พ.ศ. 2528 (สุรวิช, 2539) ตลาดการส่งออกปทุมมาที่สำคัญคือ ญี่ปุ่น อเมริกา และเนเธอร์แลนด์ (สุรวิช, 2537) ปัจจุบันการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาประสบปัญหาการแพร่ระบาดของโรคเหี่ยว(bacterial wilt) หรือโรคหัวเน่า (brown rot) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (สุเนตราและคณะ, 2538; ณัฏฐิมาและคณะ,2541) เชื้อแบคทีเรียนี้เข้าทำลายพืชได้ทุกระยะพบมากในช่วงที่พืชกำลังออกดอก ทำให้ต้นพืชเกิดอาการใบม้วน และมีสีซีด เหมือนขาดน้ำต่อไปใบเริ่มเหลืองและหักพับ ลำต้นเน่าและลุกลามไปยังส่วนหัวจึงทำให้เกิดอาการหัวเน่าขึ้น เชื้อนี้สามารถติดไปกับส่วนขยายพันธุ์ สามารถแอบแฝงอยู่ในหัวพันธุ์ (Latent infection) เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะแสดงอาการของโรคออกมาทำให้เกิดการระบาดของโรค

การป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ยาก เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถที่จะคงอยู่ในดินเป็นเวลานานและมีพืชอาศัยกว้าง ไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคนี้ วิธีการป้องกันกำจัดยังคงจำกัด วิธีควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีเป็นที่ยอมรับเป็นอย่างมาก ในปัจจุบันได้มีใช้เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมศัตรูพืชด้านการเกษตร ทดแทนสารเคมีบางส่วน และเลือกใช้กับศัตรูพืชที่ไม่สามารถใช้สารเคมีป้องกันกำจัดได้ Celino และ Gotllieb(1952) ศึกษาการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus polymyxa* B_3 A โดยการใส่ลงในดินที่มีเชื้อสาเหตุโรคสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ได้และลดการเกิดโรคจาก 70 เปอร์เซ็นต์ ลงเหลือเพียง 33 เปอร์เซ็นต์ Sanaina และคณะ (1997) ได้ศึกษาการแยกเชื้อแบคทีเรียจากบริเวณ Rhizophere ของต้นมันฝรั่งและรากนำมาคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์พบเชื้อ *Baccillus cereus, B. subtrilis, Entero bacter cloaceae* และ avirulent mutant ของเชื้อ *R. solanacearum* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สามารถลดการเกิดโรคได้ 66-83% Guoและคณะ (2002) ได้รายงานการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของพริกโดยชีววิธี ด้วยใช้เชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas* spp. (J3) และ เชื้อ *Bacillus* spp (BH11 และ FH17) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองโดยเชื้อปฏิปักษ์ J3 และ BH11 สามารถทำให้โรคลดลง 54 และ 65 % และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 80-100% เชื้อปฏิปักษ์ FH17 สามารถทำให้โรคลดลง 34 % ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเพียง 50% เมื่อ

นำเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสามชนิดมาผสมกันในอัตรา 1:1:1 พบว่าสามารถทำให้โรคลดลง 75 % และทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 200%

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดิน ปุ๋ยคอกและรากพืชต่าง ๆ

เก็บตัวอย่างของดินและปุ๋ยคอกในแหล่งปลูกพืชต่างๆ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำพูน ลำปาง เป็นต้น เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่มจากแปลงปลูกพืชได้แก่ ปทุมมา ขิง และมะเขือเทศ โดยเก็บดินบริเวณรอบราก พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างปุ๋ยคอก นำมาผึ่งลมให้แห้งพอหมาด ๆ นำมาทำสารละลายดินหรือปุ๋ยคอกโดยใช้ดินหรือปุ๋ยคอก 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 250 มิลลิลิตร(มล.) เขย่าบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาแยกเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี soil plate method โดยนำมาทำให้เจือจางโดยวิธี serials dilution ตั้งแต่ 10^{-1} -10^{-8} จากนั้นนำสารละลายดิน 0.1 มล. ของแต่ละความเข้มข้น มากระจายบนอาหาร King's medium B agar (KB) และ Nutrient glucose agar (NGA) โดยแต่ละความเข้มข้นทำ 4 ซ้ำ ทำการบันทึกลักษณะโคโลนีของเชื้อ

การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R.solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินและปุ๋ยคอก จำนวน 100 ไอโซเลท มาทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum*

1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมด 100 ไอโซเลท นำมาทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลว Nutrient Glucose Broth (NGB) ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 36 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าดูดซับคลื่นแสง โดยใช้เครื่อง

Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 600 นาโนเมตร เจือจางให้เชื้อมีค่า O.D. เท่ากับ 0.2 โดยใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

2. เชื้อ *R. solanacearum* ที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ No.37, 36, 24 และ 19 โดยเตรียมเชื้อ *R. solanacearum* โดยเตรียมอาหาร Wakimoto's semisynthetic potato medium (PSA) ในจานเลี้ยงเชื้อทำแบบ double layer ชั้นล่างใช้อาหาร PSA ในปริมาณ 15 มล.ต่อหนึ่งจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนชั้นบนใช้เชื้อ *R. solanacearum* อายุ 48 ชั่วโมง ในปริมาณ 10^8 หน่วยโคโลนี/มล. ผสมกับอาหาร PSA ซึ่งหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45° C เขย่าให้เข้ากันเททับลงในจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 5 มล. ต่อหนึ่งจานเลี้ยงเชื้อแล้วเอียงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ส่วนบนกระจายคลุมทั่วผิวหน้าชั้นล่างที่เทไว้แล้ว เมื่ออาหารแข็งตัวเก็บในตู้เย็น 14° C นาน 1 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลง

3. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้วิธี disc diffusion method ในการทดสอบการยับยั้งในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ micropipetteหยดสารละลายของเชื้อที่จะทดสอบลงบนกระดาษแผ่นกลมที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มล. โดยหยดแผ่นละ 10 ไมโครลิตร แล้วใช้ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อคีบกระดาษวางบนผิวหน้าอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ28° C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยการวัดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) จากขอบโคโลนีของเชื้อถึงขอบบริเวณใส

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในยับการยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ มาทดสอบความสามารถ ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

1. **การเตรียมดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum*** นำเชื้อ *R. solanacearum* No. 37 ที่เลี้ยงบนอาหาร PSA อายุ 48 ชั่วโมงมาทำเป็นสารละลายในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยให้ได้ความเข้มข้นของเชื้อ 10^8 หน่วยโคโลนี/มล. นำไปผสมกับดินที่นึ่งฆ่าเชื้อเตรียมไว้แล้วโดยใช้ดิน 4 กิโลกรัม/กระถาง ใช้สารละลายของเชื้อ *R. solanacearum* 100 มล./กระถาง

2. **การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์** นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 8 ไอโซเลท ได้แก่ ดินชุมพร no.1, ปุ๋ยคอก no.1, ดินรากยาสูบ no.4, ดินเลน no.1, 3A, ดินคลองหลวง no.9, รากอ้อย no.6 และ 4415 มาเลี้ยงในอาหารเหลว NGB ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปวัดค่าดูดซับคลื่นแสง โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า O.D. เท่ากับ 0.2 จะได้ความเข้มข้นของเชื้อ 10^8-10^9 หน่วยโคโลนี/มล. เพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุม

มาในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดย วางแผนการทดลองแบบ complete randomize design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 9 กรรมวิธีๆละ 10 หัว โดยมีเชื้อปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท เป็นแต่ละกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อปฏิปักษ์ ดินชุมพร no.1
กรรมวิธีที่ 2 เชื้อปฏิปักษ์ ปุ๋ยคอก no.1
กรรมวิธีที่ 3 เชื้อปฏิปักษ์ ดินรากยาสูบ no.4
กรรมวิธีที่ 4 เชื้อปฏิปักษ์ ดินเลน no.1
กรรมวิธีที่ 5 เชื้อปฏิปักษ์ 3A
กรรมวิธีที่ 6 เชื้อปฏิปักษ์ดินคลองหลวง no.9
กรรมวิธีที่ 7 เชื้อปฏิปักษ์รากอ้อย no.6
กรรมวิธีที่ 8 เชื้อปฏิปักษ์ 4415
กรรมวิธีที่ 9 กรรมวิธีควบคุม น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

3. **เตรียมหัวพันธุ์ปทุมมา** นำหัวพันธุ์ปทุมมา มาแช่ในเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ในข้อ.2 ก่อนปลูก ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำไปปลูกในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 รดด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกๆ 7 วัน โดยมีตัวเปรียบเทียบที่ไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์คลุกหัวพันธุ์พืชปทุมมาก่อนปลูกแต่ใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแทน ตรวจสอบการเกิดโรคของต้นพืชทุก 7 ,14 , 21 ,28 ,35 และ 42 วัน และตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และปริมาณเชื้อ*R. solanacearum* ทุก 7 วัน จนครบ 6 สัปดาห์หลังปลูก

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งโรคเหี่ยวในเรือนปลูกพืชทดลอง มาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงทดลองปทุมมาในสถานีทดลองของกรมวิชาการเกษตร โดยใช้พื้นที่ในเขต จังหวัดเชียงราย โดยเลือกแปลงที่มีการระบาดของโรค

1. **ตรวจหาปริมาณของเชื้อ** *R. solanacearum* ในแปลงปลูกก่อนการทดลองโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจำนวน 10 จุด นำมารวมกัน ชั่ง 10 กรัมผสมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มล.เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 30 นาที นำมาทำให้เจือจางโดยวิธี serials dilution ใช้ 100 ไมโครลิตร ของแต่ละ dilution เกลี่ยลงบนอาหารSM 1 ให้ทั่ว บ่มไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน ตรวจนับปริมาณบนอาหาร

2. **การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์** นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในยับการยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ในเรือนปลูกพืชทดลอง จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ ดินคลองหลวง no.9, ดินเลน no.1, รากอ้อย no.6 และ 4415 มาเลี้ยงในอาหารเหลว NGB ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ นำไปวัดค่าดูดซับคลื่นแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า O.D. เท่ากับ 0.2 จะได้ความเข้มข้นของเชื้อ 10^8-10^9 หน่วยโคโลนี/มล.

3. **ปลูกปทุมมาทดสอบ** ทำการปลูกปทุมมาโดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design จำนวน 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กรรมวิธีละ 20 หัว ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อปฏิปักษ์ดินคลองหลวง no.9 กรรมวิธีที่ 4 เชื้อปฏิปักษ์ 4415

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อปฏิปักษ์ ดินเลน no.1 กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อปฏิปักษ์ อ้อย no 6

โดยแช่หัวพันธุ์ปทุมมา ด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ข้างต้นเป็นเวลา 30 นาที ผึ่งให้แห้ง นำไปปลูกในแปลงทดลองตามแผนการทดลอง หลังปลูกปทุมมาราดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามกรรมวิธี ที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มล. ให้ทั่วทั้งแปลง ทำการราดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกๆ 30 วัน

ตรวจผลการทดลอง ตรวจนับปริมาณของเชื้อปฏิปักษ์ ตรวจนับปริมาณของเชื้อสาเหตุโรค และตรวจนับต้นที่แสดงอาการของโรค

เวลาและสถานที่

ต.ค.48 - ก.ย.51 ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดินและรากพืชต่าง ๆ

ผลจากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดิน รากพืช และปุ๋ยคอก ได้เชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ จำนวน 100 ไอโซเลท โดยการแยกจากดินและรากพืช จำนวน 70 ไอโซเลท และ ปุ๋ยคอก จำนวน 30 ไอโซเลท เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ใน glycerol 20% ที่ –20 $^{\circ}$ C เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 8 ไอโซเลท ได้แก่ ดินซุมพร no.1, ปุ๋ยคอก no.1, ดินรากยาสูบ no.4, ดินเลน no.1, 3A, ดินคลองหลวง no.9, รากอ้อย no.6 และ 4415 โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยสามารถวัดความกว้างของบริเวณใส ได้ตั้งแต่ 0.7-5.05 มิลลิเมตร (ตาราง 1) โดยพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินซุมพร no.1, ปุ๋ยคอก no.1, ดินรากยาสูบ no.4, ดินเลน no.1, 3A และ 4415 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ทั้ง 4 สายพันธุ์ ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียดินคลองหลวง no.9 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* 3 สายพันธุ์ เชื้อแบคทีเรีย รากอ้อย no.6 ยับยั้งเฉพาะเชื้อ *R. solanacearum* 2

สายพันธุ์ จากผลการทดลองนี้ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

หลังจากแช่หัวพันธุ์กับสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และปลูกลงในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* แล้ว 45 วันพบว่า กรรมวิธีที่คลุกหัวพันธุ์ด้วยสารละลายแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง no.9 ดินเลน no.1 รากอ้อย no.6 และ 4415 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 60% ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินชุมพร no.1ปุ๋ยคอก no 1 ดินรากยาสูบ no.4 ดินปุ๋ยคอก no.1 และ 3A สามารถควบคุมโรคได้ 40%(ตารางที่2)

จากผลการตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อ *R. solanacearum* พบว่า ในพืชทดสอบปทุมมา ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง no.9 และ 4415 มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น โดยมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 1.5×10^{5} และ 1.75×10^{5} CFU/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ และ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินชุมพร no.1 รากอ้อย no.6 ดินเลนno.1 และ3A มีปริมาณคงที่ นอกนั้นมีปริมาณลดลง(ตารางที่ 3) ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ในกรรมวิธีที่ใช้ ดินคลองหลวง no.9 และ 4415 ลดลง โดยมีปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* 2.75×10^{3} และ 5.6×10^{3} CFU/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ นอกนั้นมีปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* เพิ่มมากขึ้นในวันที่ 45 (ตารางที่ 4) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง no.9 และ 4415 สามารถคงอยู่ในดินและเจริญเติบโตได้ดี และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ทำให้ปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ลดลง ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินชุมพร no.1 รากอ้อย no.6 ดินเลนno.1 และ3A คงอยู่ในดินได้ไม่นานเพราะมีการรดเชื้อปฏิปักษ์ทุก 7 วันปริมาณเชื้อยังคงเท่าเดิม ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ไม่ดีเท่ากับ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง no.9 และ 4415

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงทดลอง

ผลการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงทดลองพบว่า กรรมวิธี เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์4415 เกิดโรคเหี่ยวน้อยที่สุด โดยพบเพียง 57% ส่วนกรรมวิธี รากอ้อย no 6 ดินคลองหลวง no.9 และ ดินเลน no.1 เกิดโรค 60 62 และ 69% ตามลำดับ(ตารางที่ 5) ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม เกิดโรคเหี่ยว 78 % ความสามารถในการควบคุมโรคพบว่ากรรมวิธีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์4415 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีที่สุดโดยสมารถควบคุมโรคได้ 43% ในขณะที่กรรมวิธี รากอ้อย no 6 ดินคลองหลวง no.9 และ ดินเลน no.1 สมารถควบคุมโรคได้ 40 % 38%และ 31 % ตามลำดับ (ตารางที่5)

จากผลการตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อ *R. solanacearum* ในแปลงทดลองพบว่า ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ทุกกรรมวิธีมีปริมาณคงที่ ประมาณ 10^{4} หน่วยโคโลนี/

ดิน 1 กรัม ยกเว้นกรรมวิธี ดินเลน no.1 ที่มีปริมาณลดลงเหลือเพียง 6.6x 10^3 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม (ตารางที่ 6) ปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ในทุกกรรมวิธีเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อยในเดือนกันยายน ประมาณ 10^5 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม (ตารางที่ 4) ในขณะที่ปริมาณเชื้อ *R. solanacearum* ในกรรมวิธีควบคุมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ถึง 9.90 x10^7 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม

จากผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เมื่อถูกนำไปใช้ในสภาพแปลงทดลองโดยมีการใส่เชื้อทุกๆ 30 วัน ปริมาณเชื้อคงที่ไม่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นเชื้อปฏิปักษ์อยู่ในดินได้ดี แต่ปริมาณที่ใส่เข้าไปลดลงจากปริมาณ 10^9 หน่วนโคโลนี/มล. ให้ทั่วทั้งแปลง คงไม่เพียงพอเพราะปริมาณของเชื้อในดินมีเพียง 10^4 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม ทำให้ประสิทธิภาพของการควบคุมโรคเหี่ยวยังไม่ดีพอ ควรต้องเพิ่มปริมาณเชื้อปฏิปักษ์ลงไปในแปลงให้มากขึ้นให้ได้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4415 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ดีที่สุด โดยสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือนปลูกพืชทดลอง ได้ 60% และสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงทดลองได้ 43% รองลงมาได้แก่ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ รากอ้อย no.6 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือนปลูกพืชทดลองได้ 60% และสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงทดลองได้ 40% จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สองชนิดที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ดี ซึ่งจะได้นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สองชนิดไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาชในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วนิดา ฐิตะฐาน 2541 ศึกษาเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมา รายงานผลงานวิจัย ปี 2541. กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

วิภาดา ทองทักษิณ และ นิพัฒน์ สุขวิบูลย์. 2537. ปทุมมา. กสิกร. 67(5):415-419.

สุเนตรา ภาวิจิตร , ณัฏฐิมา บุญวัฒน์ และนิยมรัฐ ไตรศรี . 2538. โรคหัวเน่าของกระเจียวและปทุมมา. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 5(4) : 92

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. 2537 ปทุมมาและกระเจียว. น.58-72. ใน : ไม้ตัดดอกเขตร้อน. กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.159 น.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. 2539. ปทุมมาและกระเจียว (Curcuma) ไม้ดอกไม้ประดับ. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. บริษัทอัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด,กรุงเทพฯ.128 น.

Celino, M.S. and D. Gotllieb. 1952. Control of bacterial wilt of tomato by *Bacillus polymyxa*. Phytopathology. 42:4(Abstract).

Guo,J., H. Qi and S. Li . 2002. Biocontrol efficiency of three PGPR strains admixture to Pepper bacterail wilt. Bacterial wilt newsletter. 17 :3 .

Sanaina, V., V. Kishore and G.S. Shekhawat. 1997. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and other Bactria. Proceedings of the 2nd International Bacterial Wilt Symposium, Guadeloupe 22-27 June, 1997.

.

ตารางที่ 1 ขนาดความกว้างของบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่างๆ บนอาหาร PSA

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ความกว้างของบริเวณใส (มม.)			
	RS no.37	RS no.36	RS no.24	RS no.19
1. ดินชุมพร no 1	5.05	3.1	4.2	3.1
2. ปุ๋ยคอก no.1	5.2	4.65	2.3	2.75
3. รากอ้อย no.6	3.1	-	4.35	-
4. ดินรากยาสูบ no. 4	6.1	1.9	4.8	3.6
5. ดินคลองหลวง no.9	0.7	5.2	3.75	-
6. ดินเลน no.1	2.35	4.85	3.1	3.35
7. 4415	4.3	5.6	2.5	2.6
8. 3A	5.45	2.15	3.45	3.5

หมายเหตุ - = ไม่เกิด Clear zone

ตารางที่ 2 ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง

กรรมวิธี	การเกิดโรค % -1/			การควบคุมโรค % -2/		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน	15 วัน	30 วัน	45 วัน
1. ดินคลองหลวง no. 9	0	20	40	100	80	60
2. ดินชุมพร no. 1	0	20	60	100	80	40
3. ดินเลน no.1	0	40	40	100	60	60
4. รากอ้อย no.6	0	20	40	100	80	60
5. ดินรากยาสูบ no. 4	0	40	60	100	60	40
6. ปุ๋ยคอก no. 1	0	20	60	100	80	40
7. 3A	0	40	60	100	60	40
8. 4415	0	20	40	100	80	60
9. control	0	50	80	100	50	20

-1/ การเกิดโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}}$ x 100

-2/ การควบคุมโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นรอดตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}}$ x 100

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือนปลูกพืชทดลองเป็นเวลา 45 วัน

กรรมวิธี เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (CFU* / ดิน 1 กรัม)		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
1. ดินชุมพร no. 1	1.53×10^4	1.25×10^4	9.3×10^4
2. ปุ๋ยคอก no.1	6.84×10^5	7.4×10^4	2.7×10^3
3. รากอ้อย no.6	6.4×10^4	4.4×10^4	6.6×10^4
4. ดินรากยาสูบ no.4	7.2×10^4	7.45×10^4	6.75×10^3
5. ดินคลองหลวง no.9	9.9×10^4	2.1×10^5	1.5×10^5
6. ดินเลน no. 1	4.5×10^4	1.75×10^4	1.25×10^4
7. 4415	2.97×10^4	2.6×10^4	1.75×10^5
8. 3A	4.5×10^4	3.4×10^4	9.2×10^4

* CFU = หน่วยโคโลนี

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในเรือนทดลองเป็นเวลา 45 วัน

กรรมวิธี เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	ปริมาณประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (CFU* / ดิน 1 กรัม)		
	15 วัน	30 วัน	45 วัน
1. ดินชุมพร no. 1	1.26×10^5	6.75×10^4	9.9×10^6
2. ปุ๋ยคอก no.1	1.035×10^5	2.5×10^6	1.05×10^6
3. รากอ้อย no.6	1.35×10^4	9.0×10^4	1.16×10^5
4. ดินรากยาสูบ no.4	7.65×10^4	9.0×10^5	6.7×10^6
5. ดินคลองหลวง no.9	1.485×10^4	2.7×10^3	2.75×10^3
6. ดินเลน no. 1	1.53×10^5	1.935×10^4	9.6×10^5
7. 4415	1.225×10^4	1.485×10^4	5.6×10^3
8. 3A	2.79×10^5	2.835×10^5	7.8×10^6

* CFU = หน่วยโคโลนี

ตารางที่ 5 ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	**การเกิดโรค % -1/**			**การควบคุมโรค % -2/**		
	ก.ค.	**ส.ค.**	**ก.ย.**	**ก.ค.**	**ส.ค.**	**ก.ย.**
1. เชื้อปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง	10	24	62	90	76	38
2. เชื้อปฏิปักษ์ ดินเลน	6	23	69	94	77	31
3. เชื้อปฏิปักษ์ อ้อย 6	6	24	60	94	76	40
4. เชื้อปฏิปักษ์ 4415	9	19	57	91	81	43
5. control	21	44	78	79	56	22

-1/ การเกิดโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

-2/ การควบคุมโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นรอดตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในแปลงทดลอง

กรรมวิธี	**ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)**		
	ก.ค.	**ส.ค.**	**ก.ย.**
1. เชื้อปฏิปักษ์ดินคลองหลวง	6.4×10^3	1.25×10^4	2.7×10^4
2. เชื้อปฏิปักษ์ ดินเลน	1.53×10^4	7.4×10^4	6.6×10^3
3. เชื้อปฏิปักษ์ อ้อย 6	4.5×10^4	4.4×10^4	6.75×10^4
4. เชื้อปฏิปักษ์ 4415	2.97×10^4	7.45×10^4	1.25×10^4
5. control	0	0	0

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในแปลงทดลอง

กรรมวิธี	**ปริมาณประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (หน่วยโคโลนี / ดิน 1 กรัม)**		
	ก.ค.	**ส.ค.**	**ก.ย.**
1. เชื้อปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง	1.26×10^4	6.70×10^5	7.80×10^5
2. เชื้อปฏิปักษ์ ดินเลน	1.03×10^4	2.79×10^5	9.60×10^5
3. เชื้อปฏิปักษ์ อ้อย 6	1.35×10^3	1.23×10^5	2.85×10^5
4. เชื้อปฏิปักษ์ 4415	7.65×10^3	2.70×10^4	1.48×10^5
5. control	6.84×10^5	2.50×10^6	9.90×10^7