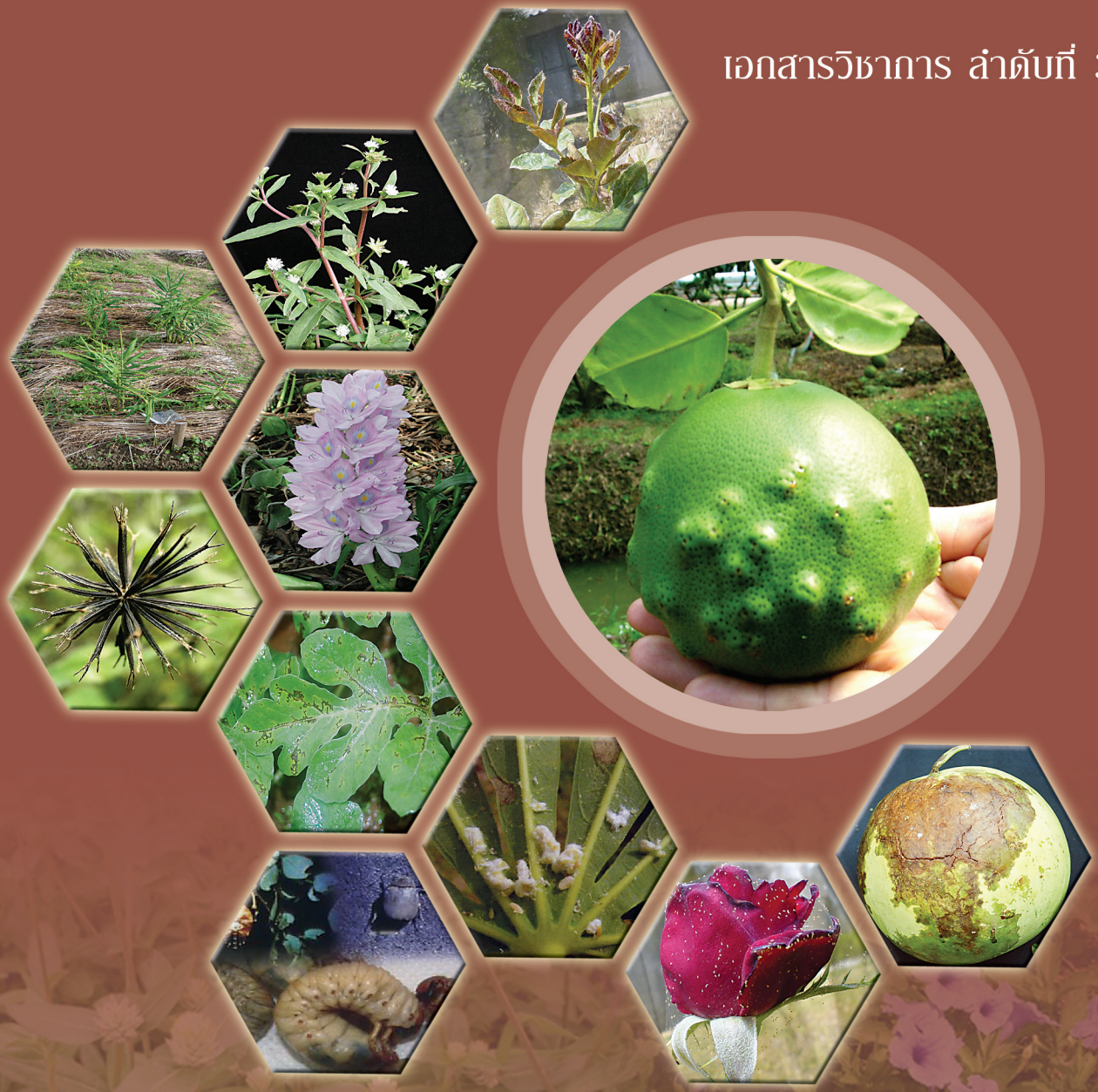
เล่ม ๓

รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๒

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Plant Protection Research and Development Office
Annual Report 2009

เอกสารวิชาการ ลำดับที่ 3/2553

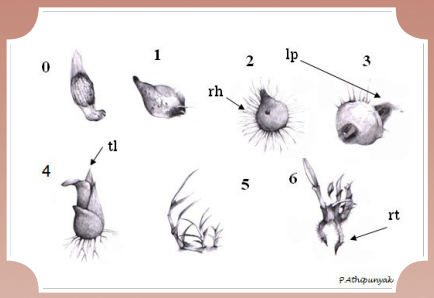


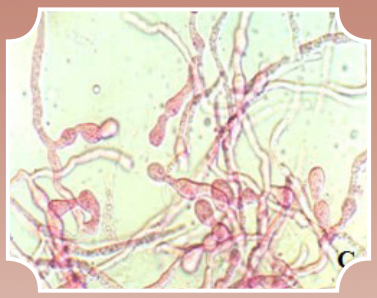
กรมวิชาการเกษตร
Department of Agriculture
แหล่งความรู้ แหล่งพัฒนา แหล่งก้าวหน้า

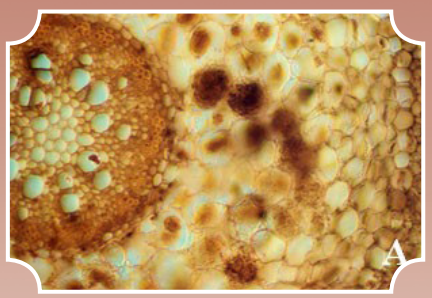
กรมวิชาการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

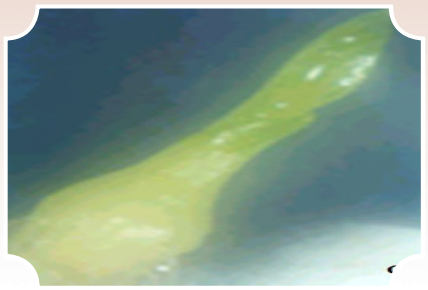
peloton

ไคลอริโรซาบนอาหาร OMA
กระดาษกรอง
เมล็ดกล้วยไม้บนกระดาษกรอง


0
1
2
lp
3
rh
tl
4
5
6
rt







รายงาน
ผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๕๒
เล่มที่ ๓

ลำดับเลขที่ 3/2553

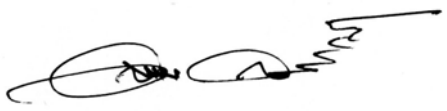
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

คำนำ

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้จัดทำรายงานผลงานวิจัยประจำปี 2552 ขึ้น โดยรวบรวมผลงานค้นคว้าวิจัยของข้าราชการจาก กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช กลุ่มวิจัยวัชพืช และกลุ่มวิจัยการกักกันพืช ซึ่งมีเนื้อหาเกี่ยวข้องกับ แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช โรคพืช วัชพืช และวิชาการกักกันพืช ทั้งนี้ในรายงานประจำปี 2552 มีผลงานการทดลองอยู่ในแผนงานวิจัยของกรมวิชาการเกษตร ทั้งสิ้น 12 แผน ในโครงการวิจัย 30 โครงการ แบ่งเป็น 54 กิจกรรม 80 กิจกรรมย่อย รวมเป็นการทดลองทั้งสิ้น 239 เรื่อง เอกสารวิชาการเล่มนี้ประกอบด้วย การทดลองที่เสร็จสมบูรณ์ ในปี พ.ศ. 2552 และรายงานความก้าวหน้าการทดลองที่ต้องดำเนินการต่อไป

การจัดทำรายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2552 เสร็จสมบูรณ์ ด้วยความร่วมมือจากหัวหน้าการทดลองทุกกลุ่มงานเป็นอย่างดี ดังนั้นสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช หวังเป็นอย่างยิ่งว่าเอกสารวิชาการเล่มนี้สามารถใช้เผยแพร่ความรู้ทางวิชาการอันจะเกิดประโยชน์ กับนักวิชาการและผู้สนใจงานด้านอารักขาพืชสืบไป



(นายสุธน สุวรรณบุตร)

ผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

สารบัญ

หน้า

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

โครงการวิจัย ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่ 07-01-49-01

กิจกรรม ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่

กิจกรรมย่อย ศึกษาสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดใหม่

การทดลอง - ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเพลี้ยจักจั่น.....1
ในมะม่วง
โดย นางสาวสราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

- ประสิทธิภาพสารสกัดสะเดา น้ำมันปิโตรเลียมและสารฆ่าแมลง.....10
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งในหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ

- ประสิทธิภาพแบคทีเรีย ไวรัส และสารฆ่าแมลงในการ.....13
ป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....16
หนอนเจาะฝักถั่วเหลือง
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัด.....27
แมลงศัตรูสำคัญของกระเพราและโหระพา
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ

- การศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดวัชพืชชนิดใหม่.....47
ในพืชเศรษฐกิจ (ถั่วเหลืองฝักสด)
โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

- ประสิทธิภาพแบคทีเรีย ไวรัส และสารฆ่าแมลงในการ.....55
ป้องกันกำจัดหนอนกระทู้ผักและผลกระทบต่อแมลงศัตรูธรรมชาติในพริก
โดย นายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น

- ประสิทธิภาพของสารควบคุมไส้เดือนฝอยเพื่อป้องกันกำจัด.....61
โรครากปมในพริก
โดย นายมนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....70
หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) (Hubner)
ในกระเจี๊ยบเขียว
โดย นายสมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ
- ประสิทธิภาพน้ำมันปิโตรเลียม และสารฆ่าแมลงบางชนิด.....76
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยและเพลี้ยแป้งในขิง
โดย นายสมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและสารสกัดจาก.....79
ธรรมชาติป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในผักชี และผักชีฝรั่ง
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและสารสกัดธรรมชาติ.....84
ป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้ง *Dysmicoccus* sp. ในน้อยหน่า
โดย นางสาวพวงผกา อ่างมณี และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพและพัฒนาเทคนิคการพ่นสาร.....88
ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูสำคัญในคะน้า
โดย นางจีรนุช เอกอำนวย และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดแมลงศัตรู.....101
สำคัญในถั่วเขียว
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดบั่วกล้วยไม้.....106
Contarinia maculipennis Felt ในกล้วยไม้
โดย นายสมรวย รวมชัยอภิกุล และคณะ
- ศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุม…….111
โรคลำต้นไหม้
โดย นางสาวศรีสุข พูนผลกุล และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด……118
แมลงศัตรูที่สำคัญในมันสำปะหลัง
โดย นายสุเทพ สหายา และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดไรศัตรูสำคัญ.....131
ในมันสำปะหลัง
โดย นายพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ
- ประสิทธิภาพของสารควบคุมไส้เดือนฝอย เพื่อป้องกันกำจัด.....134
โรครากปมในฝรั่ง
โดย นางสาวฐิติยา สารพัฒน์ และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาการจัดการศัตรูพืชสำคัญทางเศรษฐกิจ 07-01-49-02

กิจกรรม การจัดการศัตรูพืชสำคัญของพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคแอนแทรคโนสของพริก

การทดลอง - การใช้สารธรรมชาติและชีวินทรีย์ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนส.....139
ของพริก
โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ
- ประสิทธิภาพของวิธีการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัด.....146
โรคแอนแทรคโนสในพริก
โดย นางจีรนุช เอกอำนวย และคณะ
- การทดสอบรูปแบบการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของพริก.....157
แบบผสมผสาน
โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคเหี่ยวของพริก

การทดลอง - การจัดการโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.....163
โดย นางสาวอรพรรณ วิเศษสังข์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ในพริก

การทดลอง - การใช้เหยื่อโปรตีน เพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในพริก.....169
โดย นางสาววิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการเพลี้ยไฟพริก

การทดลอง - ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการพ่นสารแบบต่าง ๆ 177
ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟศัตรูพริก
โดย นายพฤทธิชาติ ปุญวัฒโท และคณะ

กิจกรรม การจัดการโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง

การทดลอง - การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์.....187
ในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

- ศึกษาผลของสารป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิดที่มีต่อเชื้อรา.....197
Trichoderma spp. ในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้ของ
หน่อไม้ฝรั่ง
โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญในมะม่วง

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

การทดลอง – การจัดการโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์.....211
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

- ศึกษาและพัฒนาวิธีการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัด.....218
โรคแอนแทรคโนสในมะม่วง
โดย นายดำรง เวชกิจ และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ในมะม่วง

การทดลอง - การศึกษาชนิด ชีววิทยา และประสิทธิภาพการกินของแมงมุม.....222
ตัวห้ำต่อแมลงวันผลไม้ในสวนมะม่วง
โดย นางวิภาดา วังศิลาบัตร และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชและ.....255
น้ำมันปิโตรเลียมเพื่อยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ในมะม่วง
โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

- ศึกษาความหนาแน่นและช่วงฤดูการระบาดของแมลงวันผลไม้.....270
ในมะม่วง
โดย นายเกรียงไกร จำเริญมา และคณะ

กิจกรรม การจัดการด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน

กิจกรรมย่อย การจัดการด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นในทุเรียน

การทดลอง - ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงป้องกันกำจัดด้วงหนวดยาว.....286
เจาะลำต้นทุเรียนในระยะหนอน
โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

- ศึกษาเทคนิคการป้องกันกำจัดตัวเต็มวัยด้วงหนวดยาว.....292
เจาะลำต้นทุเรียนอย่างเหมาะสมในสภาพสวน
โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพกับดักแสงไฟสีต่าง ๆ เพื่อดึงดูด.....296
ตัวเต็มวัยด้วงหนวดยาวทำลายทุเรียน
โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพของสารชีวินทรีย์ในการป้องกันกำจัด.....300
ด้วงหนวดยาวเจาะลำต้นทุเรียนในระยะหนอน
โดย นายศรุต สุทธิอารมณ์ และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงวันผลไม้ฝรั่ง

การทดลอง - การใช้เหยื่อโปรตีนเพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในฝรั่ง.....304
โดย นางสาววิภาดา ปลอดครบุรี และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของปาล์มน้ำมัน

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน

การทดลอง - การใช้สารไคโตซานในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นเน่า.....317
ของปาล์มน้ำมัน
โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของลำไย

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคราน้ำฝนของลำไย

การทดลอง - การจัดการโรคราน้ำฝนของลำไย.....326
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการวัชพืชของลำไย

การทดลอง - การจัดการวัชพืชของลำไย.....339
โดย นางสาวจรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของชมพู่

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูสำคัญของชมพู่

การทดลอง - การศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้ศัตรูธรรมชาติและฤดู.....349
การระบาดของแมลงวันผลไม้ที่สำคัญในแหล่งปลูกชมพู่
โดย นางสาวสัญญาณี ศรีคชา และคณะ

- การใช้เหยื่อโปรตีนเพื่อป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในชมพู่.....363
โดย นางสาวสัญญาณี ศรีคชา และคณะ

กิจกรรม การจัดการด้านวัชพืช

กิจกรรมย่อย การจัดการด้านวัชพืช

การทดลอง - ศึกษาการจัดการวัชพืชในพืชผักสวนครัว.....367

● การจัดการวัชพืชในโหระพา (*Ocimum basilicum* L.)

โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

กิจกรรม การจัดการศัตรูสำคัญของปทุมมา

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูสำคัญของปทุมมา

การทดลอง - การจัดการโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.....378
Ralstonia solanacearum

โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

กิจกรรม การจัดการโรคสำคัญของข้าวโพด

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคสำคัญของข้าวโพด

การทดลอง - การควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่โดยชีววิธี.....383

โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

- ปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวโพดต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่.....392

โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์ 07-01-49-03

กิจกรรม ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์

กิจกรรมย่อย ศึกษาผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชต่อศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์

การทดลอง - ผลของสารชีวภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชต่อผึ้งพันธุ์.....402

โดย นางสาวพวงผกา อ่างมณี และคณะ

- การทดสอบความเป็นพิษของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช.....406
ชนิดต่าง ๆ ที่มีต่อไรตัวห้ำ

โดย นางสาวมานิตา คงชื่นสิน และคณะ

- ผลกระทบของสารฆ่าแมลงที่มีต่อมวนเพชฌฆาต.....412
Sycanus versicolor Dohm.
โดย นางรัตนา นชะพงษ์ และคณะ
- ระดับความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงต่อหนอนใยผัก 425
Plutella xylostella (Linneaus) จากพื้นที่ปลูกสำคัญ 3 แห่ง
โดย นายสุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง และคณะ
- ทดสอบความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงที่มีผลต่อแมงมุม.....435
ตาหกเหลี่ยมในสวนมะม่วง
โดย นายพิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และคณะ
- ผลกระทบของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีต่อมวนพิฆาต.....446
Eocanthecona furcellata (Wolff)
โดย นางรัตนา นชะพงษ์ และคณะ
- ทดสอบผลของสารป้องกันกำจัดแมลงต่อแตนเบียน.....460
ควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว
โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาการบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน 07-01-49-04

กิจกรรม การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน

กิจกรรมย่อย การบริหารศัตรูพืชแบบผสมผสาน

การทดลอง - การบริหารศัตรูลำไยแบบผสมผสาน.....469
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
- การบริหารศัตรูส้มโอแบบผสมผสาน.....477
โดย นางสาวสุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ
- การบริหารศัตรูกล้วยไม้โดยวิธีผสมผสาน.....483
โดย นายทวีศักดิ์ ชโยภาส และคณะ
- การบริหารศัตรูส้มเขียวหวานแบบผสมผสาน.....493
โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ
- การจัดการศัตรูขิงแบบผสมผสาน.....503
โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชทดแทนสารเคมี 07-01-49-05

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหล เพื่อกำจัดสัตว์ศัตรูพืช

- วิจัยการใช้หนอนตายหยากและหางไหล 508
  เพื่อกำจัดหนูศัตรูพืช
  โดย นางกรแก้ว เสือสะอาด และคณะ
- ศึกษาการใช้หนอนตายหยากและหางไหล 516
  เพื่อกำจัดหอยเชอรี่และหอยทากบก
  โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

- เปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดลำโพง มะขามและ.....528
  ประคำดีควายกับหอยเชอรี่
  โดย นางสาวชมพูนุท จรรยาเพศ และคณะ

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชควบคุมวัชพืช

กิจกรรมย่อย วิจัยเทคโนโลยีการผลิตและการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมวัชพืช

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาสารจากแมงลักป่า เพื่อการป้องกันกำจัดวัชพืช.....534
โดย นางสาวจรัญญา ปิ่นสุภา และคณะ

โครงการวิจัย การผลิตและการใช้ชีวภาพและชีวินทรีย์ 07-01-49-06

กิจกรรม การผลิตและการใช้แมลงและไรศัตรูธรรมชาติควบคุมศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แมลงเบียนควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง - การเพาะเลี้ยงแตนเบียนชนิด *Tetrastichus brontispae* 549
Ferriere เพื่อใช้ควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว
โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ

- ศึกษาการใช้และประเมินประสิทธิภาพศัตรูธรรมชาติ.....557
  ในการควบคุมแมลงดำหนามมะพร้าว
  โดย นางประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

- การศึกษาศักยภาพการผลิตและการใช้ประโยชน์.....561
จากแมลงช้างปีกใส *Mallada basalis* (Walker) และ
Plesiochrysa ramburi (Schneide) ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดย นางประภัสสร เชยคำแหง และคณะ
- ศึกษาพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงด้วงเต่าตัวห้ำเพื่อใช้.....571
ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี
โดย นางรจนา ไวยเจริญ และคณะ
- เปรียบเทียบประสิทธิภาพการควบคุมแมลงศัตรูพืช.....577
ของแมลงช้างปีกใสสกุล *Mallada* sp. และ *Plesiochrysa* sp.
ในห้องปฏิบัติการ
โดย นางประภัสสร เชยคำแหง และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แมลงและไรตัวห้ำควบคุมศัตรูพืช

การทดลอง - การใช้ไรตัวห้ำควบคุมเพลี้ยไฟและไรศัตรูพืช.....582
โดย นางสาวมานิตา คงชื่นสิน และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์และไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - การคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพสูง.....603
ในการควบคุมหนอนกระทู้ผัก และหนอนกระทู้หอม
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ
- การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Bt. และไวรัส NPV.....606
เพื่อควบคุมหนอนเจาะสมอฝ้ายในทานตะวัน
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ
- การใช้สูตรผสมของ *Bacillus thuringiensis* ร่วมกับไวรัส 609
Se NPV และ Ha NPV รูปสารแขวนลอยเข้มข้น (Flowable liquid)
เพื่อควบคุมหนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่ง
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ
- การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย 612
Bacillus thuringiensis ที่ผลิตด้วยวิธีการมาตรฐาน
และวิธีการผลิตแบบพื้นบ้าน
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไวรัส NPV ควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV เพื่อควบคุมหนอนกระทู้ผัก.....615
โดย นางสาวอัจฉรา ตันติโชดก และคณะ

- รูปแบบการผลิตขยายไวรัส NPV หนอนกระทู้ผัก.....618
ในระดับอุตสาหกรรม
โดย นางสาวอัจฉรา ตันติโชดก และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV 624
ของหนอนกระทู้หอมจากเซลล์เพาะเลี้ยง
โดย นางสาวสุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

- การศึกษาประสิทธิภาพและกรรมวิธีการอบแห้งไวรัส NPV 631
กำจัดหนอนกระทู้ผัก
โดย นายสมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ

- พัฒนาการผลิตไวรัส Se MNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง 635
เป็นปริมาณมาก
โดย นางสาวสุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และคณะ

- การพัฒนาสูตรอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอน เพื่อผลิตเชื้อ.....641
ไวรัส เอ็น พี วี
โดย นายสมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียว 646
Metarhizium anisopliae
โดย นางเสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

- การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราเขียวมัสคาดีน *Metarhizium* 663
anisopliae ในรูปแบบผงในห้องปฏิบัติการ
โดย นางเสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตและการใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาการผลิตไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงที่ทน.....684
อุณหภูมิสูง เพื่อการควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดย นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

- คัดเลือกและพัฒนาไส้เดือนฝอยสายพันธุ์ท้องถิ่น.....690
Steinernema siamkayai
โดย นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ไส้เดือนฝอยสูตรผง.....697
ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดย นายสาทิพย์ มาลี และคณะ
- ศึกษาผลของสารกำจัดศัตรูพืชต่อความอยู่รอดและประสิทธิภาพ.....706
ของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลง
โดย นายสาทิพย์ มาลี และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุม…....712
หนอนผีเสื้อศัตรูหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออก
โดย นายสาทิพย์ มาลี และคณะ
- ทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงในการควบคุม.....719
หนอนแมลงวันศัตรูในเห็ด
โดย นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ
- ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการอยู่รอดและประสิทธิภาพการเข้าทำลาย.....724
แมลงของไส้เดือนฝอย *Steinernema riobrave*
โดย นางสาววิไลวรรณ เวชยันต์ และคณะ

กิจกรรม การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมสัตว์ศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย โรงงานต้นแบบการผลิตขยายสปอร์โรซีสต์ของปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis* เป็นสารชีวินทรีย์กำจัดหนูในเชิงพาณิชย์

การทดลอง - ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตขยายเชื้อโปรโตซัว……..…727
ในงูเหลือมสภาพโรงเรือน
โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ
- ศึกษาสายพันธุ์หนูที่เหมาะสมต่อการผลิตขยาย.....731
เชื้อโปรโตซัวในหนูในสภาพโรงเรือน
โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ
- ศึกษาวิธีการควบคุมคุณภาพการผลิตสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัว.....734
S. singaporensis
โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนารูปแบบเหยื่อที่เหมาะสมต่อการผลิตเหยื่อโปรโตซัว ในเชิงธุรกิจ

- ศึกษาสูตรอาหารและรูปแบบใหม่ของเหยื่อโปรโตซัว.....738

โดย นางสาวดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

- ศึกษาระยะเวลา การเก็บรักษาเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบใหม่.....750

โดย นางสาวดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

- ทดสอบประสิทธิภาพเหยื่อโปรโตซัวรูปแบบใหม่ใน.....756

การป้องกันกำจัดหนู

โดย นางสาวดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การใช้จุลินทรีย์ควบคุมหอยทากบกและหอยเชอรี่ศัตรูพืช

- คัดเลือกสายพันธุ์บาซิลลัสและทดสอบประสิทธิภาพควบคุม.....761

หอยเชอรี่และหอยทากบก

โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

- คัดเลือกสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยและทดสอบ..... 774

ประสิทธิภาพควบคุมหอยทากบกและหอยเชอรี่

โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

กิจกรรมย่อย การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

การทดลอง - การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์เอ็นโดสปอร์.....782

Bacillus subtilis ควบคุมโรคเหี่ยวของขิง

โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การผลิตเชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมศัตรูพืช

- การผลิตเชื้อปฏิปักษ์ต่อโรคเหี่ยวของมันฝรั่งปริมาณมาก.....808

เพื่อเกษตรกร

โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ

- การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมะเขือเทศโดยชีววิธี.....813

โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ

- การทดสอบเทคโนโลยีการใช้ชีวินทรีย์ในการควบคุมโรค.....822

รากปมในแปลงสาธิต

โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

โครงการวิจัย การกักกันพืช 07-01-49-07

กิจกรรม การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

กิจกรรมย่อย การศึกษาศัตรูพืชในประเทศเพื่อการค้าระหว่างประเทศ

การทดลอง - ศึกษาชนิดแมลง สัตว์ศัตรูพืชส่งออก 831
(หน่อไม้ฝรั่ง และถั่วลันเตา) และพืชนำเข้า (พืชตระกูลแตงและ
พืชตระกูลกะหล่ำ)

โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ

- การศึกษาชนิดของโรคพืชของพืชส่งออก หน่อไม้ฝรั่ง 844
และถั่วลันเตา พืชนำเข้า ได้แก่ พืชตระกูลแตง และพืชตระกูลกะหล่ำ

โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

- การศึกษาชนิดวัชพืชในพืชส่งออกและพืชนำเข้า

● การศึกษาชนิดวัชพืชในพืชส่งออก : หน่อไม้ฝรั่ง..... 850

โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ

● การศึกษาชนิดวัชพืชในพืชส่งออก : ถั่วลันเตา.....864

โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การศึกษาวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช

การทดลอง - การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืชของพืชนำเข้า

● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยง.....875
เชื้อ *Spongospora subterranea* ติดมากับหัวพันธุ์
มันฝรั่ง

โดย นางสาวปรียพรรณ พงศาพิชณ์ และคณะ

● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....896
ขององุ่นนำเข้าจากประเทศชิลี

โดย นางสาวชลธิชา รักใคร่ และคณะ

● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....902
ขององุ่นนำเข้าจากประเทศออสเตรเลีย

โดย นายอลงกต โพธิ์ดี และคณะ

● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....906
ขององุ่นนำเข้าจากประเทศอินเดีย

โดย นายอลงกต โพธิ์ดี และคณะ

● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....910
สำหรับการนำเข้าแครอท
โดย นางสาวสุคนธ์ทิพย์ สมบัติ และคณะ
● การศึกษาวิเคราะห์และประเมินความเสี่ยงศัตรูพืช.....925
ของเมล็ดพันธุ์ผักกาดกวางตุ้งนำเข้าจากต่างประเทศ
โดย นางสาวนงพร มาอยู่ดี และคณะ

กิจกรรมย่อย ศึกษาศัตรูพืชกักกันที่ติดมากับพืชนำเข้า

การทดลอง - การศึกษาชนิดไรศัตรูพืชในหัวหอมและกระเทียมที่นำเข้า.....932
จากประเทศจีน
โดย นางสาวพลอยชมพู กรวิภาสเรือง และคณะ
- การศึกษาชนิดศัตรูพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ.....945
นำเข้าจากต่างประเทศ
โดย นางสาวชลธิชา รักใคร่ และคณะ
- การศึกษาไส้เดือนฝอยศัตรูพืชที่ติดมากับหัวพันธุ์ลิลลี่ที่..... 950
นำเข้าจากต่างประเทศ
โดย นายวานิช คำพานิช และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - พัฒนาเทคนิคการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรอยด์กับส่วนขยายพันธุ์.....964
ของส้ม
โดย นายปริเชษฐ์ ตั้งกาญจนภาสน์ และคณะ

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลง.....981
ด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในลำไยเพื่อการส่งออก
โดย นางสลักจิต พานคำ และคณะ
- วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัดแมลง.....988
ด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลลิ้นจี่
เพื่อการส่งออก
โดย นางสาวรัชฎา อินทรกำแหง และคณะ

- วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัด.....995
แมลงวันทองในมะม่วงพันธุ์มหาชนก โชคอนันต์ และเขียวเสวย
เพื่อการส่งออก
โดย นางสาวรัชฎา อินทรกำแหง และคณะ
- วิจัยและพัฒนาวิธีกำจัดแมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัด.....1003
แมลงวันผลไม้ในผลส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง และขาวแตงกวา
เพื่อการส่งออก
โดย นายอุดร อุณหวุฒิ และคณะ
- วิจัยและพัฒนาสถานภาพการเป็นพืชอาศัยและวิธีกำจัด.....1013
แมลงด้วยความร้อนสำหรับกำจัดแมลงวันผลไม้ในผลเงาะ
เพื่อการส่งออก
โดย นางสลักจิต พานคำ และคณะ
- การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการกำจัดเชื้อ.....1020
Acidovorax avenae subsp. *citrulli* กับเมล็ดพันธุ์
พืชสกุลแตงบางชนิดเพื่อการส่งออก
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีชาติ และคณะ

โครงการวิจัย การเฝ้าระวังศัตรูพืช 07-01-51-01

กิจกรรม การเฝ้าระวังเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย การเฝ้าระวังเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของรา *Guignardia*.....1042
citricarpa สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของเชื้อรา *Guignardia citricarpa* 1049
สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ : การเข้าทำลายของรา *Guignardia*
citricarpa สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ
- การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของรา *Sclerophthora* ... 1057
rayssiae และ *S. macrospora* สาเหตุโรคน้ำค้างของข้าวโพด
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

- การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของแบคทีเรีย..... 1062
Pantoea stewartii
โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
- การเฝ้าระวังการเกิดและการแพร่กระจายของเชื้อแบคทีเรีย.....1067
Acidovorax avenae subsp. *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืช
ตระกูลแตง
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* 1077
subsp *citrulli* สาเหตุโรคผลเน่าของพืชตระกูลแตง : การมีชีวิตรอด
การอาศัยอยู่ และการศึกษาจำนวนประชากรแบคทีเรีย *A. avenae*
subsp. *citrulli* บนเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตงในดินและน้ำจากแหล่งปลูก
โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
- การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของไส้เดือนฝอย *Radopholus*.....1087
similis ในไม้น้ำและไม้ดอกไม้ประดับ
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
- ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของไส้เดือนฝอย *Radopholus* 1100
similis ในไม้น้ำและไม้ดอกไม้ประดับ
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
- การเฝ้าระวังโรคไวรัสของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อ OFV, TRSV 1109
และ Potyvirus
โดย นายสิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ

กิจกรรม การเฝ้าระวังแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

กิจกรรมย่อย การเฝ้าระวังแมลง ไร และสัตว์ศัตรูพืชที่เป็นศัตรูพืชกักกัน

การทดลอง - การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง 1116
Sternochetus mangiferae ในมะม่วง
โดย นางสาวสราญจิต ไกรฤกษ์ และคณะ

- การเฝ้าระวังการแพร่กระจายของหนอนเจาะผล, ... ……..……1126
Cryptophalebia ombrodelta (Lower) ในลำไย
โดย นางสาวบุษบง มนัสมั่นคง และคณะ
- สถานการณ์การแพร่กระจายของเพลี้ยแป้ง *Cataenococcus*……..... 1134
hispidus Green และ *Planococcus lichi* Cox ในลำไย
โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

กิจกรรม การเฝ้าระวังวัชพืช

กิจกรรมย่อย การเฝ้าระวังวัชพืช

การทดลอง - เฝ้าระวังการแพร่กระจายของ *Conyza canadensis* ……..…1144
(L.) Cronq. ในประเทศไทย
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ
- การเฝ้าระวังการแพร่ระบาดของ *Euphorbia dentata* ……..…1155
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 วิจัยชีวโมเลกุลในการสร้างเอกลักษณ์พันธุกรรมจุลินทรีย์

การทดลอง - ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ และความหลากหลายทางพันธุกรรม.....1163
รา *Fusarium* spp. ในประเทศไทย
โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ
- ลายพิมพ์ดี เอ็น เอ และความหลากหลายทางพันธุกรรม.....1177
รา *Phytophthora parasitica*
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
- ลายพิมพ์ดี เอ็น เอ ของเชื้อรา *Phytophthora capsici*.....1203
สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริก
โดย นางสาวศรีสุข พูนผลกุล และคณะ

กิจกรรม วิจัยชีวโมเลกุล (Molecular biology) ในการตรวจสอบ

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจสอบศัตรูพืชเพื่อเฝ้าระวัง และควบคุมคุณภาพสินค้าเกษตร

การทดลอง - การผลิตแอนติซีรัมของเชื้อสาเหตุโรคกรีนนิ่งส้มโดยใช้.....1211
ระบบเซลล์แบคทีเรีย
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

- การผลิตแอนติซีรัมจากไก่ที่จำเพาะต่อเชื้อ *Streptomyces* 1230
scabies สาเหตุโรคแผลสะเก็ดของมันฝรั่ง และการตรวจหา
เชื้อนี้จากหัวพันธุ์นำเข้าและมันฝรั่งที่ผลิตได้ในประเทศ
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ

- การผลิตแอนติซีรัมของไวรัส *Pineapple mealybug* 1236
Wilt-associated virus-2 สาเหตุโรคเหี่ยวสับปะรด
โดยใช้ระบบเซลล์แบคทีเรีย
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

- การตรวจวินิจฉัยโรคใบด่างของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อไวรัส.....1254
กลุ่ม Potyvirus
โดย นายสิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ

- วิธีการตรวจสอบราสาเหตุโรค Black spot ของส้มโอ.....1263
โดยเทคนิค PCR
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

- การพัฒนาเทคนิคพีซีอาร์ในการตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax*.....1274
Ovenae subsp. *catleyae* สาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ

- การใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อตรวจสอบการปนเปื้อน 1284
ของข้าววัชพืชในเมล็ดพันธุ์ข้าว
โดย นางจรรยา มณีโชติ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาทุเรียน

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตทุเรียน 01-09-49-02

กิจกรรม วิจัยเทคโนโลยีการผลิตทุเรียน

กิจกรรมย่อย การป้องกันศัตรูทุเรียนแบบผสมผสานเพื่อผลิตทุเรียนคุณภาพ

การทดลอง - ศึกษาการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียน.....1308
โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาสับปะรด

โครงการวิจัย การวิจัยศึกษาระบบการผลิตสับปะรด 01-08-49-01

กิจกรรม ศึกษาระบบการผลิตสับปะรดเพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยวของสับปะรด

กิจกรรมย่อย ศึกษาการป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อแก้ปัญหาโรคเหี่ยวของสับปะรด

การทดลอง - การถ่ายทอดโรคเหี่ยวสับปะรดโดยเพลี้ยแป้ง.....1318
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ
- การคัดเลือกและขยายหน่อพันธุ์สับปะรดปลอดจากไวรัส.....1326
สาเหตุโรคเหี่ยว
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรม

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมพืช 09-02-49-01

กิจกรรม สำรวจ รวบรวมและศึกษาเชื้อพันธุกรรมพืช

กิจกรรมย่อย การสำรวจ รวบรวมและศึกษาชนิดวัชพืชในพืชเศรษฐกิจ

การทดลอง - การสำรวจและรวบรวมวัชพืชในมันฝรั่ง.....1336
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์และคณะ
- การสำรวจและรวบรวมวัชพืชในมันสำปะหลัง.....1349
โดย นางจันทร์เพ็ญ ประคองวงศ์ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเพื่อการอนุรักษ์จุลินทรีย์และเห็ด 09-02-49-01

กิจกรรม สำรวจ รวบรวม จำแนก และหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนกและหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

การทดลอง - การจำแนกและคัดเลือกราไมคอร์ไรซาที่มีผลต่อการงอกของ.....1370
กล้วยไม้
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
- จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช.....1387
โดย นางสาวชนินทร ดวงสะอาด และคณะ

- การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ *Bacillus* spp.....1395
ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv.
dieffenbachiae สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัว
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
- การอนุรักษ์จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช
● ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia* 1405
carotovora
โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ
- การอนุรักษ์จุลินทรีย์ผลิตสารชีวภัณฑ์ และมีศักยภาพในการป้องกัน
กำจัดโรคศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ
● ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาไส้เดือนฝอยกำจัดแมลง.....1409
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ

กิจกรรม สำรวจ รวบรวม จำแนก และหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนกและหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

การทดลอง - สำรวจ รวบรวม และจำแนกราเขม่าดำ.....1417
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล *Cercosporoid*.....1437
fungi และ Teleomorph
โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา *Fusarium*.....1445
สาเหตุโรคพืช
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราสกุล *Curvularia* spp. 1464
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา *Phythium* 1476
สาเหตุโรคพืช
โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราแป้งสาเหตุโรคพืช.....1489
โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ

- สำรวจ รวบรวม จำแนก และศึกษาพืชอาศัยของรา.....1494
Sclerotium spp. สาเหตุโรคพืช
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล *Macrophomina*.....1505
สาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ
โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ
- สำรวจ รวบรวม และจำแนกแบคทีเรีย *Xanthomonas*.....1512
campestris สาเหตุโรคเน่าดำของพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด
โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ
- การสำรวจ และรวบรวมเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้ม.....1530
โดย นางสาวนภสร ปุญญพิทักษ์ และคณะ
- สำรวจ และจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งในประเทศไทยด้วยเทคนิค.....1537
ทางอนูชีววิทยา
โดย นางสาวนภสร ปุญญพิทักษ์ และคณะ
- ฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection.....1542
โดย นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และคณะ
- เทคนิคการเก็บรักษารา *Colletotrichum* spp. 1547
โดย นางสาวธารทิพย ภาสบุตร และคณะ

กิจกรรม สำรวจ รวบรวม จำแนก และหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่ผลิตสารชีวภัณฑ์และมีศักยภาพในการป้องกันกำจัดโรคศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนกและหาเทคโนโลยีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่ผลิตสารชีวภัณฑ์และมีศักยภาพในการป้องกันกำจัดโรคศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง - สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอย.....1563
ควบคุมแมลงศัตรูพืช
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
- สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus*
ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช

● ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพ.....1577
ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ
โดย นางสาวบุษราคัม อุดมศักดิ์ และคณะ
- การสำรวจ และรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* 1606
thuringiensis และเชื้อไวรัส NPV
โดย นายอิศเรส เทียนทัด และคณะ
- การสำรวจ รวบรวม ตรวจจำแนกสายพันธุ์ปรสิตโปรโตซัว.....1609
โดย นางสาวยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเพื่อการอนุรักษ์แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ 09-02-49-01

กิจกรรม สำรวจ รวบรวม จำแนกชนิดแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย สำรวจ รวบรวม จำแนกชนิดแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

การทดลอง - อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในสบู่ดำ.....1612
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ
- อนุกรมวิธานของแมลงศัตรูที่พบในเบญจมาศ.....1615
โดย นางชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ
- อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในไม้ดอกสกุล *Curcuma*.....1619
(ปทุมมา และกระเจียว)
โดย นางสาวสุนัดดา เชาวลิต และคณะ
- อนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* 1623
โดย นางชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ
- อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 1627
โดย นางลักขณา บำรุงศรี และคณะ
- อนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera*.....1631
โดย นางสาวยุวรินทร์ บุญทบ และคณะ
- การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์.....1642
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ
- ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่ 1656
โดย นางสาวปิยาณี หนูกาฬ และคณะ

- สำรวจ และศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศ.....1659
ปาล์มปลูกใหม่
โดย นางกรแก้ว เสือสะอาด และคณะ
- อนุกรมวิธานด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง *Sternochelus* spp. ……..1666
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ

กิจกรรม เทคโนโลยีการเก็บรักษาแมลง ไร สัตว์ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ

กิจกรรมย่อย การเก็บรักษาตัวอย่างแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในพิพิธภัณฑ์

การทดลอง - การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์……..1670
โดย นางศิริณี พูนไชยศรี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มพืชสมุนไพร

โครงการวิจัย ศึกษาการผลิตฟ้าทะลายโจร 01-12-49-06

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีกระบวนการผลิตการเก็บเกี่ยวและแปรรูปฟ้าทะลายโจร

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเขตกรรมเพื่อเพิ่มคุณภาพและสารสำคัญฟ้าทะลายโจร

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาการกำจัดศัตรูพืชและการกำจัดวัชพืช……..1676
ในฟ้าทะลายโจร
โดย นางสาวเพ็ญศรี นันทสมสราญ และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มพืชผัก และเห็ด

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตพริก 01-16-49-01

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตพริก

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูพริก

การทดลอง - การบริหารจัดการโรคใบหงิกเหลืองของพริก.....1693
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ
- การควบคุมโรครากปมสาเหตุจากไส้เดือนฝอยในสภาพ……..1701
แปลงปลูกของเกษตรกร : การคัดพันธุ์ต้านทานพริกต้านทานโรครากปม
โดย นางนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด และคณะ
- การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของพริกโดยชีววิธี.....1712
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ

- ศึกษากลไกความต้านทานของพริกต่อโรคลำต้นไหม้ที่เกิดจาก.....1719
เชื้อรา *Phytopthora capsici*
โดย นางสาวศรีสุข พูนผลกุล และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว 01-16-49-02
กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตกระเจี๊ยบเขียว
กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดศัตรูกระเจี๊ยบเขียวในการผลิตเพื่อผลผลิตที่ปลอดจากสารพิษ
การทดลอง - ความสัมพันธ์ของไวรัสสาเหตุโรคเส้นใบเหลืองกับพันธุ์.....1726
กระเจี๊ยบเขียวในแต่ละแหล่งปลูก
โดย นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตเห็ด 01-16-49-03
กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์เห็ด
กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์เห็ดตีนแรด
การทดลอง - การทดสอบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดเพื่อเป็นพันธุ์ทางการค้า.....1734
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ
- ทดสอบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่ผลิตสารโพลีแซคคารายด์.....1754
ที่เป็นประโยชน์
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ
กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์เห็ดที่มีศักยภาพ
การทดลอง - การประเมินสายพันธุ์เห็ดต่งฝนเพื่อการใช้ประโยชน์.....1764
โดย นางสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และคณะ.
- รวบรวม และคัดเลือกพันธุ์เห็ด *Oudemansiella* spp. 1769
จากแหล่งต่าง ๆ เพื่อเป็นพันธุ์ทางการค้า
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ.
กิจกรรม การเขตกรรมและการจัดการผลิตเห็ด
กิจกรรมย่อย กระบวนการผลิตเห็ดฟาง
การทดลอง - กระบวนการผลิตปุ๋ยหมักเพื่อเพาะเห็ดฟางคุณภาพ.....1777
โดย นางอัจฉรา พยัพพานนท์ และคณะ.
กิจกรรมย่อย กระบวนการผลิตเห็ดนางรม
การทดลอง - การใช้ฟางข้าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดนางรม.....1786
โดย นางสุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และคณะ

กิจกรรม การพัฒนาเทคโนโลยีการอารักขาเห็ด

กิจกรรมย่อย การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไร *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิ

การทดลอง - การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง.....1793
Dolichocybe indica Mahunka ในเห็ดโดยการใช้สารฆ่าไร
โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดแมลงหางดีดในเห็ด

การทดลอง - การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดแมลง.....1805
หางดีดในเห็ด
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ

กิจกรรมย่อย การป้องกันกำจัดไรดีดในเห็ด

การทดลอง - การแก้ปัญหาไรดีดในพื้นที่เพาะเห็ดนางรมฮังการี.....1808
ภาคกลางของประเทศไทย
โดย นายเทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และคณะ
- การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และเขตการแพร่กระจาย.....1811
ของหนอนแมลงวันเชียริดแมลงศัตรูเห็ดที่สำคัญ
โดย นางสาวสัญญาณี ศรีคชา และคณะ
- การศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูเห็ดที่สำคัญ.....1815
โดย นางอุราพร หนูนารถ และคณะ
- ศึกษาเทคนิคการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูเห็ด.....1818
โดย นายพฤทธิชาติ ปุญวัฒโท และคณะ

กิจกรรมย่อย เชื้อราสกุล Hypomyces สาเหตุโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ และการป้องกันกำจัด

การทดลอง - การป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล *Hypomyces* 1831
สาเหตุโรคใยแมงมุมบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus cystidiosus*)
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย สาเหตุและการแพร่กระจายของราเมือกที่ทำความเสียหายในการเพาะเห็ดถุงของประเทศไทย

การทดลอง - สาเหตุและการแพร่กระจายของราเมือกที่ทำความเสียหาย.....1838
ในการเพาะเห็ดถุงของประเทศไทย
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ

กิจกรรมย่อย ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายเห็ดที่ผลิตเพื่อการค้า และการป้องกันกำจัด

การทดลอง - การป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรม.....1851
ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย กลุ่ม Pseudomonas
โดย นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง 01-16-49-05

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตมันฝรั่ง

กิจกรรมย่อย การจัดการศัตรูมันฝรั่ง

- ประสิทธิภาพของสาร abamectin ในการควบคุมไส้เดือนฝอย.....1861
รากปมในมันฝรั่ง
โดย นายไตรเดช ข่ายทอง และคณะ
- การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Paecilomyces lilacinus*.....1868
ควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูมันฝรั่ง
โดย นายมนตรี เอี่ยมวิมังสา และคณะ
- ขยายผลการใช้ชุดควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมันฝรั่งใน.....1878
แปลงเกษตรกรโดยชีววิธี
โดย นายวงศ์ บุญสืบสกุล และคณะ
- การจัดการโรคไวรัสของมันฝรั่ง.....1885
  - การสำรวจและจำแนกโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ PVS, PVX และ PLRV
    โดย นายสิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ
  - การป้องกัน และควบคุมแมลงพาหะของเชื้อไวรัส.....1891
    ในมันฝรั่ง
    โดย นายสิทธิศักดิ์ แสไพศาล และคณะ

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตขิงที่ได้คุณภาพ 01-16-49-06

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตขิงคุณภาพ

กิจกรรมย่อย การเขตกรรมและการจัดการผลิตขิงอย่างยั่งยืน

การทดลอง - ศึกษาวิธีการผลิตขิงเพื่อลดการใช้สารเคมีและได้ผลผลิต 1897
ปลอดจากสารพิษตกค้างและศัตรูพืช

● การบริหารจัดการวัชพืชในขิง : ปี 2551

โดย นางสาวเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

โครงการวิจัย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตพืชที่มีศักยภาพ 01-16-52-01

กิจกรรม เทคโนโลยีการผลิตมันเทศ

กิจกรรมย่อย การอารักขามันเทศ

การทดลอง - ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก.....1908
ในมันเทศ

โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ 01-15-49-01

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์การค้า

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้สกุลหวาย

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้สกุลหวายคุณภาพดี

● การจัดการโรคเกสรดำในกล้วยไม้สกุลหวายโดยสารเคมี....1916

โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ประเภทแวนด้า

การทดลอง - วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ประเภทแวนด้าคุณภาพดี

● การทดสอบปฏิกิริยากล้วยไม้ลูกผสมแวนด้า.....1928
พันธุ์การค้าต่อโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ
Phytophthora palmivora

โดย นางสาวทัศนาพร ทัศคร และคณะ

● การควบคุมโรคใบจุดเหลืองของกล้วยไม้สกุลแวนด้า.....1937
โดยชีววิธี

โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้การค้าสกุลอื่น

การทดลอง - การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย.....1947

โดย นางปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และคณะ

- การจัดการวัชพืชในกล้วยไม้

● การจัดการดาดตะกั่ว *(Hemigraphis reptans)* 1968
ในกล้วยไม้สกุลหวาย

โดย นางเสริมศิริ คงแสงดาว และคณะ

กิจกรรม การศึกษาศักยภาพกล้วยไม้ไทยในท้องถิ่นต่าง ๆ เพื่อพัฒนาเป็นสินค้าออกใหม่

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้สกุลสแปโทกลอสทิสและสกุลแกรมมะโตฟิลลัม

- ศึกษาโรคและการจัดการโรคกล้วยไม้สกุลสแปโทกลอททิสและสกุลแกรมมะโตฟิลลัม.....1992

โดย นางสาวสุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว 01-15-49-02

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว

กิจกรรมย่อย ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวต่อโรคเน่าดำ

การทดลอง - ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ.....1996

โดย นางอมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และคณะ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว 01-15-49-03

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ปทุมมา/กระเจียว

กิจกรรมย่อย การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมาโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

การทดลอง - การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมาโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์.....2009

โดย นางณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และคณะ

โครงการวิจัย วิจัยเพื่อแก้ไขปัญหาการส่งออกกล้วยไม้ 01-15-52-01

กิจกรรม การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต

กิจกรรมย่อย วิจัยและพัฒนาการป้องกันกำจัดและควบคุมศัตรูกล้วยไม้

การทดลอง - ศึกษาเทคนิคการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกล้วยไม้บางชนิด.....2021

โดย นายพฤทธิชาติ ปุญวัฒโท และคณะ

- การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมหอยทากซัคซิเนีย (*Succinea chrysis*)ในสวนกล้วยไม้....2033

โดย นายปราสาททอง พรหมเกิด และคณะ

- ทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดจากใบมะขาม..... 2039
ใบว่านหางจระเข้ ฝักจามจุรี กับหอยซัคซิเนีย และหอยเลขหนึ่ง
โดย นางสาวดาราพร รินทะรักษ์ และคณะ
- ชีววิทยาทาก *Parmarion* sp. 2048
โดย นางสาวปิยาณี หนูกาฬ และคณะ
- ฤดูกาลระบาดของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้, *Tenuipalpus* 2051
pacificus และวิธีการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม
โดย นางสาวมานิตา คงชื่นสิน และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มพืชไร่เศรษฐกิจอื่น ๆ
โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 01-17-49-06
กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน
กิจกรรมย่อย การประเมินสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าที่เกิดจากเชื้อรา

การทดลอง - ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรค.....2056
ช่อดอกไหม้และยอดบิดที่มีสาเหตุจากเชื้อรา
Fusarium moniliforme
โดย นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ และคณะ
- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรค.....2062
ลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Macrophomina*
phaseolina
โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ
- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรค.....2067
แอนแทรคโนสที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum*
sublineolum
โดย นางสาวพจนา ตระกูลสุขรัตน์ และคณะ
- ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัท.....2072
ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*
โดย นางพีระวรรณ พัฒนวิภาส และคณะ

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียว 01-17-49-07

กิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน

กิจกรรมย่อย การปรับปรุงพันธุ์

การทดลอง ● การคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรคไวรัสใบด่างเหลือง.....2079
ในเรือนทดลอง

โดย นางสาวกาญจนา วาระวิชะนี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนากลุ่มไม้ผลเศรษฐกิจอื่น ๆ

โครงการวิจัย วิจัยศึกษาเทคโนโลยีการผลิตแก้วมังกร 01-13-52-03

กิจกรรม ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตแก้วมังกรในและนอกฤดู

กิจกรรมย่อย ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตแก้วมังกรในและนอกฤดู

การทดลอง - ศึกษาการจัดการอารักขาพืชที่เหมาะสมในการผลิตแก้วมังกร.....2088

โดย นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเหลือง

โครงการวิจัย เทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลือง 01-06-49-02

กิจกรรม ถั่วเหลือง

กิจกรรมย่อย เทคโนโลยีการอารักขาถั่วเหลือง

การทดลอง - ผลของสารกำจัดวัชพืชและเวลาการใช้ต่อการควบคุม.....2094
วัชพืชในการผลิตถั่วเหลือง

โดย นายคมสัน นครศรี และคณะ

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาส้มโอ

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตส้มโอ 01-10-49-02

กิจกรรม การอารักขาส้มโอ

กิจกรรมย่อย การจัดการแมลงศัตรูสำคัญในส้มโอ

การทดลอง - ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัด.....2105
หนอนเจาะผลส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore

โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

- ศึกษาชนิดการเข้าทำลายและการป้องกันกำจัดแมลงวัน.....2120
ผลไม้ในส้มโอ

โดย นางสาวบุษบง มนัสมั่นคง และคณะ

- ศึกษาประสิทธิภาพการห่อผลส้มโอร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลง.....2124
ในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ
โดย นางศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา และคณะ

กิจกรรมย่อย การจัดการโรคในส้มโอ

การทดลอง - การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแคงเกอร์.....2133
ของส้มโอ
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ
- การใช้พืชสมุนไพรเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ.....2140
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ
- ศึกษาช่วงเวลาการพ่นสารป้องกันกำจัดโรงแคงเกอร์ของส้มโอ.....2146
ให้มีประสิทธิภาพ
โดย นางสาวบูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ
- ศึกษาการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ.....2157
โดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
โดย นางนลินี ศิวากรณ์ และคณะ
- การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอโดยเชื้อรา.....2169
ไตรโคเดอร์มา
โดย นางสาวสุพัตรา อินทวิมลศรี และคณะ
- การจัดการโรคจุดดำของส้มโอโดยการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช.....2174.
ร่วมกับการเขตกรรม
โดย นางสาวบูรณี พั่ววงษ์แพทย์ และคณะ

กิจกรรมย่อย การแก้ไขปัญหาลักษณะและอาการผิดปกติของผลส้มโอ

การทดลอง - สาเหตุการเกิดและการป้องกันแก้ไขอาการจุดดาวกระจาย.....2183
บนผลส้มโอ
โดย นางสาวบุษบง มนัสมั่นคง และคณะ

สำรวจ รวบรวม และจำแนกรา *Pythium* สาเหตุโรคพืช

Surveying, Collection and identification of *Pythium*

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พีระวรรณ วัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืชที่ มีสาเหตุจาก รา *Pythium* spp. จากแหล่งปลูกพืชทั่วประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2552 ได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช ทั้งหมด 30 ไอโซเลท ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ตรวจไม่พบ รา *Pythium* ทุกชนิดพืช ส่วนการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก ได้ตัวอย่างดินคะน้า ดินปลูกกวางตุ้งและดินปลูกสตรอแบรี่ รวมได้ตัวอย่างดิน 11 ตัวอย่าง แยกได้รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง รวม ได้ รา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ทั้งหมดจำนวน 41 ไอโซเลท จำแนกเป็นรา *Pythium* 15 ชนิด คือ

P. monospermum สาเหตุโรคกล้าเน่าแตงกวา *P. vanterpoolii* สาเหตุโรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง *Pythium* Group G สาเหตุโรคต้นเน่าผักกะเฉด โรครากเน่าต้นเหี่ยวสนมังกร *Pythium* Group HS สาเหตุโรคต้นเน่าผักกะเฉด *P. spinosum* และ *P. rostratum* สาเหตุโรคต้นเน่าสตรอเบอรี่ *P. indigoferae* สาเหตุโรคต้นเน่าผักชี *P. middletonii* สาเหตุโรคต้นเน่าของต้นขวด *P. perplexium* สาเหตุโรคต้นเน่ารากเน่าผักไร้ดิน *P. tracheiphilum* สาเหตุโรคต้นเน่าต้นฤาษีสีแดง และโรครากเน่าต้นเน่ากฤษณา *P. irregulare* และ *P. periplocum* สาเหตุโรคต้นเน่าต้นกฤษณา *P. intermedium* สาเหตุโรคใบเน่าบัวประดับ และ*P. aphanidermatum* สาเหตุโรคกล้าเน่ามะเขือเทศ และโรคกล้าเน่าลำต้นเน่ามะละกอ และพบในดินคะน้าทุกตัวอย่างจากสุพรรณบุรี ปทุมธานี เชียงใหม่และเชียงราย และดินกวางตุ้งจากเชียงใหม่และเชียงราย พบรา *P. ultimum* ส่วนไอโซเลทอื่น ๆ อยู่ในขั้นตอนการจำแนกชนิดเชื้อ

คำหลัก : สำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคพืช, รา *Pythium,* จำแนกชนิดเชื้อ

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 เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดินของกล้าพืชและบางครั้งทำให้เกิดโรคโคนเน่ารากเน่าของพืชที่เจริญเติบโตโดยทำลายเนื้อเยื่อที่บอบบาง 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 ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2552

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

1.4 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก นำตัวอย่างดินมาละลายน้ำ แล้วใช้เมล็ดแตงกวาแขวนลอยในสารละลายดินดังกล่าวนาน 36-48 ชั่วโมง นำเมล็ดแตงกว่านั้น มาแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยวางบนอาหาร PDA + BRNAP เพาะเชื้อในอุณหภูมิห้อง (25 $\pm$ 2^{0}ซ.) 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 ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของราซึ่งเลี้ยงบน

อาหาร CA นาน 3 วัน วางให้ด้านที่มีเส้นใยของเชื้อคว่ำลงบนอาหารบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อ นำไปไว้ในตู้บ่มมืดที่มีอุณหภูมิ 25 ± 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 นำไปลอยในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว น้ำดิน (soil suspension) และน้ำหญ้าต้ม 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

3. การจำแนกชนิดรา *Pythium* spp.

เปรียบเทียบผลการศึกษา ลักษณะการเจริญเส้นใย ลักษณะรูปร่างและขนาดของสปอร์ชนิดต่างๆ (sporangium, chlamydospores, oogonia, antheridia และ oospores) ของรา *Pythium* สาเหตุโรคกล้าเน่า 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 2552 พบว่า

ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ พบโรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง กล้าเน่ามะเขือเทศและโรคกล้าเน่าเบญจมาศ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง โรคต้นเน่ารากเน่าสตรอแบรี่ 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่ารากเน่าผักสลัดแก้ว โรครากเน่าต้นเน่าต้นขวด โรคต้นเน่าต้นฤาษีสีแดง ต้นฤาษีสองสี ต้นฤาษีผสม (ดอกม่วง) ต้นไม้เท้าฤาษี โรครากเน่าสนมังกร และโรคใบเน่าบัวประดับ ชนิดละ 1 ตัวอย่าง จังหวัดลำปาง พบโรคใบเน่าบัวประดับ 1 ตัวอย่าง

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบโรคลำต้นหรือกล้าเน่าแตงกวา จากจังหวัดเลย 1 ตัวอย่าง และโรคหัวเน่า (กล้าเน่า) ของหัวไชเท้า (ผักกาดหัว, ผักกาดหวาน) จากเพชรบูรณ์ 1 ตัวอย่าง และโรคต้นเน่าไม้กฤษณา 2 ตัวอย่าง จากจังหวัดสกลนคร

ภาคตะวันออก พบโรคใบเน่าบัวประดับ และโรคต้นเน่ารากเน่ากล้วยไม้ดิน (ซิมบิเดียม) ชนิดละ 2 ตัวอย่าง จากจังหวัดปราจีนบุรี

ภาคใต้ พบโรคใบเน่าบัวประดับ1 ตัวอย่าง จากจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ภาคกลาง พบโรคเน่าคอดินหรือโรคกล้าเน่ามะเขือเทศ จากกรุงเทพฯ 1 ตัวอย่าง โรคต้นเน่าผักกาดหอม 1 ตัวอย่าง ผักไร้ดิน (ผักไฮโดรโปรนิค) 2 ตัวอย่าง โรครากและลำต้นเน่าผักชี 1 ตัวอย่าง และ โรคต้นเน่าจากผักกระเฉดจากกรุงเทพฯ 2 ตัวอย่าง จังหวัดสมุทรปราการ 1 ตัวอย่าง และโรคกล้าเน่าลำต้นเน่ามะละกอ จากนครปฐม 1 ตัวอย่าง

รวมได้ตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ ทั้งหมด 30 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. ส่วนนิยมรัฐ (2542) รายงานโรคผลเน่า (Fruit rot) ของมะเขือเทศ มีลักษณะช้ำเหมือนน้ำร้อนลวก แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำ มีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp. เช่นเดียวกัน

นอกจากนี้ได้พบกล้าเน่าของกะหล่ำปลีสีม่วงจากเชียงใหม่ 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

ในการศึกษานี้ได้พบพืชที่มีลำต้นอวบ นิ่ม ในระยะต้นโต เป็นโรครากและลำต้นเน่า ที่มีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp. ได้แก่ สตรอเบอรี่ ผักสลัดแก้วและผักกาดหอม โดยเฉพาะ ผักที่ปลูกในน้ำ ได้แก่ ผักกะเฉด และผักไร้ดิน เมื่อตรวจเอกสารพบการรายงานการศึกษาสาเหตุโรคพืช ในระยะต้นโตที่มีสาเหตุจากรา *Pythium* spp. ในประเทศไทย คือ อมรรัตน์ และคณะ (2522) รายงานโรคต้น

เน่าป่านศรนารายณ์ ทำให้เกิดอาการเน่าเละเป็นสีน้ำตาล อาการเริ่มที่โคนใบ แล้วเน่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แล้วใบหักพับลง ลุกลามไปยังโคนใบอื่นๆ กลางลำต้นเน่าเละ และต้นล้มไปในที่สุด มีสาเหตุจาก รา *P. aphanidermatum* และได้พบโรคเน่าคอดินหรือโรคกล้าเน่ามะละกอ เช่นเดียวกับ สุชาติ (2541) ที่รายงานโรครากเน่าและโคนเน่าของมะละกอ ว่าเกิดจากรา *P. aphanidermatum* ซึ่งเช่นเดียวกับ พิศาล (2542) รายงานโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ โรคโคนเน่า (stem rot) ของมะละกอ จากรา *P. aphanidermatum* ทำให้โคนต้นเน่าสีน้ำตาลดำและบางครั้งมีเส้นใยสีขาวเกิดขึ้น และรายงานโรคยอดเน่า (heart rot) ของสับปะรด มีสาเหตุจากรา *Pythium* sp. และพบการรายงานของ 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 ว่ามีสาเหตุจาก รา *Pythium* sp. ซึ่งจะเห็นเส้นใยสีขาวหนาตรงส่วนต่อของรากกับโคนต้น

1.3 การศึกษา รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช

ผลการศึกษาตัวอย่างโรคพืช โดยวิธี tissue transplanting แล้วแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อวินิจฉัยสาเหตุโรค พบว่า ตัวอย่างโรคพืชที่นำมาศึกษาทั้ง 30 ตัวอย่าง มีสาเหตุจาก รา *Pythium* spp. แยกราได้จำนวน 30 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืชจากพื้นที่เพาะปลูกของประเทศไทย (ปีพ.ศ. 2549-2552

ลำดับ	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
	ภาคเหนือ			
	เชียงใหม่ CM = Chiang Mai			
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	สตรอแบรี่	ต้นเน่า/รากเน่า	49-Py-St-CM 2 S

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
	ภาคเหนือ			
	เชียงใหม่ CM = Chiang Mai			
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
8.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	ต้นฤาษีสีแดง	ต้นเน่า	51 Py ฤาษี CM 1 S
9.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	ต้นฤาษีสองสี	ต้นเน่า	51 Py ฤาษี CM 2 S
10.	สวนพฤษศาสตร์สิริกิต เชียงใหม่	ต้นฤาษีผสม (ดอกม่วง)	ต้นเน่า	52 Py ฤาษีผสม CM 3 S
11.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	ต้นไม้เท้าฤาษี	ต้นเน่า	51 Py ไม้เท้าฤาษี CM 1 S
12.	สวนเฉลิมพระเกียรติ ฯ ราชพฤกษ์ 2549	สนมังกร	รากเน่า ต้นเหี่ยว	51 Py สนมังกร CM 1 R
13.	ใกล้โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ อ.เมือง เชียงใหม่	บัวประดับ	ใบเน่า	51 - Py -ใบบัวประดับ CM 1 L
	ลำปาง Lpa = LamPang			
14.	ร้านก๋วยเตี๋ยว อ.ห้างฉัตร ลำปาง	บัวประดับ	ใบเน่า	52 - Py ใบบัวประดับ Lpa 1 L
	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ			
	เลย Lo = Loei			
15.	ไร่ TSA ผลิตเมล็ดพันธุ์ อ.ภูเรือ จ.เลย	แตงกวา	ลำต้น/กล้าเน่า	49-Py-Cu-Lo 1 S
	เพชรบูรณ์ Ph B = Phetchabun			
16.	บ้านมุกโค ต.หนองแม่นา อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์	หัวไชเท้า	กล้าเน่า/หัวเน่า	50-Py-หัวไชเท้า-PhB 1 R-
	สกลนคร Sa N = Sakonnakhon			
17.	อ.เมือง สกลนคร	กฤษณา	โคนต้นเน่า	51 Py กฤษณา Sa N 1 S

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ			
18.	นายผดุง พงษ์เกรินทร์ เกษตรกรผู้ปลูกไม้กฤษณา บ้านเลขที่ 293 หมู่ 1 บ้านวาริชภูมิ ต.วาริชภูมิ อ.วาริชภูมิ จ.สกลนคร	กฤษณา	รากเน่าโคนเน่า	51 Py กฤษณา Sa N 2 S
	ภาคตะวันออก			
	ปราจีนบุรี			
	PB = Prachin Buri			
19.	รังกล้วยไม้บริษัท PSP อ.เมือง ปราจีนบุรี (นิยมรัฐ)	บัวประดับ	ใบเน่า	51 Py ใบบัวประดับ PB 1 L
20.	รังกล้วยไม้บริษัท PSP อ.เมือง ปราจีนบุรี (นิยมรัฐ)	กล้วยไม้ดิน (ซิมบิเดียม)	ต้นเน่า-รากเน่า	52 Py รากซิมบิเดียม PB 1 R
	ภาคใต้			
	ประจวบคีรี ขันธ์			
	Pr K = Prachuap khirikhan			
21.	*คอนโดริมหาดหัวหิน พี่เล็ก*	บัวประดับ	ใบเน่า	52 Py ใบบัวประดับ - Pr K 1 L
	ภาคกลาง			
	กรุงเทพ ฯ BK = Bangkok			
22.	เรือนทดลองกลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ. กรุงเทพ	มะเขือเทศ	กล้าเน่า	49-Py-To-BK 1 S
23.	คลินิกพืช กรุงเทพฯ	ผักกาดหอม	ต้นเน่า	50-Py- ผักกาดหอม -BK 1 S
24.	คุณมณีรัตน์ เทพบันดาลผล ถนนเอกชัย-บางบอน อ.บางขุนเทียน กรุงเทพฯ	ผักไร้ดิน (ผักไฮโดรโปนิค)	ราก/ลำต้นเน่า	51 Py Hp BK 2 S
25.	คลินิกพืช กรุงเทพฯ	ผักชี	ราก/ลำต้นเน่า	51 Py ผักชี 1 S
26.	กรุงเทพ	ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -BK 1 S
27.	คลินิคพืช กรุงเทพ	ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -BK 3 S
28.	บริษัท GP Technology Co.Ltd. คุณธวัช สาธรณะ 50 สุวินทวงศ์ ต.แสนแสบ อ.มีนบุรี กรุงเทพฯ	ผักสลัดไร้ดิน (ผักไฮโดรโปนิค) (Hp = Hydroponic)	น้ำในโรงเพาะกล้า	51-Py-Hp BK 1 W

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับ	แหล่งปลูก	พืช	ส่วนของพืช	ไอโซเลทเชื้อ
	ภาคกลาง			
	สมุทรปราการ SP = Samut PraGan			
29.	นายสมศักดิ์ สะเสือ 16/2 ม.3 ต. หนองปรือ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ	ผักกะเฉด	ต้นเน่า/ใบเน่า	49-Py- ผักกะเฉด -SP 2 S
	นครปฐม Na P = *Nakhonpathom*			
30.	คุณยุวดี ผันสัตบุตร พุทธมณฑล	มะละกอ	กล้าเน่า ลำต้นเน่า	52 Py Na P กล้ามะละกอ 1 S(แขกดำ)

หมายเหตุ

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

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

[3] Cu = ตัวอักษรสองตัวที่สอง คือ พืชอาศัยที่แยกเชื้อสาเหตุได้

[4] Lo = ตัวอักษรสองตัวที่สาม คือ จังหวัดที่เก็บตัวอย่างโรคกล้าเน่า

[5] 1 = จำนวนเลขหนึ่งตัว คือ ลำดับไอโซเลทของเชื้อสาเหตุที่แยกได้จากพืช

[6] S = ตัวอักษรหนึ่งตัวหลัง คือ ส่วนของพืชที่แยกราสาเหตุได้

49-Py-Cu-Lo 1 S = รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคที่แยกได้จากตัวอย่างโรคโคนเน่าแตงกวา จังหวัดเลย ไอโซเลทที่ 1 เก็บตัวอย่างในปี พ.ศ.2549

พืช	ส่วนของพืช	จังหวัด
Bt=Bottle tree = ต้นขวด	S = Stem ลำต้น	CM = Chiang Mai เชียงใหม่
Cu = Cucumber = แตงกวา	R = Root ราก	Lpa = LamPang ลำปาง
St = Strawberry = สตรอแบรี่	W = Water น้ำ	Lo = Loei เลย
To = Tomato = มะเขือเทศ		Ph B = Phetchabun เพชรบูรณ์
		Sa N = Sakonnakhon สกลนคร
		PB = Prachin Buri ปราจีนบุรี
		Pr K = Prachuap khirikhan ประจวบคีรี ขันธ์
		BK = Bangkok กรุงเทพ ฯ
		SP = Samut PraGan สมุทรปราการ
		Na P = *Nakhonpathom* นครปฐม

1.4 การศึกษา รา *Pythium* spp. ที่อยู่ในดินแปลงปลูกพืช

ผลการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่ จากแหล่งปลูก ปีพ.ศ. 2549-2552 ได้ตัวอย่างดินคะน้า จากจังหวัดปทุมธานี 2 ตัวอย่าง จังหวัดสุพรรณบุรี เชียงราย และเชียงใหม่ จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างดินปลูกกวางตุ้งจากจังหวัดเชียงราย และเชียงใหม่ จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง ดินปลูกสตรอแบรี่จากจังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่าง ดินปลูกส้มจากจังหวัดเชียงใหม่ 1 ตัวอย่าง ดินปลูกกฤษณาจากสกลนคร ดินปลูกกะหล่ำปลี จากจังหวัดตาก 1 ตัวอย่าง รวมได้ตัวอย่างดิน 11 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืชทุกตัวอย่าง ได้รา *Pythium* spp. จำนวน 11 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 รา *Pythium* spp. แยกจากดินปลูกพืชของประเทศไทย (ปีพ.ศ. 2549-2552)

ลำดับ	จังหวัด	ดินปลูกพืช	ไอโซเลท	แหล่งปลูก
1.	สุพรรณบุรี	คะน้า	50-Py-สพ.-ดินคะน้า-1	ม.4 ต.คันคต อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี
2.	ปทุมธานี	คะน้า	50-Py-ปธ.-ดินคะน้า-1	คุณสมพงษ์ 63/1 ม.2 ต.บางเดื่อ อ.เมือง
3.		คะน้า	50-Py-ปธ.-ดินคะน้า-2	เฮียแว่น 22 ม. 3 ต.บ้านใหม่ อ.เมือง
4.	เชียงราย	คะน้า	50-Py-ชร.-ดินคะน้า-1	บ.บางขอน ต.แม่เจดีย์ อ.เวียงป่าเป้า
5.		กวางตุ้ง	50-Py-ชร.-ดินกวางตุ้ง-1	บ.บางขอน ต.แม่เจดีย์ อ.เวียงป่าเป้า
6.	เชียงใหม่	คะน้า	50-Py-ชม.-ดินคะน้า-1	บ.ทุ่งแดง อ.พร้าว
7'		กวางตุ้ง	50-Py-ชม.-ดินกวางตุ้ง-1	ต.โหล่ขวด อ.พร้าว
8.		สตรอแบรี่	50-Py-ชม.-ดินสตรอแบรี่-1	ต.สะเมิงใต้ อ.สะเมิง
9.		ส้ม	51-Py ชม.-ดินส้ม 1	ดินส้ม-ฝาง เชียงใหม่
10.	สกลนคร	กฤษณา	51 กฤษณา 1	นายผดุง พงษ์เภรินทร์ 293 หมู่ 1 บ้านวาริชภูมิ ต. วาริชภูมิ อ. วาริชภูมิ จ.สกลนคร 47150
11.	ตาก	กะหล่ำปลี	52-PY-ดินกะหล่ำปลี	อ. เมือง จ.ตาก

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

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของรา *Pythium*

2.1 การศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย (โคโลนี) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษาลักษณะการเจริญของเส้นใย เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อนาน 3 วัน พบว่าราสร้างเส้นใยบนอาหาร CA มีลักษณะการเจริญเป็นเส้นตรง มีกิ่งก้านแยกออกไปสม่ำเสมอ ค่อนข้างเป็นระเบียบ ไม่ฟูมาก ลักษณะเส้นใยใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้น ผิวผนังเรียบ ราเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อเมื่ออายุ 2 – 3 วันและพบการเจริญของเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เกิดลักษณะรูปแบบของโคโลนี (culture pattern หรือ colony pattern) คล้ายปุยฝ้าย หรือปุยสำลี หรือ เส้นใยแมงมุม (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 22 ไอโซเลท กับคู่มือการจำแนกชนิด *Pythium* ของ PLAATS-NITERINK (1981) และ เอกสารวิชาการของ Robertson (1980) พบว่าเป็นรา *Pythium* spp. จำนวน 15 ชนิด ดังนี้

P. monospermum สาเหตุโรคกล้าเน่าแตงกวา

P. vanterpoolii สาเหตุโรคกล้าเน่ากะหล่ำปลีสีม่วง

Pythium Group G สาเหตุโรคต้นเน่าผักกะเฉด โรครากเน่า ต้นเหี่ยวสนมังกร

Pythium Group HS สาเหตุโรคต้นเน่าผักกะเฉด

*P. spinosum*สาเหตุโรคต้นเน่าสตรอเบอรี่

P. rostratum สาเหตุโรคต้นเน่าสตรอเบอรี่

P. indigoferae สาเหตุโรคต้นเน่าผักชี

P. middletonii สาเหตุโรคต้นเน่าของต้นขวด

P. perplexium สาเหตุโรคต้นเน่ารากเน่าผักไร้ดิน

P. tracheiphilum สาเหตุโรคต้นเน่าต้นฤาษีสีแดง และโรครากเน่าต้นเน่ากฤษณา

P. irregulare สาเหตุโรคต้นเน่าต้นกฤษณา

P. periplocum สาเหตุโรคต้นเน่าต้นกฤษณา

P. intermedium สาเหตุโรคใบเน่าบัวประดับ

P. aphanidermatum สาเหตุโรคกล้าเน่ามะเขือเทศ และโรคกล้าเน่าลำต้นเน่ามะละกอ และพบในดินคะน้าทุกตัวอย่างจากสุพรรณบุรี ปทุมธานี เชียงใหม่และเชียงราย

ดินกวางตุ้งจากเชียงใหม่และเชียงราย พบรา *P. ultimum*

สำหรับรายละเอียดของการจำแนกชนิดเชื้อจะรายงานในครั้งต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ได้สำรวจ รวบรวม ตัวอย่างโรคพืช ในพื้นที่ปลูก เก็บตัวอย่างโรคกล้าเน่า ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ รา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช ทั้งหมด 30 ไอโซเลท ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ตรวจไม่พบ รา *Pythium* ทุกชนิดพืช ส่วนการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก ได้ตัวอย่างดินคะน้า ดินปลูกกวางตุ้งและดินปลูกสตรอแบรี่ รวมได้ตัวอย่างดิน 11 ตัวอย่าง แยกได้ รา *Pythium* spp. จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่าง รวม ได้ รา *Pythium* spp. บริสุทธิ์ ทั้งหมดจำนวน 41 ไอโซเลท จำแนกเป็นรา *Pythium* 15 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 2552 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

---

รหัสการทดลอง 09024901

คำนำ

ราแป้ง จัดเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เตือนใจ และคณะ (2545) รายงานว่าเชื้อราแป้ง ทำให้เกิดโรคกับไม้ผลหลายชนิด คือ มะม่วง ทุเรียน โดยราแป้งมะม่วงเกิดจากเชื้อรา *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 ลักษณะอาการจะคล้ายๆกันในทุกพืช 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 เพื่อนำเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช สำหรับใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์อย่างยั่งยืน 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 6 ไอโซเลท จากกรุงเทพฯ เชียงใหม่ เชียงราย สตรอเบอรี่ 2 ไอโซเลท จากจังหวัดเชียงใหม่ ถั่วฝักยาว กระถินณรงค์ ผักชีลาว จากจังหวัดเชียงราย โทงเทง จากจังหวัดลำปาง ถั่วเขียว พริก จากจังหวัดเพชรบูรณ์ ราแป้งถั่วลันเตา จากจังหวัดเลย เงาะ จำนวน 2 ไอโซเลท เทียน จากจังหวัดจันทบุรี มะม่วง จากจังหวัดพิษณุโลก เมลอน จากจังหวัดสระแก้ว เงาะที่เป็นโรคราแป้งบริเวณช่อดอกและใบจำนวน 8 ไอโซเลท จากจังหวัดนครศรีธรรมราช จันทบุรี ตราด องุ่น จากจังหวัดนครราชสีมา มะขาม 7 ไอโซเลท จากจังหวัด กรุงเทพฯ เพชรบุรี สระบุรี แค 3 ไอโซเลท จากจังหวัดเชียงใหม่ กรุงเทพฯ ราชพฤกษ์ 1 ไอโซเลท จากกรุงเทพฯ น้ำนมราชสีห์ 1 ไอโซเลท หญ้าละออง 1 ไอโซเลท ทานตะวัน 1 ไอโซเลท จากจังหวัดเชียงใหม่ หม่อน 1 ไอโซเลท จากกรุงเทพฯ มะเขือ 1 ไอโซเลท จากกรุงเทพฯ

จากศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อการจัดจำแนกชนิด ราแป้งพบว่า ราแป้งสตรอเบอรี่ เป็นเชื้อรา Genus Oidium ที่มี Fibrisin body ใน Conidia เมื่อวัดขนาดส่วนต่างๆ สามารถจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งตำลึงก็เป็น Genus Oidium แต่ไม่พบ Fibrosin body สามารถจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Reticuloidium* sp. พบว่าเทียนที่แสดงอาการคล้ายราแป้งนั้น ลักษณะทางสัณฐานวิทยาไม่ใช่ลักษณะของเชื้อราแป้ง โรคราแป้งเงาะ จาก จ.จันทบุรีจำนวน 2 ไอโซเลท ตราด จำนวน 2 ไอโซเลท นครศรีธรรมราช 4 ไอโซเลท เชื้อราแป้งของเงาะในเขตภาคตะวันออกจะแสดงอาการเฉพาะที่ผล ไม่ค่อยแสดงอาการที่ใบในขณะที่ทางภาคใต้จะพบอาการทั้งที่ผลและใบ สามารถจัดจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp. ตัวอย่างราแป้งในองุ่นพบว่าส่วนสัณฐานของเชื้อบางส่วนที่ใช้ในการจัดจำแนกไม่ครบถ้วน อาจเนื่องจากตัวอย่างที่เก็บได้เก่าเกินไปหรืออาจเป็นเพราะเกษตรกรมีการใช้สารเคมี จำเป็นต้องเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมในฤดูถัดไป การสำรวจราแป้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง พบราแป้งบนต้นลูกใต้ใบ ที่จังหวัดบุรีรัมย์ แต่ปริมาณน้อยมากไม่สามารถนำตัวอย่างมาทำการจัดจำแนกเชื้อได้ จะต้องทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมต่อไป ราแป้งพริก จำแนกได้เป็น *Oidiopsis sicula* ซึ่งตรงกับที่ต่างประเทศรายงานไว้ว่า perfect stage คือ *Leveillula taurica* แต่จากการเก็บตัวอย่างยังไม่พบ perfect stage เชื้อราแป้งของน้ำนมราชสีห์ conidia มีองค์ประกอบของ fribrosin body ทำการวัดขนาดส่วนต่างๆของเชื้อ สามารถจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งหญ้าละออง จากการศึกษาจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งทานตะวัน จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Recticuloidium* sp. ตรงกับ Perfect stage คือ *Glolovinomyces* sp.ราแป้งหม่อน จากการศึกษาจำแนกได้เป็น *Ovulariopsis* sp. ราแป้งมะเขือ ไอโซเลทจากกรุงเทพมหานคร จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสามารถจำแนกเบื้องต้นได้เป็น Genus Oidium subgenus Fibroidium sp. ในส่วนพืชชนิดอื่นอยู่ระหว่างการจัดจำแนก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บตัวอย่างราแป้งของพืชชนิดต่างๆ จำนวน 45 ไอโซเลท พบว่าราแป้งสตรอเบอรี่ สามารถจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งตำลึง สามารถจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Reticuloidium* sp. ราแป้งพริก จำแนกได้เป็น *Oidiopsis sicula* ราแป้งเงาะ สามารถจัดจำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Pseudoidium* sp. ราแป้งของน้ำนมราชสีห์ จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งหญ้าละออง จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp. ราแป้งทานตะวัน จำแนกได้เป็น *Oidium* subgen. *Recticuloidium* sp. ราแป้งหม่อน จำแนกได้เป็น *Ovulariopsis* sp. ราแป้งมะเขือ จำแนกเบื้องต้นได้เป็น *Oidium* subgen. *Fibroidium* sp.

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 spp.* สาเหตุโรคพืช

Surveying Collecting Identification and Study on Host of Plant Pathogenic *Sclerotium spp.*

สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ พรพิมล อธิปัญญาคม อภิรัชต์ สมฤทธิ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2552 จากแปลงปลูกพืช ในพื้นที่ 29 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง พะเยา ลำพูน แม่ฮ่องสอน ตาก พิจิตร อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เลย ลพบุรี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี กรุงเทพมหานคร นนทบุรี นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร จันทบุรี สงขลา พัทลุง และสตูล ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมดจำนวน 37 ตัวอย่าง จากพืช 15 ชนิด ได้แก่ ได้แก่ โรคโคนเน่าของพริก จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าและผลเน่าของมะเขือเทศ จำนวน 4 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของกระชายดำ จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วเหลือง จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง จำนวน 3 ตัวอย่าง โรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ Ascocenda จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ Mokara จำนวน 1 ตัวอย่าง กล้วยไม้ช้าง จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ Vanda จำนวน 3 ตัวอย่าง และ กล้วยไม้ดิน จำนวน 3 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเฟิร์นฮาวาย จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของทานตะวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของกวนอิม จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเศรษฐีเรือนนอก จำนวน 1 ตัวอย่าง และโรคโคนเน่าของพลับพลึง จำนวน 1 ตัวอย่าง หลังจากนำมาแยกเชื้อ และจำแนกชนิด พบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และได้เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 37 ไอโซเลท รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งได้จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชพร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 37 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 และไม่มีการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งเข้าสู่พิพิธภัณฑ์ 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 2552

2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ กล่องเก็บความเย็น ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล

3. แผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืช กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์

4.วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นปิดสไลด์ 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 2552 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

<u>แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant</u>

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำ นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 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.

<u>ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา</u>

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 2552 จากแปลงปลูกพืช ในพื้นที่ 29 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง พะเยา ลำพูน แม่ฮ่องสอน ตาก พิจิตร อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เลย ลพบุรี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี กรุงเทพมหานคร นนทบุรี นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร จันทบุรี สงขลา พัทลุง และสตูล ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมดจำนวน 37 ตัวอย่าง จากพืช 15 ชนิด ได้แก่ ตัวอย่างโรคโคนเน่าของพริก มีอาการเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าและผลเน่าของมะเขือเทศ มีอาการต้นเหี่ยว ผลเน่า ที่โคนต้น และผล พบเส้นใยสีขาว และเม็ด sclerotium ของเชื้อรา จำนวน 4 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของกระชายดำ มีอาการโคนเน่า ที่โคนต้น พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วเหลือง มีอาการต้นเหี่ยว โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง มีอาการต้นเหี่ยว ที่ฝัก โคนต้น และราก พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 3 ตัวอย่าง โรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ มีอาการโคนต้น ใบ และรากแห้ง บริเวณโคนต้น โคนใบ และราก พบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อรา ได้แก่ กล้วยไม้ Ascocenda จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ Mokara จำนวน 1 ตัวอย่าง กล้วยไม้ช้าง จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ Vanda จำนวน 3 ตัวอย่าง และ กล้วยไม้ดิน จำนวน 3 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเฟิร์นฮาวาย มีอาการเหี่ยว ต้นแห้ง ที่โคนต้น และรากพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของทานตะวัน มีอาการต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของกวนอิม มีอาการใบและกาบใบแห้ง พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเศรษฐีเรือนนอก มีอาการโคนต้นเน่า ใบเหลือง แห้ง ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และsclerotia ของเชื้อรา จำนวน 1 ตัวอย่าง และโรคโคนเน่าของพลับพลึง มีอาการโคนต้นเน่า ใบเหลือง แห้ง ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา จำนวน 1 ตัวอย่าง (ตารางที่1)

2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Sclerotium* spp.

2.1 แยกเชื้อรา และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

แยกเชื้อรา *Sclerotium* sp.บริสุทธิ์ ได้ทั้งหมด 37 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 ทั้ง 37 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 0.8-1.0 มิลลิเมตร เส้นใยของเชื้อรามีผนังบาง ไม่มีสี มีผนังกั้นตามขวาง มีการสร้าง clamp connection

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของรา *Sclerotium* sp. ที่รวบรวมได้ ทั้ง 37 ไอโซเลท เปรียบเทียบลักษณะของรา *Sclerotium* sp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรา *Sclerotium* spp. จำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. (ตารางที่ 1)

3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ที่แยกได้ทั้ง 37 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 37 ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2552 จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 29 จังหวัด ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมดจำนวน 37 ตัวอย่าง จากพืช 15 ชนิด เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา เพื่อจำแนกชนิด พบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และได้เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 37 ไอโซเลท รวบรวมไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชพร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 37 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

<u>ตารางที่</u> 1 ชนิดพืช เชื้อสาเหตุ ลักษณะอาการ แหล่งที่พบ และจำนวนตัวอย่างโรคพืชที่ได้จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2552

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
1	พริก	*Sclerotium rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	ศวส.พิจิตร อ.โพธิ์ประทับช้าง จ.พิจิตร จ.เชียงใหม่ อ.เมือง จ.ขอนแก่น อ.ควนขนุน จ.พัทลุง อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา จ.กาญจนบุรี	3 1 2 1 1 1
2	มะเขือเทศ	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และเม็ด sclerotia ของเชื้อรา	จ.พระนครศรีอยุธยา อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่ อ.ศรีเชียงใหม่ จ.หนองคาย	1 1 2
3	กระชายดำ	*S. rolfsii*	โคนเน่า ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ.มะนัง จ.สตูล	2

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
4	ถั่วเหลือง	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	จ.ขอนแก่น	2
5	ถั่วลิสง	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่ฝัก โคนต้นและราก พบเส้นใยสีขาว และ sclerotiaของเชื้อรา	ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี อ.ศรีเทพ จ.เพชรบูรณ์	2 1
6	ก ล้ ว ย ไ ม้ Ascocenda	*S. rolfsii*	ใบเหลือง ร่วง โคนต้นเน่า และรากแห้ง พบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อราที่ใบลำต้นและราก	เขตบางแค กรุงเทพมหานคร	2
7	ก ล้ ว ย ไ ม้ Mokara	*S. rolfsii*	ใบ โคนต้น และรากแห้ง บริเวณโคนต้น โคนใบ และรากพบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้ม	อ.กระทุ่มแบน จ.สมุทรสาคร	1
8	ก ล้ ว ย ไ ม้ ช้าง	*S. rolfsii*	ใบเหลือง ร่วง โคนต้นเน่า และรากแห้ง พบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อราที่ใบลำต้นและราก	อ.พุทธมลฑล จ.นครปฐม	2

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
9	กล้วยไม้ Vanda	*S. rolfsii*	ใบเหลืองเหี่ยว ที่โคนใบพบเส้นใยสีขาวของเชื้อรา ใบที่แห้งจะหลุดร่วง รากแห้ง และพบเม็ด sclerotium ที่ใบแห้ง	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี อ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี	1 2
10	กล้วยไม้ดิน	*S. rolfsii*	ใบ โคนต้น และรากแห้ง บริเวณโคนต้น โคนใบ และรากพบเส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อรา	อ. กระทุ่ม จ.สมุทรสาคร	3
11	เฟิร์นฮาวาย	*S. rolfsii*	เหี่ยว ต้นแห้ง ที่โคนต้นและรากพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	2
12	ทานตะวัน	*S. rolfsii*	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	เทคโนโลยีราชมงคลจันทบุรี	1
13	กวนอิมเขียว	*S. rolfsii*	ใบและกาบใบแห้ง พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	ต.โป่งผา อ.แม่สาย จ.เชียงราย.	1
14	เศรษฐีเรือนนอก	*S. rolfsii*	โคนต้นเน่า ใบเหลืองแห้ง ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และsclerotia ของเชื้อรา	อ.เมือง จ.นนทบุรี	1
15	พลับพลึง	*S. rolfsii*	โคนต้นเน่า ใบเหลืองแห้ง ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	จ.อุบลราชธานี	1

สำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล *Macrophomina* สาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ

Survey, Collection and Identification of *Macrophomina* spp. in Economic Crops

พจนา ตระกูลสุขรัตน์ อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พรพิมล อธิปัญญาคม
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชเป็นโรคที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Macrophomina* spp. ในแปลงปลูกพืชเศรษฐกิจบางพื้นที่ในเขตจังหวัดภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน และภาคเหนือในระหว่างเดือนมกราคม – สิงหาคม 2552 ได้ตัวอย่างพืชเป็นโรค 2 ชนิดจำนวน 3 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธี Tissue transplanting technique และเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการทดลองสามารถจำแนกเชื้อสาเหตุโรคได้เป็นเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* โดยเส้นผ่าศูนย์กลาง sclerotia และ pycnidia บนพืชมีขนาดเฉลี่ยใกล้เคียงกัน conidia ถูกสร้างอยู่ใน pycnidia เท่านั้นไม่สร้างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

รหัสการทดลอง 09 02 49 01 02 01 30 51

คำนำ

เชื้อราในสกุล *Macrophomina* spp. 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) นอกจากนี้ยังพบการระบาดในพืชชนิดอื่นๆ 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 2552 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 ($25\pm2^{\circ}C$) 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 2553

พื้นที่ปลูกพืชในภาคต่างๆ ของประเทศ

ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อสาเหตุ

ผลการสำรวจพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำจากจังหวัดในเขตภาคกลางคือ นครสวรรค์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือคือ อุบลราชธานี ได้จำนวนตัวอย่างทั้งหมด 3 ตัวอย่างจากพืชอาศัย 2 ชนิด คือ งาจำนวน 2 ตัวอย่าง และถั่วเหลืองฝักสด 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

นอกจากนี้ผลการสำรวจพื้นที่เดิมที่พบการแพร่ระบาดของโรคอย่างรุนแรงในปี 2551 คือ จังหวัดสุโขทัย เพชรบูรณ์และชัยนาท และที่มีรายงานการระบาดของโรคในจังหวัดอุบลราชธานี พบว่า ไม่พบการแพร่ระบาดของโรคในพื้นที่ดังกล่าวในฤดูปลูกปี 2552 ทั้งนี้เนื่องจากเกิดสภาวะฝนแล้งติดต่อกันเป็นเวลานานในพื้นที่ดังกล่าว สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรค ซึ่งสภาพที่เหมาะสมในการแพร่ระบาดของโรคคือ มีฝนตกและอากาศร้อนอบอ้าว (สมภาค, 2530) ดังนั้นจึงอาจเป็นสาเหตุสำคัญทำให้ไม่มีการแพร่ระบาดของโรคลำต้นเน่าดำในพื้นที่ที่เคยพบการแพร่ระบาดอย่างรุนแรงจากปีก่อนหน้า

2. ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *M. phaseolina* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าผงสีดำขนาดเล็กบนพืชคือ sclerotia และ pycnidia โดย sclerotia เป็นกลุ่มเส้นใยที่มาเกาะ

รวมตัวกันจนเห็นเป็นก้อน มีลักษณะค่อนข้างกลม ผนังหนา สีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลดำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ sclerotia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 3 ไอโซเลทที่เก็บรวบรวมได้คือ

- งา จาก จ.นครสวรรค์ มีขนาด 109.8 (±29.47) x 134.31 (±37.78) ไมครอน

- งา จาก จ.อุบลราชธานี มีขนาด 126.48 (±21.72) x 147.19 (±23.85) ไมครอน

- ถั่วเหลืองฝักสด จาก จ.นครสวรรค์ มีขนาด 122.75(±38.03) x 147.91(±46.47)ไมครอน เป็นขนาดที่ตรงกับ Sutton (1980) รายงานไว้คือ 50-300 ไมครอน sclerotia

pycnidia มีสีน้ำตาลเข้มถึงสีน้ำตาลดำ และมีลักษณะค่อนข้างกลมคล้าย sclerotia ต่างกันตรงที่ pycnidia มีช่องเปิดเรียกว่า ostioles ปรากฏออกมาจากผิวเล็กน้อย และมีขนาดใหญ่กว่า sclerotia ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ pycnidia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 3 ไอโซเลทคือ

- งา จาก จ.นครสวรรค์ มีขนาด 155.97 (±59.63) x 186.14 (±70.81) ไมครอน

- งา จาก จ.อุบลราชธานี มีขนาด 150.28 (±43.64) x 186.22 (±37.30) ไมครอน

- ถั่วเหลืองฝักสด จาก จ.นครสวรรค์ มีขนาด 157.49(±44.85) x 186.02(±89.63)ไมครอน มีขนาดใหญ่กว่าขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 130-230 ไมครอน

โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีดำ เส้นใยใสไม่มีสี มีผนังกั้น พบ sclerotia สีน้ำตาลดำจำนวนมากถูกสร้างอยู่ระหว่างเส้นใย ลักษณะค่อนข้างกลมถึงยาวรี (ellipsoid to oboviod) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของ sclerotia บนอาหารจากเชื้อรา *M. phaseolina* 3 ไอโซเลทคือ

- งา จาก จ.นครสวรรค์ มีขนาด 145.56 (±29.43) x 157.41 (±73.15) ไมครอน

- งา จาก จ.อุบลราชธานี มีขนาด 113.30 (±33.80) x 161.35 (±48.26) ไมครอน

- ถั่วเหลืองฝักสด จาก จ.นครสวรรค์ มีขนาด 104.25(±24.00) x 130.00(±30.97)ไมครอน มีขนาดใกล้เคียงกับ sclerotia ที่เชื้อราสร้างบนพืชและเป็นขนาดที่ใหญ่กว่าที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 60-120 ไมครอน

conidia เป็นเซลเดี่ยว (1–celled conidia) ใสไม่มีสี ถูกสร้างอยู่เฉพาะใน pycnidia ไม่สร้างบนอาหาร ขนาดเฉลี่ยรวมของ conidia จากเชื้อรา *M. phaseolina* 3 ไอโซเลทคือ

- งา จาก จ.นครสวรรค์ มีขนาด 4.60 (±2.34) x 15.71 (±7.62) ไมครอน

- งา จาก จ.อุบลราชธานี มีขนาด 6.12 (±0.73) x 18.15 (±2.39) ไมครอน

- ถั่วเหลืองฝักสด จาก จ.นครสวรรค์ มีขนาด 5.34(±1.45) x 17.94(±3.54)ไมครอน มีขนาดใกล้เคียงกับขนาดที่ Watanabe (2002) รายงานไว้คือ 14-35 x 6-11.5 ไมครอน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการสำรวจและรวมรวมตัวอย่างพืชเป็นโรคลำต้นเน่าดำหรือ Charcoal rot ที่มีเชื้อราในสกุล *Macrophomina* เป็นเชื้อสาเหตุ ในพื้นที่ปลูกพืชทั่วประเทศระหว่างเดือนเดือนมกราคม – สิงหาคม 2552 ได้ตัวอย่างพืชเป็นโรคจำนวน 3 ตัวอย่าง แยกตามชนิดพืชอาศัยได้เป็น 2 ชนิด คือ งา 2 ตัวอย่าง และถั่วเหลืองฝักสด 1 ตัวอย่าง และจำแนกราสาเหตุโรคได้เป็น *Macrophomina phaseolina* โคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสีเทาดำ เส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใสไม่มีสี พบการสร้าง pycnidia และ sclerotia บนเนื้อเยื่อพืช และสร้าง conidia อยู่ภายใน pycnidia บนอาหารพบเฉพาะการสร้าง sclerotia ไม่พบการสร้าง conidia และผลการสำรวจพืชที่ปลูกในพื้นที่เดิมที่เคยพบการระบาดของโรคในฤดูปลูกปี 2551 บางพื้นที่ พบว่าไม่มีการแพร่ระบาดของโรคลำต้นเน่าดำในฤดูปลูกปี2552

เอกสารอ้างอิง

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

สมภาค สิทธิพงศ์. 2530 โรคพืชเส้นใยและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 84 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.

ภาคผนวก 1

Shear's mounting solution

potassium acetate	3	g
glycerin	60	ml
ethanol 95%	90	ml
water	150	ml

ที่มา : Samson, R.A., E.S. Hoekstra, J.C. Frisvad and O. Filtenborg. 2002. Introduction to Food and Airborne Fungi. 6th ed. CBS Ponsen& Looyen, Wageningen, The Netherlands. 389 pp.

สำรวจรวบรวม และจำแนกแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* สาเหตุโรคเน่าดำของพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
เพลินพิศ สงสังข์ วงศ์ บุญสืบสกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

สำรวจการเกิดโรคใบเน่าดำในพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาด ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2552 พบการเกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรีย 2 แบบ คือ ลักษณะอาการแผลไหม้เป็นรูปตัววีจากขอบใบและแผลไหม้เป็นสีน้ำตาลจากกลางใบลามมาที่ขอบใบมีวงสีเหลืองล้อมรอบ ซึ่งเป็นอาการขอบโรคเน่าดำหรือขอบใบทอง และพบการเกิดโรคอาการใหม่คืออาการแผลจุดเล็กขนาด 1-3 มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้มถึงดำ มีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลแห้งลุกลามติดกันพบลักษณะแผลจุดเป็นสะเก็ดนูนดำ ทั้งสองอาการพบระบาดและรุนแรงในช่วงอาการร้อนฝนชุก พืชอาศัยที่พบอาการโรคเน่าดำหรือขอบใบทอง ได้แก่ กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ คะน้า และผักกาดขาว พืชอาศัยที่พบอาการใบจุด คือ คะน้า และกะหล่ำดอก จากการแยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์อาการทั้งสองแบบ ได้แบคทีเรียลักษณะโคโลนีสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม รูปร่างกลมนูนเยิ้ม ผิวมันขอบเรียบบนอาหาร NGA และ YDC ซึ่งเป็นลักษณะของแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* เกิดปฏิกิริยาการตายเฉียบพลันบนใบยาสูบ จากการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมี พบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างเมือก ย่อยเจลาติน ย่อยแป้ง ไอโซเลท P233 (แผลไหม้)ให้ผลออกซิเดสลบ แคตตาเลสบวก (weak positive) และ P254 (แผลจุด) ออกซิเดสและแคตตาเลส บวก ทั้งสองไอโซเลทไม่สร้างกรดจากน้ำตาลกลูโคส ซูโครส และแลคโตส ไม่สร้างก๊าซไดไฮโดรเจนซัลไฟล์จากเฟอรัสซัลเฟต ผลการทดสอบแหล่งคาร์บอน จำแนกเชื้อได้เพียงระดับสปีชีส์ คือ *X. campestris* โดยแบคทีเรีย ไอโซเลท P029 สาเหตุโรคใบจุดคะน้า จำแนกเป็น *X. campestris* pv. *raphani* ด้วยค่า probability 100 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลท P381 สาเหตุโรคเน่าดำ (ใบไหม้รูปตัววี) จำแนกเป็น *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ด้วยค่า probability 96 เปอร์เซ็นต์ similarity 65 เปอร์เซ็นต์ probability 83 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบการเกิดโรคและประเมินความรุนแรง ของแบคทีเรีย จำนวน 22ไอโซเลท บนพืชอาศัย 5 ชนิด ได้แก่ คะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก บร็อคโคลี่ และ ผักกาดขาว พบการเกิดโรค

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-31-51

อาการใบจุดและใบไหม้ บนพืชอาศัยทุกชนิด โดยมีลักษณะอาการและความรุนแรงแตกต่างกันไป ยกเว้นบนผักกาดขาว ที่ไม่พบอาการใบจุด

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 สำรวจการเกิด

โรคอาการใหม่ 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

<u>การแยกเชื้อแบคทีเรีย</u> 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 ปลูกเชื้อบนต้นผักคะน้า กะหล่ำปลี ผักกาดขาว บร็อคโคลี่ ที่เพาะและย้ายกล้าลงกระถางมีใบประมาณ 3-4 ใบ ปลูกเชื้อด้วยการพ่นเซลล์แขวนลอยเชื้อผสมผงคาร์บอแรนดัม 5 กระถางต่อซ้ำ และใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเป็นการทดลองควบคุม จากนั้นเก็บต้นพืชทดลองที่ปลูกเชื้อ ในถุงพลาสติกพ่นน้ำให้ความชื้น 24 ชั่วโมง จากนั้นนำออกจากถุงพลาสติก วางไว้ในบนชั้นในโรงเรือน บันทึกลักษณะอาการ ระยะเวลาการเกิดโรค การพัฒนาอาการโรค จากนั้นนำตัวอย่างที่แสดงอาการโรค นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันการเป็นเชื้อสาเหตุโรค ตามวิธี Koch's postulation

ทดสอบประเมินความรุนแรงการเกิดโรค แบคทีเรีย *X. campestris* จำนวน 22 ไอโซเลท แยกเชื้อจากการสำรวจโรคในแหล่งปลูกต่าง ๆ ปลูกเชื้อบนพืชอาศัย 5 ชนิด ได้แก่ คะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดขาว และ บร็อคโคลี่ ประเมินความรุนแรง โดยบันทึกการเกิดโรคแยกเป็นอาการใบจุด หรือใบไหม้ ให้คะแนนความรุนแรงในการเกิดโรค แต่ละต้น รวม 5 ต้น ดังนี้ 0

ไม่เกิดโรค, 1 เกิดโรค 1-10%, 2 เกิดโรค 11-20%, 3 เกิดโรค 21-30%, 4 เกิดโรค 31-40% และ 5 เกิดโรค 41-50% จากนั้นคำนวณค่าเฉลี่ยความรุนแรงในการเกิดโรค

ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2550 – กันยายน 2552

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช แปลงปลูกพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาดของเกษตรกร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจ รวมรวม และจำแนกอาการโรค

สำรวจการเกิดโรคในแหล่งปลูกผัก จ. กาญจนบุรี จ. ราชบุรี จ. เพชรบุรี จ. เพชรบูรณ์ และ จ.เชียงใหม่ แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค รวม 47 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) สำรวจการเกิดโรคในพื้นที่ อ.เขาค้อ และอ.หล่มสัก จ.เพชรบูรณ์ แปลงปลูกกะหล่ำปลี ผักกาดเขียวปลี บร็อคโคลี่ กะหล่ำดอก และกวางตุ้ง จากการเก็บตัวอย่างแยกเชื้อ ได้เชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างอาการแผลไหม้ของกะหล่ำดอก 1 ไอโซเลท สำรวจโรคในแปลงปลูกกะหล่ำดอก อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี เก็บตัวอย่างอาการแผลจุดและแผลไหม้ แยกเก็บเชื้อแบคทีเรีย 2 ไอโซเลท สำรวจโรคเพิ่มเติม พื้นที่ปลูก อ.เขาค้อ พบอาการโรคเน่าดำ อาการแผลไหม้รูปตัววี จากกะหล่ำปลีและกะหล่ำดอก จำแนกลักษณะการเกิดโรคจากเชื้อแบคทีเรียได้ 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 พบเพียงตัวอย่างเดียวจากผักกาดขาว พืชอาศัยที่พบอาการแผลจุด คือ คะน้า และกะหล่ำดอก ซึ่งจากการรายงานของ Zhao et al. (2000) พบว่าอาการโรคใบจุดแบคทีเรียเกิดมากในผักคะน้า ผักโขม มัสตาร์ด และเทอนิป ซึ่งมีอาการแผลจุดเหลี่ยม มีวงสีเหลืองล้อมรอบ ทั้งนี้มีรายงานการเกิดโรคบนพืชตระกูลกะหล่ำและผักกาดที่เกิด จากเชื้อสกุล *Xanthomonas campestris* pathovars ต่าง ๆ

หลายชนิด ไม่เคยมีรายงานการเกิดโรคในประเทศไทย เช่น *X. campestris* pv. *armoraciae*, *X.campestris* pv. *raphani*

2. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสาเหตุโรค

ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่แยกได้ จากลักษณะอาการแผลไหม้และแผลจุด (ภาพที่ 2 ค) ได้แบคทีเรียที่มีลักษณะเหมือนกัน คือโคโลนีสีเหลือง กลมนูนเยิ้ม ผิวมันขอบเรียบ บนอาหาร NGA และ YDC โดยสีเหลืองของโคโลนีอาจมีความแตกต่างกันในบางไอโซเลท คือสีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม (ภาพที่ 2ก) บนอาหาร SX ลักษณะโคโลนีกลมนูนผิวมันเยิ้มขอบเรียบ สีเขียวเหลืองอมฟ้าม่วง มีขอบใส (clear zone) รอบโคโลนีเนื่องจากแบคทีเรียสามารถย่อยแป้งในอาหาร (ภาพที่ 2 ข) 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 ให้ผลบวกในการใช้แหล่งคาร์บอน 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 และในการจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรค

แบคทีเรียที่แยกจากคะน้าอาการใบไหม้รูปตัววี ไอโซเลท P381 และสำหรับแบคทีเรียที่แยกจากคะน้าอาการใบจุด ไอโซเลท P029 ผลทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอน (Biolog test) พบแบคทีเรียทั้งสองไอโซเลท เป็น non-enteric oxidase negative ไอโซเลท P381 จำแนกเป็น *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ด้วยค่า probability 96 เปอร์เซ็นต์ similarity 65 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลท P029 จำแนกเป็น *X. campestris* pv. *raphani* ด้วยค่า probability 100 เปอร์เซ็นต์ similarity 83 เปอร์เซ็นต์ ผลการจำแนกดังกล่าวจะต้องตรวจสอบด้วยการวิเคราะห์ลำดับเบส และต้องเปรียบเทียบกับไอโซเลทอื่น ๆ อีกเพื่อยืนยันผลต่อไป

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*

-ตรวจผลการทดสอบประเมินความรุนแรงสายพันธุ์เชื้อจำนวน 18 ไอโซเลท บนต้นคะน้า พบการเกิดโรคที่มีลักษณะอาการแผลจุด และอาการแผลไหม้ อาการไหม้จากขอบใบรูปตัววี ประเมินความรุนแรงของเชื้อแต่ละไอโซเลท

-ประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* ที่แยกได้จากพอาการใบไหม้ (V-shape) และอาการใบจุด จำนวน 22 ไอโซเลท บนพืชอาศัย 5 ชนิด ได้แก่ คะน้า กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก ผักกาดขาว และบร็อคโคลี่ พบอาการโรคทั้งแผลไหม้รูปตัววี และอาการใบจุด โดยมีความรุนแรงในการเกิดโรคแตกต่างกันไป (ตารางที่ 5) *X. campestris* ไอโซเลทที่แยกจากอาการใบไหม้ สามารถก่อให้เกิดอาการใบจุดได้ เช่นเดียวกับแบคทีเรียที่แยกจากอาการใบจุดสามารถก่อให้เกิดอาการใบไหม้ได้ โดยลักษณะอาการและความรุนแรงแตกต่างกันไป ทุกไอโซเลทที่ปลูกเชื้อสามารถก่อให้เกิดโรคบนคะน้าได้ ซึ่งจัดเป็น พืชอาศัยที่อ่อนแอต่อโรคแบคทีเรีย โดยไอโซเลท PA063, PA231 และ PA081 ไม่ทำให้เกิดอาการใบจุดบนคะน้า ไอโซเลท PA218 เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการไหม้รูปตัววีรุนแรงที่สุด บนพืชอาศัยกะหล่ำปลี กะหล่ำดอก และบร็อคโคลี่ พบการเกิดโรคทั้งใบจุดและใบไหม้ ยกเว้นบนผักกาดขาวพบเพียงอาการใบไหม้ ไม่พบอาการใบจุด

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

3. ผลการปลูกเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* พบว่าสามารถก่อให้เกิดอาการใบจุดและใบไหม้ โดยมีความผันแปรของอาการและความรุนแรง ไปตามชนิดของไอโซเลทเชื้อ และพืชอาศัย

4. การจำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรค *X. campestris* ไอโซเลทตัวแทนเชื้อที่แยกจากใบจุด และใบไหม้ จัดเป็น non-enteric oxidase negative ผลทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอน (Biolog test) ไอโซเลท P381 จำแนกเป็น *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ด้วยค่า probability 96 เปอร์เซ็นต์ similarity 65 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลท P029 จำแนกเป็น *X. campestris* pv. *raphani* ด้วยค่า probability 100 เปอร์เซ็นต์ similarity 83 เปอร์เซ็นต์

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.

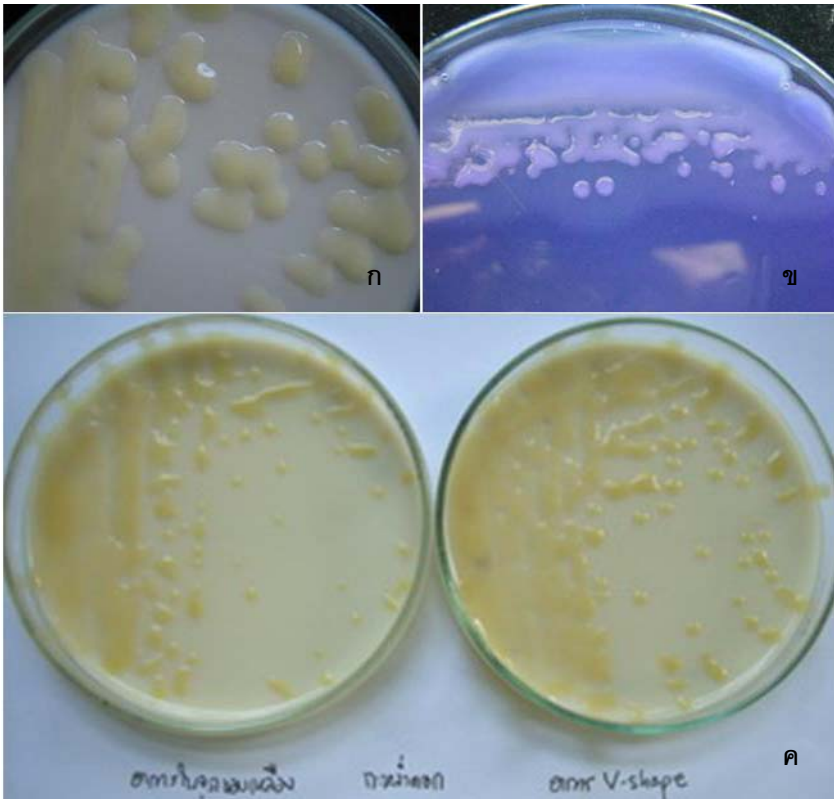
Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd edition. APS Press St. Paul, Minnesota. 373 p.

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 พืชอาศัย 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 029	คะน้า	ใบจุด	อ. บางบัวทอง จ. นนทบุรี
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 211	กะหล่ำดอก	แผลไหม้ตัววี	อ. จอมบึง จ. ราชบุรี
P 218	กะหล่ำดอก	แผลไหม้ตัววี	อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี
PA219	กะหล่ำดอก	ใบจุด	อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี
P 225	กะหล่ำปลี	แผลไหม้ตัววี	อ. อุ้มผาง จ. ตาก
P 226	กะหล่ำปลี	แผลไหม้ตัววี	อ. อุ้มผาง จ. ตาก
P 230	ผักกาดขาว	แผลไหม้	อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา
PA231	กะหล่ำประดับ	ใบไหม้	ดอยมูเซอ จ.ตาก
P 233	คะน้า	แผลไหม้ตัววี	อ. เมือง จ. กาญจนบุรี
P 237	คะน้า	แผลไหม้ตัววี	อ. ท่ายาง จ. เพชรบุรี
P 238	คะน้า	ใบจุดดำ	อ. ไทรโยค จ. กาญจนบุรี
P 254	คะน้า	ใบจุดเล็กดำ	อ. ท่าม่วง จ .กาญจนบุรี
P 273	กะหล่ำดอก	แผลไหม้ตัววี	อ. ท่ายาง จ. เพชรบุรี
PA 343	กะหล่ำดอก	ใบไหม้	อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
PA350	กะหล่ำดอก	ใบไหม้	อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี
PA368	กะหล่ำปลี	ใบไหม้	อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์
PA372	คะน้า	ใบจุด	อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี

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 การใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค ไอโซเลทจากคะน้า อาการเน่าดำ รูปตัววี P233, P381 และอาการใบจุด P254, P029 โดย Biolog® system

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**			
	P 233 (V)	P 254 (S)	P381 (V)	P029 (S)
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	-	+	-	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์แบคทีเรีย			
	P 233 (V)	P 254 (S)	P381 (V)	P029 (S)
D-sorbitol	-	-	-	-
Sucrose	+	+	+	+
D-trehalose	+	+	+	+
Turanose	-	-	-	b
Xylitol	-	-	-	-
Pyruvic-acid-methyl ester	+	+	+	+
Succinic acid monoethyl ester	+	+	+	+
Acetic acid	-	-	-	b
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	-	-	-	b
∝-Keto glutaric acid	+	+	+	+
∝-Keto valeric acid	-	-	-	-
D,L-lactic acid	-	-	-	b
Malonic acid	-	-	-	+
Propionic acid	-	-	-	-
Quinic acid	-	-	-	-
D-saccharic acid	+	+	-	+
Sebacic acid	-	-	-	-
Succinic acid	+	+	+	+

ตารางที่ 3 **(ต่อ)**

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**			
	P 233 (V)	P 254 (S)	P381 (V)	P029 (S)
Bromosuccinic acid	+	+	-	+
Succinamic acid	-	-	-	+
Glucuronamide	-	-	-	-
L-alanimamide	-	-	-	+
D-alanine	-	-	-	b
L-alanine	-	-	-	b
L-alanyl glycine	+	-	-	b
L-asparagine	-	+	-	-
L-aspartic acid	-	+	-	+
L-glutamic acid	-	+	-	+
Glycyl-L-aspartic acid	-	-	-	b
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	-	-	-	b
D-L-carnitine	-	-	-	-
ɣ-amino-butyric acid	-	-	-	-
Urocanic acid	-	-	-	-
Inosine	-	-	-	b
Uridine	-	-	-	b
Thymidine	-	-	-	-
Phenyethyl-amine	-	-	-	-
Putrescine	-	-	-	-
2-aminocethanol	-	-	-	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**			
	P 233 (V)	P 254 (S)	P381 (V)	P029 (S)
2-3-butanediol	-	-	-	-
Glycerol	-	+	-	b
D-L-∝-glycerol-phosphate	-	+	-	b
∝-D-glucose-1-phosphate	-	-	-	+
D-glucose-6-phosphate	-	+	-	b

หมายเหตุ: +, สามารถใช้คาร์บอนได้ ; -, ไม่สามารถใช้คาร์บอนได้; b, borderline

P233 (kale-V), *X. campestris* unidentified pathovar

P254 (kale-S), *X. campestris* unidentified pathovar

P381 (kale-V), *X. campestris* pv. *dieffenbachiae* Prob. 96% sim. 0.65 Dist 4.98

P029 (kale-S), *X. campestris* pv. *raphini* Prob. 100% sim. 0.83 Dist 2.45

การสำรวจ และรวบรวมเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้ม

Surveying and identification of Viroid in Citrus group

นภสร ปุญญพิทักษ์ เยาวภา ตันติวานิช บูรณี พั่ววงษ์แพทย์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การสำรวจและรวบรวมเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้ม โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชตระกูลส้ม ได้แก่ ส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ ส้มเช้ง ส้มจุก ส้มมือ มะนาว มะนาวสี มะนาวตาฮิติ และ มะกรูด ที่แสดงอาการ ใบบิดเบี้ยว ต้นโทรม ต้นแคระแกรน จากสวนเกษตรกรตามจังหวัดต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ จำนวน 93 ตัวอย่างแล้วนำมาตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค RT-PCR โดยการใช้ไพร์เมอร์ จำนวน 8 คู่ ผลปรากฏว่าตรวจพบเชื้อไวรอยด์ จำนวน 20 ตัวอย่าง จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างพืชตระกูลส้มที่ตรวจพบเชื้อไวรอยด์ มาโคลนนิ่ง และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และหาความสัมพันธ์ของเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้มในปีถัดไป

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 เข้าทำลายและทำการออกแบบไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อไวรอยด์ที่เข้าทำลายพืชตระกูลส้ม

2. สำรวจและเก็บตัวอย่างส้มโชกุน ส้มโอ มะนาว ส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ ส้มเช้ง ส้มจุก ส้มมือ มะนาว มะนาวสี มะนาวตาฮิติ และ มะกรูด จากสวนเกษตรกรในจังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ตาก แพร่ ชัยนาท กาญจนบุรี เพชรบุรี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ตราด จันทบุรี เลย สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และ กระบี่ จำนวน 93 ตัวอย่าง

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

4. ตรวจสอบหาเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) โดยใช้ไพร์เมอร์ จำนวน 8 คู่ พร้อมทั้งหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์และเพิ่มปริมาณอาร์เอ็นเอ

5. ผลผลิตจากปฏิกิริยา RT-PCR ถูกนำมาวิเคราะห์ โดยใช้ 2% agarose gel ใน 0.5X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ 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 ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ตาก แพร่ ชัยนาท กาญจนบุรี เพชรบุรี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ตราด จันทบุรี เลย สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และ กระบี่ จำนวน 93 ตัวอย่าง แล้วนำมาตรวจสอบหาเชื้อไวรอยด์ด้วยเทคนิค RT-PCR ด้วยไพร์เมอร์ จำนวน 8 คู่ ผลปรากฏว่าตรวจพบเชื้อไวรอยด์

จำนวน 20ตัวอย่าง จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างพืชตระกูลส้มที่ตรวจพบเชื้อไวรอยด์ มาโคลนนิ่งด้วย pGEM-T easy vector เพื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้มในปีถัดไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจ และรวบรวมเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้ม โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชตระกูลส้มที่แสดงอาการคล้ายโรคที่เกิดจากเชื้อไวรอยด์ จากจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ สามารถเก็บตัวอย่างได้ จำนวน 93 ตัวอย่าง และเมื่อนำมาตรวจสอบหาเชื้อไวรอยด์ด้วยไพร์เมอร์ จำนวน 8 คู่ ผลปรากฏว่ายังตรวจพบเชื้อไวรอยด์ จำนวน 20 ตัวอย่าง จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างพืชตระกูลส้มที่ตรวจพบเชื้อไวรอยด์ มาโคลนนิ่งด้วย pGEM-T easy vector เพื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อไวรอยด์ของพืชตระกูลส้มในปีถัดไป

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

ตารางที่ 4 การประเมินการเกิดโรคของเชื้อ *Xanthomonas* sp. บนต้นคะน้า (ปี 2551)

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

ตารางที่ 5 ผลการประเมินความรุนแรงการเกิดโรคจากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* บนพืชคะน้า กะหล่ำปลี ผักกาดขาว บร็อคโคลี่ และกะหล่ำดอก(ปี 2552)

ไอโซเลท	ลักษณะอาการและความรุนแรงในการเกิดโรคบนพืชอาศัย									
	คะน้า		กะหล่ำปลี		ผักกาดขาว		บล็อกโคลี		กะหล่ำดอก	
	V-shape	Spot	V-shape	Spot	V-shape	Spot	V-shape	Spot	V-shape	Spot
PA022	0.6	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PA029	0.6	0.2	1	-	2	-	3.3	-	1.67	-
PA046	0.5	0.2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PA063	2	-	-	-	0.67	-	1	-	0.33	-
PA081	0.2	-	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PA100	1.6	0.2	-	0.67	1	-	0.67	0.3	1	0.33
PA127	1.2	0.5	0.67	0.33	0.33	-	5	-	0.33	-
PA211	0.8	0.2	1.67	-	2	-	4	-	2	-
PA218	2.3	0.2	1.33	-	0.67	-	2.33	-	2	-
PA219	1	0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PA225	1.3	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PA226	0.5	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PA230	0.5	0.4	-	1	1.67	-	2.33	-	2	-
PA231	0.7	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

1535

ตารางที่ 5(ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะอาการและความรุนแรงในการเกิดโรคบนพืชอาศัย									
	คะน้า		กะหล่ำปลี		ผักกาดขาว		บล็อกโคลี		กะหล่ำดอก	
	V-shape	Spot	V-shape	Spot	V-shape	Spot	V-shape	Spot	V-shape	Spot
PA233	0.9	0.7	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PA238	0.4	0.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PA254	0.6	0.6	1.67	-	5	-	2.33	-	1.33	-
PA273	0.5	0.2	0.33	0.67	0.33	-	1	-	0.67	0.33
PA 343	ND	ND	1	-	0.67	-	1	-	1.67	-
PA350	ND	ND	2	0.67	2	-	5	-	4.33	-
PA368	ND	ND	0.67	0.33	1	-	1	-	1.33	-
PA372	ND	ND	1.67	-	1.33	-	4.33	-	2	-

หมายเหตุ: ND= not determine

1536

การสำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งในประเทศไทยด้วยเทคนิคทางอนูชีววิทยา

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 ส้มโชกุน ส้มโอ และ มะนาว ต้นส้มที่ได้รับเชื้อแสดงอาการใบเล็กเหลือง ชี้ตั้ง คล้ายกับอาการขาดธาตุอาหาร ซึ่งการวินิจฉัยโรคด้วยสายตาไม่สามารถยืนยันการเป็นโรคได้ แต่เมื่อนำเทคนิคทางด้านอณูชีววิทยาโดยเฉพาะ PCR นอกจากจะใช้ในการตรวจสอบโรคแล้วยังสามารถใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อโรคกรีนนิ่งได้อีกด้วย การสำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งจากแหล่งปลูกส้มตามภาคต่างๆในประเทศไทย โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ ส้มเช้ง ส้มจุก ส้มมือ มะนาว มะนาวสี มะนาวตาฮิติ และ มะกรูด ที่แสดงอาการโรคกรีนนิ่ง จำนวน 98 ตัวอย่าง นำมาตรวจสอบหาเชื้อโรคกรีนนิ่งด้วยเทคนิค PCR ผลปรากฏว่าตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่งจากตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ และมะนาว จำนวน 62 ตัวอย่าง จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ และตระกูลมะนาว ที่ตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่ง เพื่อเป็นตัวแทนของพืชตระกูลส้มมาทำการโคลนนิ่ง และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และหาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้มในปีถัดไป

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. สำรวจและเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ ส้มเช้ง ส้มจุก ส้มมือ มะนาว มะนาวสี มะนาวตาฮิติ และ มะกรูดที่แสดงอาการโรคกรีนนิ่งจากจังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ตาก แพร่ ชัยนาท กาญจนบุรี เพชรบุรี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ตราด จันทบุรี เลย สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และ กระบี่ จำนวน 98 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 30 ไมโครลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C

4. ตรวจหาเชื้อโรคกรีนนิ่งและเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR และหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจสอบและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ผลผลิตจากปฏิกิริยา PCR ถูกนำมาวิเคราะห์ โดยใช้ 1.5 % agarose gel ใน 0.5X TAE buffer ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ 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

จากการสำรวจและสุ่มเก็บตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ ส้มเช้ง ส้มจุก ส้มมือ มะนาว มะนาวสี มะนาวตาฮิติ และ มะกรูด ที่แสดงอาการของโรคกรีนนิ่ง จากจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง ตาก แพร่ ชัยนาท กาญจนบุรี เพชรบุรี สมุทรสงคราม ปราจีนบุรี ตราด จันทบุรี เลย สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และ กระบี่ จำนวน 98 ตัวอย่าง แล้วนำมาตรวจสอบหาเชื้อโรคกรีนนิ่งด้วยเทคนิค PCR ผลปรากฏว่า ตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่ง จากตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ ส้มเช้ง และตระกูลมะนาว จำนวน 62 ตัวอย่าง คัดเลือกตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ และตระกูลมะนาว ที่ตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่ง นำมาโคลนนิ่ง ด้วย pGEM-T easy vector เพื่อนำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้มในปีถัดไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจและจำแนกเชื้อโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้ม โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชตระกูลส้มที่แสดงอาการโรคกรีนนิ่ง จากจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ จำนวน 98 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่ง จำนวน 62 ตัวอย่าง จากนั้นคัดเลือกตัวอย่างส้มเขียวหวาน ส้มโชกุน ส้มโอ และตระกูลมะนาว ที่ตรวจพบเชื้อโรคกรีนนิ่งเพื่อเป็นตัวแทนของพืชตระกูลส้มมาทำการโคลนนิ่ง และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และหาความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกรีนนิ่งของพืชตระกูลส้มในปีถัดไป

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 ทำการออกแบบโครงสร้างฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection ระหว่างตุลาคม 2550-กันยายน 2551 สามารถสร้างโครงสร้างเบื้องต้นของฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection ที่มีข้อมูลประมาณ 30 ไอโซเลท ที่ป้อนไว้เพื่อทดสอบความสัมพันธ์ต่างๆ เช่น การแสดงผล การป้อนข้อมูล ระหว่างตุลาคม 2551-กันยายน 2552 ทำการปรับปรุงแก้ไขการเชื่อมโยงระหว่างตาราง ทำการป้อนข้อมูลเพิ่มขึ้น รวมข้อมูลที่มีอยู่ 180 ไอโซเลท ที่มีข้อมูลที่จดบันทึกไว้ เช่น ชื่อเชื้อ ชื่อพืช วิธีการเก็บรักษาเชื้อนั้นๆ เป็นต้น

รหัสการทดลอง 09024901

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 ซึ่งเผยแพร่แล้ว

ทางอินเทอร์เน็ต ให้สามารถบริการสืบค้นฐานข้อมูลต่างระบบได้จากจุดเดียว โดยเริ่มบริการโครงการนำร่องสำหรับการสืบค้นฐานข้อมูลงานวิจัยของประเทศไทยทางอินเทอร์เน็ต ตั้งแต่กันยายน 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
1. ป้อนข้อมูลหลังปรับปรุงโครงสร้าง
2. ทดสอบการใช้งาน
3. ปรับปรุงแก้ไขฐานข้อมูล
4. 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 sort ข้อมูล เพื่อให้สามารถป้อนข้อมูลได้ง่ายและไม่สับสนในการเพิ่มเติมข้อมูลและการแก้ไขข้อมูลให้เป็นปัจจุบัน โดยไม่ต้องคำนึงถึงลำดับ แต่เมื่อรายงานผลการคัดเลือกข้อมูลเวลาสืบค้นจะทำการเรียงลำดับให้ ทำการป้อนข้อมูลในตารางชื่อพืช ส่วนของชื่อพืชอาศัยของเชื้อราที่เก็บรักษา พบว่ามีปัญหาในส่วนของชื่อที่อาจซ้ำกัน ซึ่งทำการแก้ไขการออกแบบให้สามารถซ้ำกันได้ในชื่อสามัญภาษาอังกฤษ แต่ภาษาไทยไม่ให้ซ้ำกัน เพื่อสะดวกต่อการป้อนข้อมูล การสืบค้นข้อมูล ต่อไปจะได้ทดลองป้อนข้อมูลในส่วนของเชื้อราที่เก็บรักษาใน Culture Collection ทำการปรับปรุงแก้ไขในส่วนของตารางเก็บข้อมูลพืชอาศัย ปรับปรุงแก้ไขตารางการเก็บรักษาเชื้อรา ให้สามารถเข้าใจได้ง่ายขึ้นในส่วนของตัวย่อวิธีการเก็บรักษา และปรับปรุงฟอร์มการสืบค้นข้อมูลเพิ่มเติมส่วนสืบค้นเชื้อรา ได้ทดลองป้อนข้อมูลในส่วนต่างๆที่แก้ไข ทำการทดสอบป้อนข้อมูลต่างๆของเชื้อ จำนวน 30 ไอโซเลท ได้แก่ข้อมูลเชื้อ ข้อมูลการเก็บรักษาในวิธีต่างๆ สถานที่ที่ได้เชื้อนั้นๆมา เป็นต้น และทำการทดสอบการสืบค้นข้อมูล ได้ผลดีในระดับหนึ่ง พบว่าเมื่อป้อนข้อมูลเพิ่มขึ้นจะยังมีปัญหาความเชื่อมโยงระหว่างตารางเล็กน้อย ได้แก้ไขการเชื่อมโยงตารางพืช ตารางเชื้อ และตาราง main ทำการป้อนข้อมูลเพิ่มขึ้นเพื่อให้เกิดความหลากหลายของข้อมูล ทำการเพิ่มข้อมูลอีก 150 ไอโซเลท

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้โครงสร้างฐานข้อมูลเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน Culture Collection ที่มีข้อมูลประมาณ 180 ไอโซเลท ตามข้อมูลที่จดบันทึกไว้ เช่น ชื่อเชื้อ ชื่อพืช วิธีการเก็บรักษาเชื้อนั้นๆ เป็นต้น

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.

เทคนิคการเก็บรักษารา *Colletotrichum* spp.

Preservation Technique for *Colletotrichum* spp.

ธารทิพย ภาสบุตร อภิรัชต์ สมฤทธิ์
ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี พรพิมล อธิปัญญาคม
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษารา *Colletotrichum* spp. ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 โดยทำการเก็บรักษารา *Colletotrichum gloeosporioides* และรา *C. capsici* รวมทั้งหมด 10 ไอโซเลท ด้วยวิธีการต่างๆ 4 วิธีคือ การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศและการเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน นำราที่เก็บรักษาไว้มาตรวจความมีชีวิต การปนเปื้อน การสร้างโคนิเดีย และความสามารถของราในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่า การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง และการเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นวิธีการเก็บรักษาที่ดี รา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* สามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้ สร้างโคนิเดียได้ดี และพบการปนเปื้อนน้อย จากการทดสอบความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรคพบว่ารา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกไอโซเลทที่นำมาปลูกเชื้อสามารถทำให้พืชเป็นโรคได้

รหัสการทดลอง 09-02-49-02-01-07-02-51

คำนำ

การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาราสาเหตุโรคพืชหรือราที่มีประโยชน์ทางการเกษตร มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการเก็บรักษาให้รามีชีวิตรอดอยู่ได้เป็นระยะเวลายาวนาน สามารถนำกลับมาใช้ได้ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษาวิจัย โดยยังคงความบริสุทธิ์ปราศจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น วิธีการเก็บรักษาจุลินทรีย์มีหลายวิธี แต่มีหลักการสำคัญ คือ การหยุดหรือลดการเจริญเติบโตของเชื้อโดยควบคุมปัจจัยที่จำเป็นในการเจริญ เช่น การจำกัด อากาศ อุณหภูมิ สารอาหารและน้ำ การเก็บรักษาจุลินทรีย์แต่ละวิธีต้องทำให้เชื้อยังมีชีวิตรอดอยู่มากที่สุด คงลักษณะเดิมมากที่สุด และไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม การเก็บรักษารามีหลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของรา ที่นิยมปฏิบัติกันมีดังนี้ การเก็บโดยเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ การเก็บภายใต้น้ำมันแร่หรือน้ำมันพาราฟิน การเก็บในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บในสภาพแห้งเช่น เก็บในดิน เก็บในซิลิกาเจล เก็บบนกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บในสภาพเย็นยิ่งยวด (cryopreservation) เช่น เก็บในกลีเซอรอลที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส หรือที่อุณหภูมิ -156 องศาเซลเซียส หรือเก็บในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส การเก็บในสภาพแห้งสุญญากาศ (freeze-dry) (Smith and Onion, 1994)

ราสกุล *Colletotrichum* จัดเป็นราที่มีความสำคัญเพราะสามารถก่อให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิด สามารถเข้าทำลายได้เกือบทุกส่วนของพืช ตั้งแต่ต้นกล้า ใบ ก้านใบ ลำต้น ดอก ผล และมีพืชอาศัยกว้าง(วิรัช และคณะ, 2528) ราสกุล *Colletotrichum* มีหลายชนิด (species) เช่น *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุโรคแอนแทรกโนส (anthracnose) ของกุยช่าย พริกหอมหัวใหญ่หอมแดง มะม่วง องุ่น มะละกอ *C. capsici* เป็นสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของ พริกฝ้าย มะเขือยาว ปอกระเจา มะเขือเทศ *C. acutatum* เป็นสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของสตรอเบอรี่ *C. circinans* เป็นสาเหตุโรคแอนแทรกโนสหรือโรคใบเน่าของหอมหัวใหญ่ หอมแดง หอมแบ่ง กุยช่าย และ *C. falcatum* เป็นสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของข้าวฟ่าง เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาวิธีการเก็บรักษารา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคพืชดังกล่าวจึงเป็นสิ่งจำเป็น ทั้งนี้เพื่อให้ทราบวิธีการเก็บรักษาที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสม สามารถเก็บรักษาให้มีชีวิตรอดอยู่ได้เป็นระยะเวลายาวนาน สามารถนำกลับมาใช้ได้โดยยังคงความบริสุทธิ์ปราศจากการปนเปื้อน เพื่อการนำไปศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของรา *Colletotrichum* spp. ศึกษาคุณสมบัติต่างๆ เพิ่มเติม หรือศึกษาความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรงของโรคและการทดสอบการป้องกันกำจัด นอกจากนี้การศึกษาเทคนิคการเก็บรักษาราในครั้งนี้ยังทำให้ได้สายพันธุ์รา *Colletotrichum* spp. ไว้ในหน่วยเก็บรักษาจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช เพื่อประโยชน์ในด้านเป็นแหล่งข้อมูลและ

แหล่งให้บริการสายพันธุ์ราแก่ นิสิต นักศึกษาจากสถาบันต่างๆ หน่วยวิจัยของส่วนราชการอื่นๆ รวมทั้งบริษัทเอกชน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ราสกุล *Colletotrichum* spp.
2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา WA (Water Agar) PDA (Potato Dextrose Agar) PCA (Potato Carrot Agar) PDB (Potato Dextrose Broth)
3. ซิลิกาเจล (silica gel เกรด 40 ขนาด 6-12 mesh)
4. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส
5. ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส
6. เครื่อง Freeze Dryer
7. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง กล้องถ่ายภาพและอุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1. **การเลี้ยงราให้บริสุทธิ์โดยการทำสปอร์เดี่ยว** (Single spore technique)

เขี่ยกลุ่มโคนิเดียของราลงในหลอดแก้วที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้โคนิเดียกระจายตัวในน้ำ ตรวจสอบความหนาแน่นของสปอร์ที่เหมาะสมโดยใช้ห่วงลวด (loop) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะโคนิเดียแขวนลอยมาวางบนแผ่นแก้วสไลด์ ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (X100) ให้มีจำนวนโคนิเดียประมาณ 10 โคนิเดียต่อพื้นที่การมองเห็น (10 โคนิเดียต่อ low-power (X100) microscope field) หลังจากนั้นใช้ห่วงลวดที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในโคนิเดียแขวนลอยที่ทำไว้ นำมาลากเส้นลงบนผิวหน้าอาหาร WA บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ตรวจการงอกของโคนิเดียภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ โดยตรวจดูจากด้านใต้จานอาหาร เมื่อพบว่าโคนิเดียมีเส้นใยงอกออกมาและอยู่ห่างจากโคนิเดียอื่นๆ จึงใช้ปากกาเขียนแก้วทำจุดเครื่องหมายไว้ที่จานอาหาร จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเล็กที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเจาะชิ้นวุ้นตรงตำแหน่งที่ทำเครื่องหมายไว้ ใช้เข็มเขี่ยที่ฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยย้ายชิ้นวุ้นไปเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมงสลับกับปิดแสง 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำ

ราที่ได้ไปศึกษาลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อและลักษณะทางสัณฐานวิทยา เพื่อจำแนกชนิด (species) ตามเอกสารและวิธีการของ Sutton (1980) และ วิรัช (2528)

2. **การเก็บรักษารา *Colletotrichum* spp.**

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ

เตรียมกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ โดยตัดกระดาษกรอง Whatman เบอร์1 ให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 2 x 0.5 เซ็นติเมตร ใส่กระดาษที่ตัดแล้วลงในจานแก้ว (Petri dish) หุ้มด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน ที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเตรียม micro tubes โดยนำ micro tubes ใส่ในบิกเกอร์ที่รองด้วยกระดาษทิชชู ปิดด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ ห่อด้วยถุงพลาสติกอีกชั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ เป็นเวลา 20 นาที

เลี้ยงรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* ที่ต้องการเก็บรักษาบนอาหาร PDA เมื่อราอายุ 7 วัน ใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยชิ้นวุ้นที่มีราเจริญอยู่ไปวางตรงกลางจานอาหาร PCA จากนั้นใช้ปากคีบ (forcep) ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วชิ้นคีบกระดาษกรองวางรอบๆชิ้นวุ้นที่มีเชื้อเจริญอยู่ ประมาณ 8 -10 ชิ้น นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไปไว้ใต้แสงหลอด NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ± 2องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วันหรือจนพบว่า ราสร้างเส้นใยคลุมชิ้นกระดาษกรองและมีการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนกระดาษกรอง ใช้ปากคีบที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วลอกเฉพาะชิ้นกระดาษกรองที่มีราปกคลุมไปวางในจานแก้วเปล่าที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ปิดฝาจานแก้ว นำไปวางไว้ในโถดูดความชื้น (desiccators) ปล่อยให้กระดาษกรองแห้งเป็นเวลาประมาณ 2 วัน เมื่อกระดาษกรองแห้งสนิทแล้วใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วคีบกระดาษกรองใส่ลงในหลอด micro tubes นำไปเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบการมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียหลังทำการเก็บรักษา ทุก 2 4 6 และ8 เดือน โดยใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วคีบกระดาษกรองย้ายจากหลอด micro tubes ที่เก็บรักษาไว้ไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ

การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

เตรียมกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ ใส่ขวดแก้วขวดละ 4 มิลลิลิตร ปิดฝา แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้งที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยปลายเส้นใยของรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* บริสุทธิ์อายุ 7 วัน ที่เจริญอยู่บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ วางลงในจานอาหาร PCA จากนั้น

นำไปไว้ใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หรือจนพบว่าราสร้างกลุ่มโคนิเดีย นำราที่เลี้ยงไว้มาเจาะเป็นชิ้นด้วย cork borer No.2 ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นย้ายชิ้นวุ้นที่เจาะแล้วใส่ลงใน cryotube ใส่กลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมไว้ลงใน cryotube จนท่วมชิ้นวุ้น นำไปเก็บรักษาไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบการมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียหลังทำการเก็บรักษา ทุก 2 4 6 และ8 เดือน โดยนำหลอด cryotube ที่เก็บรักษาไว้ออกจากตู้แช่แข็ง ใช้ปากคีบจับหลอดแช่ในน้ำอุ่น 37± 2 องศาเซลเซียส แกว่งให้น้ำแข็งในหลอดละลายอย่างรวดเร็ว ใช้สำลีจุ่มแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เช็ดหลอด เปิดฝาหลอด นำชิ้นวุ้นออกมาวางบนกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำชิ้นวุ้นไปวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ ตรวจดูการเจริญของรา

การเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศหรือการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying)

เตรียมหลอด (ampoule) สำหรับเก็บเชื้อ โดยนำหลอดใหม่มาแช่กรด HCL 2 เปอร์เซ็นต์ทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วล้างด้วยน้ำ 3 ครั้ง จากนั้นแช่หลอดด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ 1 คืน นำหลอดขึ้นมาผึ่งให้แห้ง แล้วอบด้วย hot air oven เตรียมแผ่นป้ายกระดาษเขียนข้อมูลของราใส่ลงในหลอด ปิดจุกสำลี แล้วห่อด้วยกระดาษฟอยล์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

การเตรียม Suspending medium

Suspending medium หมายถึง ของเหลวที่ใช้ผสมกับเซลล์หรือโคนิเดียของจุลินทรีย์ก่อนนำไปเข้ากระบวนการทำให้แห้งในสภาพสุญญากาศ มีคุณสมบัติที่ช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์หรือโคนิเดียแตกสลาย และของเหลวนั้นสามารถละลายกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ง่าย ในการศึกษานี้ใช้ skim milk 10 เปอร์เซ็นต์ ทำโดย ชั่ง skim milk 10 กรัม ละลายในน้ำอุ่น 90 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้ละลาย กรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วนำ skim milk ใส่ในขวดแก้วฝาเกลียวขวดละ 5 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็นทันที วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีซ้ำอีกครั้ง

ขั้นตอนการเก็บรักษา เลี้ยงราในหลอดอาหารวุ้นเอียง PCA ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์และแสง NUV ที่ตั้งเวลาเปิดแสง 12 ชั่วโมง สลับกับมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หรือจนพบว่าราสร้างกลุ่มโคนิเดีย นำ skim milk 10 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมไว้มาเทผสมกับราที่เลี้ยงไว้ในหลอดอาหารวุ้นเอียง ทำให้โคนิเดียหลุดกระจายออกมาอยู่ใน skim milk อย่างสม่ำเสมอ ย้ายสารแขวนลอยโคนิเดียที่ได้ใส่ในหลอด ampoule ที่เตรียมไว้ หลอดละ 0.2 มิลลิลิตร โดยไม่ให้มีการเปื้อนที่ข้างหลอดและไม่ให้มีฟองอากาศ นำหลอด ampoule ไปเข้าเครื่อง Freeze

dryer ในระยะ primary dry เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำหลอด ampoule มาอุดจุกสำลี จากนั้นทำการคอดหลอด ampoule (constriction) ให้รอยคอดห่างจากจุกสำลีประมาณ 1 เซ็นติเมตร แล้วนำเข้าเครื่อง Freeze dryer ในระยะ secondary dry เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาใช้ไฟลนปิดหลอด ampoule บริเวณรอยคอด ขณะอยู่ในสภาพสุญญากาศ นำ ampoule เชื้อที่ได้มาทดสอบความเป็นสุญญากาศภายในหลอดโดยใช้ High Frequency Spark Tester จากนั้นจึงนำหลอดที่เป็นสุญญากาศไปเก็บรักษาไว้ในตู้มืดที่ควบคุมอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบการมีชีวิตหลังทำการเก็บรักษา 2 4 6 และ8 เดือน โดยใช้ตะไบเลื่อยกรีดรอบหลอด ampoule ที่เก็บรักษาไว้ให้เป็นรอย โดยกรีดบริเวณกึ่งกลางสำลี ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เช็ดตรงรอยกรีด ใช้ผ้าขาวบางหุ้มสำลีที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วหุ้มตรงรอยกรีดแล้วหักปลายหลอด เติมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว PDB ลงในหลอด หลอดละประมาณ 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 3 นาที ใช้ปิเปตดูดเชื้อขึ้นลงให้อาหารและเชื้อผสมกันดี ย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล

นำเม็ดซิลิกาเจลใส่ขวดฝาเกลียวประมาณ 1/3 ของขวด นำเข้าตู้อบความร้อน (oven) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง

ละลาย skim milk 7 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วฝาเกลียวขวดละ 5 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำเย็นทันที วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ซ้ำอีกครั้ง ใช้ปิเปตนึ่งฆ่าเชื้อดูดสารละลายนม 3-5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหารเอียงที่เลี้ยงรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* ใช้เข็มเขี่ยทำให้โคนิเดียหลุดกระจายออกมาอยู่ใน skim milk อย่างสม่ำเสมอ เอียงและเขย่าขวดให้เม็ดซิลิกาเจลกระจาย จากนั้นดูดสารแขวนลอยโคนิเดีย 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดซิลิกาเจลเขย่าขวดทันทีเพื่อให้สารแขวนลอยโคนิเดียกระจายทั่วเม็ดซิลิกาเจลวางขวดใน ice bath ทันทีเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อป้องกันความร้อนที่จะเกิดขึ้นในระหว่างที่เม็ดซิลิกาเจลดูดซับสารแขวนลอยโคนิเดียเข้าไป เก็บขวดเม็ดซิลิกาเจลที่ปิดฝาแน่นหนาแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบการมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียหลังทำการเก็บรักษา ทุก 2 4 6 และ8 เดือน โดยนำเม็ดซิลิกาเจลที่เก็บรักษาไว้ นำชิ้นวุ้นไปวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ ตรวจดูการเจริญของรา

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2550
สิ้นสุด กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การแยกรา *Colletotrichum* spp. จากพืชที่เป็นโรคและการเลี้ยงราให้บริสุทธิ์โดยการทำสปอร์เดี่ยว

ได้รา *Colletotrichum* spp. บริสุทธิ์เพื่อใช้ศึกษาเทคนิคการเก็บรักษา 10 ไอโซเลท เป็นรา *C. gloeosporioides* 5 ไอโซเลท *C. capsici* 5 ไอโซเลท (Sutton, 1980; วิรัช 2528)

การเก็บรักษารา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici*

ทำการเก็บรักษารา *C. gloeosporioides* 5 ไอโซเลท และ *C. capsici* 5 ไอโซเลท รวม 10 ไอโซเลท ด้วยวิธีการเก็บรักษา 4 วิธี คือ การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศ และการเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล จากนั้นตรวจสอบการมีชีวิตและการสร้างโคนิเดียหลังทำการเก็บรักษาทุก 2 4 6 และ 8 เดือน ผลที่ได้เป็นดังนี้

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง

ผลการตรวจความมีชีวิตและการสร้างโคนิเดีย ของรา *C. gloeosporioides* หมายเลข DOAC1176 DOAC1793 DOAC1796 DOAC1800 DOAC1903 และรา *C. capsici* หมายเลข DOAC1206 DOAC1208 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 หลังจากเก็บรักษาไว้ในสภาพแห้งบนกระดาษกรองเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วตรวจวัดการเจริญของเส้นใย พบว่า มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.40 7.04 6.74 7.32 7.09 7.56 9.00 6.29 5.21และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ การวัดการเจริญของเส้นใยหลังจากเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 4 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 7.24 7.59 5.43 7.55 5.00 7.39 9.00 4.66 5.00 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ การตรวจการเจริญของเส้นใย หลังจากเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 6 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 6.24 7.30 3.77 6.70 6.29 7.14 9.00 3.70 3.74 และ 0.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ การวัดการเจริญของเส้นใยหลังจากเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 8 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.00 9.00 7.67 9.00 8.80 9.00 8.38 7.19 7.01 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ พบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน (ตารางที่ 1)

จากการปลูกเชื้อลงบนผลพริกเพื่อดูความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกไอโซเลทที่นำมาปลูกเชื้อสามารถทำให้พริกเป็นโรคได้

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรองเป็นหนึ่งในหลายวิธีที่ใช้เก็บรักษาราสาเหตุโรคพืช เป็นวิธีที่ง่าย ขั้นตอนวิธีการทำไม่ยุ่งยาก มีค่าใช้จ่ายน้อยและสะดวกต่อการนำกลับมาใช้งาน จากการศึกษาในครั้งนี้ รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ที่เก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 8 เดือน ยังคงความมีชีวิต สามารถสร้างโคนิเดียได้และพบการปนเปื้อนน้อย การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง แต่ละขั้นตอนในการปฏิบัติงานต้องทำอย่างรวดเร็วในสภาพปลอดเชื้อ (aseptic condition) และกระดาษกรองที่มีราเจริญอยู่ต้องแห้งสนิทก่อนนำไปเก็บรักษา เพราะจะมีผลต่อการมีชีวิตและการปนเปื้อนของเชื้อ วิธีการเก็บรักษาราในสภาพแห้งบนกระดาษกรองนี้มีรายงานการใช้กับรา *Marasmiellus inoderma* สาเหตุโรคลำต้นเน่า (basal rot) ของกล้วยไม้ออนซิเดียม รา *Ganoderma* sp. สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มประดับ รา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยว (wilt disease) ของประดู่บ้านพบว่า รา *M. inoderma* คงความมีชีวิต 75 เปอร์เซ็นต์ หลังการเก็บรักษาเป็นเวลานาน 2 ปี รา *Ganoderma* sp. คงความมีชีวิต 81 เปอร์เซ็นต์ หลังการเก็บรักษาเป็นเวลานาน 5 เดือน รา *F. oxysporum* คงความมีชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ หลังการเก็บรักษาเป็นเวลานาน 4 ปี (Fong *et al*., 2000)

การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

ผลการตรวจความมีชีวิตและการสร้างโคนิเดีย ของรา *C. gloeosporioides* หมายเลข DOAC1176 DOAC1793 DOAC1796 DOAC1800 DOAC1903 และรา *C. capsici* หมายเลข DOAC1206 DOAC1208 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 หลังจากเก็บรักษาไว้ในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วตรวจวัดการเจริญของเส้นใย พบว่า มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.00 8.03 6.90 8.21 6.54 7.27 9.00 6.17 6.05 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ การวัดการเจริญของเส้นใยรา หลังจากเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 4 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 6.56 8.36 9 5.49 8.10 4.14 6.54 9.00 5.26 4.80 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ การตรวจการเจริญของเส้นใย หลังจากเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 6 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 6.45 6.99 3.46 6.70 5.91 6.78 9.00 3.43 3.41 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ การวัดการเจริญของเส้นใยหลังจากเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 8 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.00 7.96 5.00 7.96 7.17 7.85 9.00 4.96 5.16 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ ทุกไอโซเลทเริ่มพบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน (ตารางที่ 2)

จากการปลูกเชื้อลงบนผลพริกเพื่อดูความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกไอโซเลทที่นำมาปลูกเชื้อสามารถทำให้พริกเป็นโรคได้

การเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศหรือการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง

ผลการตรวจความมีชีวิตและการสร้างโคนิเดีย ของรา *C. gloeosporioides* หมายเลข DOAC1176 DOAC1793 DOAC1796 DOAC1800 DOAC1903 และรา *C. capsici* หมายเลข DOAC1206 DOAC1208 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 หลังจากเก็บรักษาไว้ในสภาพแห้งสุญญากาศเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วตรวจวัดการเจริญของเส้นใย พบว่า ราหมายเลข DOAC1176 DOAC1208 DOAC1793 DOAC1796 DOAC1800 DOAC1903 มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.70 6.83 4.25 6.66 6.45 และ9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ ส่วนราหมายเลข DOAC1206 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 หลังจากเก็บรักษาไว้ในสภาพแห้งสุญญากาศเป็นระยะเวลา 2 เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน ไม่สามารถวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน ราหมายเลข DOAC1176 DOAC1208 DOAC1796 DOAC1800 DOAC1903 มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 7.88 5.47 5.51 5.12 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ ส่วนราหมายเลข DOAC1206 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 DOAC1793 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน ราหมายเลข DOAC1176 DOAC1208 DOAC1793 DOAC1796 DOAC1800 DOAC1903 มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 6.09 3.95 9.00 3.53 3.75 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ ส่วนราหมายเลข DOAC1206 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 เดือน ราหมายเลข DOAC1176 DOAC1208 DOAC1796 DOAC1800 DOAC1903 มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 9.00 9.00 6.58 6.73 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ ส่วนราหมายเลข DOAC1206 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 DOAC1793 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ ราที่เจริญบนอาหาร PDA ทุกไอโซเลทเริ่มพบการสร้างกลุ่มโคนิเดียบนอาหารเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 8 -10 วัน (ตารางที่ 3)

จากการปลูกเชื้อลงบนผลพริกเพื่อดูความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกไอโซเลทที่นำมาปลูกเชื้อสามารถทำให้พริกเป็นโรคได้

การเก็บรักษาราในสภาพแห้งสุญญากาศหรือการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง เป็นการทำให้น้ำระเหยไปจากสารแขวนลอยโคนิเดียของราที่เยือกแข็งแล้วในสภาพสุญญากาศ น้ำในเซลล์จะถูกดึงออกโดยการระเหิด โคนิเดียของราจะยังมีชีวิตอยู่ในสภาพแห้งและแข็ง การเก็บรักษาราวิธีนี้มีต้นทุนวัสดุอุปกรณ์สูง ขั้นตอนยุ่งยากซับซ้อนและต้องการผู้ปฏิบัติงานที่มีความชำนาญ แต่ข้อดี

ของวิธีนี้ก็คือ ไม่ต้องพะวงเรื่องการเปลี่ยนอาหาร เหมาะสำหรับการเก็บรักษาเชื้อจำนวนมาก ประหยัดเนื้อที่ในการเก็บ สามารถเก็บรักษาจุลินทรีย์ให้มีชีวิตรอดอยู่ได้นาน มีการปนเปื้อนน้อย เหมาะสมกับจุลินทรีย์หลายชนิดเช่น รา แบคทีเรีย และยีสต์ (Malik, 1992) โดยเฉพาะราที่สร้างสปอร์จำนวนมาก เช่น *Aspergillus Penicillium Trichoderma Colletotrichum Fusarium* (พัฒนา, 2547) แต่จากการศึกษาครั้งนี้ เมื่อนำรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ที่เก็บรักษาไว้ในสภาพแห้งสุญญากาศเป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือนออกมาเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่ามีบางไอโซเลทที่ไม่คงความมีชีวิต ทั้งนี้อาจเกิดจากหลอด ampoule ไม่อยู่ในสภาพสุญญากาศขณะทำการเก็บรักษา เพราะลนปิดหลอด ampoule แล้วมีรอยรั่ว ผู้ทำการทดลองไม่ได้นำหลอด ampoule ไปทดสอบความเป็นสุญญากาศภายในหลอด โดยใช้ High Frequency Spark Tester ที่กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา ก่อนเก็บรักษา เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ราไม่สามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้

การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล

ผลการตรวจความมีชีวิต การสร้างโคนิเดีย ของรา *C. gloeosporioides* หมายเลข DOAC1176 DOAC1793 DOAC1796 DOAC1800 DOAC1903 และรา *C. capsici* หมายเลข DOAC1206 DOAC1208 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 หลังจากเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจลเป็นระยะเวลา 2 เดือน โดยการวัดการเจริญของเส้นใยเมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* หมายเลข DOAC1176 DOAC1208 DOAC1793 DOAC1796 DOAC1800 DOAC1903 มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 7.13 5.47 9.00 4.25 5.02 และ 9.00 เซ็นติเมตร ตามลำดับ ส่วนราหมายเลข DOAC1206 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ การวัดการเจริญของเส้นใยหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 เดือน พบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* หมายเลข DOAC1793 DOAC1903 มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 2.48 และ 4.48 เซ็นติเมตร ตามลำดับ ส่วนราหมายเลข DOAC1176 DOAC1206 DOAC1208 DOAC1511 DOAC1537 DOAC1569 DOAC1796 DOAC1800 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ การวัดการเจริญของเส้นใยรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* หมายเลข DOAC1208 DOAC1511 DOAC1903 หลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 4.78 7.40 และ 8.78 เซ็นติเมตร ตามลำดับ ส่วนราหมายเลข DOAC1176 DOAC1206 DOAC1537 DOAC1569 DOAC1793 DOAC1796 DOAC1800 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ได้เนื่องจากเชื้อไม่เจริญ (ตารางที่ 4)

จากการปลูกเชื้อลงบนผลพริกเพื่อดูความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกไอโซเลทที่นำมาปลูกเชื้อสามารถทำให้พริกเป็นโรคได้

จากการเก็บรักษาราในสภาพแห้งบนซิลิกาเจลครั้งนี้ พบว่า หลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน รา *C. gloeosporioides* และ รา *C. capsici* คงความมีชีวิตอยู่น้อย ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Smith และ Onions (1983) ที่รายงานไว้ว่า วิธีการเก็บรักษาจุลินทรีย์ในสภาพแห้งบนซิลิกาเจลสามารถเก็บรักษาราที่สร้างสปอร์ให้คงความมีชีวิตอยู่ได้นาน 8-11 ปี ขั้นตอนการทำง่าย มีค่าใช้จ่ายน้อย สะดวกในการนำกลับมาใช้ และไม่ต้องการเครื่องมือราคาแพง ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจาก ปริมาณสปอร์ของราที่นำมาเก็บรักษาน้อยเกินไป สารแขวนลอยโคนิเดียกระจายไม่ทั่วเม็ดซิลิกาเจล วางขวดใน ice bath ช้าเกินไป และเก็บขวดเม็ดซิลิกาเจลที่ปิดฝาแน่นหนาแล้วไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจจะเป็นอุณหภูมิที่สูงเกินไปสำหรับการเก็บรักษาขวดเม็ดซิลิกาเจล

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการศึกษาเทคนิคการเก็บรักษารา *Colletotrichum* spp. ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 โดยทำการเก็บรักษารา *Colletotrichum gloeosporioides* และรา *C. capsici* รวมทั้งหมด 10 ไอโซเลท ด้วยวิธีการต่างๆ 4 วิธีคือ การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง การเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศ (freeze-drying) และการเก็บรักษาในสภาพแห้งบน silica gel หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน นำราที่เก็บรักษาไว้มาตรวจความมีชีวิต การปนเปื้อน การสร้างโคนิเดีย และความสามารถของราในการทำให้พืชเกิดโรค พบว่า การเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรอง และการเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นวิธีการเก็บรักษาที่ดี รา *C. gloeosporioides* และรา *C. capsici* สามารถคงความมีชีวิตอยู่ได้ สร้างโคนิเดียได้ดี พบการปนเปื้อนน้อย และจากการทดสอบความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรคพบว่า รา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ทุกไอโซเลทที่นำมาปลูกเชื้อสามารถทำให้พริกเป็นโรคได้

เอกสารอ้างอิง

พัฒนา สนธิรัตน. 2547. จุลินทรีย์และการเก็บรักษา. วารสารวิชาการเกษตร. 22: 80 – 89.

วิรัช ชูบำรุง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน และ พัฒนา สนธิรัตน. 2528. *Colletotrichum* spp. ในประเทศไทย. หน้า 128-140. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2528 กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ และประไพศรี พิทักษ์ไพรวัน. 2545. การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์เห็ดสกุลนางรม และเห็ดหูหนู. หน้า 8-9. *ใน* เอกสารสรุปผลการดำเนินงาน ประชุมวิชาการกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร ปี 2545. วันที่ 16-18 กันยายน 2545. ณ โรงแรมภูพิมานรีสอร์ท จ.นครราชสีมา.

Fong, Y.K., S. Anuar, H.P. Lim, F.Y. Tham and F.R. Sanderson. 2000. A modified filter paper technique for long-term preservation of some fungal cultures. Mycologist 14(3):128-131

Malik, K.A. 1992. Freeze-drying of microorganisms using a simple apparatus. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 8:76-79

Smith, D. 1988. Culture and Preservation. *In* Filamentous Fungi, Living Resource Biotechnology, ed. D.L.Hawksworth and B.E. Kirsop, pp. 75-99. Cambridge University Press, UK.

Smith, D. and Onions, A.H.S. 1983. A Comparision of some preservation techniques for fungi. Transactions of the British Mycological Society. 81:535-540

Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes, Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. CMI. Kew Surrey, England. 695 p.

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเส้นใย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยของเส้นใยราอายุ 7 วัน หลังการเก็บรักษาในสภาพแห้งบนกระดาษกรองเป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน

	เก็บรักษา 2 เดือน		เก็บรักษา 4 เดือน		เก็บรักษา 6 เดือน		เก็บรักษา 8 เดือน	
DOAC	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต
1176	8.40	100	7.24	90	6.24	100	9.00	100
1206	7.04	100	7.59	100	7.30	100	9.00	100
1208	6.74	100	5.43	100	3.77	100	7.67	100
1511	7.32	100	7.55	100	6.70	100	9.00	100
1537	7.09	100	5.00	80	6.29	100	8.80	100
1569	7.56	100	7.39	100	7.14	100	9.00	100
1793	9.00	100	9.00	100	9.00	100	8.38	100
1796	6.29	100	4.66	90	3.70	100	7.19	100
1800	5.21	100	5.00	100	3.74	100	7.01	100
1903	9.00	100	9.00	100	0.00	0	9.00	100

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเส้นใย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยของเส้นใยราอายุ 7 วัน หลังการเก็บรักษาในกลีเซอรอล 10 เปอร์เซ็นต์ สภาพเย็นยิ่งยวดที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน

	เก็บรักษา 2 เดือน		เก็บรักษา 4 เดือน		เก็บรักษา 6 เดือน		เก็บรักษา 8 เดือน	
DOAC	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต
1176	9.00	100	6.56	80	6.45	100	9.00	100
1206	8.03	100	8.36	100	6.99	100	7.96	100
1208	6.90	100	5.49	100	3.46	100	5.00	100
1511	8.21	100	8.10	100	6.70	100	7.96	80
1537	6.54	100	4.04	100	5.91	100	7.17	80
1569	7.27	100	6.54	100	6.78	100	7.85	100
1793	9.00	100	9.00	100	9.00	100	9.00	100
1796	6.17	100	5.26	90	3.43	100	4.96	100
1800	6.05	100	4.80	100	3.41	100	5.16	100
1903	9.00	100	9.00	100	9.00	100	9.00	100

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเส้นใย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยของเส้นใยราอายุ 7 วัน หลังการเก็บรักษาในสภาพแห้งสุญญากาศ เป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน

	เก็บรักษา 2 เดือน		เก็บรักษา 4 เดือน		เก็บรักษา 6 เดือน		เก็บรักษา 8 เดือน	
DOAC	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต
1176	8.70	100	7.88	100	6.09	100	9.00	100
1206	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1208	6.83	100	5.47	100	3.95	100	9.00	100
1511	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1537	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1569	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1793	4.25	80	0.00	0	9.00	80	0.00	0
1796	6.66	100	5.51	100	3.53	100	6.58	100
1800	6.45	100	5.12	100	3.75	100	6.73	100
1903	9.00	100	9.00	100	9.00	100	9.00	100

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเส้นใย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยของเส้นใยราอายุ 7 วัน หลังการเก็บรักษาในสภาพแห้งบนซิลิกาเจล เป็นเวลา 2 4 6 และ 8 เดือน

	เก็บรักษา 2 เดือน		เก็บรักษา 4 เดือน		เก็บรักษา 6 เดือน		เก็บรักษา 8 เดือน	
DOAC	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต	Ø โคโลนีเฉลี่ย (ซม.)	% มีชีวิต
1176	7.13	100	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1206	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1208	5.47	90	0.00	0	4.78	60	0.00	0
1511	0.00	0	0.00	0	7.40	40	0.00	0
1537	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1569	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1793	9.00	100	2.48	40	0.00	0	0.00	0
1796	4.25	60	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1800	5.02	100	0.00	0	0.00	0	0.00	0
1903	9.00	100	4.48	60	8.78	40	0.00	0

สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยควบคุมแมลงศัตรูพืช

Survey, Culture Collection and Identification of Entomopathogenic Nematodes

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการศึกษาสายพันธุ์ไส้เดือนฝอยในวงศ์ Steinernematidae จำนวน 2 ไอโซเลท รหัส KPs No.2 (อำเภอคลองขลุง) และ KPs No.3 (อำเภอเมือง) จังหวัดกำแพงเพชร และวงศ์ Heterorhabditidae จำนวน 2 ไอโซเลท จากจังหวัดเพชรบุรี และร้อยเอ็ด รหัส PRh และ REh โดยนำทั้ง 4 ไอโซเลท มาทำการเก็บรักษาความมีชีวิตในน้ำกลั่น สภาพอุณหภูมิห้อง ($27\pm2^{\circ}$ซ) พบว่าในเวลา 3 เดือน KPs No.2, KPs No.3, PRh และ REh มีการตายเท่ากับ 17 12 25 และ 22 % ตามลำดับ โดยการเก็บนาน 4 เดือน มีการเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 40 % หรือเท่ากับ 52 42 74 และ 70 % ตามลำดับ เมื่อนำไส้เดือนฝอย KPs No.2 และ PRh เพาะเลี้ยงในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลวสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมู โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง ได้ผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 182 และ 47.5 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม ตามลำดับ จากนั้นนำมาทดสอบศักยภาพในการกำจัดเห็บวัว พบว่า *Heterorhabditis* sp. PRh ฆ่าเห็บวัวได้ 90 % ในเวลา 48 ชม. ในขณะที่ *Steinernema* sp. KPs No.2 ฆ่าได้เพียง 5 % แต่ *Steinernema* sp. KPs No.2 สามารถฆ่าหนอนด้วงมะพร้าวโดยวิธีใช้เข็มฉีดไส้เดือนฝอยเข้าลำตัวหนอนด้วง ทำให้หนอนด้วงตายภายในเวลาเพียง 6 ชม. และไส้เดือนฝอยสามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ในซากหนอนด้วง และให้ไส้เดือนฝอยรุ่นใหม่เคลื่อนที่ออกจากซากหนอนจำนวน 122,000 ตัวต่อหนอน 1 ตัว เทียบได้กับการขยายไส้เดือนฝอยในหนอนกินไขผึ้ง ส่วนไส้เดือนฝอย KPs No.3 นำมาทดสอบเพาะเลี้ยงในสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ในอัตราส่วน 5 : 2 : 3 เปรียบเทียบกับสูตรหนังไก่ผสมน้ำ ในอัตราส่วน 7 : 3 และสูตรหนังไก่+ไข่ไก่+น้ำ อัตราส่วน 2 : 3 : 5 ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเท่ากับ 420 52 และ 350 ล้านตัว/ลิตร เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดปลวกในไร่มันสำปะหลัง โดยนำไส้เดือนฝอยคลุกกับขี้เลื่อยไม้ยางพาราใส่ในภาชนะล่อ ผลการทดสอบพบว่า การฝังสถานีเหยื่อล่อในร่องมันฯ ระยะห่าง 1.5 เมตร ช่วยลดความเสียหายของท่อนพันธุ์ได้ โดยพบการทำลายของปลวกเพียง 16.88 % ในขณะที่ไม่ฝัง ปลวกทำความเสียหายสูงถึง 59.38 %

รหัสการทดลอง 09-02-49-01

คำนำ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการไส้เดือนฝอย ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด Stereo microscope และ Compound microscope เครื่องแก้ว เครื่องชั่ง ตู้ควบคุมอุณหภูมิ และกระดาษกรอง Whatman#2 เป็นต้น

2. สารเคมีและอาหารที่มีโปรตีนและไขมัน ได้แก่ Hyamine แอลกอฮอล์ ไข่ไก่ และน้ำมันหมู หนังไก่ เป็นต้น

3. วัสดุ-อุปกรณ์ในการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย ได้แก่ ภาชนะเพาะเลี้ยง ฟองน้ำคลุกอาหาร ถังนึ่งชนิดไม่มีแรงดัน หัวเตาพร้อมแก๊ส เครื่องปั่นผสมอาหาร ชั้นแยกล้างผลผลิต เป็นต้น

5. แมลงที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ หนอนด้วงมะพร้าว เห็บวัว และปลวก

วิธีการ

1. การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย นำตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยในระยะเข้าทำลาย (Infective Juvenile stage, IJ) ของสกุล *Steinernema* sp. KPs No.2 และ KPs No.3 ไส้เดือนฝอยสกุล *Heterorhabditis* sp. PRh และ REh จัดเก็บในขวดพลาสติกชนิด culture flask ขนาด 250 มล. ที่มีน้ำกลั่น 10 มล. โดยใส่ไส้เดือนฝอย IJ จำนวนไอโซเลทละ 1,000 $\pm$ 100 ตัว วางขวดในแนวนอน นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27$\pm$2 $^{\circ}$ซ และนำมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของ IJ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ทุก 1 เดือน และสิ้นสุดการตรวจนับเมื่อพบไส้เดือนฝอยตายมากกว่า 40 %

2. การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยในอาหารเทียม

2.1 การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No. 2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh โดยนำไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2, และ *Heterorhabditis* sp. PRh เพาะเลี้ยงในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลวสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำกลั่น ที่อัตราส่วน 5 : 2 : 3 ในสภาพอาหารเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture ตามเทคนิคของนุช นารถ (2550) ทำการเตรียมอาหารตามสูตรกำหนด จากนั้นนำอาหารมาคลุกกับก้อนฟองน้ำตัดขนาด 1x1 ซม. อัตราอาหาร : ฟองน้ำ (500 กรัม : 30 กรัม) บรรจุในถังขนาด 10 ลิตร อบนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งที่ใช้ความร้อนจากแก๊ส เป็นเวลา 2 ชม. 30 นาที เมื่ออาหารเย็นทำการใส่ไส้เดือนฝอยของแต่ละไอโซเลท จำนวน 500,000$\pm$50,000 ตัว/ถังเพาะ ไอโซเลทละ 5 ถังเพาะ นำไปตั้งวางเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (27$\pm$2 $^{\circ}$ซ) เป็นเวลา 7 วัน และนำมาตรวจนับจำนวนผลผลิตไส้เดือนฝอยที่ได้ในแต่ไอโซเลท เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลผลิต ปฏิบัติซ้ำ 2 ครั้ง

2.2 การเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.3 ในสูตรอาหาร 3 สูตรคือ สูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ในอัตราส่วน 5 : 2 : 3 สูตรหนังไก่ผสมน้ำ ในอัตราส่วน 7 : 3 และสูตรหนังไก่+ไข่ไก่+น้ำ ในอัตราส่วน 2 : 3 : 5 ปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 2.1

3. การทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยในการกำจัดแมลง โดยทำการทดสอบในจานเพาะเลี้ยง (Petri dish) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 และ 9 ซม. ตามขนาดของแมลงทดสอบ วางด้วยกระดาษกรอง Whatman # 2 ใส่ไส้เดือนฝอยแต่ละไอโซเลท จำนวน 1,000 และ 2,000 ตัวในน้ำ 0.5 และ 1.0 มล. ตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ Petri dish 5 และ 9 ซม. ตามลำดับ นำแมลงแต่ละชนิดใส่ 3-10 ตัวต่อ Petri dish (ขึ้นกับขนาดของแมลง) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจนับการตายของแมลงแต่ละชนิดที่เวลา 48 ชม.

4. การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในสภาพไร่ โดยทำการทดสอบไส้เดือนฝอย Steinernema sp. KPs No.3 กำจัดปลวกในไร่มันสำปะหลัง ณ แปลงเกษตรกร อ.ท่าม่วง จ. กาญจนบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดของปลวกสกุล *Odontoterme*s sp.

<u>การเตรียมไส้เดือนฝอยในรูปแบบสถานีเหยื่อล่อ</u>

1.ใช้กระปุกพลาสติกสีขาวทึบเป็นรูปทรงกระบอกด้านบนมีฝาปิด-เปิดแบบหมุนเกลียวเป็นสถานีเหยื่อล่อ โดยกระปุกพลาสติกมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร สูง 10 เซนติเมตร ฝาด้านบนเจาะเป็นวงกลม 5 วง รอบฝา ใช้เป็นทางเข้าของปลวก โดยฝาด้านในบุด้วยตาข่ายที่มีรูขนาดที่ปลวกสามารถเข้า-ออกได้ ภายในใช้ตาข่ายม้วนเป็นแท่งทรงกระบอกสำหรับใส่เหยื่ออาหารผสมไส้เดือนฝอย โดยที่แท่งบรรจุเหยื่อนี้มีขนาดเล็กกว่ากระปุก

2. อาหารเหยื่อล่อปลวกผสมไส้เดือนฝอย มีองค์ประกอบและอัตราส่วนของเหยื่ออาหารผสมไส้เดือนฝอยต่อแท่งคือ ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 20 กรัม + ผงเซลลูโลส 1 กรัม + โพลิเมอร์ 70 กรัม + น้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร + ไส้เดือนฝอย 1 ล้านตัว

<u>วิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลอง แบบ RCB ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 ฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อรอบพื้นที่ปลูก 30 ตร.ม. ระยะห่าง 1.0 เมตร (30 แท่ง)

กรรมวิธีที่ 2 ฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อรอบพื้นที่ปลูก 30 ตร.ม. ระยะห่าง 1.5 เมตร (20 แท่ง)

กรรมวิธีที่ 3 ฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อรอบพื้นที่ปลูก 30 ตร.ม. ระยะห่าง 2.0 เมตร (16 แท่ง)

กรรมวิธีที่ 4 ไม่ฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อ (control)

กำหนดพื้นที่ทดสอบในแปลงมันสำปะหลังเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า โดยเลือกร่องมันสำปะหลังติดแนวป่าละเมาะซึ่งมีรังปลวก โดยใช้พื้นที่กว้าง 3 เมตร (หรือเท่ากับ 4 ร่อง) ความยาวแถว 10 เมตร (เท่ากับพื้นที่ทดสอบ 30 ตร.ม./ซ้ำ) ทำการปลูกท่อนพันธุ์โดยมีระยะห่าง 0.5 เมตร

จำนวน 20 ท่อน/ร่องทดลอง พร้อมติดตั้งแท่งสถานีเหยื่อล่อโดยทำการฝังดินตามกรรมวิธีกำหนด เป็นเวลา 1 เดือน

บันทึกผล นับจำนวนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกปลวกเข้าทำลายและแห้งตายในแต่ละกรรมวิธีหลังจากฝังแท่งสถานีเหยื่อล่อเป็นระยะเวลา 1 เดือน โดยนับแถวกลาง 2 แถวๆ ละ 20 ต้น รวม 40 ต้น วิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลอง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2549 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2553

สถานที่ 1. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

2. แปลงเกษตรกรปลูกมันสำปะหลัง จ.กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย

ผลการเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh และ REh ในน้ำกลั่นบรรจุในขวดชนิด culture flask ปริมาตรน้ำ 10 มล. ตั้งวางที่อุณหภูมิ 27 $\pm$ 2 $^{\circ}$ซ เมื่อนำมาตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยที่อายุการเก็บรักษา 1 เดือน พบเปอร์เซ็นต์การตายของไส้เดือนฝอยเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ เท่ากับ 2 5 และ 3 % ของไส้เดือนฝอย KPs No.2 PRh และ REh ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาผ่านไป 2 และ 3 เดือน ไส้เดือนฝอยทุกไอโซเลทมีการตายเพิ่มขึ้น คิดเป็น 4 11 และ 8 % ของเดือนที่ 2 และ 17 25 และ 22 % ของเดือนที่ 3 ตามลำดับ เมื่อตรวจนับที่ระยะเวลาการเก็บ 4 เดือน พบการตายของไส้เดือนฝอยทุกไอโซเลทมีเปอร์เซ็นต์การตายมากกว่า 50 % มีจำนวนเท่ากับ 52 74 และ 70 % ตามลำดับ

จากผลการเก็บรักษาพบว่าไส้เดือนฝอยไอโซเลท KPs No.2 จัดอยู่สกุล *Steinernema* มีเปอร์เซ็นต์การตายในทุกระยะการเก็บรักษาน้อยที่สุด สำหรับไอโซเลท PRh และ REh เป็นไส้เดือนฝอยในสกุล *Heterorhabditis* มีเปอร์เซ็นต์การตายที่สูงกว่า โดยเฉพาะในช่วงการเก็บรักษา 2 เดือนแรก ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 มีการตายเฉลี่ยเพียง 4 % เท่านั้น

2. การเพาะเลี้ยงขยายปริมาณไส้เดือนฝอย

2.1 ผลการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No. 2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh ในอาหารสูตรเดียวกันและสภาพการเลี้ยงแบบ axenic culture ทำซ้ำ 2 ครั้ง พบว่า *Steinernema* sp. KPs No. 2 มีการเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ในอาหารเทียมได้ผลผลิตสูงเท่ากับ

186 และ 178 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม ของครั้งที่ 1 และ 2 หรือมีค่าเฉลี่ยผลผลิตเท่ากับ 182 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม โดยที่การเพาะเลี้ยง *Heterorhabditis* sp. PRh ให้ผลผลิตเท่ากับ 53 และ 42 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม ของครั้งที่ 1 และ 2 หรือมีค่าเฉลี่ยผลผลิตเท่ากับ 47.5 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม เมื่อนำผลผลิตของไส้เดือนฝอยทั้ง 2 สกุล เปรียบเทียบกันพบว่า ไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No. 2 ให้ผลผลิตสูงกว่า *Heterorhabditis* sp. PRh เท่ากับ 134.5 ล้านตัว (182-47.5=134.5 ล้านตัว) หรือมากกว่า 3.83 เท่า

2.2 ผลการเพาะเลี้ยงไส้เดือนฝอยไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.3 ในสูตรอาหาร 3 สูตรคือ สูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ในอัตราส่วน 5 : 2 : 3 สูตรหนังไก่ผสมน้ำ ในอัตราส่วน 7 : 3 และสูตรหนังไก่+ไข่ไก่+น้ำ ในอัตราส่วน 2 : 3 : 5 ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเท่ากับ 420 52 และ 350 ล้านตัว/ลิตร (ค่าเฉลี่ยจากการทดสอบเพาะเลี้ยง 2 ครั้ง)

3. การทดสอบศักยภาพของไส้เดือนฝอยในการกำจัดแมลง

ผลการทดสอบศักยภาพการเป็นสารชีวภัณฑ์ของไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 ที่แยกได้จากพื้นที่ จ.กำแพงเพชร และ *Heterorhabditis* sp. PRh ที่แยกได้จากพื้นที่ จ.เพชรบุรี ในการกำจัดเห็บวัว โดยปลูกเชื้อไส้เดือนฝอยทั้งสองสกุลที่ผลิตได้จากอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลวสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ (อัตราส่วน 5 : 2 : 3) สภาพการเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture โดยใช้ผลผลิตไส้เดือนฝอยที่อัตรา 30,000 ตัวต่อพื้นที่ 40 ตร.ซม. พบว่า *Heterorhabditis* sp. PRh มีศักยภาพในการฆ่าเห็บวัวตาย 90 % ที่เวลา 48 ชม. แต่ *Steinernema* sp. KPs No.2 ฆ่าเห็บวัวได้เพียง 5 % เท่านั้น จากผลการทดสอบแสดงว่าไส้เดือนฝอยในสกุล *Heterorhabditis* sp. มีความเฉพาะเจาะจงกับเห็บ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในคอกสัตว์ได้ในอนาคต แต่ไส้เดือนฝอยจะไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ในเห็บวัว เมื่อนำซากของเห็บที่ถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลายมาวางบนกระดาษชุ่มน้ำเป็นเวลา 10 วัน ไม่พบไส้เดือนฝอยรุ่นใหม่เคลื่อนที่ออกจากซากเห็บ อาจเป็นผลจากเห็บวัวมีน้ำเลือดน้อยไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของไส้เดือนฝอยที่อยู่ในซากเห็บ

เมื่อนำ *Steinernema* sp. KPs No.2 มาทดสอบศักยภาพในการกำจัดหนอนด้วงมะพร้าว โดยวิธีพ่นไส้เดือนฝอยบนตัวหนอนด้วง เป็นเวลา 48 ชม. เปรียบเทียบกับวิธีฉีดเข้าทางลำตัวหนอนด้วยเข็มฉีดยา พบว่าหนอนด้วงไม่ตายเมื่อใช้วิธีการพ่นบนตัวหนอน แต่หนอนด้วงตาย 100 % และตายภายในเวลาเพียง 6 ชม. เท่านั้นเมื่อใช้วิธีฉีดเข้าทางลำตัวหนอน และเมื่อนำหนอนด้วงที่ตายด้วยไส้เดือนฝอยไปวางบนกระดาษชุ่มน้ำเป็นเวลา 10 วัน พบว่าไส้เดือนฝอยสามารถขยายพันธุ์ให้ลูกรุ่นใหม่ได้ดีในซากหนอน โดยพบไส้เดือนฝอยตัวอ่อนระยะที่ 3 เคลื่อนที่ออกจากซากหนอน นับได้จำนวนเฉลี่ย 122,000 ตัวต่อหนอนด้วง 1 ตัว จากผลการทดสอบศักยภาพของ

Steinernema sp. KPs No.2 ในการฆ่าหนอนด้วงแสดงให้เห็นว่า ถ้าไส้เดือนฝอยสามารถเข้าสู่ตัวหนอนได้ จะมีศักยภาพในการเกิดโรคเลือดเป็นพิษในตัวหนอนและหนอนตายในที่สุด และการใช้เข็มฉีดไส้เดือนฝอยเข้าลำตัวนั้น มีผลต่อการตายของหนอนได้รวดเร็ว แต่การพ่นไส้เดือนฝอยบนตัวหนอนด้วงพบว่า ไส้เดือนฝอยไม่สามารถเข้าสู่รูเปิดทางผิวของหนอนด้วงได้ หนอนด้วงจึงไม่ตาย อย่างไรก็ตาม ในทางปฏิบัติโดยวิธีใช้เข็มฉีดไส้เดือนฝอยเข้าทางลำตัวหนอนด้วง ไม่ใช่แนวทางการนำไปใช้กำจัดหนอนด้วง แต่สามารถนับไปปรับใช้ในการผลิตหัวเชื้อไส้เดือนฝอยเพื่อทดแทนการผลิตหัวเชื้อไส้เดือนฝอยจากหนอนกินไขผึ้งซึ่งมีราคาแพงได้

4. การทดสอบประสิทธิภาพของไส้เดือนฝอยในสภาพไร่

จากการทดสอบนำสถานีเหยื่อล่อฝังดินรอบพื้นที่ปลูกท่อนพันธุ์มันสำปะหลัง เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า 3x10 เมตร (30 ตร.ม.) ที่ระยะห่างตั้งแต่ 1.0 1.5 และ 2.0 เมตร เปรียบเทียบกับไม่ฝัง เป็นเวลา 1 เดือน เมื่อทำการตรวจนับท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกปลวกเข้าทำลายไส้ในจนไม่สามารถแตกใบและเจริญเติบโตได้ในร่องที่ไม่มีการฝังสถานีเหยื่อล่อ พบท่อนพันธุ์เสียหายเนื่องจากปลวกเท่ากับ 23.75 ท่อน จากการตรวจนับ 40 ท่อนพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 59.38 ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับการฝังทุกระยะห่าง โดยการฝังที่ระยะห่าง 1.0 และ 1.5 เมตร รอบพื้นที่ทดสอบ พบท่อนพันธุ์มันสำปะหลังเสียหายเท่ากับ 4.25 และ 6.75 ท่อน หรือคิดเป็นร้อยละ 10.63 และ 16.88 ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ สำหรับการวางระยะที่ 2 เมตร พบว่าท่อนพันธุ์เสียหาย 13.25 ท่อน หรือร้อยละ 33.13 (ตารางที่ 1)

การทดสอบฝังสถานีเหยื่อล่อของทุกระยะห่าง สามารถลดการเข้าทำลายท่อนพันธุ์มันสำปะหลังจากปลวกได้ โดยปลวกเลือกเข้ากินอาหารเหยื่อล่อภายในแท่งมากกว่าการกินไส้ของท่อนพันธุ์ ซึ่งภายในแท่งประกอบด้วยอาหารขี้เลื่อยไม้ยางพารา รวมทั้งมีความชื้นจากสารโพลิเมอร์ดึงดูดให้ปลวกเข้ามาภายในสถานีเหยื่อล่อ เมื่อปลวกกินอาหารเหยื่อล่อ มีผลทำให้ปลวกตายเนื่องจากกินไส้เดือนฝอยเข้าไปด้วย ซึ่งสามารถพบซากของปลวกตายเป็นกลุ่ม ๆ ทั้งภายในแท่งเหยื่อ และภายนอก เมื่อทำการสุ่มตรวจทุกวัน และสามารถยืนยันการตายของปลวกที่เกิดจากการรับไส้เดือนฝอยเข้าสู่ลำตัว โดยนำซากปลวกมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตภายในลำตัวของปลวก ดังนั้น วิธีการฝังเหยื่อล่อที่ผสมไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นสารสำคัญในการฆ่าปลวก จึงเป็นอีกหนึ่งวิธีที่เกษตรกรในเขตปลูกมันสำปะหลัง จ.กาญจนบุรี ให้ความสนใจเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวปลูกเฉพาะมันสำปะหลังในช่วงแล้งที่มีอากาศร้อน เกษตรกรไม่ปลูกพืชอื่นๆ ที่ต้องใช้น้ำมาก เช่น พืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับ แต่มันสำปะหลังเป็นพืชที่ต้องการน้ำน้อยในช่วงแรก โดยสามารถใช้อาหารที่สะสมในลำต้นหรือท่อนพันธุ์เพื่อการเจริญเติบโตในระยะแรกของช่วงฤดูแล้ง ซึ่งเพียงพอต่อการแตกใบ แต่ปลวกคือปัญหาที่ทำให้ท่อน

พันธุ์เสียหายในช่วงแรกของการปลูก เกษตรกรบางรายเสียหายทั้งหมด บางรายต้องเสียเวลาปลูกซ่อมทดแทนท่อนพันธุ์ที่ตาย โดยการทดสอบในครั้งนี้เกษตรกรได้มีส่วนร่วมในการตรวจผล และผลการทดสอบดังกล่าวประสบผลสำเร็จในระดับที่น่าพอใจ เกษตรกรในพื้นที่ จ.กาญจนบุรี ให้การยอมรับ แต่อย่างไรก็ตาม ยังต้องมีการปรับใช้ให้เหมาะสมกับต้นทุนการผลิตมันสำปะหลัง และต้นทุนของสถานีเหยื่อล่อ ซึ่งค่อนข้างมีราคาสูงเมื่อนำไปใช้ในสภาพไร่มันฯ ขนาดใหญ่ โดยต้องคำนวณพื้นที่เพื่อฝังระยะห่าง 1.5 เมตร ฝังเฉพาะร่องมันที่ติดป่าละเมาะหรือแหล่งอาศัยของปลวก นอกจากนั้น ต้องปรับโครงสร้างของสถานีเหยื่อล่อให้มีราคาถูกหรือเกษตรกรสามารถทำได้เอง เช่น ใช้กระบอกไม้ไผ่เป็นโครงสร้าง ด้านบนเปิดและคลุมด้วยตาข่ายเพื่อเป็นช่องทางให้ปลวกเข้ามากินขี้เลื่อยผสมไส้เดือนฝอย สำหรับไส้เดือนฝอยซึ่งเป็นชีวินทรีย์ฆ่าปลวก เกษตรกรสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อสดใช้เองได้ตามวิธีการของนุชนารถ (2552)

ตารางที่ 1 จำนวนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกปลวกเข้าทำลายและแห้งตาย ของร่องปลูก 2 แถวกลาง แถวละ 20 ท่อน (รวม 40 ท่อนพันธุ์) ที่มีการฝังสถานีเหยื่อล่อ รอบพื้นที่ 30 ตร.ม. โดยมีระยะห่างของสถานีเหยื่อล่อที่ 1.0 1.5 และ 2.0 เมตร เปรียบเทียบกับไม่ฝัง เป็นเวลา 1 เดือน ในไร่มันสำปะหลัง จ. กาญจนบุรี ช่วงฤดูแล้ง

กรรมวิธี	จำนวนท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ถูกปลวกเข้าทำลายและแห้งตาย[1/]
1. ฝังในร่องมันฯ ระยะห่าง 1.0 เมตร (30 แท่ง/ซ้ำ)	4.25 c[2/]
2. ฝังในร่องมันฯ ระยะห่าง 1.5 เมตร (20 แท่ง/ซ้ำ)	6.75 c
3. ฝังในร่องมันฯ ระยะห่าง 2.0 เมตร (16 แท่ง/ซ้ำ)	13.25 b
4. ไม่ฝังสถานีเหยื่อล่อ (control)	23.75 a
CV. (%)	27.32

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (แปลง)

[2/] ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมภ์เดียวกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเก็บรักษาไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh และ REh ในน้ำกลั่นได้นานที่สุด 3 เดือน ในสภาพอุณหภูมิห้อง (27±-2 °ซ) โดย *Steinernema* sp. KPs No.2 มีความอยู่รอดได้ดีกว่า *Heterorhabditis* sp. PRh และ REh เมื่อนำ *Steinernema* sp. KPs No.2 และ *Heterorhabditis* sp. PRh มาเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมชนิดแข็งกึ่งเหลวสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ที่อัตราส่วน 5 : 2 : 3 สภาพการเพาะเลี้ยงแบบ axenic culture พบว่า *Steinernema* sp. KPs No.2 เจริญเติบโตและขยายพันธุ์ให้ผลผลิตได้สูงกว่า *Heterorhabditis* sp. PRh เท่ากับ 134.5 ล้านตัวต่ออาหาร 500 กรัม (182-47.5=134.5 ล้านตัว) หรือมากกว่า 3.83 เท่า ผลผลิตของไส้เดือนฝอยทั้งสองสกุลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมดังกล่าว นำมาทดสอบศักยภาพในการกำจัดเห็บวัว พบว่า *Heterorhabditis* sp. PRh ฆ่าเห็บวัวได้ 90 % ในเวลา 48 ชม. สามารถนำไปประยุกต์ใช้กำจัดเห็บวัวในคอกสัตว์ได้ ในขณะที่ *Steinernema* sp. KPs No.2 ฆ่าได้เพียง 5 % แต่ *Steinernema* sp. KPs No.2 สามารถฆ่าหนอนด้วงมะพร้าวโดยวิธีใช้เข็มฉีดไส้เดือนฝอยเข้าลำตัวหนอนด้วง ทำให้หนอนด้วงตายภายในเวลาเพียง 6 ชม. และไส้เดือนฝอยสามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ในซากหนอนด้วง และให้ไส้เดือนฝอยรุ่นใหม่เคลื่อนที่ออกจากซากหนอนจำนวน 122,000 ตัวต่อหนอน 1 ตัว เทียบได้กับการขยายไส้เดือนฝอยในหนอนกินไขผึ้ง สามารถนำไปปรับใช้ทดแทนหนอนกินไขผึ้งเพื่อการผลิตหัวเชื้อไส้เดือนฝอย

สำหรับไส้เดือนฝอย *Steinernema* sp. KPs No.3 นำมาทดสอบเพาะเลี้ยงในสูตรไข่ไก่ผสมน้ำมันหมูและน้ำ ในอัตราส่วน 5 : 2 : 3 เปรียบเทียบกับสูตรหนังไก่ผสมน้ำ ในอัตราส่วน 7 : 3 และสูตรหนังไก่+ไข่ไก่+น้ำ อัตราส่วน 2 : 3 : 5 ได้ผลผลิตไส้เดือนฝอยเท่ากับ 420 52 และ 350 ล้านตัว/ลิตร ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดปลวกในไร่มันสำปะหลัง โดยนำไส้เดือนฝอยคลุกกับขี้เลื่อยไม้ยางพาราใส่ในภาชนะล่อ ผลการทดสอบพบว่า การฝังสถานีเหยื่อล่อในร่องมันฯ ระยะห่าง 1.5 เมตร ช่วยลดความเสียหายของท่อนพันธุ์ได้ โดยพบการทำลายของปลวกเพียง 16.88 % ในขณะที่ไม่ฝัง ปลวกทำความเสียหายสูงถึง 59.38 %

เอกสารอ้างอิง

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

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

นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด. 2550. การพัฒนาโรงงานต้นแบบและเทคโนโลยีการผลิตชีวภัณฑ์ไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงในเชิงพาณิชย์. *ใน* ผลงานวิจัยฉบับเต็ม เงินรายได้จากการดำเนินงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

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

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

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

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

Kaya, H.K. 1977. Development of DD-136 strain of *Neoaplectana carpocapsae* at constant temperature. *J. Nematol.* 9 : 346-349.

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

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

สำรวจรวบรวมและศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช

1. ศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเศรษฐกิจ

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

บุษราคัม อุดมศักดิ์ ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ใน ปีที่ 1-3 (ต.ค. 2548 – ก.ย. 2551) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ เชื้อรา *Colletrotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของแตงกวา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ และ*Phytopthora capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริก โดยทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลองของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช การทดสอบในระดับโรงเรือนทดลอง พบว่า ไอโซเลท 22W10 และ 20W8 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคหอมเลื้อยได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลท 2G4 22W10 20W12 17G18 และ 20W4 สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวมะเขือเทศได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของแตงกวาได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลท 20W16 สามารถควบคุมโรคไหม้พริกสูงสุดได้ 79.17 เปอร์เซ็นต์ โดย พบว่า ไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมโรคพืชที่ทดสอบในระดับโรงเรือนได้ทุกโรค โดยสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวในแตงกวาและมะเขือเทศได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ และโรคไหม้พริกได้ 99.46 90.50 และ 56.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในปี พ.ศ. 2550-2551 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า และ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง และ *S. rolfsii* สาเหตุโรคลำต้นเน่าถั่วลิสง จากผลการทดลองสามารถคัดเลือก *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้ง

รหัสการทดลอง 09-02-49-01

เส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่นำมาทดสอบทั้ง 3 ชนิด คือ ไอโซเลท 20W4 20W1 20W5 20W12 และ17G18 ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ไอโซเลท 20W1 20W16 20W5 20W17 และ 20W18 ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง และ ไอโซเลท 20W16 20W5 20W24 20W21 และ20W1 ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุ โรคลำต้นเน่าถั่วลิสง

ปีที่4 (ต.ค. 2551 – ก.ย. 2552) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้สกุลแวนด้า เชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส มะม่วง ในระดับห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้สกุลแวนด้า ได้แก่ 2G19 19W42 1G8 (2) 3G23 2G23 ยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ได้แก่ SA6 20W1 9W14 KA15 20W21 และยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง ได้แก่ KA2 9W14 KA16 KA3 และ SA9(= SA4) การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า ในระดับโรงเรือน พบว่า การพ่น *Bacillus* sp. ก่อนพ่นเชื้อรา Ab ทุกไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยไอโซเลท 20W1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดการเกิดโรค รองลงมา ได้แก่ 20W5 20W4 20W12 SA6 และ 17G18 ตามลำดับ สำหรับกรรมวิธีการพ่นเชื้อรา Ab ก่อนพ่น *Bacillus* sp. พบว่า ไอโซเลท 20W12 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค และจากผลการทดลองพบว่า การพ่นแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ก่อนการพ่นเชื้อรา Ab เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่าการพ่น Ab ก่อนพ่น *Bacillus* sp. การทดสอบการจุ่มผลมะม่วงด้วย cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จำนวน 5 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท 20W18 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วง รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 20W5 20W17 20W16 และ 20W17 ตามลำดับ

คำนำ

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

แบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในสภาพธรรมชาติ รวมทั้ง *B. subtilis* ที่มักจะเจริญปะปนอยู่มากมายทั้งในดิน ตามผิวพืชและแหล่งอาหารที่มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตสูงและสามารถแยกได้ง่าย

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

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

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

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

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

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ PDA (Potato dectrose agar) , PSA (Potato sucrose agar)
2. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 135 ไอโซเลท
3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ เช่น จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดสอบ ตู้เขี่ยเชื้อ ฯลฯ
4. ดินปลูก
5. กระถางปลูก
6. พันธุ์พืช ได้แก่ พริก หอมใหญ่ มะม่วง คะน้า

วิธีการ

1. **การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ในห้องปฏิบัติการ**

ปีที่ 1-2 **(ต.ค. 2548 – ก.ย. 2550)**

1.1 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

- ทดสอบกับ *Bacillus sp.* จำนวน 64 ไอโซเลท

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F.oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ

- ทดสอบกับ *Bacillus sp.* จำนวน 79 ไอโซเลท

1.3 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F.solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา

- ทดสอบกับ *Bacillus sp.* จำนวน 73 ไอโซเลท

1.4 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่

- ทดสอบกับ *Bacillus sp.* จำนวน 78 ไอโซเลท

1.5 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริก

- ทดสอบกับ *Bacillus sp.* จำนวน 64 ไอโซเลท

ปีที่ 3 **(ต.ค. 2550 – ก.ย. 2551)**

1.6 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า (ชุดที 1)

- ทดสอบกับ *Bacillus sp.* จำนวน 65 ไอโซเลท

1.7 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส มะม่วง

- ทดสอบกับ *Bacillus sp.* จำนวน 59 ไอโซเลท

1.8 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคลำต้นเน่าถั่วลิสง

- ทดสอบกับ *Bacillus sp.* จำนวน 68 ไอโซเลท

ปีที่ 4 (ต.ค. 2551 – ก.ย. 2552)

1. 9 ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* ในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้สกุลแวนด้า จำนวน 135 ไอโซเลท

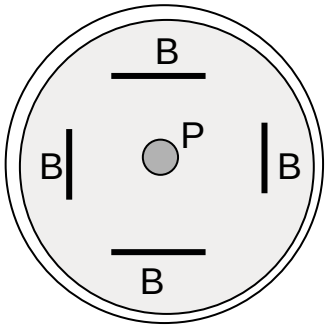
2.0 ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ชุดที่ 2 จำนวน 70 ไอโซเลท

2.1 ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส มะม่วง ชุดที่ 1 จำนวน 60 ไอโซเลท และชุดที่ 2 จำนวน 70 ไอโซเลท

ทดสอบโดยวิธี dual plate technique ปฏิบัติดังนี้

1. เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ทดสอบบนอาหาร PDA และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. แต่ละไอโซเลทลงบนอาหาร PSA จนกระทั่งเส้นใยหรือโคโลนีเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ
2. ใช้ cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเส้นใยของเชื้อราทดสอบบริเวณขอบโคโลนี วางลงบนกึ่งกลางของจานเลี้ยงเชื้อ
3. ใช้ Loop ขนาดมาตรฐานแตะเบาๆที่ *Bacillus sp.* ทดสอบ ที่เลี้ยงไว้ นำมาขีดเป็นเส้นตรง ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ขนานกับโคโลนีของเชื้อราทดสอบ 4 ด้านระยะห่างจากโคโลนีเชื้อราประมาณ 1 เซนติเมตร (รูปที่ 1)
4. ตรวจผลโดยวัดขนาดความกว้างของ Inhibition zone และ ขนาดของโคโลนีของเส้นใยของเชื้อราทดสอบที่ถูกยับยั้ง

คัดเลือก 5-6 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดไปทดสอบประสิทธิภาพในระดับโรงเรือนหรือบนพืชทดสอบ ต่อไป



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

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ในระดับโรงเรือน/ บนพืช

ปีที่ 1-3 (ต.ค. 2548 – ก.ย. 2551)

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก

ปฏิบัติดังนี้ :

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

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

3.นำผลพริกที่มีความสุกแก่สม่ำเสมอมาล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำมาเช็ดผิวเพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ผึ่งให้แห้ง

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

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

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

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

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

7. ตรวจผลโดยวัดขนาดของแผลบนผลพริกเปรียบเทียบกับชุด control ที่เวลา 7 วัน หลังทดสอบ

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสสาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ ในโรงเรือนทดลอง

โดยวิธีฉีดพ่น

2.2.1 <u>การเตรียมพืชทดสอบ</u> : คัดเลือกหอมหัวใหญ่ให้มีขนาดใกล้เคียงกัน หัวสะอาดปราศจากโรคแมลงทำลาย นำมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยการเช็ดด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 10 % นำไปวางในตะกร้าเพื่อให้ความชื้นประมาณ 3-4 วัน จนกระทั่งหอมหัวใหญ่มีรากงอกประมาณ 1-2 เซนติเมตรจากนั้นย้ายปลูกลงในกระถางจนกระทั่งอายุได้ 30 วัน จึงนำมาใช้ทดสอบ

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

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

มีกรรมวิธีเปรียบเทียบดังนี้

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

ตรวจผลโดยให้คะแนนความรุนแรงของโรคดังนี้

0 = ใบหอมหัวใหญ่ไม่แสดงอาการของโรค
1 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 1-10 % ของพื้นที่ใบ
2 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 11-25 % ของพื้นที่ใบ
3 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 26-50 % ของพื้นที่ใบ
4 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 51-75 % ของพื้นที่ใบ
5 = ใบหอมหัวใหญ่มีอาการใบจุด 76-100 % ของพื้นที่ใบ

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของ

มะเขือเทศ ในโรงเรือนทดลอง

ทดสอบโดยวิธี soil infestration ปฏิบัติการทดลองดังนี้

1. การเตรียมดินผสม

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

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

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

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

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

การเตรียมกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control +) ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1-3 โดยราดดินด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทน cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus sp.* ทดสอบ สำหรับ control – เตรียมโดยการปลูกมะเขือเทศทดสอบลงในดินอบฆ่าเชื้อ

4. ตรวจผลโดยนับจำนวนต้นเหี่ยว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรค

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของแตงกวา ในโรงเรือนทดลอง

ทดสอบโดยวิธี soil infestration

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

2. ราดดินด้วย cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus sp.* ทดสอบ ซึ่งผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ โดยคัดเลือกมา 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท 17G18 22W10 20W12 20W16 และ

17G15 ความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตรโดยราดในอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อกระถาง

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

การเตรียมกรรมวิธีเปรียบเทียบ ปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4

4. ตรวจผลโดยนับจำนวนต้นเหี่ยว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรคเปรียบเทียบกับจำนวนต้นมะเขือเทศทั้งหมด

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคไหม้ของพริกในโรงเรือนทดลอง

โดยวิธี Soil Infestration

1. การเตรียมดินผสม

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

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

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

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

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

3. ตรวจผลโดยนับจำนวนต้นที่แสดงอาการไหม้ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดโรค

ปีที่ 4 **(ต.ค.** 2551 **– ก.ย.** 2552)

1. **ทดสอบประสิทธิภาพของ** *Bacillus* sp. **ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา** *A. brassicicola* (Ab) **ในระดับโรงเรือนทดลอง**

ทดสอบโดยวิธีฉีดพ่น

- <u>การเตรียมพืชทดสอบ</u> : เพาะเมล็ดพันธุ์คะน้าลงในกระบะเพาะ จนกระทั่งคะน้ามีอายุประมาณ 21 วัน จากนั้นย้ายกล้าคะน้าที่เพาะไว้ ลงปลูกในกระถางปลูก 5 ต้นต่อกระถาง จำนวน 10 กระถาง ต่อซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำ ต่อ Bacillus 1 ไอโซเลท จนกระทั่งคะน้ามีอายุประมาณ 60 วัน จึงนำมาทดสอบ

- <u>การเตรียม cell suspension ของเชื้อรา *A. brassicicola*</u> : เลี้ยงเชื้อรา Ab บนอาหาร PDA ประมาณ 7 วัน ล้างสปอร์ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ให้มีความเข้มข้นของสปอร์ประมาณ 10^5 สปอร์/มิลลิลิตร นำ cell suspension ของเชื้อราที่ได้ ไว้ใช้ทดสอบต่อไป

- <u>การเตรียม cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus*</u> : นำแบคทีเรีย Bacillus 6 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเส้นใยเชื้อราในห้องปฏิบัติการได้แก่ 20W1 20W4 20W5 20W12 17G18 และ SA6 เลี้ยงในอาหาร PSA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาทำเป็น cell suspension ให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร เพื่อไว้ใช้ทดสอบต่อไป

- <u>วิธีการทดสอบ</u>

<u>วิธีการที่ 1</u> การฉีดป้องกัน : พ่น cell suspension ของ *Bacillus* sp. 6ไอโซเลท ลงบนคะน้า ให้ชุ่มทั้งใบและต้นด้วยกระบอกฉีดธรรมดา บ่มไว้ 24 ชม. จากนั้นจึงฉีดพ่นเชื้อรา Ab ตามโดยปฏิบัติเช่นเดียวกัน

<u>วิธีการที่ 2</u> การฉีดรักษา : พ่น cell suspension ของ Ab แล้วจึงพ่นด้วย *Bacillus* sp. โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับวิธีการที่ 1

มีกรรมวิธีเปรียบเทียบดังนี้

- กรรมวิธีฉีดพ่นด้วย cell suspension เชื้อรา Ab หลังจากครบ 24 ชั่วโมงแล้วฉีดพ่นด้วยน้ำเปล่า

- กรรมวิธีฉีดพ่นด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออย่างเดียว

ตรวจผลโดยให้เป็นเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเปรียบเทียบกับพื้นที่ใบทั้งหมด

2. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสสาเหตุจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนผลมะม่วง โดยวิธีจุ่มผลมะม่วง

ปฏิบัติดังนี้ :

1. เลี้ยงเชื้อ *Bacillus sp.* จำนวน 5 ไอโซเลท ซึ่งผ่านการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการแล้ว ได้แก่ ไอโซเลท ไอโซเลท 20W1 20W5 20W16 20W17 และ 20W18 ลงบนอาหาร PSA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

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

3.นำผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ มาล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำมาเช็ดผิวเพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ผึ่งให้แห้ง

4. นำผลมะม่วงที่เตรียมไว้แช่ลงใน cell suspension ของ *Bacillus* sp. ทั้ง 5 ไอโซเลท เป็นเวลา 30 นาที นำไปบ่มในกล่องพลาสติกเพื่อให้ความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5. ใช้ cock borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรเจาะเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นPDA นำมาวางลงบนผลพริกซึ่งทำแผลไว้ โดยให้ส่วนของเส้นใยเชื้อราสัมผัสกับผิวผลมะม่วง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงจึงนำชิ้นส่วนของอาหารวุ้นออก

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

6.1 การเตรียม C^+ ปฏิบัติเช่นเดียวกับ 1-5 แต่ชุบผลมะม่วงด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทน cell suspension ของ *Bacillus sp.* แล้วจึงวางด้วยเชื้อ *C. gloeosporioides*

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

7. ตรวจผลโดยวัดขนาดของแผลของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะม่วงเปรียบเทียบกับชุด control ที่เวลา 7 วันหลังทดสอบ

เวลาและสถานที่ **เริ่มต้น** ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2552
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปีที 1-3 (**ปีที่** 1-3 (**ต.ค.** 2548 – **ก.ย.** 2551)

1. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา สาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ในห้องปฏิบัติการ

1.1 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA ได้แก่ ไอโซเลท 20W16 20W8 19W36 20W5 17G18 20W3 20W4 20W10 2G7 และ 20W1 โดยแบคทีเรียสร้างสารชนิดหนึ่งขึ้นมายับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่ให้แผ่ขยายบนพื้นผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ปรากฏเป็นพื้นที่ใส ๆ บนอาหารที่เรียกว่า Inhibition zone (รูปที่ 2) โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.41-1.87 เซนติเมตร โดย 5 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท 20W16 20 W8 19W36 20W5 และ 17G18 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.87 1.17 0.95 0.94 และ 0.93 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

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

1.2 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ

ผลการทดสอบพบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *F.oxysporum* สูงสุด ได้แก่ 2G4 22W10 20W12 17G18 20W4 20W16 20W5 20W10 17G15 และ20W8 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ

0.55 -1.07 เซนติเมตร โดย 5ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone สูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท 2G4 22W10 20W12 17G18 และ20W4 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 1.07 0.96 0.87 0.81 และ 0.80 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

1.3 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา

ผลการทดสอบพบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *F. solani* ได้แก่ 17G18 22W10 20W12 20W16 17G15 20W5 20W4 2G4 19W42 และ 20W8 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.65-1.17 เซนติเมตรโดย 5ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone สูงสุด ได้แก่ ไอโซเลท 17G18 20W110 20W12 22W16 และ 17G15 โดยมีค่า เท่ากับ 1.17 1.12 1.08 1.07 และ 1.01 เซนติเมตรตาม ลำดับ (ตารางที่ 3)

1.4 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่

ผลการทดสอบ พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้แก่ 22W10 20W8 17G18 20W12 20W1 2G4 20W16 20W5 20W4 และ 17G19 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.25 – 0.85 เซนติเมตร โดย 5 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด ได้แก่ 22W10 20W8 17G18 20W12 20W1โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.85 0.82 0.81 0.69 และ0.62 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

1.5 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริก

ผลการทดสอบ พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้แก่ 20W16 20W8 20W1 17G18 20W12 20W17 20W24 17G14 20W18 และ20W4โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.72-0.99 เซนติเมตร โดย 5 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด ได้แก่ 20W16 20W8 20W1 17G18 และ 20W12 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.99 0.93 0.92 0.92 และ0.89 เซนติเมตร (ตารางที่ 5)

1.6 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ชุดที่ 1

ผลการทดสอบ พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *A. brassicicola* ได้แก่ 20W4 20W1 20W5 20W12 17G18 20W16 20W10 20W2(1) 17G14 และ20W17 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 1.09-1.68 เซนติเมตร โดย 5 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้สูงสุด ได้แก่ 20W4 20W1 20W5 20W12 และ17G18 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ1.68 1.60 1.58 1.46 และ 1.36 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

1.7 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง

ผลการทดสอบ พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้แก่ 20W1 20W16 20W5 20W17 20W18 20W12 17G14 17G18 1G7 และ20W4 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.69-1.17 เซนติเมตร โดย 5 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ได้แก่ 20W1 20W16 20W5 20W17 และ 20W18 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 1.17 1.13 1.03 0.99 และ0.95 ตามลำดับ (ตารางที่ 7) ซึ่งจะนำ 5 ไอโซเลทนี้ไปทดสอบประสิทธิภาพบนผลมะม่วงต่อไป

1.8 ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคลำต้นเน่าถั่วลิสง

ผลการทดสอบ พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfsii* ได้แก่ 20W16 20W5 20W24 20W21 20W1 20W17 17G18 2G4 20W23(1) และ 17G5 โดย 5 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด 20W16 20W5 20W24 20W21 และ20W1 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ inhibition zone เท่ากับ 0.84 0.81 0.80 0.76 0.75 0.68 0.67 0.63 0.62 และ 0.59 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ในปีพ.ศ. 2551-2552 จะทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *A. brassicicola* และ *S. rolfsii* เพิ่มเติมอีก 1 ชุดทดสอบ เพื่อคัดเลือก *Bacillus* sp. เพิ่มเติมก่อนนำไปทดสอบในระดับโรงเรือนต่อไป

2. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรค
โนสบนผลพริก

ผลการทดลองพบว่า มีแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 13 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก โดยมีขนาดของพื้นที่แผลของโรคเท่ากับ 0.9-0.034 ตารางเซนติเมตร ซึ่งมีขนาดต่ำกว่ากรรมวิธีเปรียบเทียบ ซึ่งมีขนาดของแผลโรคแอนแทรคโนสเท่ากับ 1.35

ตารางเซนติเมตร โดยพบว่า ไอโซเลท 20W16 22 W8 และ 1G8 สามารถควบคุมการเกิดโรคบนผลพริกได้สูงสุด โดยมีขนาดของพื้นที่แผลของโรคเท่ากับ 0.034 0.09 และ 0.179 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าจะมองเห็นเป็นเพียงจุดเล็กๆเท่านั้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า 3 ไอโซเลทดังกล่าวสามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกได้เกือบ 100 % เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบซึ่งปรากฏพื้นที่แผลของโรคถึง 1.35 ตารางเซนติเมตร (ตารางที่ 9)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสสาเหตุโรคหอมเลื้อย ของหอมหัวใหญ่ ในโรงเรือนทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า หลังการทดสอบ 3 วัน ทั้ง 5 ไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคหอมเลื้อยได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 100 % โดยที่ไอโซเลท 22W10 และ 20W8 สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ 100% คือหอมใหญ่ไม่แสดงอาการของโรคเลย (ตารางที่ 10)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในโรงเรือนทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า หลังการทดสอบ 35 วัน แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้ง 5 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบ ได้แก่ 2G4 22W10 20W12 17G18 และ 20W4 สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมะเขือเทศไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยวเลย เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมซึ่งไม่มีการราดด้วย cell suspension ของ *Bacillus* sp. ต้นมะเขือเทศแสดงอาการเป็นโรคเหี่ยวถึง 100 % (ตารางที่ 11)

5. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของแตงกวา ในโรงเรือนทดลอง

หลังการทดสอบ 15 วัน เมล็ดแตงกวางอกเจริญเป็นต้นสมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้ว โดยตรวจสอบเปรียบเทียบการงอกกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control -) ผลการทดลอง พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของแตงกวา 100 เปอร์เซ็นต์ โดยแตงกวาไม่แสดงอาการของโรคเหี่ยว เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control +) ซึ่งแตงกวาเป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวรองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 20W12 และ17G15 ซึ่งแตงกวาแสดงอาการของโรคเหี่ยวเพียง 8.3 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

6. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคไหม้ของพริกในโรงเรือนทดลอง

หลังการทดสอบ 5 วัน พริกทดสอบเริ่มแสดงอาการใบไหม้ โดยเริ่มแรกใบจะมีจุดแผลสีดำ หลังจากนั้นลามไปทั้งใบและต้น เมื่ออาการรุนแรง อาการไหม้จะลามทั้งต้น ทำให้พริกยืนต้นตาย หลังการทดสอบ 9 วัน ซึ่งกรรมวิธีเปรียบเทียบ (control+) แสดงอาการของโรค 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลท 20W16 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้พริกสูงสุด 79.17 เปอร์เซ็นต์ คือ พริกแสดงอาการของโรคไหม้คิดเป็น 20.83 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนต้นพริกทั้งหมด (ตารางที่ 13)

ปีที่ 4 (ต.ค. 2551 – ก.ย. 2552)

1. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* ในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้สกุลแวนด้า ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้สกุลแวนด้า พบว่า มี *Bacillus* sp. 14 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* โดย 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* ได้แก่ 2G19 19W42 1G8 (2) 3G23 2G23 20W26 17G11 3W14 22W11 และ 20W33 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone เท่ากับ 0.88 0.78 0.78 0.74 0.70 0.39 0.35 0.20 0.08 และ 0.06 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

2. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ในห้องปฏิบัติการ ชุดที่ 2

ผลการทดลองพบว่า มี *Bacillus* sp. 48 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* โดย 10 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ในการยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* คือ SA6 20W1 9W14 KA15 20W21 KA16 16W3 KA2 KA3 และ KA14 โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone เท่ากับ 1.66 1.42 1.35 1.33 1.33 1.30 1.28 1.27 1.27 และ1.25 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 15)

3. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *A. brassicicola* ในระดับโรงเรือน

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าโดยการพ่น *Bacillus* sp. ก่อนพ่นเชื้อรา Ab พบว่า ทุกไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับ

กรรมวิธีควบคุม โดยไอโซเลท 20W1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดการเกิดโรค รองลงมา ได้แก่ 20W5 20W4 20W12 SA6 และ 17G18 โดยมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 46.77 52.81 59.99 60.45 62.01 และ71.31 ตามลำดับ ทั้งนี้กรรมวิธีควบคุมมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 73.79 สำหรับกรรมวิธีการพ่นเชื้อรา Ab ก่อนพ่น Bacillus sp. พบว่า ไอโซเลท 20W12 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค และจากผลการทดลองพบว่า การพ่นแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทุกไอโซเลทก่อนการพ่นเชื้อรา Ab เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่าการพ่น Ab ก่อนพ่น *Bacillus* sp. (ตารางที่ 16)

4. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส มะม่วง ในห้องปฏิบัติการ ชุดที่ 2

ผลการทดลอง พบว่า ชุดที่ 2 มี *Bacillus* sp. 48 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในห้องปฏิบัติการ โดย 5 อันดับที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในชุดที่ 2 ได้แก่ ไอโซเลท KA2 9W14 KA16 KA3 และ SA9 (= SA4) (ตารางที่ 17)

5. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส บนผลมะม่วง

ผลการทดสอบ พบว่า การจุ่มผลมะม่วงด้วย cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่ผ่านการคัดเลือกจากชุดที่ 1 จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 20W1 20W5 20W16 20W17 และ 20W18 มาทดสอบบนผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ พบว่า ไอโซเลท 20W18 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเกิดโรคบนผลมะม่วง รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 20W5 20W17 20W16 และ 20W17 โดยมีค่าเฉลี่ยพื้นที่แผลโรคเท่ากับ 1.16 1.26 1.39 1.50 1.58 ซม. ตามลำดับ (ตารางที่ 18)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

งานทดลองปีที่ 1 – 3 (ปีที่ 1-3 (ต.ค. 2548 – ก.ย. 2551) สรุปได้ว่า แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* จำนวน 79 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก เชื้อรา *F. oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ เชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวแตงกวา เชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ และเชื้อรา *P. capsici* สาเหตุโรคไหม้ในพริก ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า มีแบคทีเรีย 37 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราทดสอบดังกล่าวได้ มี 5 ไอโซเลท ได้แก่ 20W8 20W5 20W4 20W16 1G8 และ 17G18 ที่สามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราทดสอบทุกตัว ในการทดสอบการควบคุมโรคในระดับเรือนทดลอง พบว่า ไอโซเลท 17G18 สามารถควบคุมโรคพืช

ทดสอบทุกโรค โดยสามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวในแตงกวาและมะเขือเทศ ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมโรคแอนแทรคโนสพริก โรคหอมเลื้อยในหอมหัวใหญ่ และโรคไหม้พริก ได้ 99.46 90.50 และ 56.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

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

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

ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา 3 ชนิด และสามารถคัดเลือก 5 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ไอโซเลท 20W4 20W1 20W5 20W12 และ17G18 ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ไอโซเลท 20W1 20W16 20W5 20W17 และ 20W18 และ 20W18 ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง และไอโซเลท 20W16 20W5 20W24 20W21 และ20W1 ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุโรคลำต้นเน่าถั่วลิสง

งานทดลองในปีที่ 4 การทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ สรุปได้ว่า แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้สกุลแวนด้า ได้แก่ 2G19 19W42 1G8 (2) 3G23 2G23 ยับยั้งเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุโรคใบจุด ได้แก่ SA6 20W1 9W14 KA15 20W21 และยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง ได้แก่ KA2 9W14 KA16 KA3 และ SA9(= SA4)

การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า ในระดับโรงเรือน พบว่า การพ่น *Bacillus* sp. ก่อนพ่นเชื้อรา Ab ทุกไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม โดยไอโซเลท 20W1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดการเกิดโรค รองลงมา ได้แก่ 20W5 20W4 20W12 SA6 และ 17G18 ตามลำดับ สำหรับกรรมวิธีการพ่นเชื้อรา Ab ก่อนพ่น *Bacillus* sp. พบว่า ไอโซเลท 20W12 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรค และจากผลการทดลองพบว่า การพ่นแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ก่อนการพ่นเชื้อรา Ab เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่าการพ่น Ab ก่อนพ่น *Bacillus* sp.

การทดสอบการจุ่มผลมะม่วงด้วย cell suspension ของแบคทีเรีย *Bacillu*s sp. จำนวน 5 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท 20W18 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเกิดโรคบนผลมะม่วง รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท 20W5 20W17 20W16 และ 20W17 ตามลำดับ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณอภิรัชต์ สมฤทธิ์ ดร.ศิริพงษ์ คุ้มภัย ดร.ศรีสุข พูนผลกุล และดร.ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราโรคพืชและแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ที่นำมาใช้ในการทดลองนี้

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

สุปรียา หมื่นกุล นิวัฒ เสนาะเมือง พิศาล ศิริธร และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล .2546. ประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ของ *Bacillus* sp. จากแหล่งต่างๆ ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิด. *ใน* Annual Agricultural Seminar for Year 2003,27-28 January,KKU. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีที่ 1-3 (ปีที่ 1-3 (ต.ค. 2548 – ก.ย. 2551)

ตารางที่ 1 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสพริก ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
20W16	1.87
20W8	1.17
19W36	0.95
20W5	0.94
17G18	0.93
20W3	0.90
20W4	0.80
22W10	0.70
2G7	0.43
20W1	0.41

ตารางที่ 2 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
2G4	1.07
22W10	0.96
20W12	0.87
17G18	0.81
20W4	0.80
20W16	0.79
20W5	0.78
20W10	0.71
17G15	0.64
20W8	0.55

ตารางที่ 3 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Fusarium solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของแตงกวา ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
17G18	1.17
22W10	1.12
20W12	1.08
20W16	1.07
17G15	1.01
20W5	0.93
20W4	0.81
2G4	0.83
19W42	0.78
20W8	0.65

ตารางที่ 4 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคหอมเลื้อยของหอมหัวใหญ่ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
22W10	0.85
20W8	0.82
17G18	0.81
20W12	0.69
20W1	0.62
2G4	0.57
20W16	0.57
20W5	0.54
20W4	0.41
17G19	0.25

ตารางที่ 5 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Phytopthora capsici* สาเหตุโรคไหม้ของพริก ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
20W16	0.99
20W8	0.93
20W1	0.92
17G18	0.92
20W12	0.89
20W17	0.86
20W24	0.83
17G14	0.82
20W18	0.76
20W4	0.72

ตารางที่ 6 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ชุดที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
20W4	1.68
20W1	1.60
20W5	1.58
20W12	1.46
17G18	1.36
20W16	1.29
20W10	1.19
20W2(1)	1.18
17G14	1.12
20W17	1.09

ตารางที่ 7 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสมะม่วง ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
20W1	1.17
20W16	1.13
20W5	1.03
20W17	0.99
20W18	0.95
20W12	0.94
17G14	0.93
17G18	0.90
1G7	0.89
20W4	0.69

ตารางที่ 8 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfsiis* สาเหตุโรคลำต้นเน่าถั่วลิสง ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
20W16	0.84
20W5	0.81
20W24	0.80
20W21	0.76
20W1	0.75
20W17	0.68
17G18	0.67
2G4	0.63
20W23(1)	0.62
17G5	0.59

ตารางที่ 9 พื้นที่แผลโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลพริกที่ถูกยับยั้งโดยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 18 ไอโซเลท

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

ตารางที่ 10 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคหอมเลื้อยที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งควบคุมด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลท ที่ 72 ชั่วโมง หลังการทดสอบ ในโรงเรือนทดลอง

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

ตารางที่ 11 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ซึ่งควบคุมด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลท ที่ 35 วัน หลังการทดสอบในโรงเรือนทดลอง

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

ตารางที่ 12 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวแตงกวา ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium solani* ซึ่งควบคุมด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลท ที่ 10 และ 15 วัน หลังการทดสอบ ในโรงเรือนทดลอง

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

[1/] Day after inoculation

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไหม้พริกที่เกิดจากเชื้อรา *Phytopthora capsici* ซึ่งควบคุมด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลท ที่ 9 วันหลังการทดสอบในโรงเรือนทดลอง

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

ปีที่ 4 **(ต.ค.** 2551 **– ก.ย.** 2552)

ตารางที่ 14 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Phytopthora palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำกล้วยไม้สกุลแวนด้า ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
2G19	0.88
19W42	0.78
1G8 (2)	0.78
3G23	0.74
2G23	0.70
20W26	0.39
17G11	0.35
3W14	0.2
22W11	0.08
20W33	0.06

ตารางที่ 15 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้า ชุดที่ 2 ในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
SA6	1.66
20W1	1.42
9W14	1.35
KA15	1.33
20W21	1.33
KA16	1.30
16W3	1.28
KA2	1.27
KA3	1.27
KA14	1.25

ตารางที่ 16 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola* (Ab) ซึ่งควบคุมด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 6 ไอโซเลท ที่ 21 วัน หลังการทดสอบ ในโรงเรือนทดลอง

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (%)	
	T1[1/]	T2[2/]
20W1	46.77	66.38
20W5	52.81	59.02
20W4	59.99	67.26
20W12	60.45	52.20
SA6	62.01	90.43
17G18	71.31	87.21
Control (-)	0.00	0.00
Control (+)	73.79	73.79

[1/] พ่น *Bacillus* sp. ก่อนพ่น Ab [2/] พ่น Ab ก่อนพ่น *Bacillus* sp.

ตารางที่ 17 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส มะม่วง ในห้องปฏิบัติการ ชุดที่ 2

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความกว้างของ Inhibition zone (เซนติเมตร)
KA2	1.23
9W14	1.17
KA16	1.07
KA3	1.05
SA9	0.95
SA4	0.95
19W14	0.90
KA15	0.88
CHA10	0.83
3W14	0.82

ตารางที่ 18 พื้นที่แผลโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนผลมะม่วงที่ถูกยับยั้งโดยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 5 ไอโซเลท

ไอโ.ซเลท	ค่าเฉลี่ยพื้นที่แผลโรค (ตารางเซนติเมตร)
20W18	1.16
20W5	1.26
20W17	1.39
2OW16	1.50
2OW1	1.58
Control (-)	0.00
Control (+)	1.92

การสำรวจและรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* และเชื้อไวรัส NPV

Survey, Collection and Identification of *Bacillus thuringiensis* and Nuclear Polyhedrosis Virus

อิศเรส เทียนทัด อัจฉรา ตันติโชดก สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างดิน วัสดุทางการเกษตร และซากพืชจากจังหวัดสุราษฎ์ฐานี เพชรบุรี ขอนแก่น นครราชสีมาและชัยภูมิ จำนวน 169 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 143 isolates นำเชื้อ Bt isolate ที่แยกได้จากตัวอย่างดินและทดสอบ insecticidal activity กับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักแล้วจำนวน 48 isolates มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า เชื้อ Bt มีการสร้างเซลล์และสปอร์เป็นรูปแท่ง ซึ่งขนาดของเซลล์และสปอร์ของแต่ละ isolate ส่วนใหญ่จะมีขนาดใกล้เคียงกัน ส่วนผลึกโปรตีน(parasporal inclusion body) ที่ Bt แต่ละ isolate สร้างขึ้นจะมีรูปร่างแบบ bipyramid เพียงรูปแบบเดียว และได้ทำการศึกษาขนาดของผลึกโปรตีนโดยเทคนิค SDS-PAGE โดยใช้เชื้อ *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* และ *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 เป็นเชื้อมาตรฐานในการเปรียบเทียบ และใช้ protein molecular weight marker เป็น standard marker ซึ่งประกอบไปด้วยแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 116, 66.2, 45, และ 35 กิโลดาลตัน จากการศึกษาพบว่า ลักษณะของผลึกโปรตีนของ Bt isolate, *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* และ *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 ประกอบด้วยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาด 130-138 กิโลดาลตัน ซึ่งขนาดน้ำหนักของโมเลกุลดังกล่าวจะเป็นโปรตีนที่อยู่ในกลุ่มโปรตีน Cry1 ซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนที่มีพิษต่อแมลงในอันดับ Lepidoptera

---

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-17-49

คำนำ

ปัจจุบันทุกฝ่ายได้ตระหนักถึงอันตรายจากสารฆ่าแมลงที่มีต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภค ตลอดจนผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม จากการเข้าเป็นสมาชิกองค์การการค้าโลกประเทศไทยต้องปฏิบัติตามข้อตกลง ที่ว่าด้วยการใช้มาตราการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phyto-sanitary Measures (SPS) โดยใช้สุขอนามัยผู้บริโภคและปริมาณสารพิษตกค้างของพืชผักและผลไม้เป็นตัวกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ประเทศไทยจึงได้รับผลกระทบโดยตรง เนื่องจากมีการใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืชมาก ปริมาณพิษตกค้างบนผลิตภัณฑ์ มักพบว่าสูงเกินค่าความปลอดภัยอยู่เสมอเป็นผลให้ผลิตภัณฑ์ไม่ได้คุณภาพตามที่ต้องการ ทำให้ไม่สามารถส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศได้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้ดำเนินการที่จะลดปัญหาดังกล่าวโดยการห้ามการจำหน่ายสารฆ่าแมลงที่มีฤทธิ์รุนแรงและมีฤทธิ์ตกค้างนาน ให้มีการตรวจสอบและออกใบรับรองพืช 12 ชนิดที่พบว่ามีพิษตกค้างสูงก่อนที่จะส่งออกไปต่างประเทศ เพื่อลดปัญหาดังกล่าวการค้นคว้าวิจัยและพัฒนาเพื่อนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชทดแทนสารเคมีกำจัดแมลง จึงเป็นสิ่งที่จำเป็น เพื่อให้เกษตรกรได้มีทางเลือกนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช เชื้อ *Bacillus thuringiensis* เป็นจุลินทรีย์ที่พบในประเทศไทยมีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อแมลงเป้าหมายปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ แมลงศัตรูธรรมชาติและแมลงที่มีประโยชน์และต่อสิ่งแวดล้อม ได้ผ่านการทดสอบจาก US Environmental Protection Agency ประเทศสหรัฐอเมริกาและเป็นที่ยอมรับและนำไปใช้ในประเทศที่พัฒนาแล้ว การนำเชื้อ *Bacillus thuringiensis* จะช่วยแก้ปัญหาผลกระทบของสารเคมีกำจัดแมลงต่อประชาชน ทำให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้เพื่อผลิตพืชที่ได้คุณภาพผลผลิตไม่ลดลงและต้นทุนการผลิตไม่เพิ่มขึ้น

วิธีดำเนินการ

ขั้นตอนที่ 1 ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างดินในแหล่งต่าง ๆ ของประเทศ สำรวจและรวบรวมเชื้อไวรัส SeNPV, HaNPV และ SlNPV ในแหล่งที่มีการระบาดของหนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนกระทู้ผัก

ขั้นตอนที่ 2 ทำการแยกเชื้อ *Bacillus thuringiensis* จากตัวอย่างดินที่เก็บได้และนำตัวอย่างไวรัส SeNPV, HaNPV และไวรัส SlNPV มาทำให้บริสุทธิ์ และเก็บรวบรวมไว้

ขั้นตอนที่ 3 ตรวจจำแนกชนิดของ *Bacillus thuringiensis* โดยศึกษาโครงสร้างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติของของ crystal toxin ด้วยวิธี sodium dodecyl sulfate polyacryamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) และ เทคนิค PCR และทำการศึกษารูปร่างลักษณะของผลึกโปรตีนที่ห่อหุ้มอนุภาคไวรัส (polyhedral inclusion bodies) และอนุภาคไวรัส

(nucleocapsid) ด้วยกล้อง light microscope และ scanning electron microscope ศึกษาโครงสร้างของ polypeptide ของผลึกโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลแหล่งที่เก็บตัวอย่างแมลง ชนิดพืชที่แมลงทำลาย ท้องที่ตำบล อำเภอ จังหวัด

- บันทึกรูปร่างและลักษณะ และขนาดของไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้ายและหนอนกระทู้ผักที่พบจากตัวอย่างหนอนที่เก็บได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกผลของประสิทธิภาพของไวรัส NPV ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์กับหนอนทดลองวิเคราะห์ประสิทธิภาพในรูปของ Median lethal dose

- บันทึกรูปแบบและน้ำหนักโมเลกุลของ crystal toxin ของ Bt แต่ละ isolate พร้อมบันทึกภาพของแถบโมเลกุลและโปรตีนที่แยกได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างดิน วัสดุทางการเกษตร และซากพืชจากจังหวัดสุราษฎร์ฐานี เพชรบุรี ขอนแก่น นครราชสีมาและชัยภูมิ จำนวน 169 ตัวอย่าง ได้เชื้อ Bt isolate จำนวน 143 isolates นำเชื้อ Bt isolate ที่แยกได้จากตัวอย่างดินและทดสอบ insecticidal activity กับหนอนกระทู้หอมและหนอนกระทู้ผักแล้วจำนวน 48 isolates มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า เชื้อ Bt มีการสร้างเซลล์และสปอร์เป็นรูปแท่ง ซึ่งขนาดของเซลล์และสปอร์ของแต่ละ isolate ส่วนใหญ่จะมีขนาดใกล้เคียงกัน ส่วนผลึกโปรตีน(parasporal inclusion body) ที่ Bt แต่ละ isolate สร้างขึ้นจะมีรูปร่างแบบ bipyramid เพียงรูปแบบเดียว และได้ทำการศึกษาขนาดของผลึกโปรตีนโดยเทคนิค SDS-PAGE โดยใช้เชื้อ *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* และ *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 เป็นเชื้อมาตรฐานในการเปรียบเทียบ และใช้ protein molecular weight marker เป็น standard marker ซึ่งประกอบไปด้วยแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 116, 66.2, 45, และ 35 กิโลดาลตัน จากการศึกษาพบว่า ลักษณะของผลึกโปรตีนของ Bt isolate, *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* และ *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 ประกอบด้วยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาด 130-138 กิโลดาลตัน ซึ่งขนาดน้ำหนักของโมเลกุลดังกล่าวจะเป็นโปรตีนที่อยู่ในกลุ่มโปรตีน Cry1 ซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนที่มีพิษต่อแมลงในอันดับ Lepidoptera

การสำรวจ รวบรวม ตรวจจำแนกสายพันธุ์ปรสิตโปรโตซัว *Sarcocystis singaporensis*

Survey, Collection and Identification of *Sarcocystis singaporensis* variety

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ ดาราพร รินทะรักษ์
กรแก้ว เสือสะอาด ปราสาททอง พรหมเกิด
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

-

คำนำ

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

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-18-49

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

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

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างหนูจากพื้นที่ต่างๆ มาตรวจหาปรสิตโปรโตซัวในทุกส่วนของอวัยวะ และเก็บตัวอย่างมูลงูเหลือมมาตรวจหาสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัว ในห้องปฏิบัติการ

2. ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างโปรโตซัวที่พบ โดยขบวนการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา ทั้งโดยวิธี transmission electron microscope

3. ศึกษาหาวิธีเก็บรักษาเชื้อโปรโตซัวที่มีมีศักยภาพสูงในการทำให้เกิดโรคเพื่อใช้เป็น stock เชื้อ ในการผลิตสารชีวินทรีย์กำจัดหนู

การบันทึกข้อมูล

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

ระยะเวลาและสถานที่

ดำเนินการศึกษาตั้งเดือนตุลาคม 2548 ถึงเดือนกันยายน 2553 ในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร และดักจับหนูศัตรูจากแหล่งทำการเกษตร เช่น สวนปาล์มน้ำมัน ฯลฯ และภายในบริเวณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และตลาดเทศบาล

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาเบื้องต้น พบซาร์โคซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูท้องขาว ที่ดักจับจากแหล่งรกร้าง และสวนสัตว์ ในจังหวัดนครราชสีมา มี 1 สายพันธุ์ แพร่ 1 สายพันธุ์ และจากสุราษฎร์ธานี 1 สายพันธุ์ การศึกษายังไม่สิ้นสุดและดำเนินต่อไป และการทดสอบเชื้อโปรโตซัวระยะสปอร์โรซีสต์จากงูเหลือมหมายเลข 5 ที่เก็บรักษาในตู้เย็นนาน 7 เดือน กับหนูท้องขาว พบว่ายังมีความรุนแรงของการทำให้เกิดโรคสูง(หนูตาย 100%) นอกจากนี้ยังพบซาร์โคซีสต์ของ *Sarcocystis singaporensis* ในกล้ามเนื้อลำตัวหนูพุกใหญ่ และหนูท้องขาว ที่ดักจับจากแปลงทดสอบพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี กระบี่ กาญจนบุรี ทำการเก็บตัวอย่างโปรโตซัว เพื่อศึกษาด้าน histology และได้ให้หนูติดเชื้อปรสิตโปรโตซัวแก่งูเหลือมจำนวน 4 ตัว เพื่อตรวจสอบลักษณะสปอร์โรซีสต์ของโปรโตซัว นอกจากนี้ จากการให้หนูท้องขาวที่ดักได้จากสวนปาล์มน้ำมันที่จังหวัดสุราษฎรธานีแก่งูเหลือมหมายเลข 28 พบว่า สปอร์โรซีสต์ที่ได้มีความรุนแรงของโรคที่เกิดกับหนูสูง และได้ทำการสลายผนังสปอร์โรซีสต์ นำโปรโตซัวนี้มาแช่แข็ง เพื่อเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว เพื่อการศึกษาด้านอนุกรมวิธานต่อไป การศึกษายังไม่สิ้นสุดและยังดำเนินการต่อไป

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

สำรวจรวบรวมแมลงศัตรูสบู่ดำ: physic nut; *Jatropha curcas* Linnaeus ในแหล่งปลูกสบู่ดำ จังหวัดนครราชสีมา เชียงใหม่ กาญจนบุรีและระยอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้ไปศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน เพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบแมลงศัตรูเข้าทำลายสบู่ดำ 3 ชนิด ได้แก่มวนหลังแข็งสบู่ดำ: physic nut bug; *Chrysocoria grandis* Thuberg วงศ์ Scutelleridae อันดับ Hemiptera เพลี้ยแป้งลาย: striped mealybug; *Ferrisia virgata* (Cockerell) วงศ์ Pseudococcidae อันดับ Homoptera และเพลี้ยไฟโกโก้: cocoa thrips; *Selenothrips rubrocinctus* Giard การวิจัยเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2553

คำนำ

วิกฤตการณ์น้ำมันเชื้อเพลิงที่มีราคาสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทำให้รัฐบาลมีนโยบายส่งเสริมการปลูกพืชที่มีศักยภาพในการผลิตเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน สบู่ดำ physic nut, purging nut : *Jatropha curcas* Linnaeus วงศ์ Euphorbiaceae เป็นพืชชนิดหนึ่งที่เมล็ดมีปริมาณน้ำมันถึงร้อยละ 30–35 ของน้ำหนักเมล็ด น้ำมันที่ได้ใช้ได้ดีกับเครื่องยนต์ดีเซลโดยไม่ต้องผสมกับน้ำมันเครื่องชนิดอื่น ดังนั้นในปี 2549 – 2555 รัฐบาลจึงเริ่มโครงการส่งเสริมการปลูกสบู่ดำในช่วงปีแรกๆ ได้ผลผลิตเพียง 300 –500 กิโลกรัม/ไร่/ปี ซึ่งไม่เพียงพอเพื่อผลิตทดแทนพลังงานระดับอุตสาหกรรมที่ต้องการผลผลิตถึง 1,500 กิโลกรัม/ไร่/ปี ในการผลิตสบู่ดำเพื่อให้ได้ผลผลิตตามที่ต้องการ นอกจากจะต้องเร่งพัฒนาเรื่องพันธุ์และการปลูกเป็นสำคัญแล้ว แมลงศัตรูสบู่ดำก็เป็นปัจจัยหลักที่เข้าทำลายทำให้ผลผลิตของสบู่ดำลดลง สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับแมลงศัตรูสบู่ดำ เตือนจิตต์และคณะ(2525) ได้รายงานถึงกลุ่มแมลงศัตรูสบู่ดำ ซึ่งมีทั้งประเภทปากกัดและปาก

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-35-51

ดูด แต่ไม่มีรายงานการศึกษาถึงชนิด (species)ในด้านอนุกรมวิธาน ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานแมลงที่เข้าทำลายสบู่ดำในครั้งนี้ ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างมาก ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการจัดการแมลงศัตรูสบู่ดำที่ถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างแมลงศัตรูสบู่ดำ อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดฆ่าแมลง ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ขวดดองแมลง สารเคมีต่างๆ เช่น สารเอททิลอะซิเตท แอลกอฮอล์ 70-80% AGA (น้ำยาเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟ) อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง โดยวิธีการอบแห้ง ได้แก่ เข็มปักแมลง ไม้จัดรูปร่างแมลง (setting board) ปากคีบ ตู้อบแมลง อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่นแอลกอฮอล์ 60-100% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ไซลีน โคลฟออย แคนาดาบัลซัม บีคเกอร์ เตาไฟฟ้า แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูสบู่ดำจากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูสบู่ดำจากแปลงปลูกทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่ง ต้น หรือดอก เพื่อให้แมลงศัตรูตกลงบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ / กิ่ง / ยอดของสบู่ดำที่มีแมลงศัตรูเกาะอาศัยด้วยกรรไกรตัดกิ่ง ใช้พู่กันเขี่ยแมลงศัตรูที่พบใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง หรือนำตัวอย่างแมลงศัตรูพร้อมส่วนของสบู่ดำใส่ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษเก็บตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น ภายในบรรจุน้ำแข็งแห้งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน หนอนผีเสื้อ หนอนแมลงวันผลไม้ ฯลฯ ต้องนำตัวอย่างไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรู ได้แก่ ส่วนของสบู่ดำที่พบแมลงศัตรู ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ นำตัวอย่างที่บันทึกรายละเอียดไปจัดเตรียมตัวอย่างแมลง เพื่อวิเคราะห์ชนิดโดยการจัดรูปร่าง หรือทำสไลด์ถาวรและอบให้แห้ง นำตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล้องจุลทรรศน์ ประกอบกับเอกสารของศิริณี(2544) และ องุ่น(2544) รวมทั้งศึกษาจากตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง จัดทำป้ายและบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร วัน / เดือน / ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งวัน / เดือน / ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด นำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยทั้งหมด เก็บ

รักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของพิพิธภัณฑ์ เพื่อใช้ในการตรวจสอบ สืบค้นและอ้างอิง

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2552

1. แปลงปลูกสบู่ดำทุกภาคของประเทศไทย
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

พบแมลงศัตรูสบู่ดำ 3 ชนิด ได้แก่ มวนหลังแข็งสบู่ดำ: physic nut bug; *Chrysocoris grandis* Thuberg วงศ์ Scutelleridae อันดับ Hemiptera เข้าทำลายโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ช่อดอกและผล เพลี้ยแป้งลาย: striped mealybug; *Ferrisia virgata* (Cockerell) วงศ์ Pseudococcidae อันอับ Homoptera ทำลายสบู่ดำโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบและยอดอ่อน และพบเพลี้ยไฟโกโก้: cacoa thrips: *Selenothrips rubrocinctus* Giard วงศ์ Thripidae อันดับ Thysanoptera เข้าทำลายใบ แมลงศัตรูทั้ง 3 ชนิด พบในแปลงปลูกสบู่ดำทุกภาคของประเทศไทย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงศัตรูสบู่ดำ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 ในแปลงปลูกสบู่ดำ จังหวัดนครราชสีมา เชียงใหม่ กาญจนบุรี ระยอง พบแมลงศัตรูสบู่ดำ 3 ชนิด ได้แก่ มวนหลังแข็งสบู่ดำ: physic nut bug; *Chrysocoris grandis* Thuberg เพลี้ยแป้งลาย: striped mealybug; *Ferrisia virgata* (Cockerell) และเพลี้ยไฟโกโก้: cocoa thrips; *Selenothrips rubrocinctus* Giard แมลงศัตรูทั้ง 3 ชนิด เข้าทำลายสบู่ดำในแหล่งปลูกทุกภาคของประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

เตือนจิตต์ สัตยาวิรุฑธ์, วรจิต ผาภูมิ, พิสิษฐ์ เสพสวัสดิ์, ศรีสมร พิทักษ์, เรณู สุวรรณพรสกุล และ ปัญญา ปุญญถาวร. 2525. การสำรวจและรวบรวมแมลงศัตรูสบู่ดำ. หน้า 17-20. *ใน* รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2525. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพมหานคร. 75 หน้า.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2544. ผีเสื้อและหนอน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.

อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในเบญจมาศ
Taxonomy of Insect Pests Found on Chrysanthemum

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

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในเบญจมาศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 โดยการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูจากแหล่งปลูกเบญจมาศ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้ไปศึกษาลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจวิเคราะห์ชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบแมลงศัตรูเบญจมาศ 6 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก: western flower thrips; *Frankliniella occidentalis* Pergande เพลี้ยไฟดอกไม้: common blossom thrips; *Frankliniella schultzei* Trybom และเพลี้ยไฟฝ้าย: cotton thrips; *Thrips palmi* Karny ในวงศ์ Thripidae อันดับ Thysanoptera หนอนเจาะสมอฝ้าย: cotton bollworm; *Helicoverpa armigera* Hübner หนอนกระทู้ผัก: common cutworm; *Spodoptera litura* (Fabricius) และหนอนกระทู้หอม: beet armyworm; *Spodoptera exigua* Hübner ในวงศ์ Noctuidae อันดับ Lepidoptera โดยพบเข้าทำลายดอกเบญจมาศที่จังหวัดเชียงใหม่ และนครราชสีมา การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุด ดำเนินการต่อในปี 2553

คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม จึงมีความหลากหลายของพืชพรรณไม้ทางการเกษตร มีทั้งธัญพืช พืชน้ำมัน พืชอุตสาหกรรม ไม้ผล พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับฯลฯ เบญจมาศ: Chrysanthemum; *Dendranthema grandiflora* (Ramat) เป็นไม้ดอกไม้ประดับชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีหลายพันธุ์ให้เลือก ดอกมีรูปร่างสวยงาม หลากสีสันสดใส จึงมีการปลูกเบญจมาศเป็นไม้ประดับตามอาคารบ้านเรือน สวนสาธารณะ นอกจากนี้ยังตัดดอกนำไปประดับภายในอาคารบ้านเรือน รวมทั้งใช้ประโยชน์ในงานพิธีต่างๆ ปัจจุบันพื้นที่ปลูกเบญจมาศเป็นการค้าได้ขยายอาณาบริเวณเพิ่มมากขึ้น เพื่อให้ได้ผลผลิตเพียงพอแก่ความต้องการของผู้บริโภค

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-37-51

ภายในประเทศ และเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันในตลาดต่างประเทศ ซึ่งการผลิตเบญจมาศให้มีคุณภาพดีเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศนั้น เกษตรกรต้องประสบอุปสรรคหลายประการ ประการหนึ่งก็คือ แมลงศัตรูพืช ศิริณี (2544) รายงานว่าพบเพลี้ยไฟ *Frankliniella occidentalis* Pergande ดูดน้ำเลี้ยงจากเซลล์กลีบดอกเบญจมาศ ทำให้เกิดรอยแผลลักษณะเป็นขีดๆ ตามความยาวของกลีบดอก และยังพบเข้าทำลายไม้ดอกทุกชนิดที่ปลูกบนดอยอินทนนท์ เกิดการระบาดอย่างรุนแรงมาตั้งแต่ปี พ.ศ.2540 ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานแมลงศัตรูเบญจมาศจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญของการศึกษาวิจัยด้านต่างๆ ของแมลง เพื่อใช้ประกอบการพิจารณาแนวทางการจัดการแมลงศัตรูเบญจมาศแต่ละชนิดอย่างเหมาะสม และใช้เป็นข้อมูลวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชประกอบการนำเข้าและส่งออกเบญจมาศ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างแมลงศัตรูเบญจมาศ อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดฆ่าแมลง ขวดดองแมลง ตู้ควบคุมอุณหภูมิ สารเคมีต่างๆ เช่น สารเอททิลอะซิเตท แอลกอฮอล์ 70-80% AGA (น้ำยาเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟ) อุปกรณ์จัดรูปร่างแมลง โดยวิธีการอบแห้ง ได้แก่ เข็มปักแมลง ไม้จัดรูปร่างแมลง (setting board) ปากคีบ อุปกรณ์ทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่นแอลกอฮอล์ 60-100% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ไซลีน โคลฟออย แคนาดาบัลซัม บีคเกอร์ เตาไฟฟ้า แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ ตู้อบ กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดแมลงศัตรูเบญจมาศจากเอกสารวิชาการต่างๆ ดำเนินการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูเบญจมาศจากแปลงปลูกเบญจมาศในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่ง ต้น หรือดอก เพื่อให้แมลงศัตรูตกลงบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ / กิ่ง / ยอดของเบญจมาศที่มีแมลงศัตรูเกาะอาศัยด้วยกรรไกรตัดกิ่ง ใช้พู่กันเขี่ยแมลงศัตรูที่พบใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง หรือนำตัวอย่างแมลงศัตรูพร้อมส่วนของเบญจมาศใส่ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษ เก็บตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น ภายในบรรจุน้ำแข็งแห้งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน หนอนผีเสื้อ หนอนแมลงวันผลไม้ ฯลฯ ต้องนำตัวอย่างไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย บันทึกรายละเอียดของแมลงเหล่านั้นได้แก่ ส่วนของเบญจมาศที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ นำตัวอย่างที่บันทึกรายละเอียดไปจัดเตรียม

ตัวอย่างแมลง เพื่อวิเคราะห์ชนิดโดยการจัดรูปร่างหรือทำสไลด์ถาวรและอบให้แห้ง จากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์ชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล้องจุลทรรศน์ ประกอบกับเอกสารของศิริณี (2544) และองุ่น (2544) รวมทั้งศึกษาจากตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง จัดทำป้ายและบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร วัน / เดือน / ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งวัน / เดือน / ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด นำตัวอย่างแมลงศัตรูเบญจมาศที่ได้ศึกษาวิจัยทั้งหมด เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของพิพิธภัณฑ์ เพื่อใช้ในการตรวจสอบสืบค้นและอ้างอิงต่อไป

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2550 ถึง เดือนกันยายน 2553

1. แปลงปลูกเบญจมาศภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
   สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

พบแมลงศัตรูเบญจมาศ 6 ชนิด ซึ่งเป็นเพลี้ยไฟในวงศ์ Thripidae อันดับ Thysanoptera 3 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก: western flower thrips; *Frankliniella occidentalis* Pergande เพลี้ยไฟดอกไม้: common blossom thrips; *Frankliniella schultzei* Trybom และเพลี้ยไฟฝ้าย: cotton thrips; *Thrips palmi* Karny ดูดกินน้ำเลี้ยงจากดอก และพบหนอนกัดกินดอก ในวงศ์ Noctuidae อันดับ Lepidoptera 3 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย: cotton bollworm; *Helicoverpa armigera* Hübner หนอนกระทู้ผัก: common cutworm; *Spodoptera litura* (Fabricius) และหนอนกระทู้หอม: beet armyworm; *Spodoptera exigua* Hübner ในวงศ์ Noctuidae อันดับ Lepidoptera ในแหล่งปลูกเบญจมาศที่จังหวัดเชียงใหม่และนครราชสีมา การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุด ดำเนินการต่อในปี 2553

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงศัตรูเบญจมาศระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 ในแหล่งปลูกเบญจมาศเขตภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบแมลงศัตรูเบญจมาศ 6 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยไฟดอกไม้ตะวันตก: western flower thrips; *Frankliniella occidentalis* Pergande เพลี้ยไฟดอกไม้: common blossom thrips; *Frankliniella schultzei* Trybom และเพลี้ยไฟฝ้าย: cotton thrips; *Thrips palmi* Karny ในวงศ์ Thripidae อันดับ

Thysanoptera หนอนเจาะสมอฝ้าย: cotton bollworm; *Helicoverpa armigera* Hübner หนอนกระทู้ผัก: common cutworm; *Spodoptera litura* (Fabricius) และหนอนกระทู้หอม: beet armyworm; *Spodoptera exigua* Hübner ในวงศ์ Noctuidae อันดับ Lepidoptera โดยพบเข้าทำลายดอกเบญจมาศที่จังหวัดเชียงใหม่ และนครราชสีมา

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ *Terebrantia*. โรงพิมพ์คุรุสภาพลาดพร้าว. กรุงเทพมหานคร.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2544. ผีเสื้อและหนอน. กองกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.

อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในไม้ดอกสกุล *Curcuma* (ปทุมมาและกระเจียว)

Taxonomy of Insect Pests Found on *Curcuma*

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

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจ รวบรวมแมลงศัตรูไม้ดอกสกุล *Curcuma* (ปทุมมาและกระเจียว) ในแหล่งปลูกปทุมมาและกระเจียว ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2552 นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้ไปศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานเพื่อตรวจจำแนกชนิด ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบแมลงศัตรูปทุมมาและกระเจียวจำนวน 3 อันดับ 4 วงศ์ 8 สกุล ซึ่งอยู่ในอันดับ Coleoptera 2 วงศ์ 6 สกุล ได้แก่ สกุล *Anomala* ในวงศ์ Scarabaeidae สกุล *Anisodera, Basilepta, Aulacophora, Monolepta* และ *Sphaeroderma* ในวงศ์ Chrysomelidae อันดับ Lepidoptera วงศ์ Arctiidae พบ 1 สกุล ได้แก่ สกุล *Creatonota* และอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae พบเพียง 1 สกุล เช่นกัน คือ สกุล *Thrips* การวิจัยเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2553

คำนำ

ปทุมมา *Curcuma alismatifolia* Gagnep. เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีลำต้นสะสมอาหารอยู่ใต้ดินแบบเหง้า จัดเป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับขิงและข่า อยู่ในสกุล *Curcuma* จะพบเห็นปทุมมาได้เกือบทุกภาคของประเทศ โดยเฉพาะในเขตภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะมีไม้ในสกุลนี้แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มปทุมมา พบได้ทั่วไปในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปทุมมาจะแทงช่อดอกออกมาจากส่วนกลางของลำต้นเทียม ก้านช่อดอกยาวตรง และกลุ่มกระเจียว พบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ช่อดอกจะเป็นทรงกระบอก อาจแทงช่อดอกขึ้นมาจากเหง้าโดยตรงหรือออกจากทางด้านข้างของลำต้นเทียม

รหัสการทดลอง 09 02 49 01 02 01 36 51

ปทุมมาเป็นพืชที่มีศักยภาพในการส่งออก ทำรายได้ให้ประเทศปีละหลายสิบล้านบาท การส่งออกส่งได้ 2 รูปแบบ คือในรูปของหัวพันธุ์และไม้ตัดดอก การส่งออกปทุมมาส่วนมากพบปัญหาเรื่องโรคที่ติดไปกับหัวพันธุ์ ส่วนข้อมูลด้านแมลงศัตรูยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน ดังนั้นจึงควรที่จะศึกษาวิจัยเพื่อเตรียมพร้อมข้อมูลเพื่อรองรับปัญหาด้านการส่งออกพืชชนิดนี้ในอนาคต

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างแมลงศัตรูปทุมมาและกระเจียว อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง ปากคีบพู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดฆ่าแมลง ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ขวดดองแมลง สารเคมีต่างๆ เช่น สารเอททิลอะซิเตท แอลกอฮอล์ 70-80% AGA (น้ำยาเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟ) อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง โดยวิธีการอบแห้ง ได้แก่ เข็มปักแมลง ไม้จัดรูปร่างแมลง (setting board) ปากคีบ ตู้อบแมลง อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่นแอลกอฮอล์ 60-100% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ไซลีน โคลฟออย แคนาดาบัลซัม บีคเกอร์ เตาไฟฟ้า แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของแมลงศัตรูปทุมมาและกระเจียวจากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงศัตรูปทุมาและกระเจียวจากแปลงปลูกภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้สวิงโฉบ / เคาะหรือเขย่ากิ่ง ต้น หรือดอก เพื่อให้แมลงตกลงบนอุปกรณ์ที่รองรับ หรือตัดใบ / กิ่ง / ยอดของพืชที่มีแมลงศัตรูพืชเกาะอาศัยด้วยกรรไกรตัดกิ่ง ใช้พู่กันเขี่ยแมลงศัตรูพืชที่พบใส่ขวดที่บรรจุน้ำยาดอง หรือนำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชพร้อมพืชใส่ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษ เก็บตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น ภายในบรรจุน้ำแข็งแห้งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ หากตัวอย่างที่รวบรวมได้อยู่ในระยะตัวอ่อน เช่น เพลี้ยไฟ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย เพลี้ยอ่อน หนอนผีเสื้อ หนอนแมลงวันผลไม้ ฯลฯ ต้องนำตัวอย่างไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนเป็นตัวเต็มวัย บันทึกรายละเอียดของแมลงศัตรูพืช ได้แก่ ส่วนของพืชที่พบตัวอย่าง ลักษณะการทำลาย วัน / เดือน / ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยการถ่ายภาพ นำตัวอย่างที่บันทึกรายละเอียดไปจัดเตรียมตัวอย่างแมลง เพื่อวิเคราะห์ชนิดโดยการจัดรูปร่าง หรือทำสไลด์ถาวรและอบให้แห้ง นำตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ชนิดโดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล้อง จุลทรรศน์ประกอบเอกสารของศิริณี (2544) องุ่น (2544) และ Triplehorn and Johoson (2005) รวมทั้งศึกษาจากตัวอย่างที่เก็บรักษา

ไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง จัดทำป้ายและบันทึกข้อมูลรายละเอียดบนป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร วัน / เดือน / ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งวัน / เดือน / ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด นำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่ได้ศึกษาวิจัยทั้งหมด เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของพิพิธภัณฑ์ เพื่อใช้ในการตรวจสอบสืบค้นและอ้างอิง

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2552

1. แปลงปลูกไม้ดอกสกุล *Curcuma* (ปทุมมาและกระเจียว) ภาคเหนือและ ภาคตะวันออกเฉียงหนือ
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

พบแมลงศัตรูปทุมมาและกระเจียวจำนวน 3 อันดับ 4 วงศ์ 8 สกุล ซึ่งอยู่ในอันดับ Coleoptera 2 วงศ์ 6 สกุล ได้แก่ สกุล *Anomala* ในวงศ์ Scarabaeidae สกุล *Anisodera*, *Basilepta*, *Aulacophora*, *Monolepta* และ *Sphaeroderma* ในวงศ์ Chrysomelidae อันดับ Lepidoptera วงศ์ Arctiidae พบ 1 สกุล ได้แก่ สกุล *Creatonota* และอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae พบเพียง 1 สกุล เช่นกัน คือ สกุล *Thrips*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงศัตรูปทุมมาและกระเจียว ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 ในแปลงปลูกปทุมมาและกระเจียว ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ พบแมลงศัตรูปทุมมาและกระเจียวจำนวน 3 อันดับ 4 วงศ์ 8 สกุล ซึ่งอยู่ในอันดับ Coleoptera 2 วงศ์ 6 สกุล ได้แก่ สกุล *Anomala* ในวงศ์ Scarabaeidae สกุล *Anisodera*, *Basilepta*, *Aulacophora*, *Monolepta* และ *Sphaeroderma* ในวงศ์ Chrysomelidae อันดับ Lepidoptera วงศ์ Arctiidae พบ 1 สกุล ได้แก่ สกุล *Creatonota* และอันดับ Thysanoptera วงศ์ Thripidae พบเพียง 1 สกุล เช่นกัน คือ สกุล *Thrips* การศึกษาเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2553

เอกสารอ้างอิง

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. กรุงเทพมหานคร. 75 หน้า.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2544. ผีเสื้อและหนอน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.

Triplehorn, C.A. and N.F.Johnson. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. 7th Ed. Thomson Learning, USA. 864 p.

อนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus*

Taxonomy of Mealybug in Genus *Pseudococcus*

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

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้ไปศึกษาด้านอนุกรมวิธานเพื่อตรวจวิเคราะห์ชนิด ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมังคุด; *Pseudococcus cryptus* Hempel บนผลมังคุดบริเวณขั้วผล ที่จังหวัดจันทบุรี และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา; *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller บนใบและกิ่งมันสำปะหลังที่จังหวัดกำแพงเพชร ชลบุรี ระยอง นครราชสีมา และสระแก้ว การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุด ดำเนินการต่อในปี 2553

คำนำ

เพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* เป็นแมลงปากดูดที่ทำความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิดทั้งพืชสวนและพืชไร่ โดยดูดน้ำเลี้ยงจากส่วนต่างๆ ของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบเป็นจุดสีเหลืองและบางครั้งมีลักษณะย่น ผลบิดเบี้ยวและร่วง ต้นพืชที่ถูกทำลายรุนแรงจะเหี่ยวและแห้งตายในที่สุด Williams and Watson(1988) รายงานว่าเพลี้ยแป้งสกุลนี้มีหลายชนิด ที่รวบรวมจากทั่วโลก และจำแนกชนิดได้ 17 ชนิด บางชนิดเป็นศัตรูสำคัญทางด้านกักกันพืช เช่น *Pseudococcus dendrobiorum* Williams พบบนกล้วยไม้จากปาปัวนิวกินี เมื่อไรก็ตามที่เพลี้ยแป้งเหล่านี้บังเอิญเล็ดลอดไปสู่พื้นที่เพาะปลูกแหล่งใหม่ที่ปราศจากศัตรูธรรมชาติก็จะแพร่ขยายพันธุ์ เกิดการระบาดและอาจทำความเสียหายอย่างรุนแรงให้กับพืชชนิดอื่นๆได้ สำหรับในประเทศไทยมีรายงานว่าพบเพลี้ยแป้ง *Pseudococcus cryptus* Hempel บนใบมะพร้าว

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-38-51

มะม่วง และฝักมะขาม (บุปผาและชลิดา,2543) และผลมังคุด (ชลิดาและคณะ,2546) อย่างไรก็ตาม ข้อมูลรายละเอียดต่างๆของเพลี้ยแป้งสกุลนี้มีน้อย ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร ลักษณะการทำลาย และเขตแพร่กระจายของเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* แต่ละชนิด สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดเพลี้ยแป้งดังกล่าวและเก็บรักษาตัวอย่างไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างเพลี้ยแป้ง อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเพลี้ยแป้ง ได้แก่ ถุงกระดาษ ถุงพลาสติก ขวดดองแมลง กรรไกรตัดกิ่ง กล่องรักษาความเย็น อุปกรณ์ทำสไลด์ถาวร ได้แก่ แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ ไซลีน โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ แอซิดฟุชซิน โคลฟอออย และคานาดาบัลซัม ตู้อบ กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope

วิธีการ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้ง จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศ โดยตัดส่วนของพืชที่มีเพลี้ยแป้งอาศัยอยู่ด้วยกรรไกรตัดกิ่ง ใส่ในถุงกระดาษหรือถุงพลาสติกเก็บรักษาตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น บันทึกรายละเอียด เช่น ชนิดของพืช ส่วนของพืชที่พบเพลี้ยแป้ง ลักษณะการทำลาย วัน เดือน ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งบันทึกโดยถ่ายภาพ นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่รวบรวมได้ไปตรวจลักษณะภายนอกของเพลี้ยแป้งใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่างลักษณะ ขนาดและสี เป็นต้น จากนั้นใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยแป้งเพศเมียใส่ในขวดดองที่บรรจุแอลกอฮอล์ 70%

เตรียมตัวอย่างเพลี้ยแป้งเพศเมียสำหรับตรวจวิเคราะห์ชนิดโดยทำสไลด์ถาวรซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Williams and Watson(1988) และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50^{O}C ประมาณ 1 เดือน จากนั้นตรวจวิเคราะห์ชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ตรวจดูลักษณะสำคัญทางอนุกรมวิธาน เช่น ซีราเรียส(cerarius) ออสทิโอล(ostiole) หนวด ขน รู และท่อต่างๆ พร้อมกับตรวจสอบกับเอกสารต่างๆ วาดภาพแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์ชนิดเพลี้ยแป้ง และจัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) เพลี้ยแป้งในสกุล *Pseudococcus* ที่รวบรวมได้ บันทึกรายละเอียดบนแผ่นป้ายที่ติดกำกับตัวอย่าง ได้แก่ชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาหาร วัน เดือน ปี

สถานที่ ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง รวมทั้งวัน เดือน ปี และชื่อผู้วิเคราะห์ชนิด แล้วจัดเก็บรักษาตัวอย่างเพลี้ยแป้งที่ได้รับการวิเคราะห์ชนิดอย่างถูกต้องไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2550 – เดือนกันยายน 2553

1) แหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ทุกภาคของประเทศ
2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งในแหล่งปลูกพืชต่างๆ เขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 นำมาตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธานพบเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* 2 ชนิด ได้แก่ เพลี้ยแป้งมังคุด; *Pseudococcus cryptus* Hempel พบบนผลมังคุดบริเวณขั้วผล แต่พบปริมาณน้อย ที่จังหวัดจันทบุรี จากการสำรวจในปีพ.ศ.2551 พบเพลี้ยแป้งชนิดนี้บนใบมะม่วง ที่จังหวัดฉะเชิงเทรา เพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา; *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller พบบนใบและกิ่งมันสำปะหลัง โดยพบระบาดรุนแรงในแหล่งปลูกมันสำปะหลังที่จังหวัดกำแพงเพชร ชลบุรี ระยอง นครราชสีมา และสระแก้ว การทดลองนี้ยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2553

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาอนุกรมวิธานเพลี้ยแป้งสกุล *Pseudococcus* โดยสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งจากแหล่งปลูกพืชต่างๆ เขตภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 พบเพลี้ยแป้งสกุลนี้ 2 ชนิด คือ เพลี้ยแป้งมังคุด; *Pseudococcus cryptus* Hempel บนผลมังคุดบริเวณขั้วผล ที่จังหวัดจันทบุรี และเพลี้ยแป้งมันสำปะหลังสีเทา; *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel and Miller บนใบและกิ่งมันสำปะหลัง ที่จังหวัดกำแพงเพชร ชลบุรี ระยอง นครราชสีมา และสระแก้ว

เอกสารอ้างอิง

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

บุปผา เหล่าสินชัย และชลิดา อุณหวุฒิ. 2543. เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอยศัตรูพืชที่สำคัญ. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพมหานคร. 70 หน้า.

Williams, D.J. and G.W. Watson. 1988. The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region Part 2. the Mealybugs (Pseudococcidae). CAB International Institute of Entomology, Wallingford. 260 pp.

อนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae
Taxonomy of Aphids Subfamily Aphidinae

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 2553

คำนำ

เพลี้ยอ่อน (Aphid) เป็นศัตรูสำคัญของพืชหลายชนิด สามารถทำลายพืชโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืชบริเวณใต้ใบ หรือส่วนอ่อนๆ ของพืช เช่น ยอดอ่อน ตาอ่อน ใบ ดอกและผล ขณะที่ดูดกินน้ำจากพืชเพลี้ยอ่อนจะปล่อยน้ำลายเข้าไปในต้นพืชทำให้เซลล์พืชบริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เกิดอาการใบเหลือง ใบย่น ผลบิดเบี้ยว ใบและผลที่ถูกทำลายจะแห้งและร่วงไปในที่สุด บางชนิดทำให้เกิดปม ถ้าพืชถูกทำลายรุนแรงจะทำให้ชะงักการเจริญเติบโต หรือบางครั้งทำให้ต้นตายได้ นอกจากนี้เพลี้ยอ่อนยังขับถ่ายของเหลวเป็นน้ำตาลที่เหลือใช้ ผสมกับของเสียขับออกมาทางช่องขับถ่ายเรียกว่ามูลน้ำหวาน (honeydew) ซึ่งเป็นอาหารของมดและราดำ ราดำจะเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วปกคลุมใบและผล ใบจึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างเต็มที่ สำหรับผลจะสกปรกเนื่องจากมูลน้ำหวานและราดำทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด เพลี้ยอ่อนนอกจากจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืชแล้วยังเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุโรคพืช เช่น เพลี้ยอ่อนฝ้าย *Aphis gossypii* Glover เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างของพืชตระกูลแตง เพลี้ยอ่อนถั่วเหลือง *Aphis glycines* Matsumura เป็นพาหะนำเชื้อไวรัสสาเหตุโรคใบด่างและต้น

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-39-51

เต้ยแคระของถั่วเหลือง (เครือพันธุ์ และ วันเพ็ญ, 2545) เพลี้ยอ่อนส้ม *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) เป็นพาหะนำเชื้อไวรัส Citrus Tristeza Virus (CTV) ทำให้ส้มเกิดโรคทริสติซา (Blackman and Eastop, 2000)

เพลี้ยอ่อนอยู่ในวงศ์ Aphididae อันดับ Homoptera เพลี้ยอ่อนวงศ์ Aphididae ยังแบ่งออกเป็น 8 วงศ์ย่อย ซึ่งเพลี้ยอ่อนส่วนใหญ่ที่พบประมาณ 70 % อยู่ในวงศ์ย่อย Aphidinae และ Calaphidinae (Capinera, 2004) และจากรายงานของ Sirikajornjaru (2002) ซึ่งสำรวจเพลี้ยอ่อนในภาคเหนือของประเทศไทยพบเพลี้ยอ่อนในวงศ์ย่อย Aphidinae 32 ชนิด ดังนั้นการศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ พืชอาศัย เขตการแพร่กระจาย สำหรับเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาแนวทางการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างเพลี้ยอ่อน อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดดองแมลง น้ำยาเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนซึ่งประกอบด้วยแอลกอฮอล์ 80% 2 ส่วน ผสมกับกรดแลคติก 1 ส่วน ตู้อบแมลง อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวร ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ 95% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ไซลีน กรดแกลเซียลอะซิติก โคลฟออย แคนาดาบัลซัม น้ำกลั่น บีคเกอร์ เตาไฟฟ้า แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ กล้องจุลทรรศน์ compound microscope และ stereo microscope

วิธีการ

สำรวจ รวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแปลงปลูกพืชทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยใช้พู่กันเขี่ยตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบางส่วนใส่ขวดดองที่บรรจุน้ำยาสำหรับดองเพลี้ยอ่อน หรือตัดใบ/ยอด/ส่วนของพืชที่มีเพลี้ยอ่อนเกาะอาศัยอยู่ด้วยกรรไกรตัดกิ่ง นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนพร้อมพืชใส่ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก หรือถุงกระดาษ บันทึกรายละเอียด ได้แก่ ส่วนของพืชที่พบ วัน/เดือน/ปี สถานที่ และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างดังกล่าวในกล่องรักษาความเย็น ภายในบรรจุน้ำแข็งแห้งเพื่อรักษาตัวอย่างให้สดอยู่เสมอ รวมทั้งการบันทึกภาพในสภาพธรรมชาติ จากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา เพื่อจำแนกชนิดเบื้องต้นใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ขนาด และสี เป็นต้น

นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนที่บันทึกรายละเอียดไปจัดเตรียมตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์ชนิดโดยการทำสไลด์ถาวร

การทำสไลด์ถาวร

1. นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากขวดดอง ใช้เข็มเจาะที่ตรงกลางส่วนอกด้านบนของเพลี้ยอ่อน และรีดเอาของเหลวและตัวอ่อนที่อยู่ภายในตัวออก ระวังอย่าให้ปากเสียหาย นำเพลี้ยอ่อนที่เจาะแล้วใส่ในหลอดแก้วที่มีแอลกอฮอล์ 95% นำไปต้มโดยวิธีวอเตอร์บาท (water bath) นาน 1–2 นาที

2. ดูดแอลกอฮอล์ออก เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide) 10% แช่ทิ้งไว้ 3–5 นาที

3. ดูดสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก เติมน้ำกลั่น เปลี่ยนน้ำกลั่น 5–6 ครั้ง แล้วแช่ทิ้งไว้ในน้ำกลั่นอีก 5–6 นาที

4. ดูดน้ำกลั่นออก เติมกรดแกลเชียลอะซิติก แช่ทิ้งไว้ 2–3 นาที ทำซ้ำอีก 1 ครั้ง

5. ดูดกรดแกลเชียลอะซิติกออก เติมโคลฟอออย แช่ทิ้งไว้ 10–20 นาที หรือจนกว่าตัวอย่างเพลี้ยอ่อนใส

การเมาท์สไลด์

หยดแคนาดาบัลซัมเพียงเล็กน้อยลงบนแผ่นแก้วปิดสไลด์ เขี่ยเพลี้ยอ่อนลงในหยดแคนาดาบัลซัม ให้เพลี้ยอ่อนหงายท้องขึ้น จัดหนวด ขา ไซฟังคูไล และหางให้อยู่ในตำแหน่งสวยงาม จากนั้นหยดไซลีนลงบนกึ่งกลางแผ่นสไลด์ที่สะอาด ค่อยๆ คว่ำแผ่นสไลด์ลงบนแผ่นแก้วปิดสไลด์ช้าๆ รีบพลิกแผ่นสไลด์กลับขึ้นให้ด้านบนแผ่นแก้วปิดสไลด์อยู่ด้านบน นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 7–15 วัน การเมาท์สไลด์ด้วยวิธีการนี้สามารถเก็บสไลด์ได้คงทนนานนับปี

นำตัวอย่างเพลี้ยอ่อนบนแผ่นสไลด์แก้วที่อบแห้งแล้วมาตรวจวิเคราะห์ชนิด โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง 600 เท่า ตรวจดูลักษณะสำคัญที่ใช้จำแนกชนิดได้แก่ หนวด cauda, siphunculi หรือ cornical

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2552

1. แปลงปลูกพืชทั่วทุกภาคของประเทศไทย
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา
   สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 5 สกุล ได้แก่ สกุล *Aphis*, *Rhopalosiphum*, *Macrosiphum*, *Toxoptera*, *Myzus* และ *Lipaphis* ขณะนี้อยู่ระหว่างการทำสไลด์ถาวรเพื่อจำแนกชนิดต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานของเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยอ่อนจากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ ในจังหวัดเพชรบุรี กาญจนบุรี นนทบุรี นครราชสีมา เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี และกรุงเทพมหานคร พบเพลี้ยอ่อนวงศ์ย่อย Aphidinae 5 สกุล คือ *Rhopalosiphum*, *Aphis*, *Macrosiphum*, *Toxoptera*, *Myzus* และ *Lipaphis*

เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และ วันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

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.

Capinera, J. L. 2004. Encyclopedia of Entomology Volume 1. Kluver Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

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.

อนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้ สกุล *Bactrocera*

Taxonomy of Fruit Fly in Genus *Bactrocera*

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

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 เพื่อทราบชนิดของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ที่มีอยู่ในประเทศไทย โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากกับดักแบบ Steiner ในแหล่งปลูกพืชต่างๆ ในเขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันตก ภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้ไปจัดรูปร่างตัวอย่างแมลงและตรวจจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจจำแนกชนิดพบแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ จำนวน 13 ชนิด ดังนี้ *Bactrocera hochii* (Zia), *B. tau* (Walker), *B. caudata* Fabricius, *B. cucurbitae* (Coquillent), *B. synephes* (Hendel), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. zonata (Saunders), B. latifrons* (Hendel), *B. tuberculata* (Bezzi), *B. carambolae* Drew & Hancock, *B. papayae* Drew & Hancock, *B. isolata* Hardy และ *B. limberfera* Hardy การศึกษานี้ยังไม่สิ้นสุดจะต้องดำเนินการศึกษาพืชอาหาร และแหล่งแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ต่อในปี 2553

คำนำ

แมลงวันผลไม้หรือแมลงวันทอง (Fruit Flies) เป็นแมลงศัตรูที่มีความสำคัญมากสำหรับผลไม้และผักในเขต Tropical และ Subtropical ตัวเต็มวัยจะเข้าทำลายผลไม้โดยการวางไข่ กับผลไม้ที่มีเปลือกบาง หรืออ่อนนุ่ม จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในผลทำให้ผลไม้เน่าเสียก่อนการ เก็บเกี่ยว นอกจากนี้ตัวหนอนของแมลงวันผลไม้บางชนิดตัวหนอนสามารถเจริญเติบโตบนดอกไม้

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-40-51

สกุล *Asteraceae* และสกุลอื่นๆ ได้อีกด้วย ตัวหนอนบางชนิดยังสามารถเข้าชอนใบ เนื้อเยื่อ หรือรากพืช (White and Elson-Harris, 1992) และสร้างปมได้อีกด้วย (Ibrahim and Ibrahim, 1990) จากการศึกษาพืชอาศัยของแมลงวันผลไม้ มนตรี (2544) รายงานว่าพบแมลงวันผลไม้เข้าทำลายพืช 359 ชนิด โดยเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 106 ชนิด และเป็นพืชที่ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 253 ชนิด ดังนั้นเห็นได้ว่าแมลงวันผลไม้สามารถขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณ จากพืชอาศัยชนิดต่างๆ ได้ตลอดทั้งปี จึงทำให้การป้องกันกำจัดทำได้ยาก ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาต่อพืชผัก โดยเฉพาะผลไม้ที่เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น มะม่วง มังคุด ฝรั่ง และชมพู่ ดังนั้นการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธาน พืชอาหาร และการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ ทำให้สามารถจำแนกชนิดของแมลงวันผลไม้ได้อย่างถูกต้อง ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปใช้ในการควบคุม กำจัด และป้องกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ กับดักแมลงวันผลไม้แบบ steiner ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก กล่องรักษาความเย็น ขวดดองแมลง ถุงพลาสติก สารเคมี เช่น alcohol 70-80% และสารล่อแมลงวันผลไม้ ได้แก่ cue lure, methyl eugenol, lati lure (ผสมกับสารกำจัดศัตรูพืช Malathion)

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

3. อุปกรณ์ใช้ในการถ่ายภาพแมลง ได้แก่ กล้องถ่ายรูป ฟิล์มสี แผ่นบันทึกข้อมูล

4. เอกสารประกอบการจำแนกชนิดแมลง

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในแปลงเพาะปลูกและในสภาพธรรมชาติ โดยใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 3 ประเภท ได้แก่ cue lure, methyl eugenol และ lati lureไปวางบริเวณสวนผลไม้ต่างๆ

2. เตรียมตัวอย่างตัวเต็มวัย เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ ฆ่าตัวเต็มวัยด้วยเอทิลอาซีเตด หรือเก็บแมลงใส่หลอดแก้วแล้วนำมาแช่ในช่องน้ำแข็ง 4 – 5 ชั่วโมง วิธีนี้จะทำให้สีไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อได้ตัวอย่างแล้วใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) แทงบริเวณด้านข้างของส่วนอกใต้ปีกให้ไปทางด้านหน้าของลำตัว แล้วจึงเสียบ micropin กับโฟมหรือค็อกขนาดเล็กที่มีเข็มปักแมลง

เสียบอยู่ โดยมีป้ายเล็กๆ กำกับ บอก สถานที่ วันเดือนปี ผู้เก็บ อีกแผ่นเป็นชื่อพืชที่เก็บมา อีกแผ่นเป็นชื่อแมลงที่จำแนกชนิดได้

3. นำตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากข้อ 1 มาตรวจจำแนกวิเคราะห์ชนิดจาก ลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope แล้วบันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสี เป็นต้น โดยตรวจสอบลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของแมลงวันผลไม้ ของ Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropics. (Ibrahim, R. & G.A. Ibrahim, 1990) ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

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

5. จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง (แมลงวันผลไม้ทุกชนิดที่รายงานไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้เพื่อการตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

เวลา : เดือนตุลาคม 2551 – เดือนกันยายน 2552

สถานที่ : 1) แหล่งปลูกพืชต่างๆ ใน เขตภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคใต้ ภาคตะวันตก ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551ถึง เดือนกันยายน 2552 ทำการศึกษาโดยเก็บรวบรวมแมลงวันผลไม้จากกับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้เพศผู้ 3 ประเภท ได้แก่ cue lure, methyl eugenol และ lati lure และแหล่งปลูกพืช และในสภาพป่าธรรมชาติต่างๆ ใน จังหวัดนครปฐม จังหวัดปทุมธานี จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดระนอง จังหวัดจันทบุรี จังหวัดลำพูน จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดตรัง และจังหวัดสุราษฎร์ธานี ศรีสะเกษ กาฬสินธุ์ นั้น จากการตรวจวิเคราะห์และวาดภาพประกอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบแมลงวันผลไม้จำนวน 13 ชนิด ดังนี้ *Bactrocera hochii* (Zia), *B. tau* (Walker), *B. caudata* Fabricius, *B. cucurbitae* (Coquillent), *B. synephes* (Hendel), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. zonata (Saunders), B.*

latifrons (Hendel), *B. tuberculata* (Bezzi), *B. carambolae* Drew & Hancock, *B . papayae* Drew & Hancock, *B. isolata* Hardy,*B. limberfera* Hardy (Figure 1-13) การศึกษาครั้งนี้จะต้องดำเนินต่อในปี 2553 เนื่องจากยังมีแมลงวันผลไม้อีกหลายชนิดที่อยู่ระหว่างตรวจจำแนกและแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *Bactrocera dorsalis* complex ที่เป็นแมลงวันผลไม้ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกันมาก และควรมีการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* จากแหล่งปลูกผลไม้ ผัก ให้ครอบคลุมทุกภาคของประเทศ โดยแผนดำเนินการในปี 2553 นั้น มีแผนที่จะสำรวจรวบรวมแมลงวันผลไม้ต่างๆ เพื่อให้ทราบพืชอาหาร และการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ รวมทั้งจัดทำแนวทางวินิจฉัยแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* พร้อมกับบันทึกรายละเอียดของแมลงวันผลไม้แต่ละชนิด และจัดเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 โดยการใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ steiner ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 3 ประเภท ได้แก่ cue lure, methyl eugenol และ lati lure สามารถจำแนกชนิดได้ 13 ชนิด ดังนี้ *Bactrocera hochii* (Zia), *B. tau* (Walker), *B. caudata* Fabricius, *B. cucurbitae* (Coquillent), *B. synephes* (Hendel), *B. umbrosa* (Fabricius), *B. zonata* (Saunders), *B. latifrons* (Hendel), *B. tuberculata* (Bezzi), *B. carambolae* Drew & Hancock, *B . papayae* Drew & Hancock, *B. isolata* Hard และ, *B. limberfera* Hardy แมลงวันผลไม้ทั้งหมด สามารถจำแนกได้โดยดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ส่วนหัว จุดสีดำใต้หนวด จำนวนขน inferior fronto-orbital และขน superior fronto-orbital สีของหนวดปล้องต่างๆ (Figure 1-13) แถบสีบริเวณเส้นปีก สีของอก บริเวณ scutum และ scutellum อีกทั้งลักษณะของแถบสีเหลืองด้านบนของส่วนอก (yellow vittae) สีของส่วนท้องและขาส่วนต่างๆ แต่ก็ยังมีอีกหลายชนิดที่ยังต้องอาศัยข้อมูล และคำยืนยันจากผู้เชี่ยวชาญแมลงวันผลไม้ในระดับสากล และการศึกษาครั้งนี้ยังไม่สิ้นสุด เนื่องจากต้องมีการศึกษาชนิดพืชอาหาร และเขตการแพร่กระจายของแมลงวันผลไม้ในประเทศไทยซึ่งจะต้องดำเนินการต่อในปี 2553

เอกสารอ้างอิง

มนตรี จิรสุรัตน์. 2544. แมลงวันผลไม้ในประเทศไทย เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพ. 244 หน้า

Ibrahim, R. & G.A. Ibrahim. 1990. Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropics.

Universiti Pertanian Malaysia Press. Malaysia.199 p.

White, I. M. and M. M. Elson-Harris. 1992. Fruit Flies of Economics Significance: Their Identification an Bionomics. CAB International In Association with Aciar (Australian Centre for International Agricultural Research). Printed and bound in the UK by Redwood Press Ltd, Melksham. 601 p.

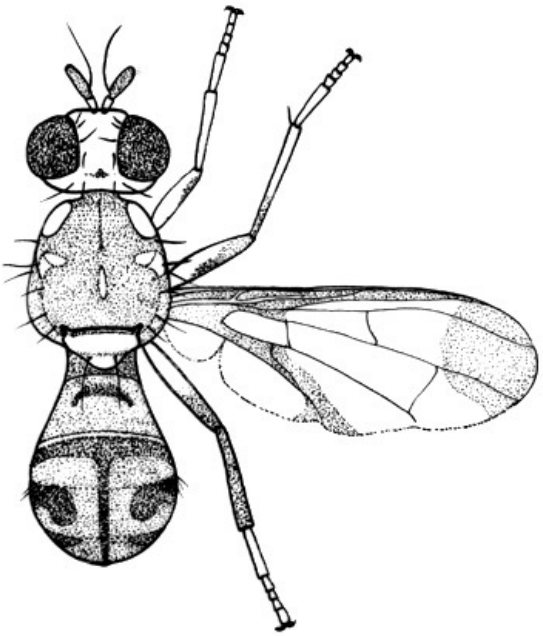


Figure 1 *Bactrocera hochii* (Zia)

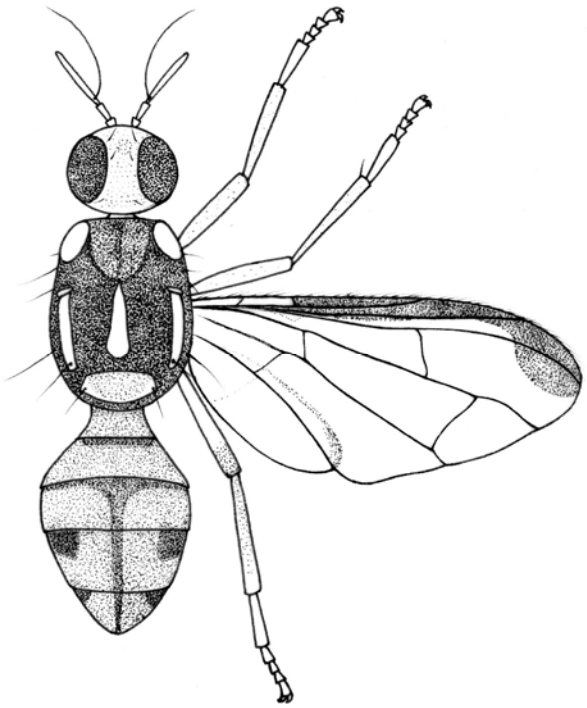


Figure 2 *Bactrocera tau* Walker

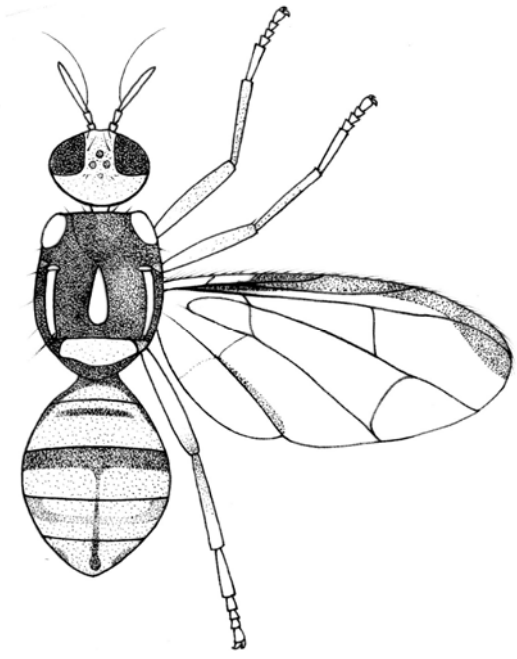


Figure 3 *Bactrocera caudate* Fabricius

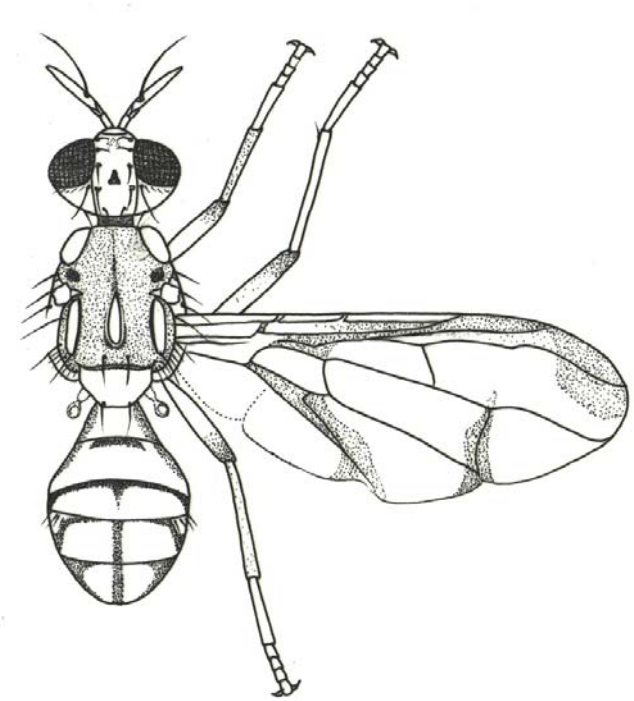


Figure 4 *Bactrocera cucurbitae* (Coquillent)

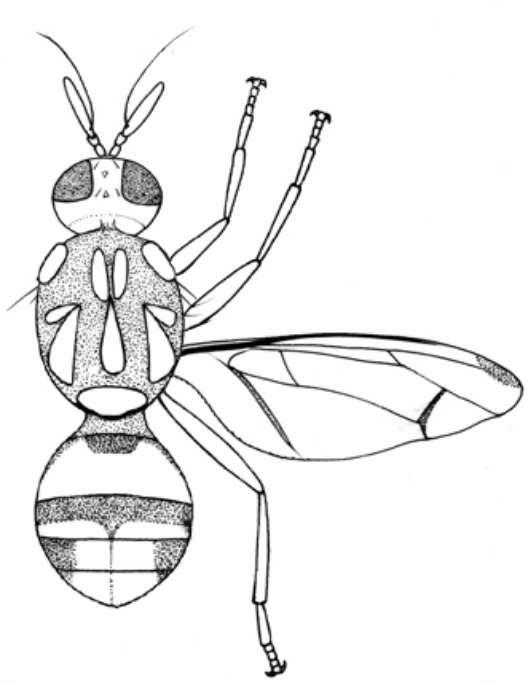


Figure 5 *Bactrocera synephes* (Hendel)

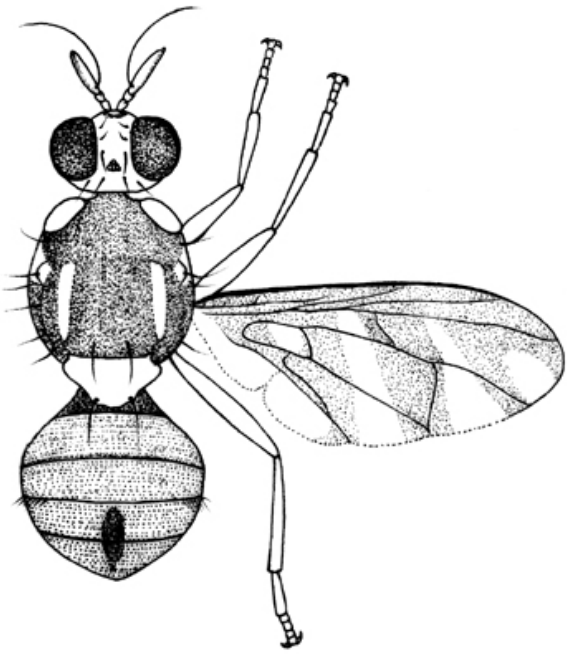


Figure 6 *Bactrocera umbrosa* (Fabricius)

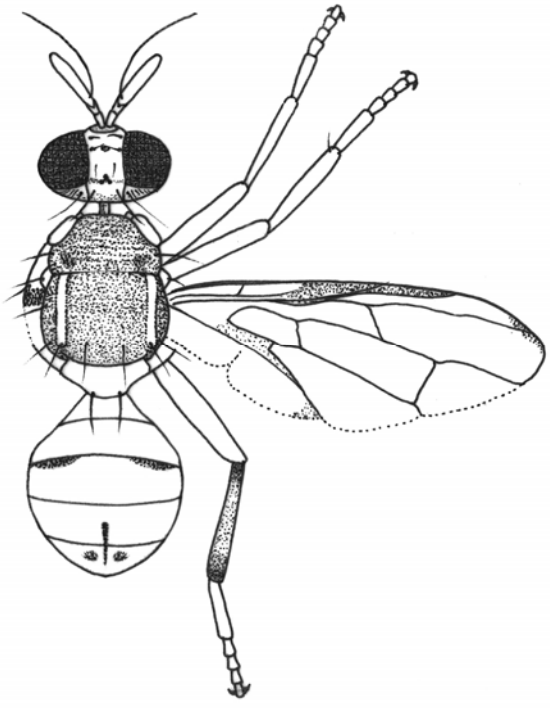


Figure 7 *Bactrocera zonata* (Saunders)

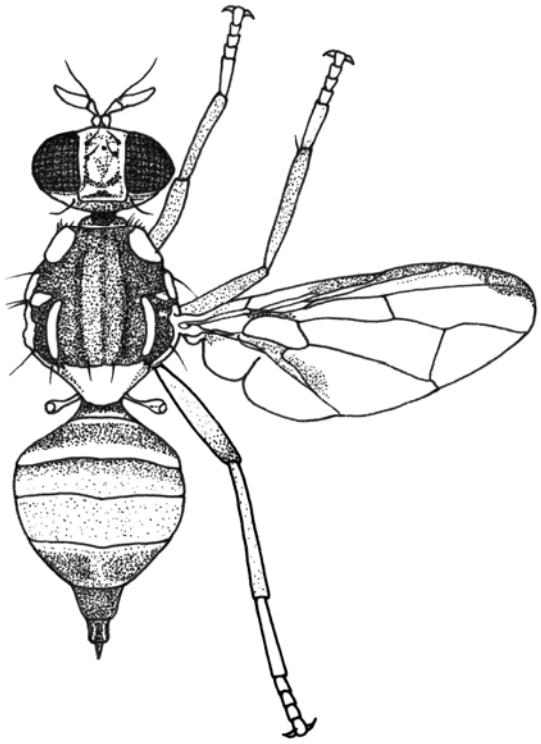


Figure 8 *Bactrocera latifrons* (Hendel)

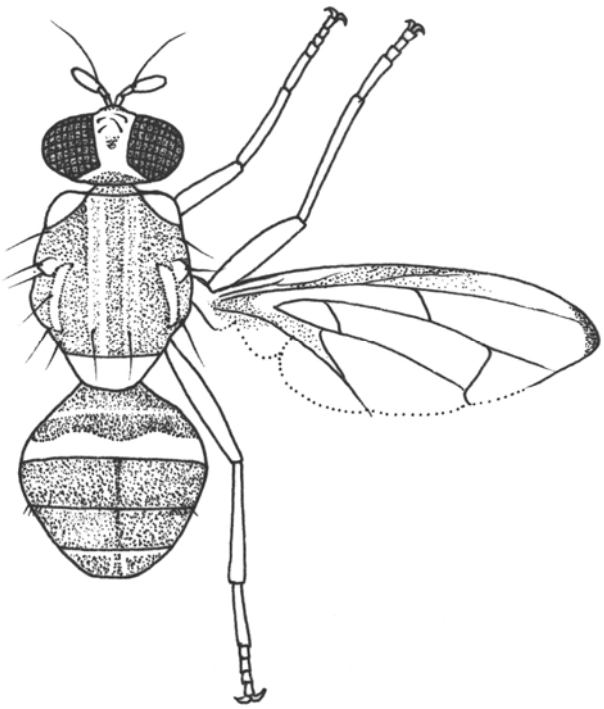


Figure 9 *Bactrocera tuberculata (Bezzi)*

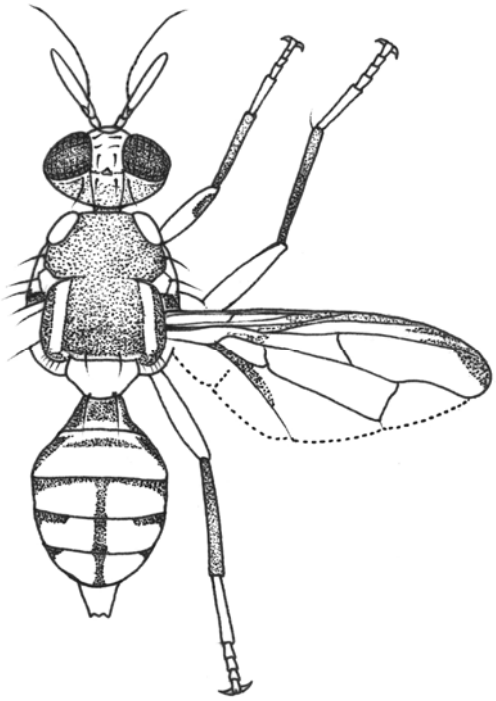


Figure 10 *Bactrocera carambolae* Drew & Hancock

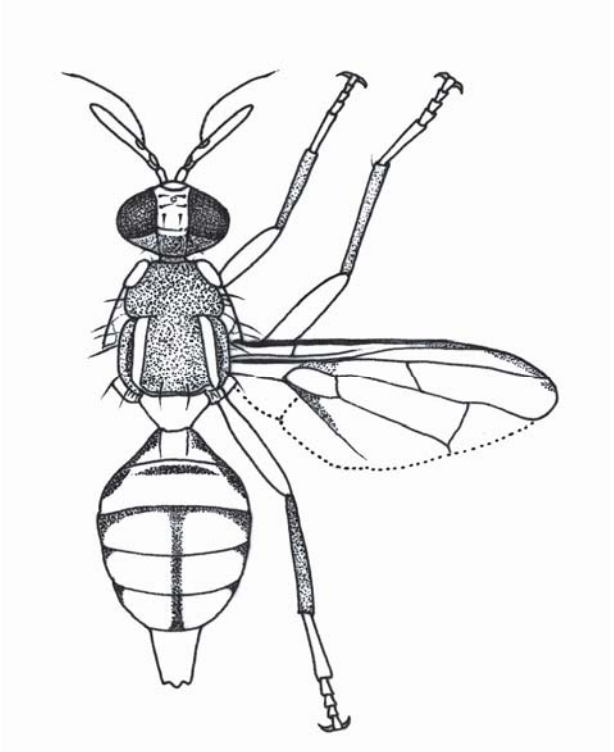


Figure 11 *Bactrocera papayae* Drew & Hancock

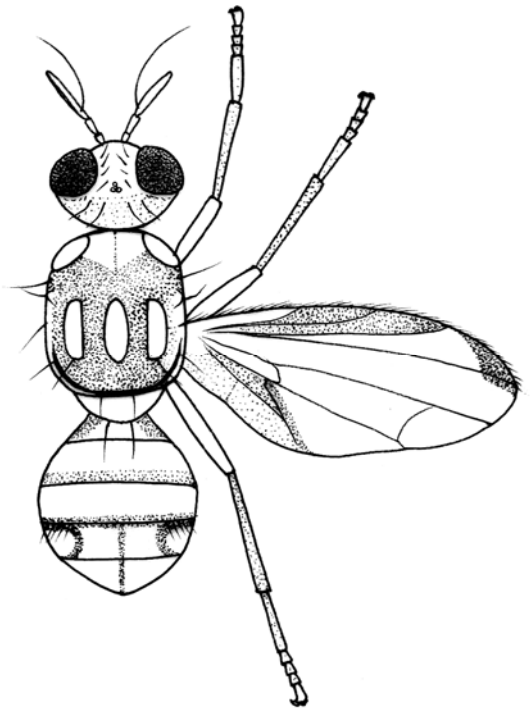


Figure 12 *Bactrocera isolata* Hardy

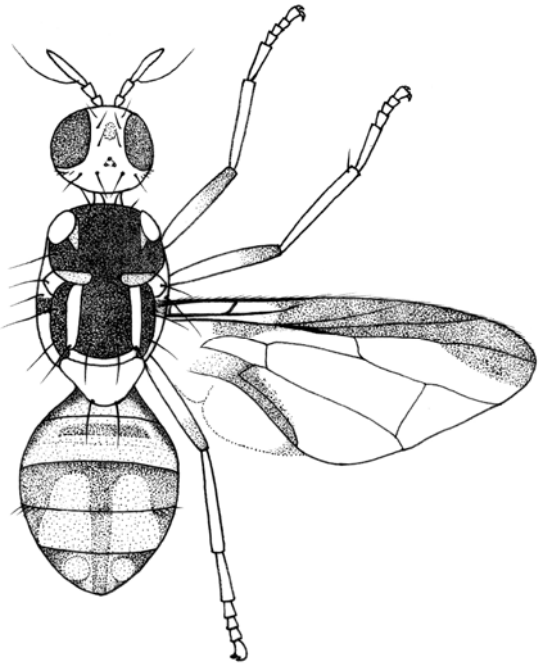


Figure 13 *Bactrocera limberfera* Hardy

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์

Study on the Rare and Endangered Insect Species

ศิริณี พูนไชยศรี ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี ยุวรินทร์ บุญทบ
สุนัดดา เชาวลิต สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2552 โดยการสำรวจแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ จากบริเวณป่าที่ยังคงความอุดมสมบูรณ์ในประเทศไทย นำกลับไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน รวมทั้งศึกษาจากตัวอย่างแมลงที่มีในพิพิธภัณฑ์ ที่กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร พบแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ 3 อันดับ 12 ชนิดได้แก่ ได้แก่ ผีเสื้อหางติ่งปารีส; *Papilio paris paris* ผีเสื้อโคคินัว; *Amathuxidia amythaon* Doubleday ผีเสื้อค้างคาว; *Lyssa zampa* Butler ผีเสื้อพราหมณ์; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด; *Archaeoattacus edwardsii* White ผีเสื้อสี่ตาปีกลายตรง (ผีเสื้อจันทรา); *Actias selene* Hübner ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก; *Actias maenas* Doubleday และผีเสื้อจรวด *Eudocima aurantia* (Moore) อันดับ Coleopera 3 ชนิด ได้แก่หิ่งห้อย; *Lamprigera* sp. หิ่งห้อยยักษ์เทียม; *Duliticola* sp. และด้วงดินปีกแผ่น; *Mormolyce phyllodes* Hagenbach และอันดับ Hymenoptera พบ 1 ชนิด ได้แก่ แมลงภู่ *Xylocopa basalis* Smith การศึกษาครั้งนี้ได้นำหิ่งห้อยยักษ์เทียมมาเลี้ยงเพื่อศึกษาชีวประวัติ แต่ไม่ประสบผลสำเร็จ และการศึกษาเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการต่อในปี 2553

คำนำ

แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ในความหมายของพิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หมายถึง แมลงที่ได้สืบค้นจากตัวอย่างที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยพิจารณาจากระยะเวลาที่จับได้ครั้งล่าสุดมานานกว่า 30 - 40 ปี ซึ่งตลอดระยะเวลาดังกล่าวสำรวจไม่พบแมลงชนิดนั้นหรือพบแต่มีจำนวนน้อยมาก รวมทั้งแมลงที่มีอยู่ในบัญชีรายชื่อในอนุสัญญา CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and

---

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-41-52

Flora) หรือ อนุสัญญาระหว่างประเทศว่าด้วยการค้า ซึ่งพืชและสัตว์ป่าที่กำลังสูญพันธุ์ ในบัญชีหมายเลข 2 (องุ่น, 2540)

แมลงเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ที่มีบรรพบุรุษร่วมกันมากับสัตว์ขาปล้องกลุ่มอื่น ๆ เช่น กุ้ง ปู แมงป่อง และเป็นสัตว์ที่มีวิวัฒนาการมายาวนานกว่า 400 ล้านปี มีความหลากหลายทั้งในด้านรูปร่างลักษณะและจำนวนชนิด นักกีฏวิทยาประมาณว่าในโลกนี้มีแมลงมากกว่า 30 ล้านชนิด หรือกล่าวได้ว่าร้อยละ 75 ของสัตว์ทั้งหมดที่พบในโลก คือ แมลง การที่แมลงประสบความสำเร็จในการดำรงชีพมากกว่าสัตว์ชนิดอื่นเป็นเพราะแมลงเป็นสัตว์ที่มีขนาดเล็ก ทำให้มีความต้องการที่อยู่อาศัยตลอดจนปริมาณอาหารเพื่อการดำรงชีพไม่มากนัก นอกจากนี้แมลงยังเป็นสัตว์ที่มีโครงสร้างกระดูกอยู่ภายนอกลำตัว จึงสามารถปกป้องอันตรายจากสิ่งแวดล้อมภายนอกได้เป็นอย่างดี ตลอดจนมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้อย่างดีเยี่ยม รวมทั้งเป็นสัตว์ที่มีวงจรชีวิตสั้น ขยายพันธุ์ได้ในปริมาณครั้งละมาก ๆ ทำให้แมลงสามารถเพิ่มจำนวนประชากรและแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว ด้วยความสามารถที่เหนือกว่าสัตว์อื่นดังกล่าวจึงทำให้เราพบเห็นแมลงได้ตลอดเวลา ทุกสถานที่ ทั้งบนบก ในดิน ในน้ำ ตามต้นไม้ บริเวณที่อยู่อาศัย บางชนิดอาศัยอยู่บนร่างกายของมนุษย์และสัตว์ แมลงหลายชนิดสร้างสีสันให้กับโลกเรา ทำให้โลกสดใสน่าอยู่ บางชนิดเป็นอาหารของสัตว์อื่น บางชนิดช่วยเพิ่มผลผลิตให้กับพืช แต่มีอีกหลายชนิดก่อให้เกิดปัญหาแก่มนุษย์และสัตว์ในด้านสุขภาพตลอดจนทำให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลง จากความหลากหลายทั้งชนิดและคุณค่าของแมลงดังกล่าว จึงทำให้แมลงเป็นสัตว์ชนิดหนึ่ง ที่มีความสำคัญในวงจรห่วงโซ่อาหารของระบบนิเวศ

แต่ในสถานการณ์ปัจจุบัน ระบบนิเวศของโลกได้เปลี่ยนแปลงไปอย่างรวดเร็วและตลอดเวลา ทั้งสาเหตุที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ และจากการกระทำของมนุษย์ เกิดความแปรปรวนและเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ (climate change) และความผันผวนของวงจรชีวิตในสิ่งแวดล้อมทั่วทุกมุมโลก ปัญหาเหล่านี้นับเป็นเรื่องที่น่าห่วงใยอย่างยิ่งสำหรับประเทศไทย โดยเฉพาะพื้นที่ป่าสีเขียวที่เคยอุดมสมบูรณ์ เป็นแหล่งหล่อเลี้ยงชีวิตของสรรพสิ่งต่างๆมาช้านาน ได้ลดน้อยถอยลงอย่างรวดเร็ว ส่งผลกระทบต่อจำนวนสิ่งมีชีวิตทั้งพืชพันธุ์และสัตว์นานาชนิดที่พึ่งพิงอยู่ในสิ่งแวดล้อม รวมทั้ง “ แมลง ” สัตว์ที่มีปริมาณมากที่สุดในโลก ต่างก็ได้รับผลกระทบจากภาวะวิกฤตนี้เช่นกัน อีกทั้งแมลงยังถูกคุกคามจากการล่า-การค้า โดยเฉพาะแมลงที่มีรูปร่างแปลกตา สวยงาม เป็นที่พึงประสงค์และแสวงหาเพื่อสะสมไว้เป็นสมบัติส่วนตัวหรือซื้อขายแลกเปลี่ยน จึงมีการล่าและจับกันมาก เกิดธุรกิจการค้าแมลงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งส่งผลให้แมลงสวยงามที่เคยพบเห็นได้ง่าย ๆ เปลี่ยนสถานภาพเป็นแมลงหายากถึงหายากมาก และบางชนิดมีจำนวนน้อยอยู่แล้วในธรรมชาติ อาจสูญสิ้นเผ่าพันธุ์ ดังนั้นจึงต้องศึกษาถึงชนิดของแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ทั้งนี้เพื่อจะได้นำข้อมูลไปใช้ในการประเมินสถานภาพของแมลงที่ได้ศึกษา รวมทั้งหา

แนวทางเพื่อการอนุรักษ์แมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ให้สามารถดำรงอยู่ในธรรมชาติได้อย่างยั่งยืนตลอดไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างแมลงที่สวยงามและหายาก อุปกรณ์จับและจัดรูปร่างแมลง อุปกรณ์ในการตรวจวิเคราะห์ชนิดแมลง ได้แก่ สวิง ขวดฆ่า สารฆ่าแมลงเอททิลอะซีเตท การบูร ปากคีบ ซองกระดาษสามเหลี่ยม กับดักแสงไฟ ถังแช่ตัวอย่างแมลง ไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง เข็มไร้สนิม ตู้อบตัวอย่างแมลง หีบไม้/ตู้เก็บตัวอย่างแมลง โหลชื้น กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope และ compound microscope

วิธีการ

รวบรวมตัวอย่างแมลงทุกชนิดจากป่าที่มีความอุดมสมบูรณ์ โดยวิธีการต่างๆ เช่น ใช้สวิงโฉบ ใช้มือจับ ใช้พู่กันเขี่ยจากต้นพืชที่พบแมลงหรือถ่ายภาพแมลงที่พบ นำตัวอย่างหนอนหรือตัวอ่อนแมลงไปเลี้ยง เมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัย แบ่งแมลงส่วนหนึ่งปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ อีกส่วนหนึ่งนำไปจัดรูปร่างและอบให้แห้งตามวิธีการของ Poonchaisri (2004) และตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักการของอนุกรมวิธานของแมลงแต่ละชนิด โดยใช้เอกสารของ จารุจินต์และเกรียงไกร (2544), องุ่น (2540), องุ่น และ สุระ (2543), Barlow (1982), Hampson (1892), Holloway (1987), Pinratana and Eliot (1992), Pinratana and Lampe (1990) และ Wong (1996) ประกอบในการตรวจวิเคราะห์ชนิด บันทึกรายละเอียดของแมลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลงแต่ละตัว ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ วัน เดือน ปี สถานที่และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง พร้อมทั้งบันทึกรายละเอียดข้อมูลสำคัญของแมลงและชนิดพืชที่พบตัวอย่าง ถ่ายภาพแมลงที่ได้ศึกษา นำข้อมูลและตัวอย่างแมลงที่บันทึกได้เปรียบเทียบกับข้อมูลและตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์โดยดูจำนวนที่มีในพิพิธภัณฑ์ ปีที่จับได้ครั้งสุดท้าย (Table 1) ศึกษาค้นคว้าข้อมูลจากเอกสารต่างๆ ถึงสถานภาพความมากน้อยของแมลงเหล่านั้น เช่น พบทั่วไปหรือหายาก รวมทั้งข้อมูลจากผู้ค้าแมลงทั้งในและต่างประเทศ หลังจากศึกษาข้อมูลเรียบร้อยแล้ว นำจัดเก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยนำตัวอย่างแมลงจัดใส่กล่อง เก็บเรียงในลิ้นชักและเรียงตามลำดับอักษรภาษาอังกฤษ ใส่การบูรทุก 1-2 เดือน เพื่อป้องกันแมลงขนาดเล็กที่สามารถเข้าทำลายตัวอย่างแมลงทั้งในหีบไม้และลิ้นชักของแต่ละตู้ ในปีนี้ได้นำหิ่งห้อยยักษ์เทียมมาเลี้ยงเพื่อศึกษาหาชีวประวัติ

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2552

1. ป่าที่คงความอุดมสมบูรณ์ในประเทศไทย

2. ห้องปฏิบัติงานกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พบแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ 12 ชนิด ดังต่อไปนี้ (Figure 1-12)

1. อันดับ Lepidoptera พบแมลงในอันดับนี้ 6 ชนิด (species) จำนวน 15 ตัวอย่าง ซึ่งเป็น

1.1) ผีเสื้อกลางวัน (Butterfly) 2 วงศ์ (Family) 2 ชนิด ได้แก่

วงศ์ Papilionidae

ผีเสื้อหางติ่งปารีส: Paris Peacock; *Papilio paris paris* Linnaeus (Figure 1)

สถานที่พบ : อำเภอเสาไห้ จังหวัดสระบุรี จำนวนที่สำรวจพบ 1 ตัวอย่าง

วงศ์ Nymphalidae

ผีเสื้อโคคินัว: Koh-i-noor Butterfly; *Amathuxidia amythaon* Doubleday (Figure 2)

สถานที่พบ: อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง จำนวนที่สำรวจพบ 1 ตัวอย่าง

1.2) ผีเสื้อกลางคืน (Moth) 4 วงศ์ จำนวน 2 ชนิด ได้แก่

วงศ์ Saturniidae

ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก: Luna Moth; *Actias maenas* Doubleday (Figure 3)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดตาก จำนวนที่สำรวจพบ 3 ตัวอย่าง

ผีเสื้อสี่ตาปีกลายตรง (ผีเสื้อจันทรา): Luna Moth; *Actias selene* Hübner (Figure 4)

สถานที่พบ: อำเภอเมือง จังหวัดตาก จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด: Edward Giant Moth; *Archaeoattacus edwardsii* White (Figure 5)

สถานที่พบ: อำเภอเมือง จังหวัดตาก จำนวนที่สำรวจพบ 1 ตัวอย่าง

วงศ์ Uraniidae

ผีเสื้อค้างคาว *Lyssa zampa* Butler (Hampson, 1892) (Figure 6)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดกาฬสินธุ์ จำนวนที่สำรวจพบ 5 ตัวอย่าง

วงศ์ Brahmaeidae

ผีเสื้อพราหมณ์: Brahma Moth; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray (Figure 7)

สถานที่พบ: อำเภอเมือง จังหวัดระนอง จำนวนที่สำรวจพบ 1 ตัวอย่าง

วงศ์ Noctuidae

ผีเสื้อจรวด *Eudocima aurantia* (Moore) (Figure 8)

สถานที่พบ: อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี จำนวนที่สำรวจพบ 1 ตัวอย่าง

2. **อันดับ** Coleoptera พบแมลงในกลุ่มด้วง 3 ชนิด จำนวน 9 ตัวอย่าง ซึ่งเป็น

วงศ์ Carabidae

ด้วงดินปีกแผ่น: Violin Beetle; *Mormolyce phyllodes* Hagenbach (Figure 9)

สถานที่พบ: อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

วงศ์ Lycidae

หิ่งห้อยยักษ์เทียม *Duliticola* sp. (Figure 10)

สถานที่พบ : อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง จำนวนที่สำรวจพบ 5 ตัวอย่าง

วงศ์ Lampylidae

หิ่งห้อย *Lamprigera* sp. (Figure 11)

สถานที่พบ : อำเภอนาโยง จังหวัดตรัง จำนวนที่สำรวจพบ 2 ตัวอย่าง

3. **อันดับ** Hymenoptera พบแมลงในกลุ่มแมลงภู่ 1 ชนิด จำนวน 5 ตัวอย่าง ซึ่งเป็น

วงศ์ Apidae

แมลงภู่ *Xylocopa basalis* Smith (Figure 12)

สถานที่พบ : อำเภอเมือง จังหวัดศรีษะเกษ จำนวนที่สำรวจพบ 5 ตัวอย่าง

จากการเลี้ยงหิ่งห้อยยักษ์เทียมเพื่อศึกษาชีวประวัติพบว่า หิ่งห้อยยักษ์เทียมมีการลอกคราบเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยและมีบางตัวสามารถออกไข่ได้ แต่ไข่ไม่ฝักเป็นหนอน หลังจากออกไข่ไม่นานนักตัวเต็มวัยก็ตาย จึงยังไม่ประสบผลสำเร็จในการเลี้ยง มีข้อสังเกตว่าข้อมูลทางวิชาการที่สืบค้น หิ่งห้อยยักษ์เทียมเพศผู้เท่านั้นที่มีปีก ส่วนเพศเมียนอกจากจะไม่มีปีกแล้วตัวเต็มวัยยังมีรูปร่างคล้ายหนอนตลอดชีวิต และมีการสืบพันธุ์โดยอาศัยเพศ แต่ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบเพศผู้ แต่เพศเมียสามารถออกไข่ได้ และจากการติดต่อกับผู้ที่ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแมลงชนิดนี้ซึ่งทั่วโลกมีเพียงไม่กี่คน มีความเห็นว่าแมลงชนิดนี้นอกจากเป็นแมลงที่พบใหม่ (New record) ของประเทศไทยแล้ว ยังน่าจะเป็นแมลงชนิดใหม่ (New species) ของโลก จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจและศึกษาค้นคว้าต่อไปอย่างยิ่ง

รายละเอียดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์แต่ละชนิด

Papilio paris paris Linnaeus (Figure 1)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Papilionidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อหางติ่งปารีส: Paris Peacock

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 9.0-12.0 เซนติเมตร เพศผู้และเพศเมียมีลักษณะคล้ายกัน ปีกคู่หน้า พื้นปีกสีดำแทรกด้วยเกล็ดสีเขียวมรกตแวววาว ปีกคู่

หลัง กลางปีกมีแถบสีเขียวอมฟ้าขนาดใหญ่ บริเวณมุมปีกด้านในมีจุดสีดำล้อมรอบด้วยสีแดงคล้ายตา ขอบปีกด้านนอกมีติ่งยื่นยาวคล้ายหาง ปีกล่าง พื้นปีกสีดำเช่นเดียวกับปีกบน กลางปีกคู่หน้ามีแถบสีขาว ขอบปีกคู่หลังมีแต้มสีชมพูรูปจันทร์เสี้ยวที่มุมปลายปีก

สถานที่พบ: จังหวัดสระบุรี

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดนครนายก กาญจนบุรี เพชรบุรี ชุมพร เชียงใหม่ ประจวบคีรีขันธ์ จันทบุรี นครราชสีมา

Amathuxidia amythaon Doubleday (Figure 2)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Nymphalidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อโคคินัว: Koh-i-noor

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 10.0-12.0 เซนติเมตร ทั้งเพศผู้และเพศเมียพื้นปีกสีน้ำตาลเข้ม เพศผู้มีแถบสีฟ้าพาดขวางกลางปีกคู่หน้า บริเวณมุมปลายปีกหลังของปีกคู่หลังมีสีฟ้า เพศเมียมีแถบขนาดใหญ่สีขาวครีมพาดกลางปีกคู่หน้า และมีแถบสีขาวจางๆ ตามช่องเส้นปีกจากบริเวณขอบปีกด้านข้างมาถึงกลางปีก ปีกหลัง พื้นปีกสีน้ำตาลอ่อน มีเส้นสีน้ำตาลจางๆ พาดขวางปีก มีจุดวงกลมขนาดใหญ่บริเวณกลางปีกเยื้องไปทางขอบปีกด้านนอกหนึ่งจุด และมุมปลายปีกหลังอีกหนึ่งจุด

สถานที่พบ: จังหวัดตรัง

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดเชียงใหม่ เพชรบุรี ระนอง ตรัง นครศรีธรรมราช ยะลา จันทบุรี

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดกรุงเทพมหานคร เชียงใหม่ นครศรีธรรมราช อุทัยธานี นครราชสีมา

Actias selene Hübner (Figure 3)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Saturniidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อสี่ตาปีกลายตรง (ผีเสื้อจันทรา): Luna Moth, Indian Moon Moth

ลักษณะสำคัญ

เพศผู้ ขนาดลำตัวจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 12.0-14.0 เซนติเมตร ลำตัวมีขนสีเหลืองอ่อนปกคลุม หนวดแบบขนนก ปีกสีเขียวอ่อน มีจุดรูปพระจันทร์เสี้ยวสีน้ำตาลดำทั้งปีกหน้าและปีกหลัง รวม 4 จุด ปีกคู่หน้ามีเส้นสีน้ำตาลเทาจางๆ ขวางปีก ปีกคู่หลังมีหาง

ยาวโค้งลักษณะคล้ายรูปดาบสีชมพู เพศเมีย ขนาด 14.0-16.0 เซนติเมตร ลักษณะทั่วไปเหมือนเพศผู้ แต่มีหางค่อนข้างใหญ่ บิดเป็นเกลียวและมีสีเดียวกับสีปีก

สถานที่พบ: จังหวัดตาก

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดตาก จันทบุรี เชียงใหม่ อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์

Actias maenas Doubleday (Figure 4)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Saturniidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก: Luna Moth, Maenas Silk Moth

ลักษณะสำคัญ

เพศผู้ ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 12.0-13.0 เซนติเมตร ลำตัวมีขนสีเหลืองอ่อนปกคลุม หนวดแบบขนนก พื้นปีกมีสีเหลืองอมน้ำตาล กลางปีกคู่หน้ามีแถบหยักสีน้ำตาล บริเวณติดกับขอบปีกด้านบนมีจุดตารูปเคียวสีน้ำตาลเข้มล้อมด้วยสีน้ำตาลอ่อน ปีกคู่หลังเรียวยาวคล้ายหางสีน้ำตาลเข้ม ส่วนปลายหางสีเหลืองอมน้ำตาล เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้มาก พื้นปีกทั้งคู่หน้าและคู่หลังสีเหลืองไม่มีลวดลาย ยกเว้นบริเวณส่วนกลางขอบปีกด้านบนของปีกคู่หน้ามีลักษณะเป็นจุดตารูปเคียวเช่นเดียวกับเพศผู้

สถานที่พบ: จังหวัดตาก

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ แพร่ น่าน สระบุรี นครนายก กาญจนบุรี ระยอง จันทบุรี

Archaeoattacus edwardsii White (Figure 5)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Saturniidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด: Edwards Giant Moth

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 20.0-25.0 เซนติเมตร ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิดมีลวดลายปลายปีกคู่หน้าลักษณะคล้ายหัวงูและมีจุดแต้มสีน้ำตาลเข้มคล้ายตา 2 ตา เพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ พื้นปีกทั้งปีกคู่หน้าและคู่หลังสีน้ำตาลเข้ม มีแถบสีขาวกลางลำตัวและปีกเชื่อมต่อเป็นเส้นเดียวกันทั้งสองข้าง บริเวณกลางปีกมีจุดเป็นรูปสามเหลี่ยมปลายแหลมสีขาวใสไม่มีเกล็ดปกคลุม ปีกละหนึ่งจุด

สถานที่พบ: จังหวัดตาก

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดกาญจนบุรี ตาก เชียงใหม่

Lyssa zampa Butler (Figure 6)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Uraniidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อค้างคาว: Giant Uranid Moth, Long-tailed Moth

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 11.0-14.0 เซนติเมตร ลำตัวมีขนสีน้ำตาลเทาปกคลุม ปีกค่อนข้างบอบบาง ลวดลายปีกเพศผู้และเพศเมียคล้ายกันแต่เพศผู้สีเข้มกว่า ปีกคู่หน้าและคู่หลังมีแถบสีขาวพาดขวางปีก ปีกคู่หลังขอบปีกด้านนอกมีติ่งคล้ายหางสองติ่ง ปลายติ่งที่ยาวมีสีขาว

สถานที่พบ: จังหวัดเชียงใหม่

Brahmaea wallichii wallichii Gray (Figure 7)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Brahmaeidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อพราหมณ์: Brahma Moth

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 12.0-14.0 เซนติเมตร ลำตัวมีขนสีน้ำตาลสลับสีดำปกคลุม พื้นปีกสีน้ำตาลอ่อนมีลวดลายสีดำกระจายทั่วปีก กลางปีกคู่หน้ามีจุดกลมสีน้ำตาลขนาดใหญ่คล้ายตาข้างละหนึ่งจุด มุมปลายปีกมีแถบสีดำ ปีกคู่หลัง โคนปีกสีน้ำตาลเข้ม กลางปีกมีลวดลายสีดำกระจายทั่วปีก ขอบปีกสีน้ำตาลอ่อน

สถานที่พบ: จังหวัดระนอง

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดชัยภูมิ พิษณุโลก เชียงใหม่ นครราชสีมา ตรัง ลำปาง เลย นครนายก อุทัยธานี

Eudocima aurantia (Moore) (Figure 8)

อันดับ Lepidoptera

วงศ์ Noctuidae

ชื่อสามัญ ผีเสื้อมวนหวานปีกลายใบไม้แห้ง : Fruit moth

ลักษณะสำคัญ

ขนาดลำตัววัดจากขอบปีกด้านหนึ่งถึงขอบปีกอีกด้านหนึ่งกว้าง 13.0 เซนติเมตร ผีเสื้อจรวดใบไม้มีลวดลายปลายปีกคู่หน้าลักษณะคล้ายใบไม้แห้ง พื้นปีกทั้งปีกคู่หน้าและคู่หลังสีเหลืองอ่อน บริเวณกลางปีกคู่หลังมีแต้มเป็นรูปพระจันทร์เสี้ยวสีดำ ปีกละคู่

สถานที่พบ: จังหวัดกาญจนบุรี

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แพร่

Mormolyce phyllodes Hagenbach (Figure 9)

แมลงอันดับ Coleoptera

วงศ์ Carabidae

ชื่อสามัญ ด้วงดินปีกแผ่น, ด้วงไวโอลิน: Violin Beetle

ลักษณะสำคัญ

ลำตัวยาว 12.0-15.0 เซนติเมตร เป็นด้วงที่มีรูปร่างสวยงาม แปลกตา มองดูคล้ายไวโอลิน ซึ่งเป็นที่มาของชื่อด้วงไวโอลิน สีน้ำตาลเข้มดำ หนวดยาวสีดำ ตาโปนสีน้ำตาลหรือน้ำตาลเข้มดำ อกปล้องแรกมีลักษณะเรียวยาว ขอบด้านข้างมีรอยหยักไม่เป็นระเบียบ ปีกขรุขระขอบเรียบ ขายาวสีดำ ข้างลำตัวมีแผ่นปีกแบนแผ่กว้างออก รูปร่างคล้ายไต

สถานที่พบ: จังหวัดตรัง

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดตรัง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ชุมพร

Lamprigera sp. (Figure 10)

อันดับ Coleoptera

วงศ์ Lampyridae

ชื่อสามัญ หิ่งห้อยยักษ์, หิ่งห้อยช้าง: Giant Firefly

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีลำตัวยาว 6.0-7.0 เซนติเมตร กว้าง 2.5 เซนติเมตร ลักษณะพิเศษคือ ตัวเต็มวัยเพศเมียไม่มีปีก และมีลักษณะคล้ายหนอน ลำตัวแบ่งเป็นปล้องๆ สีดำ บริเวณส่วนหัวและส่วนปลายท้องมีสีส้ม สามารถทำแสงได้บริเวณปล้องท้องปล้องสุดท้าย ส่วนเพศผู้มีปีกบินได้ มีขนาดตัวเล็กกว่าเพศเมียมาก โดยเพศผู้มีขนาดลำตัวยาว 2.5-2.8 เซนติเมตร สีน้ำตาลเทา

สถานที่พบ: จังหวัดตรัง

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แพร่ จันทบุรี ตรัง ตาก

Duliticola sp. (Figure 11)

แมลงอันดับ Coleoptera

วงศ์ Lycidae

ชื่อสามัญ หิ่งห้อยยักษ์เทียม, ด้วงไทรโลไบท์: Trilobite Beetle

ลักษณะสำคัญ

เป็นด้วงที่มีลำตัวยาว 5.0-7.0 เซนติเมตร กว้าง 2.5 เซนติเมตร มีลักษณะพิเศษ คือ เพศเมียไม่มีปีก มีลักษณะคล้ายหนอนตลอดชีวิต มีลำตัวค่อนข้างแบน แต่ละปล้องของส่วนอกมีลักษณะ

เหมือนเกล็ดซ้อนเหลื่อมกัน บริเวณด้านข้างปล้องท้องแต่ละปล้องมีลักษณะคล้ายหนามยื่นออกมาทางด้านข้างทั้งสองด้าน

สถานที่พบ: จังหวัดตรัง

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดภูเก็ต จันทบุรี ชุมพร ตรัง

Xylocopa basalis Moore (Figure 12)

อันดับ Hymenoptera

วงศ์ Apidae

ชื่อสามัญ แมลงภู่: Carpenter Bee

ลักษณะสำคัญ

เป็นผึ้งขนาดกลางลำตัวยาว 1.70-2.0 เซนติเมตร กว้าง 1.1-1.3 เซนติเมตร หัวสีดำ อกและท้องสีดำ อกด้านบนสีดำ บริเวณด้านหน้าของอกมีขนสีน้ำตาลอ่อนปกคลุม ปล้องท้องปล้อง 1-2 ปกคลุมด้วยขนสีขาว ปีกใสเส้นปีกสีน้ำตาล

สถานที่พบ: จังหวัดกาญจนบุรี

เขตการแพร่กระจายในประเทศไทย: จังหวัดระนอง กาญจนบุรี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาชนิดแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 โดยการสำรวจและรวบรวมแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์จากป่าธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้ไปตรวจวิเคราะห์ชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน พร้อมทั้งศึกษาจากตัวอย่างแมลงที่มีในพิพิธภัณฑ์แมลงและเอกสารที่เกี่ยวข้อง พบแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ 3 อันดับ 12 ชนิดได้แก่ ได้แก่ ผีเสื้อหางติ่งปารีส; *Papilio paris paris* ผีเสื้อโคคินัว; *Amathuxidia amythaon* Doubleday ผีเสื้อค้างคาว; *Lyssa zampa* Butler ผีเสื้อพราหมณ์; *Brahmaea wallichii wallichii* Gray ผีเสื้อยักษ์เอ็ดเวิด; *Archaeoattacus edwardsii* White ผีเสื้อสี่ตาปีกลายตรง (ผีเสื้อจันทรา); *Actias selene* Hübner ผีเสื้อตาเคียวปีกลายหยัก; *Actias maenas* Doubleday และผีเสื้อจรวด *Eudocima aurantia* (Moore) อันดับ Coleopera 3 ชนิด ได้แก่ หิ่งห้อย; *Lamprigera* sp. หิ่งห้อยยักษ์เทียม; *Duliticola* sp. และด้วงดินปีกแผ่น; *Mormolyce phyllodes* Hagenbach และอันดับ Hymenoptera พบ 1 ชนิด ได้แก่ แมลงภู่ *Xylocopa basalis* Smith

การศึกษาแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ นอกจากจะมีประโยชน์อย่างมากต่อการประเมินสถานภาพของแมลงที่พบ และเป็นโอกาสให้ผู้วิจัยได้ค้นหาพืชอาหาร เพื่อที่จะสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณและปล่อยคืนสู่ธรรมชาติ ข้อมูลทั้งหมดที่ได้ยังเป็นประโยชน์ในการจัดทำ

ฐานข้อมูลทรัพยากรพันธุกรรมของแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ในประเทศไทย เพื่อเป็นแหล่งสืบค้นของนักวิชาการ นักเรียน นักศึกษาและบุคคลทั่วไป อีกทั้งเป็นข้อมูลสนับสนุน / ยืนยัน / เพิ่มเติมในการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงอนุรักษ์ของประเทศไทย ตามบัญชีรายชื่ออนุสัญญา CITES ดังนั้นควรมีการศึกษาวิจัยในเรื่องนี้อย่างจริงจังและต่อเนื่องไม่มีวันสิ้นสุด หากต้องการที่จะฟื้นฟูปรับปรุงสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ชนิดต่างๆ อันจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งทั้งทางตรงและทางอ้อม ในการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุกรรมแมลงหายากใกล้สูญพันธุ์ให้คงอยู่ในธรรมชาติอย่างสมดุลและยั่งยืนตลอดไป

เอกสารอ้างอิง

จารุจินต์ นภีตะภัฏ และ เกรียงไกร สุวรรณศักดิ์. 2544. ผีเสื้อ. สำนักพิมพ์วนา, กรุงเทพฯ.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2540. การอนุรักษ์แมลงในประเทศไทย. ว. กีฏ. สัตว. 19(2): 95-99.

องุ่น ลิ่ววานิช และ สุระ พิมพะสาลี. 2543. แมลงอนุรักษ์. เอกสารวิชาการแผ่นพับ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

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

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

Hollaway, J. D. 1987. The Moth of Borneo. United Selangor Press Sdn., Bhd., Kuala Lampur, Malaysia.

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

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

Wong, A. T. C. 1996. A New Species of Neotenous Beetle, *Duliticola hoisen*i (Insecta: Coleoptera: Cantharoidea: Lycidae) from Peninsular Malaysia and Singapore. The Raffles Bulletin of Zoology. 44(1): 173 – 178.

Figure 1 *Papilio paris paris* Linnaeus
Paris Peacock

Figure 2 *Amathuxidia amythaon* Doubleday
Koh-i-noor

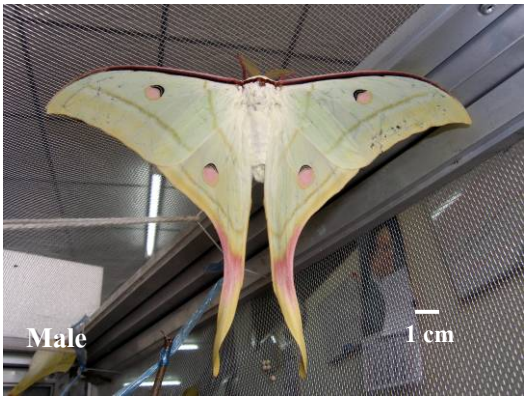


Figure 3 *Actias selene* Hübner
Luna Moth

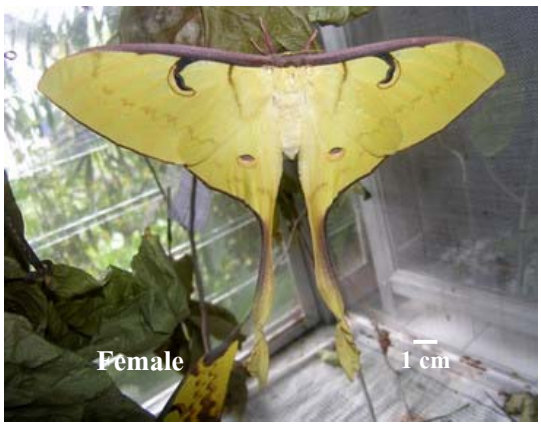


Figure 4 *Actias maenas* Doubleday
Luna Moth

Figure 5 *Archaeoattacus edwardsii* White Edwards Giant Moth

Figure 6 *Lyssa zampa* Butler Giant Uranid Moth

Figure 7 *Brahmaea wallichii wallichii* Gray Brahma Moth

Figure 8 *Eudocima aurantia* (Moore) Leaf Moth

Figure 9 *Momorlyce phyllodes* Hagenbach
Violin Beetle

Figure 10 *Duliticola* sp.
Trilobite Beetle

Figure 11 *Lamprigera* sp.
Giant Firefly

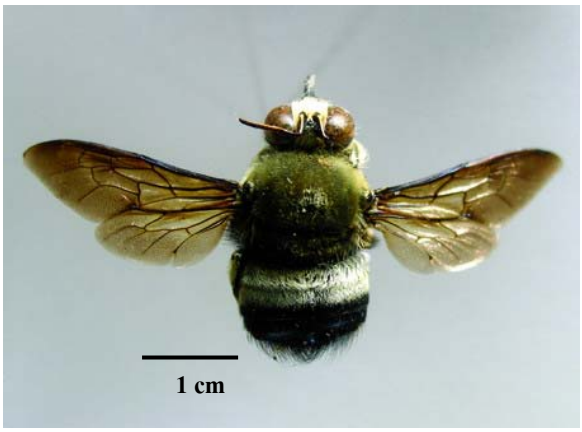


Figure 12 *Xylocopa basalis* Smith
Carpenter Bee

ชีววิทยาหอยเจดีย์ใหญ่

Biological Studies of Land Snail *Prosopeas walkeri* (Benson)

ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ได้ทำการสำรวจแปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร ในจังหวัดกาญจนบุรี และจังหวัดสมุทรสาคร ที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่ จึงเก็บตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่ จำนวน 200 ตัว มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาพฤติกรรมและชีววิทยาด้านต่างๆ โดยนำหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติในกล่องพลาสติกใสที่รองด้วยขุยมะพร้าวผสมดินและรดน้ำให้ชุ่มอยู่เสมอ ให้แตงกวา ผักกาดขาว ผักกาดหอมและอาหารปลาเป็นอาหาร พบว่าหอยสามารถปรับตัวและกินอาหารได้ดี หอยเจดีย์ใหญ่ที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการชอบหลบแสงอยู่ตามใต้เศษไม้ใบไม้ ใบผักอาหาร หอยเจดีย์ใหญ่มี 2 ในตัวเดียวกันแต่ผสมภายในไม่ได้ หอยที่ผสมพันธุ์แล้วจะมีไข่อยู่ในตัว 2-8 ฟอง ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า และวางไข่ไว้ตามบริเวณที่หลบแสงตามซอกดินที่มีรอยแตก โดยวางทีละฟองจนหมดครอกใช้เวลา 2-3วัน ไข่หอยมีขนาด1-1.5 มม.มีเปลือกแข็งเป็นแคลเซียมสีขาว ใช้เวลาฟัก 2-5 วัน จึงเป็นตัวอ่อนและเริ่มกัดกินใบผักหรือพืชอาหารได้ทันที อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 1 มิลลิเมตรต่อเดือน การศึกษายังไม่สิ้นสุด

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-45-51

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. กล่องพลาสติกใสสำหรับเลี้ยงหอย
3. ขุยมะพร้าว
4. สเปรย์ฉีดน้ำ
5. แว่นขยาย
6. forcep
7. อาหารปลา ผักสด
8. วัสดุอื่นๆ เช่นกระดาษทิชชู

วิธีการ

1. สำรวจและค้นหาแหล่งที่มีการระบาดของหอยเจดีย์ใหญ่
2.เก็บรวบรวมหอยเจดีย์ใหญ่จากสวนกล้วยไม้ของเกษตรกรมาศึกษาในห้องห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร
3. นำตัวอย่างหอยเจดีย์ใหญ่มาเลี้ยงในบ่อพักที่เตรียมไว้
4.คัดเลือกหอยที่แข็งแรงไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกที่รองด้วยขุยมะพร้าวและรดน้ำจนชุ่ม
5.ให้อาหารปลาและผักสดเป็นอาหาร

6. สังเกต และบันทึกข้อมูล

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2548 - กันยายน 2553 รวม 5 ปี

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เกษตรกลาง บางเขน กรุงเทพฯ
- สวนกล้วยไม้ของเกษตรกร

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

สำรวจและศึกษาชนิดหนูศัตรูพืชในระบบนิเวศปาล์มปลูกใหม่

Exploration and Studies on Rat Species in Oil Palm Plantations Ecosystem

กรแก้ว เสือสะอาด พวงทอง บุญทรง
เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและศึกษาความหลากชนิดสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 1-3 ปี ระหว่าง เดือน ตุลาคม 2551–กันยายน 2552 ในจังหวัดสระบุรี จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดสุพรรณบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยวิธีการดักหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ที่ทำการสำรวจ เก็บรวบรวมตัวอย่างหนูที่ดักได้นำมาจำแนกชนิด เพศ และชื่อวิทยาศาสตร์พร้อมบันทึกรายละเอียดต่างๆ ผลการสำรวจและศึกษาพบว่าในเขตอำเภอวิหารแดง จังหวัดสระบุรี ได้ตัวอย่างหนู 2 ชนิดคือ หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) และหนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) ในเขตอำเภอทองผาภูมิ อำเภอสังขละบุรี อำเภอศรีสวัสดิ์ และอำเภอด่านมะขามเตี้ย จังหวัดกาญจนบุรี ตัวอย่างหนูที่ดักได้10ชนิดได้แก่ หนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก(*Bandicota savilei*) หนูท้องขาวบ้าน หนูฟานเหลือง(*Maxomys surifer*) หนูหวาย(*Leopoldamys sabanus*) หนูฟันขาวใหญ่(*Berylmys bowersi*) หนูฟันขาวเล็ก(*Berylmys berdmorei*) หนูหริ่งป่าใหญ่ขนเสี้ยน(*Mus shortridgei*) หนูหริ่งนาหางยาว หนูหริ่งนาหางสั้น นอกจาก นั้นยังพบอ้นเล็ก (*Cannomys badius*) กัดกินรากปาล์มใต้ดินของต้นปาล์มปลูกใหม่ และกระจ้อนหรือกระแต(*Menetes berdmore*i) ในเขตอำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี ได้ตัวอย่างหนู 4 ชนิด ได้แก่ หนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูหริ่งนาหางสั้น และหนูหริ่งนาหางยาว นอกจากนั้นยังพบอ้นเล็ก(*Cannomys badiusi*) กัดกินรากปาล์มใต้ดินของต้นปาล์มปลูกใหม่ ในเขตอำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี ได้ตัวอย่างหนู 5 ชนิด ได้แก่ หนูพุกเล็ก หนูท้องขาวบ้าน หนูหริ่งนาหางสั้น หนูหริ่งนาหางยาว และหนูจี๊ด ในเขตอำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ได้ตัวอย่างหนู 1ชนิด ได้แก่ หนูพุกใหญ่ ซึ่งการสำรวจยังไม่เสร็จสิ้นจึงได้ทำการสำรวจความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูปาล์มปลูกใหม่เพิ่มเติมต่อไปในปี 2553

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-48-51

คำนำ

การทำเกษตรกรรมที่เพาะปลูกพืชเพื่อการค้าเป็นการปลูกพืชเชิงเดี่ยวทำให้ระบบนิเวศเปลี่ยนไปเกิดการระบาดของศัตรูพืช ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจต่างๆ จากการสำรวจความเสียหายของพืชต่างๆ ในประเทศไทย 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 สภาพสมดุลทางธรรมชาติเสียไป เมื่อเปรียบเทียบกับสภาพนิเวศธรรมชาติที่มักไม่เกิดปัญหาเหล่านี้ เนื่องจากมีความหลากหลายของสัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติมากมาย จึงทำให้เกิดการระบาดของสัตว์ศัตรูพืชน้อยมาก(เกรียงศักดิ์,2540; ประเสริฐ และเกรียงศักดิ์,2546; Lekunze, Ezealor และ Aken Ova, 2001; Duckett และ Karuppiah,1989) แนวทางการศึกษานี้ เพื่อให้ทราบถึงความหลากหลายของสัตว์ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติในสภาพการปลูกพืชชนิดต่างๆ เพื่อเป็นประโยชน์ในการหาแนวทางจัดการศัตรูพืชไม่ให้เกิดการระบาดรุนแรง ดังนั้น ข้อมูลพื้นฐาน เช่น ข้อมูลทางด้านอนุกรมวิธาน ชนิด จำนวน เขตการแพร่กระจายของสัตว์ศัตรูพืช ศัตรูธรรมชาติ ความเสียหายของพืชผล ระยะเวลาการระบาด ความหลากชนิดของสัตว์เหล่านี้ ในสภาพพื้นที่นั้นๆจึงมีความ สำคัญและจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อประโยชน์ในการสืบค้นข้อมูลและเป็นแนวทางในการนำไปใช้วางแผนการจัด การสัตว์ศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งควรใช้ประโยชน์จากศัตรูธรรมชาติเช่นนกแสก(Smal,1990)ในการควบคุมการระบาดของสัตว์ศัตรูพืช โดยไม่ใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชและเป็นการลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช จากผลการศึกษาและสำรวจชนิดหนูศัตรูปาล์มปลูกใหม่ในปี 2549 -2552 ในภาคตะวันออก เช่น จังหวัดชลบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดจันทบุรี จังหวัดตราด จังหวัดสระแก้ว ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดหนองคาย จังหวัดกาฬสินธุ์ ภาคใต้ เช่นจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ภาคกลาง เช่น จังหวัดปทุมธานี ภาคตะวันตก เช่น จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดสระบุรีเป็นต้น พบว่ามีความหลากชนิดของหนูและสัตว์ในพื้นที่เหล่านี้ มีทั้งสกุลหนูพุก สกุลหนูท้องขาว สกุลหนูหริ่ง หนูป่าหลายชนิด รวมทั้งอ้นและกระจ้อน ดังนั้นจึงได้ทำการสำรวจความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูปาล์มปลูกใหม่ในเขตภาคตะวันออก ภาคตะวันตก ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือบางพื้นที่ที่ยังไม่ได้ดำเนินการเพิ่มเติมต่อไปในปี 2553

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. กรงดักหนู(Live trap) 100 กรง กรงเลี้ยงหนู อาหารเลี้ยงหนู
2. เหยื่อดักหนู เช่น ขี้ไต้ ข้าวโพดหวาน
3. สวนปาล์มน้ำมันปลูกใหม่ของเกษตรกรในเขตจังหวัดสระบุรี จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดสุพรรณบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์
4. เครื่องชั่งน้ำหนักสนาม เชือก สำลี ลวด บอร์แร็ก เวอร์เนียร์ ไม้บรรทัด ไฟฉาย สายวัด ถุงผ้าดิบ สมุดบันทึกข้อมูล เครื่องมือผ่าตัด ขวดดองสัตว์ บิ๊กเกอร์ petridish ฟอร์เซ็บ
5. สารเคมี เช่น แอลกอฮอล์ ฟอร์มาลิน ไดเอทิลอีเทอร์ ไดอ็อกแซน เป็นต้น
6. อุปกรณ์สำหรับสตั๊ฟสัตว์ เช่น ใบมีดผ่าตัด กรรไกรตัดกระดูก ผงบอแร็ก ลวด สำลี
7. กล้องจุลทรรศน์ แว่นขยาย กล้องถ่ายรูป
8. ตู้เก็บตัวอย่างสัตว์

วิธีการ

1) สำรวจ รวบรวม เก็บตัวอย่างหนูและสัตว์ศัตรูพืชในพื้นที่ปลูกปาล์มที่เลือก โดยทำการดักหนูและสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 1-3 ปี ในเขตจังหวัดสระบุรี จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดสุพรรณบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 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 เพื่อจำแนกชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาดำเนินการ : ปี 2552 เริ่มต้น ตุลาคม 2551 สิ้นสุด กันยายน 2552 รวม 1 ปี

สถานที่ดำเนินการ : สวนปาล์มน้ำมันในเขตจังหวัดสระบุรี จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดสุพรรณบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลอง

สำรวจและศึกษาความหลากชนิดสัตว์ศัตรูปาล์มน้ำมันในเขตพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่อายุ 1-3 ปี ระหว่าง เดือน ตุลาคม 2551–กันยายน 2552 ในจังหวัดสระบุรี จังหวัดกาญจนบุรี จังหวัดอุทัยธานี จังหวัดสุพรรณบุรี และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ โดยวิธีการดักหนูในพื้นที่ปาล์มปลูกใหม่ที่ทำการสำรวจ ตัวอย่างหนูที่ดักได้นำมาจำแนกชนิด เพศ และชื่อวิทยาศาสตร์พร้อมบันทึกรายละเอียดต่างๆ บันทึกระบบนิเวศของพื้นที่นั้น อายุปาล์มน้ำมันและจำนวนหนูที่ดักได้หนูที่ดักได้นำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เพื่อนำมาจำแนกชนิด เพศ น้ำหนัก และรายละเอียดของสัตว์ที่ดักได้ เช่น สีขนด้านหลัง สีขนท้อง ความยาวของหัว ความยาวลำตัว ความยาวหาง ความยาวหู ความยาวตีนหลัง ลักษณะของกระโหลก ฟัน เป็นต้น และวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะความแตกต่างตามระบบอนุกรมวิธานโดยใช้ระบบการจำแนกชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในประเทศไทย อาศัยหลักการจำแนกชนิด 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 สตั๊ฟตัวอย่างสัตว์พร้อมบันทึกข้อมูลเบื้องต้นไว้ในตู้เก็บตัวอย่างสัตว์ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการสืบค้นของนักวิจัยต่อไป จากการสำรวจโดยการใช้กรงดัก พบว่าเขตตำบลหนองหมู อำเภอวิหารแดง จังหวัดสระบุรี ได้ตัวอย่างหนู 2 ชนิดคือ

หนูพุกใหญ่(*Bandicota indica*) และ หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) และสภาพพื้นที่เคยปลูกส้มเขียวหวานมาก่อน ในเขตตำบลท่าขนุนและตำบลชะแล อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ตัวอย่างหนูที่ดักได้ 7 ชนิดได้แก่ หนูพุกเล็ก(*Bandicota savilei*) หนูท้องขาวบ้าน(*Rattus rattus*) หนูฟานเหลือง(*Maxomys surifer*) หนูหวาย(*Leopoldamys sabanus*) หนูฟันขาวเล็ก(*Berylmys berdmorei*) หนูหริ่งนาหางยาวและหนูหริ่งนาหางสั้น นอกจากนั้นยังพบอ้นเล็ก (*Cannomys badius*) และกระจ้อนหรือกระแต(*Menetes berdmorei*) ในเขตตำบลหนองลู อำเภอสังขละบุรี จังหวัดกาญจนบุรี ได้ตัวอย่างหนู 9 ชนิด ได้แก่ หนูพุกใหญ่(*Bandicota savilei*) หนูท้องขาวบ้าน (*Rattus rattus*) หนูหวาย(*Leopoldamys sabanus*) หนูฟานเหลือง(*Maxomys surifer*) หนูหริ่งป่าใหญ่ขนเสี้ยน (*Mus shortridgei*) หนูหริ่งนาหางสั้น หนูหริ่งนาหางยาว หนูฟันขาวเล็ก (*Berylmys berdmorei*) หนูฟันขาวใหญ่(*Berylmys bowersi*) นอกจากนั้นยังพบอ้นเล็ก (*Cannomys badius*) กัดกินรากใต้ดินของต้นปาล์มปลูกใหม่ ในเขตตำบลเขาโจด อำเภอศรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี ได้ตัวอย่างหนู 4 ชนิดได้แก่ หนูท้องขาวบ้าน หนูหริ่งนาหางสั้น และหนูหริ่งนาหางยาว ในเขตตำบลด่านมะขามเตี้ย อ.ด่านมะขามเตี้ย จังหวัดกาญจนบุรี ได้ตัวอย่างหนู 4 ชนิด ได้แก่ หนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูท้องขาวบ้าน และหนูหริ่งนาหางยาว นอกจากนั้นยังพบอ้นเล็ก (*Cannomys badius*) กัดกินรากปาล์มใต้ดินของต้นปาล์มปลูกใหม่ เป็นพื้นที่ที่เคยปลูกไม้ผล และพืชไร่ มาก่อน ในเขต ตำบลคอกควาย อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี ได้ตัวอย่างหนู 4 ชนิด ได้แก่ หนูพุกใหญ่ หนูพุกเล็ก หนูหริ่งนาหางสั้น และหนูหริ่งนาหางยาว นอกจากนั้นยังพบอ้นเล็ก (*Menetes berdmorei*) กัดกินรากปาล์มใต้ดินของต้นปาล์มปลูกใหม่ ในเขตตำบลองค์พระและตำบลนิคมเกสียว อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี ได้ตัวอย่างหนู 5 ชนิด ได้แก่ หนูพุกเล็ก หนูท้องขาวบ้าน หนูหริ่งนาหางสั้น หนูหริ่งนาหางยาว และหนูจี๊ด ซึ่งสภาพแวดล้อมเป็นพื้นที่ที่เคยปลูกสับปะรด และพืชไร่ มาก่อน ในเขต อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ได้ตัวอย่างหนู 1 ชนิด ได้แก่ หนูพุกใหญ่

จากการสำรวจสภาพนิเวศวิทยาของพื้นที่ปลูกปาล์มใหม่ของเกษตรกรที่ดักหนูได้เป็นพื้นที่ที่พบรูหนู ร่องรอยการทำลายปาล์มน้ำมันของหนูและมีหญ้าขึ้นรก มีป่ารอบๆบริเวณพื้นที่ปลูกหรือติดกับพื้นที่ปลูกไม้ผล เช่น เงาะทุเรียน สับปะรด ส้ม หรือเป็นพื้นที่ร้างมาก่อน เนื่องจากมีการปลูกปาล์มใหม่ทั่วประเทศเพื่อเป็นพืชทดแทนพลังงานตามนโยบายของรัฐบาล ซึ่งการสำรวจยังไม่เสร็จสิ้น ดังนั้นจึงได้ทำการสำรวจความหลากชนิดของสัตว์ศัตรูปาล์มปลูกใหม่ภาคอื่นๆ เพิ่มเติมต่อไปในปี 2553

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์. 2540. ความหลากชนิดและนิเวศวิทยาของหนูในพื้นที่ป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรม ริมชายฝั่งแม่น้ำโขง อำเภอสังคม จังหวัดหนองคาย. วิทยานิพนธ์บัณฑิต วิทยาลัย 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. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 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.

อนุกรมวิธานด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง: *Sternochetus* spp. (Coleoptera: Curculionidae)

Taxonomy of Mango Seed Weevils: *Sternochetus* spp. (Coleoptera: Curculionidae)

ศิริณี พูนไชยศรี สุนัดดา เชาวลิต อิทธิพล บรรณาการ

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจรวบรวมผลมะม่วงจากแหล่งปลูกมะม่วงในจังหวัด เชียงใหม่ ลำพูน เพชรบุรี นครราชสีมา และระยอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 นำผลมะม่วงที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เพื่อผ่าตรวจหาตัวเต็มวัยด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง จากการผ่าผลมะม่วงทั้งหมด 2,618 ผล พบผลที่มีตัวเต็มวัยด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง 251 ผล และพบตัวเต็มวัยทั้งหมด 252 ตัว นำตัวเต็มวัยที่พบไปศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางอนุกรมวิธานกับตัวอย่างด้วงงวงในพิพิธภัณฑ์แมลงและตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ที่ได้รับจากศาสตราจารย์ ดร.Rolf Oberprieler ผู้เชี่ยวชาญด้านด้วงงวงของประเทศเครือรัฐออสเตรเลีย ในส่วนของหนอน หลังจากที่ผ่าสำรวจและพบหนอนที่ยังมีชีวิต ได้นำมาทดลองเลี้ยงเพื่อศึกษาวงจรชีวิตในห้องปฏิบัติการ การวิจัยเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2553

คำนำ

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่าปัญหาศัตรูพืชเป็นข้อกำหนดสำคัญในการต่อรองทางการค้าระหว่างประเทศ ตามมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measure : SPS Agreement) และด้วยมาตรการดังกล่าว ทำให้ขณะนี้ประเทศไทยกำลังประสบปัญหาในการส่งออกมะม่วงไปยังประเทศมาเลเซีย เนื่องจากทางการประเทศมาเลเซียได้แจ้งให้ประเทศไทยทราบว่าพบด้วงงวงมะม่วง (mango weevil) ชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ซึ่งเป็นศัตรูกักกัน (quarantine pest) ของประเทศมาเลเซียจากมะม่วงที่นำเข้าจากประเทศไทย หากยังตรวจพบอีกอาจต้องมีการพิจารณาระงับการ

รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-05-52

นำเข้า และถ้าเหตุการณ์เป็นไปตามที่ประเทศมาเลเซียแจ้งมา จะทำให้ประเทศไทยสูญเสียรายได้จากการส่งออกมะม่วงไปยังประเทศมาเลเซียเป็นมูลค่ากว่า 300 ล้านบาท/ปี ดังนั้นประเทศไทยจึงต้องรีบเร่งแก้ปัญหานี้โดยด่วนที่สุด เรื่องสำคัญที่ต้องเร่งดำเนินการเป็นอันดับแรก คือการศึกษาวิจัยด้านอนุกรมวิธานของแมลงในสกุลนี้ ซึ่งสมหมาย (2535) ได้รายงานว่าพบด้วงสกุลนี้เพียง 2 ชนิด คือ *Sternochetus olivieri* (Faust) และ *Sternochetus frigidus* (Fabricius) แต่ไม่มีรายงานถึงชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) จึงมีความจำเป็นที่ต้องเร่งศึกษา เพื่อยืนยันให้ชัดเจนว่าประเทศไทยไม่มีด้วงสกุลนี้ และนำข้อมูลที่ศึกษาได้ไปใช้ในการแก้ปัญหาส่งออกมะม่วงไปยังประเทศมาเลเซียต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ตัวอย่างด้วงงวงมะม่วงทั้งหนอน และตัวเต็มวัย อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงตาข่าย กรรไกรตัดกิ่งอย่างดี ขวดฆ่า ขวดดองตัวอย่างแมลง แอลกอฮอล์ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ถังแช่เย็น ฯลฯ อุปกรณ์ที่ใช้จัดรูปร่างแมลง ได้แก่ เข็มไร้สนิม เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง ปากคีบ โหลชี้น ตู้อบแมลง ฯลฯ อุปกรณ์ที่ใช้ในการผ่าอวัยวะสืบพันธุ์ของด้วงงวงมะม่วง ได้แก่ มีดผ่าตัด เข็มเขี่ย พู่กัน บีคเกอร์ หลอดทดลอง เตาไฟฟ้า (hot plate) สารเคมีต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ 70 – 95% potassium hydroxide 10%, glacial acetic acid, clove oil, glycerine และน้ำกลั่น กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ที่ติด camera lucida เป็นอุปกรณ์เสริมช่วยในการวาดภาพแมลงที่พบ กล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์วาดภาพ ได้แก่ ปากกา rotring และกระดาษไขเขียนแบบ เอกสารประกอบการจำแนกชนิดด้วงงวงมะม่วง

วิธีการ

สืบค้นข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงจากเอกสารวิชาการที่เกี่ยวข้อง ดำเนินการสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงจากแปลงปลูกมะม่วงทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยสำรวจมะม่วงพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ แก้ว แก้วลืมรัง เขียวเสวย เค็นท์ งาช้าง โชคอนันต์ ตลับนาค ทองดำ น้ำดอกไม้ ฟ้าลั่น แรด อกร่อง อกร่องป่า ซึ่งเก็บรวบรวมจากแปลงเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP) แปลงเกษตรกรทั่วๆไป ร้านขายมะม่วงที่บริเวณข้างเส้นทางที่เดินทางสำรวจ มะม่วงที่ปลูกเพื่อบริโภคภายในครัวเรือน รวมถึงผลมะม่วงที่หล่นแห้งอยู่ใต้ต้น และนำกลับมายังห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผ่าผลมะม่วงเพื่อตรวจดูด้วงงวงมะม่วงทั้งในเนื้อและในเมล็ด ตัวเต็มวัยที่ได้นำฆ่าในขวดที่ใส่สารฆ่าแมลงเอทิลอะซิเตท หลังจากด้วงตายแล้วใช้ปากคีบ คีบใส่ในซองกระดาษห่อแบบท๊อฟฟี่ บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างใส่กล่อง

กระดาษ เก็บรวมไว้ในถังรักษาความเย็นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่า ส่วนหนอนเก็บรักษาโดยการดองในขวดดองแมลงซึ่งบรรจุแอลกอฮล์ 80% บันทึกรายละเอียดเช่นเดียวกับตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยที่ฆ่าแล้วไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบนกระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก จัดรูปร่างให้เห็นด้านหลังและด้านข้าง นำไปอบให้แห้งในตู้อบตัวอย่างแมลงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ตรวจวิเคราะห์ชนิดด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง โดยศึกษาดูลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกและลักษณะความแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ รวมทั้งศึกษาเปรียบเทียบกับด้วงงวงในพิพิธภัณฑ์แมลงและตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงชนิด *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) ที่ได้รับจาก Dr.Rolf Oberprierler ผู้เชี่ยวชาญเรื่องด้วงงวงจากประเทศออสเตรเลีย และใช้แนวทางการวินิจฉัยชนิดด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงโดยปรับปรุงจากวิธีการของ Rolf (2008) ในการศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งหนอนที่ยังมีชีวิตเพื่อนำไปศึกษาวงจรชีวิตในห้องปฏิบัติการ

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2552

1. แปลงปลูกมะม่วง ภาคใต้ ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

พบผลที่มีตัวเต็มวัยด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง 251 ผล และพบตัวเต็มวัยทั้งหมด 252 ตัว และใช้ลักษณะสำคัญในการจำแนกชนิด คือ ลักษณะเกล็ดบนอกปล้องแรก ลวดลายบนปีกคู่หน้า ในส่วนของหนอนที่นำไปเลี้ยงเพื่อศึกษาวงจรชีวิตในห้องปฏิบัติการ พบว่าไม่สามารถเลี้ยงได้ เนื่องจากมะม่วงบางผลเกิดเชื้อรา และบางผลเหี่ยวแห้งทำให้หนอนตาย สันนิษฐานว่าด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงจะสามารถเจริญเติบโตจนครบวงจรชีวิตได้ในเมล็ดมะม่วงที่มีสภาพเนื้อในเมล็ด (cotyledons) สมบูรณ์เท่านั้น ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วงไม่สามารถอาศัยอยู่ในเมล็ดที่ถูกทำลายโดยการผ่าสำรวจแม้ว่าจะประกบกลับในสภาพเดิม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การจำแนกชนิดด้วงงวงสกุล *Sternochetus* spp. โดยการสำรวจรวบรวมผลมะม่วงจากแหล่งปลูกมะม่วงในจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน เพชรบุรี นครราชสีมา และระยอง ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 จำนวน 2,618 ผล พบตัวอย่างด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง 251 ผล และพบตัวเต็มวัยทั้งหมด 252 ตัว สำหรับการจำแนกชนิดต้องดำเนินการวิจัยต่อในปี

2553 ส่วนการศึกษาวงจรชีวิตซึ่งไม่สามารถเลี้ยงหนอนเจาะเมล็ดมะม่วงได้ก็ต้องดำเนินการวิจัยซ้ำในปี 2553 เช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

สมหมาย ชื่นราม. 2535. ด้วงงวงเจาะเมล็ดมะม่วง. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 14(1): 53-59 น.

Oberprieler, R. 2008. Key to species of mango weevils (*Sternochetus*). CSIRO, Entomology.

การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์

Collection and Preservation for Insect Museum

ศิริณี พูนไชยศรี เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธ์ ชลิดา อุณหวุฒิ ลักขณา บำรุงศรี
ยุวรินทร์ บุญทบ สุนัดดา เชาวลิต สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจ รวบรวมแมลงจากภูมิภาคต่าง ๆ ในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 การทดลองปีนี้กำหนดตัวดัชนีชี้วัด คือการเก็บรักษาตัวอย่างผีเสื้อและเพลี้ยไฟ ผีเสื้อมีวิธีการเก็บรวบรวมโดยใช้สวิงจับแมลง (insect net) โฉบบริเวณที่มีผีเสื้ออาศัยอยู่เพื่อเก็บรวบรวมผีเสื้อที่ออกหากินในเวลากลางวัน ฆ่าผีเสื้อที่เก็บได้โดยบีบบริเวณส่วนอก ส่วนผีเสื้อที่ออกหากินในเวลากลางคืน เก็บรวบรวมโดยใช้กับดักแสงไฟ (light trap) ผีเสื้อขนาดใหญ่ฆ่าโดยใช้เข็มฉีดน้ำยา ethyl acetate ที่บริเวณอกด้านล่าง ผีเสื้อขนาดเล็กฆ่าในขวดฆ่า (killing jar) นำผีเสื้อทุกชนิดที่เก็บรวบรวมได้ไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่างตัวอย่างแมลง (setting board) โดยใช้เข็มไร้สนิม (stainless steel) ปักบริเวณอก จัดปีกให้กางออกโดยให้ขอบล่างของปีกคู่หน้าตั้งฉากกับลำตัว ขอบบนของปีกคู่หลังอยู่ใต้ขอบล่างของปีกคู่หน้า นำตัวอย่างที่จัดรูปร่างแล้วไปอบให้แห้งในตู้อบ (oven) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน การศึกษาครั้งนี้เก็บรวบรวมตัวอย่างผีเสื้อได้ 302 ตัวอย่าง นำไปจำแนกตามหลักอนุกรมวิธานแมลง พบว่าเป็นผีเสื้อกลางวัน 87 ตัวอย่าง ในวงศ์ Danaidae 37 ตัวอย่าง Lycaenidae 2 ตัวอย่าง Nymphalidae 9 ตัวอย่าง Papilionidae 30 ตัวอย่าง Pieridae 2 ตัวอย่าง Satyridae 4 ตัวอย่าง และ Hesperiidae 3 ตัวอย่าง อีก 265 ตัวอย่าง เป็นผีเสื้อกลางคืน ในวงศ์ Amatidae 20 ตัวอย่าง Arctiidae 7 ตัวอย่าง Bombycidae 10 ตัวอย่าง Cossidae 7 ตัวอย่าง Geometridae 19 ตัวอย่าง Hypsidae 5 ตัวอย่าง Lasiocampidae 3 ตัวอย่าง Lymantriidae 13 ตัวอย่าง Noctuidae 24 ตัวอย่าง Notodontidae 15 ตัวอย่าง Plutellidae 3 ตัวอย่าง Pyralidae 25 ตัวอย่าง Saturnidae 15 ตัวอย่าง Sphingidae 32 ตัวอย่าง Tortricidae 10 ตัวอย่าง และ Zygaenidae 7 ตัวอย่าง สำหรับเพลี้ยไฟเก็บรวบรวมโดยใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟแต่ละตัวใส่ลงในขวด ที่บรรจุน้ำยา AGA หรือโดยการเขย่าส่วนของพืชให้เพลี้ยไฟตกลงบนกระดาษที่รองรับ ใช้พู่กันเขี่ยเพลี้ยไฟลงใน

รหัสการทดลอง 09-02-49-02-03-02-01-49

น้ำยา AGA นำตัวอย่างเพลี้ยไฟไปทำสไลด์ถาวร การศึกษาครั้งนี้เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยไฟได้ 1,406 ตัวอย่าง ซึ่งทั้งหมดเป็นเพลี้ยไฟในวงศ์ Thrips และการศึกษาเรื่องนี้ยังไม่สิ้นสุด ต้องดำเนินการต่อในปี 2553

คำนำ

การเก็บรักษาตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ เป็นการรวบรวมและเก็บรักษาตัวอย่างแมลงที่ถูกต้องตามวิธีการของแมลงแต่ละชนิด เริ่มต้นตั้งแต่การจับ การฆ่า การจัดรูปร่างก่อนนำไปจำแนกตามหลักการอนุกรมวิธานแมลง จนถึงการจัดเก็บตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์ตามหลักสากล ซึ่งนับว่าเป็นงานที่สำคัญและมีประโยชน์อย่างยิ่ง

ตัวอย่างแมลงที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ มีความสำคัญอย่างมากต่องานศึกษาวิจัยทั้งภายในและภายนอกหน่วยงานรวมทั้งในระดับประเทศด้วย ทั้งนี้เพราะข้อมูลตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์แมลงที่ได้รวบรวมไว้เป็นข้อมูลสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษาแมลงแต่ละชนิด โดยเฉพาะข้อมูลจากภาคสนาม ที่ได้จากการรวบรวมตัวอย่างในแต่ละครั้ง ซึ่งต้องบันทึก รายละเอียด พืชส่วนของพืช/สัตว์ ถูกทำลาย สถานที่เก็บ วัน เดือน ปีและชื่อผู้เก็บ กำกับไว้กับตัวอย่างที่รวบรวมได้ ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับผู้ที่สนใจศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแมลง ไร สัตว์ ศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ แต่ไม่สามารถออกเก็บรวบรวมตัวอย่างได้ครอบคลุมทุกพื้นที่ ก็สามารถนำข้อมูลจากตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์มาประกอบการศึกษาวิจัย โดยเฉพาะการศึกษาวิจัยในระดับชนิด (species) และกระบวนการเกิดชนิดใหม่ (speciation) จำเป็นต้องรวบรวมรูปร่างลักษณะหรือสัณฐานวิทยา (morphology) เขตการแพร่กระจาย (distribution area) รวมทั้งลักษณะความแปรปรวน (variation) ของตัวอย่างที่เป็นชนิดเดียวกัน และมีการเก็บรักษาอย่างดีให้ได้จำนวนมากที่สุด ทั้งนี้เพื่อจะได้นำข้อมูลเหล่านั้นมาเปรียบเทียบประกอบการศึกษาวิจัยโดยละเอียดจึงจะทำให้งานวิจัยด้านนี้ประสบความสำเร็จ

การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงไว้ในพิพิธภัณฑ์มีความสำคัญสำหรับผู้เชี่ยวชาญหรือนักอนุกรมวิธาน (taxonomist) ในแต่ละสาขาได้ใช้เป็นแหล่งศึกษาแลกเปลี่ยนความรู้และแลกเปลี่ยนตัวอย่างซึ่งกันและกัน อีกทั้งพิพิธภัณฑ์ยังเป็นแหล่งบริการตรวจวิเคราะห์แมลง เพราะพิพิธภัณฑ์แมลงส่วนมากมีนักอนุกรมวิธานแมลงเป็นผู้รับผิดชอบ ซึ่งนักอนุกรมวิธานแมลงเหล่านั้นนอกจากมีหน้าที่รวบรวม เก็บรักษาตัวอย่างและบำรุงรักษาพิพิธภัณฑ์แล้ว ยังให้บริการตรวจวิเคราะห์ชนิดของตัวอย่างแมลงเหล่านั้นด้วย

การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงไว้ในพิพิธภัณฑ์นอกจากจะให้ความรู้ด้านวิชาการแล้ว ปัจจุบันมีการจัดพิพิธภัณฑ์ในรูปแบบของพิพิธภัณฑ์-นิทรรศการแมลง ทำให้เกิดเป็นพิพิธภัณฑ์รูปแบบใหม่ที่สามารถเข้าไปเยี่ยมชมเพื่อการพักผ่อนหย่อนใจ ได้สาระความรู้และความเพลิดเพลิน

เพิ่มพูนพลังทางปัญหาและจิตใจได้เป็นอย่างดี พิพิธภัณฑ์ประเภทนี้สามารถจัดแสดงรูปแบบให้สวยงาม เน้นจุดเด่นและความสำคัญของตัวอย่างที่นำมาจัดแสดงในพิพิธภัณฑ์ เพื่อชี้นำให้ผู้เข้าเยี่ยมชมได้เห็นคุณค่าของการเก็บรวบรวมตัวอย่างเหล่านั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการจัดแสดงให้เห็นว่าสรรพสิ่งทั้งหลายในโลกนี้ล้วนต้องพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน อันจะช่วยจูงใจให้ผู้เข้าเยี่ยมชมเกิดความประทับใจ และเกิดแรงบันดาลใจในการที่จะช่วยกันอนุรักษ์สิ่งเหล่านี้ให้อยู่ในธรรมชาติอย่างยั่งยืนต่อไป

จากความสำคัญดังกล่าว จะเห็นว่านักอนุกรมวิธานแมลงจำเป็นต้องออกสำรวจ รวบรวมตัวอย่างแมลงอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาและไม่มีวันสิ้นสุด ซึ่งนอกจากจะได้ตัวอย่างแมลงเพิ่มมากขึ้นแล้ว ข้อมูลต่างๆ ที่ได้จะเป็นการตรวจสอบถึงการมีหรือไม่มี หรือการเพิ่มขึ้น หรือลดน้อยถอยลงของแมลง ซึ่งนับว่าเป็นข้อมูลสนับสนุนที่สำคัญยิ่งในยุคที่ทั่วโลกมีการตื่นตัวในเรื่องความหลากหลายทางชีวภาพ และนอกจากจะเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงจากภาคสนามแล้ว การศึกษาหาวิธีการที่ถูกต้องเหมาะสม เพื่อเก็บรักษาตัวอย่างแมลงเหล่านั้นให้สมบูรณ์ ไม่ชำรุดเสียหาย และจัดเก็บตามระบบมาตรฐานสากล รวมทั้งการจัดทำฐานข้อมูล ก็นับเป็นความสำคัญอย่างมากเช่นกัน ทั้งนี้นอกจากจะเอื้อประโยชน์โดยตรงต่อผู้มาขอรับบริการแล้ว ยังทำให้งานด้านอนุกรมวิธานมีความสมบูรณ์ สามารถตรวจสอบย้อนกลับ อ้างอิงหรือสืบค้นได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างแมลงในอันดับผีเสื้อและเพลี้ยไฟ ได้แก่ สวิงจับแมลง (insect net) ปากคีบ ขวดฆ่าแมลง (killing jar) พู่กัน กระดาษสีรองรับเพลี้ยไฟ (เหลือง ฟ้า ขาว) กล่องพลาสติก (plastic box) กล่องกระดาษ (paper box) ขวดดองแมลง (vial) ซองกระดาษสามเหลี่ยม (folded paper triangle) กล่องรักษาความเย็น (ice box) กับดักแสงไฟ (light trap) สารเคมี เช่น เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) แอลกอฮอล์ (alcohol) 60-100% AGA ป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง (labeling specimen) สมุดบันทึกข้อมูล (recorded book) อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับจัดรูปร่าง ได้แก่ โหลชื้น (relaxing chamber) ปากคีบ เข็มปักแมลง (stainless steel) เข็มหมุดหัวกลม ไม้จัดรูปร่างแมลง (setting board) กระดาษแข็งรูปสามเหลี่ยมขนาดเล็ก (card point) แผ่นสไลด์ แผ่นแก้วปิดสไลด์ (cover slip) สารเคมี เช่น NaOH, แอลกอฮอล์ 60-100% Canada balsum Hoyer's Solution ตู้อบแมลง (oven) และตู้ควบคุมอุณหภูมิต่ำ (deep freeze) นอกจากนี้ยังมีอุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพและจำแนกแมลง ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และชนิด compound microscope พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพติดกับกล้อง กล้องถ่ายภาพภาคสนาม

อุปกรณ์วาดภาพ เอกสารประกอบการจำแนกแมลง แผ่นบันทึกข้อมูล และอุปกรณ์สำคัญในการเก็บและรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์ ได้แก่ กล่องกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง หีบไม้ใส่ตัวอย่างแมลง (wooden box) กล่องเก็บสไลด์ (slide box) ตู้เก็บสไลด์ (slide collection cabinet) ตู้เก็บตัวอย่างแมลง (insect specimen collection cabinet) การบูร

วิธีการ

เก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงในกลุ่มผีเสื้อจากสภาพธรรมชาติ โดยใช้สวิงจับแมลง โฉบบริเวณที่มีผีเสื้ออาศัยอยู่ เพื่อเก็บรวบรวมผีเสื้อที่ออกหากินในเวลากลางวัน ฆ่าผีเสื้อที่เก็บได้ โดยบีบบริเวณส่วนอก ส่วนผีเสื้อที่ออกหากินเวลากลางคืนเก็บรวบรวมโดยใช้กับดักแสงไฟ ผีเสื้อขนาดใหญ่ฆ่าโดยใช้เข็มฉีดน้ำยา ethyl acetate ที่บริเวณอกด้านล่าง ผีเสื้อขนาดเล็กฆ่าในขวดฆ่าหลังจากผีเสื้อตาย ใช้ปากคีบ คีบผีเสื้อ ใส่ในซองกระดาษสามเหลี่ยม บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างใส่กล่องกระดาษ เก็บรวมไว้ในกล่องรักษาความเย็นเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเน่า สำหรับเพลี้ยไฟ ใช้พู่กันเขี่ยตัวอ่อนและตัวเต็มวัยแต่ละตัวลงในขวดที่บรรจุน้ำยา AGA หรือโดยการเขย่าส่วนของพืชให้เพลี้ยไฟตกลงบนกระดาษที่รองรับ ใช้พู่กันเขี่ยลงในน้ำยา AGA เพื่อเก็บรักษาตัวอย่าง บันทึกรายละเอียด พืชอาหาร วัน เดือน ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง นอกจากรวบรวมตัวอย่างผีเสื้อและเพลี้ยไฟจากการสำรวจและเก็บจากสภาพธรรมชาติแล้ว ยังได้รับตัวอย่างจากนักวิชาการ และผู้มาขอรับบริการทั้งภายในและต่างประเทศ เพื่อใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้ไปจัดรูปร่าง แมลงในอันดับผีเสื้อ นำไปจัดรูปร่างบนไม้จัดรูปร่าง โดยใช้เข็มไร้สนิมปักบริเวณอกเยื้องด้านขวาเล็กน้อย จัดปีกให้กางออกโดยให้ขอบล่างของปีกคู่หน้าตั้งฉากกับลำตัว ขอบบนของปีกคู่หลังอยู่ใต้ขอบล่างของปีกคู่หน้า นำตัวอย่างที่จัดรูปร่างแล้วไปอบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 15-30 วัน ส่วนเพลี้ยไฟนำไปทำสไลด์ถาวรตามวิธีการของศิริณี (2547) ตัวอย่างทั้งหมดหลังจากอบแห้งแล้วนำไปจำแนก โดยตรวจดูลักษณะสำคัญประกอบเอกสารการจำแนกของ ศิริณี (2544), องุ่น (2544) และ Triplehorn and Johoson (2005) ใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และชนิด compound microscope หลังการจำแนก บันทึกข้อมูลรายละเอียดของผีเสื้อและเพลี้ยไฟลงบนแผ่นป้ายบันทึกกำกับตัวอย่างแมลง นำตัวอย่างผีเสื้อจัดเก็บลงในกล่องกระดาษสี่เหลี่ยมสีขาว เพลี้ยไฟนำจัดเก็บในกล่องเก็บแผ่นสไลด์ถาวร นำตัวอย่างทั้งหมดที่จัดเก็บเรียบร้อยแล้ว ไว้ในลิ้นชักตู้เก็บแมลงของพิพิธภัณฑ์ โดยจัดเรียงตามอักษรของลำดับวงศ์

เวลาและสถานที่

เดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552

1. แหล่งปลูกพืชไร่ พืชสวน ไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ นาข้าว พื้นที่ป่าแปลงปลูกพืชอื่นตลอดจนแหล่งเก็บผลผลิตทางการเกษตรทั่วทุกภาคของประเทศ
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้เก็บรวบรวมตัวอย่างผีเสื้อได้ 302 ตัวอย่าง เป็นผีเสื้อกลางวัน 87 ตัวอย่าง ในวงศ์ Danaidae 37 ตัวอย่าง Lycaenidae 2 ตัวอย่าง Nymphalidae 9 ตัวอย่าง Papilionidae 30 ตัวอย่าง Pieridae 2 ตัวอย่าง Satyridae 4 ตัวอย่าง และ Hesperiidae 3 ตัวอย่าง อีก 265 ตัวอย่าง เป็นผีเสื้อกลางคืน ในวงศ์ Amatidae 20 ตัวอย่าง Arctiidae 7 ตัวอย่าง Bombycidae 10 ตัวอย่าง Cossidae 7 ตัวอย่าง Geometridae 19 ตัวอย่าง Hypsidae 5 ตัวอย่าง Lasiocampidae 3 ตัวอย่าง Lymantriidae 13 ตัวอย่าง Noctuidae 24 ตัวอย่าง Notodontidae 15 ตัวอย่าง Plutellidae 3 ตัวอย่าง Pyralidae 25 ตัวอย่าง Saturnidae 15 ตัวอย่าง Sphingidae 32 ตัวอย่าง Tortricidae 10 ตัวอย่าง Zygaenidae 7 ตัวอย่าง ส่วนเพลี้ยไฟเก็บรวบรวมได้ทั้งหมด 1,406 ตัวอย่าง ซึ่งทั้งหมดเป็นเพลี้ยไฟในวงศ์ Thripidae

สรุปผลการทดลอง

การเก็บรักษาตัวอย่างแมลงในพิพิธภัณฑ์ ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 โดยกำหนดตัวชี้วัด คือ การเก็บตัวอย่างผีเสื้อและเพลี้ยไฟ ได้สำรวจ รวบรวม และเก็บรักษาตามหลักการของอนุกรมวิธาน ได้ตัวอย่างผีเสื้อ 302 ตัวอย่าง เป็นผีเสื้อกลางวัน 87 ตัวอย่าง ในวงศ์ Danaidae, Lycaenidae, Nymphalidae, Papilionidae, Pieridae, Satyridae และ Hesperiidae อีก 265 ตัวอย่าง เป็นผีเสื้อกลางคืน ในวงศ์ Amatidae, Arctiidae, Bombycidae, Cossidae, Geometridae, Hypsidae, Lasiocampidae, Lymantriidae, Noctuidae, Notodontidae, Plutellidae, Pyralidae, Saturnidae, Sphingidae, Tortricidae และ Zygaenidae ส่วนเพลี้ยไฟเก็บรวบรวมได้ทั้งหมด 1,406 ตัวอย่าง ซึ่งทั้งหมดเป็นเพลี้ยไฟในวงศ์ Thripidae การศึกษาครั้งนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องทำการศึกษาต่อในปี 2553

เอกสารอ้างอิง

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

ศิริณี พูนไชยศรี. 2547. การเก็บตัวอย่างแมลงเพื่อการศึกษาวิจัย. กลุ่มวิจัยกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

องุ่น ลิ่ววานิช. 2544. ผีเสื้อและหนอน. กองกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.

Triplehorn, C.A. and N.F.Johnson. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. 7th Ed. Thomson Learning, USA. 864 p.

วิจัยและพัฒนาการกำจัดศัตรูพืชและการกำจัดวัชพืชในฟ้าทะลายโจร

Research and Development of Pest Control and Weed Control in *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. Ex Nees

เพ็ญศรี นันทสมสราญ[1/] อำไพ ประเสริฐสุข[2/] จรัญ ดิษฐ์ไชยวงศ์[3/]

[1/] กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช [2/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี [3/]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร

บทคัดย่อ

ศึกษาการกำจัดศัตรูพืชและจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร โดยสำรวจปัญหาวัชพืชที่มีในฟ้าทะลายโจรซึ่งได้ดำเนินการตั้งแต่ปี 2549 ในพื้นที่ 5 จังหวัด ได้แก่ ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา กาญจนบุรี ราชบุรี และ นครปฐม พบวัชพืชจำนวนมากหลากชนิดที่บ้านดงบัง อำเภอเมือง จังหวัดปราจีนบุรี วัชพืชที่สำคัญ เช่น หญ้าตีนนก หญ้านกสีชมพู สาบแร้งสาบกา หญ้ายาง ผักกะสังผักปราบ แห้วหมู เป็นต้น ซึ่งพบวัชพืชทั้งหมด 46 ชนิด จำแนกประเภทเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัด คือ ประเภทวัชพืชใบแคบ พบจำนวน 11 ชนิด ประเภทใบกว้างพบจำนวน 31 ชนิด และประเภทวัชพืชกก พบจำนวน 4 ชนิด ในปี 2550 วางแผนการทดลองแบบ Split plot in RCB จำนวน 4 ซ้ำ โดยมี 3 วิธีการปลูกเป็น main plot และวิธีการควบคุมวัชพืชเป็น sub plot มีปัญหาและอุปสรรคคือเมล็ดฟ้าทะลายโจรงอกน้อยมาก ทำให้ต้องปลูกซ้ำใหม่หลายครั้ง ดังนั้นในปี 2551-52 จึงต้องปรับเปลี่ยนการวิจัยโดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี พบว่า วัชพืชที่สำคัญได้แก่ หญ้านกสีชมพู ปอวัชพืช ผักเบี้ยหิน การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานที่ 30 วันหลังปลูกและการใช้พลาสติกดำเทามีจำนวนวัชพืชและน้ำหนักแห้งค่อนข้างน้อยน้อย ขณะที่วิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักแห้งวัชพืชมากที่สุด ส่วนความสูงของฟ้าทะลายโจร ในการใช้วัสดุธรรมชาติคลุมดินเช่น ฟางข้าว มีแนวโน้มทำให้ต้นสูงกว่าการใช้วัสดุสังเคราะห์และสารเคมี การแตกแขนงของฟ้าทะลายโจรทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ผลผลิตของฟ้าทะลายโจรที่กาญจนบุรี กรรมวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานและการใช้แผ่นชีวมวลให้ผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ สำหรับความกว้างทรงพุ่มของฟ้าทะลายโจรในระยะแรกไม่แตกต่างกัน ส่วนที่ 60 และ 90 วันหลังปลูก การใช้แผ่นชีวมวล พลาติกสีดำเทา และการใช้แรงงาน ให้ความกว้างของทรงพุ่มมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีดังกล่าวออกดอก 50% ได้เร็วก่อนกว่าอีก 4 กรรมวิธี ซึ่งเป็นผลให้น้ำหนักสดและผลผลิตฟ้าทะลายโจรของ3กรรมวิธีคือ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน พลาสติก

รหัสการทดลอง 01-12-49-06-02-05-01-49

สีดำเทา และการใช้แผ่นชีวมวล มีแนวโน้มสูงกว่าอีก 4 กรรมวิธี ส่วนการวิเคราะห์สารสำคัญ total lactone กรรมวิธีการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้สารสูงที่สุด ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับวิธีการใช้วัสดุคลุมดิน 3 ชนิด ได้แก่ พลาติกสีดำเทา ฟางข้าว และแผ่นชีวมวล

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 คือการใช้ฟ้าทะลายโจรเป็นพืชสมุนไพรที่ใช้รักษาไข้หวัดใหญ่ 2009 ที่กำลังคุกคามมนุษยชาติ เนื่องจากไข้หวัดเป็นเชื้อไวรัส ทำให้ผู้ป่วยต้องกระตุ้นให้มีภูมิแข็งแรง ซึ่งฟ้าทะลายโจรมีคุณสมบัตินี้ นอกจากนี้ฟ้าทะลายโจรยังนำมาใช้ในกระบวนการผลิตสัตว์ เพื่อลดและทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคและการเจริญเติบโตของสัตว์ การใช้ยาปฏิชีวนะทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการซื้อจากต่างประเทศ และยาปฏิชีวนะนี้ตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์ ซึ่งมีผลกระทบต่อมนุษย์ จึงต้องหาสิ่งทดแทนซึ่งพืชสมุนไพรสามารถใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะได้ ทำให้ลดต้นทุนการผลิต และมีผลตกค้างต่อมนุษย์น้อยลง ฟ้าทะลายโจรผลิตเป็นวัตถุดิบผสมในอาหารสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์เช่น ไก่ เป็ด และสุกร อย่างกว้างขวาง มีสรรพคุณรักษาโรคสัตว์ได้ เช่น แก้บิด ลำไส้อักเสบในลูกสุกร แก้โรคขี้ขาวในเป็ด ไก่ แก้โรคปากเปื่อยและโรคขาอ่อนในลูกเป็ด ฟ้าทะลายโจรมีสารสำคัญในทางยาคือ Andrographolide การใช้สมุนไพรไทยควรมีการกำหนดมาตรฐาน ตัวอย่างเช่นในชุมเห็ดเทศได้มีการกำหนดมาตรฐานแล้ว (Department of Medical Sciences, 2002)

การปลูกฟ้าทะลายโจรยังต้องมีการดูแลรักษาและถ้าปลูกเป็นปริมาณมาก ๆ ในเชิงพาณิชย์ ย่อมประสบปัญหากับวัชพืช วัชพืชทำให้การปฏิบัติงานไม่สะดวก และประการสำคัญทำให้ผลผลิตลดลง เนื่องจากเป็นพืชเช่นเดียวกัน มีผลทำให้แย่งปัจจัยในการเจริญเติบโต น้ำ แสงแดด เป็นต้น ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อศึกษาถึงชนิดวัชพืชในสุมนไพรฟ้าทะลายโจร และการจัดการวัชพืชของฟ้าทะลายโจร เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างวัชพืช เช่น ที่แซะ เสียมเล็ก
2. กรอบสี่เหลี่ยมขนาด 50X50 ซม.
3. ไม้วัด สมุดบันทึกข้อมูล แผงอัดพืช (Herbarium)
4. ถุงพลาสติก ถุงกระดาษ เชือกฟาง
5. หญ้าคาแห้ง ฟางข้าว
6. สารกำจัดวัชพืช

วิธีการ

การสำรวจวัชพืชในฟ้าทะลายโจร ตั้งแต่ปี 2549 ใช้วิธีการ restricted random sampling ในแต่ละแปลงปลูก สุ่มกรอบขนาด 50x 50 ซม. จำนวน 4 กรอบ แล้วนำมาคำนวณหาค่าความหนาแน่นของวัชพืชแต่ละชนิด การปรากฏของวัชพืชแต่ละท้องที่พบ ความถี่ของวัชพืชแต่ละชนิดที่พบ และความเด่นของวัชพืช

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 เซ็นติเมตร 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 ปี 2549-2552 ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

ในปี 2549 สำรวจในแหล่งปลูกจำนวน 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

ในปี 2552 ดำเนินการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร จังหวัดพิจิตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจรที่ บ้านดงบัง อ.เมือง จ. ปราจีนบุรี เป็นแหล่งผลิตวัตถุดิบให้กับโรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร์ เกษตรกรมีปัญหาวัชพืชมากโดยเฉพาะผักโขมหนาม ทำให้ปฏิบัติงานไม่สะดวกและขาดแคลนแรงงาน 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 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) การสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจร 5 จังหวัด พบวัชพืชทั้งหมด 46 ชนิด จำนวนวัชพืชที่สำรวจพบในแปลงฟ้าทะลายโจร โดยแบ่งประเภทเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัด คือ ประเภทวัชพืชใบแคบ พบจำนวน 11 ชนิด ประเภทใบกว้างพบจำนวน 31 ชนิด และประเภทวัชพืชกก พบจำนวน 4 ชนิด

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 วิธีการใช้แรงงานมี

น้ำหนักแห้งน้อยที่สุดและแตกต่างทางสถิติกับทุกกรรมวิธี ขณะที่วิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักแห้งวัชพืชมากที่สุด (ตาราง 3) ส่วนความสูงของการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และวิธีไม่มีการกำจัดวัชพืช 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 ตามลำดับ (ตาราง 5)

ในปี 2552 ดำเนินการต่อเนื่องเช่นเดียวกับการทดลองปี 2551 แต่ปฏิบัติการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร ประกอบด้วย 7 กรรมวิธี เพียงแต่กรรมวิธีการใช้หญ้าคาปรับเปลี่ยนเป็นการใช้ฟางข้าว เนื่องจากมีคุณสมบัติใกล้เคียงกันและหาได้ง่ายในท้องถิ่นพิจิตร ส่วนกรรมวิธีอื่นๆเช่นเดิม ผลการทดลองพบว่า การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และการใช้พลาสติกดำเทา มีจำนวนวัชพืชค่อนข้างน้อยคือ 9.0 และ 9. 33 ต้น/ตารางเมตร ตามลำดับ ตามด้วยแผ่นชีวมวลคือ 33.67 ต้น/ตารางเมตร ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีนี้มีความแตกต่างทางสถิติกับอีก 4 กรรมวิธี ส่วนวิธีการไม่กำจัดวัชพืชมีจำนวนวัชพืชมากที่สุดคือ 134.66 ต้น/ตารางเมตร (ตาราง 6) ส่วนน้ำหนักแห้งวัชพืชเป็นไปในทำนองเดียวกัน คือ วิธีการใช้แรงงานมีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด 2.47 กรัม/ตารางเมตร ตามด้วยพลาสติกดำเทาและแผ่นชีวมวล 11.86 และ 34.00 กรัม/ตารางเมตร โดยแตกต่างทางสถิติกับอีก 4 กรรมวิธี ฟางข้าว alachlor oxadiazon ไม่กำจัดวัชพืช โดยกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช มีน้ำหนักแห้งวัชพืชมากที่สุดคือ 880.67 กรัม/ตารางเมตร (ตาราง 6) ส่วนความสูงฟ้าทะลายโจรที่ 30 วันมีความแตกต่างกันไม่มาก สาร oxadiazon มีความสูงมากที่สุดคือ 29.4 เซ็นติเมตร ที่ 60 วันให้ผลในทำนองเดียวกันกับที่ 30 วัน สาร oxadiazon มีความสูงมากที่สุดคือ 50.9 เซ็นติเมตรไม่แตกต่างกับสาร alachlor 47.5 เซ็นติเมตร ส่วนแผ่นชีวมวลมีความสูงน้อยที่สุดคือ 35.4 เซ็นติเมตร สำหรับความสูงที่ 90 วัน กรรมวิธีฟางข้าวทำให้ฟ้าทะลายโจรสูง 94.6 เซ็นติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับอีก 3 กรรมวิธี คือ oxadiazon alachlor และไม่มีการกำจัดวัชพืช ฟ้าทะลายโจรที่มีลำต้นสูง ไม่ได้ช่วยทำให้ผลผลิตสุงขึ้น (ตาราง 7) ส่วนความกว้างทรงพุ่มของฟ้าทะลายโจรที่ 30 วันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ความกว้างทรงพุ่มของฟ้าทะลายโจรที่ 60 วันมีความแตกต่างกันทางสถิติ คือการใช้แผ่นชีวมวล และพลาสติกดำเทาให้

ความกว้างมากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆคือ 25.6, 25.3 เซ็นติเมตร ตามด้วยการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคือ 20.8 เซ็นติเมตร ส่วนความกว้างทรงพุ่มที่ 90 วันมีความแตกต่างกันทางสถิติ คือการใช้พลาสติกดำเทา แผ่นชีวมวล และการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้ความกว้างที่ 39.1, 38.1 และ 35.2 เซ็นติเมตร ตามลำดับซึ่งมากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับอีก 4 กรรมวิธีคือ oxadiazon alachlor ฟางข้าว และวิธีไม่มีการกำจัดวัชพืช (ตาราง 8) ซึ่งความกว้างมีผลต่อการให้ผลผลิตฟ้าทะลายโจร เนื่องจากทรงพุ่มที่แผ่ออกช่วยเพิ่มกิ่งก้านสาขาและจำนวนใบมากยิ่งขึ้น พืชมีการสังเคราะห์แสงได้มากยิ่งขึ้น และที่ชัดเจนมากขึ้นคืออายุการออกดอกของฟ้าทะลายโจรที่ 50%แสดงถึงการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์ของต้น กล่าวคือสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ออกดอกเร็วต้นเจริญเติบโตได้ดีคือกรรมวิธี พลาสติกดำเทา การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และการใช้แผ่นชีวมวล ออกดอก 50% ที่อายุ 90, 92 และ 93 วันตามลำดับ อีกกลุ่มออกดอกช้าคือ alachlor oxadiazon ไม่มีการกำจัดวัชพืช และฟางข้าว ออกดอก 50% ที่อายุ 104, 106, 107 และ 110 วันตามลำดับ (ตาราง 9) น้ำหนักสดฟ้าทะลายโจรมีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้น้ำหนักสดสูงที่สุดคือ 1,550.2 กิโลกรัม/ไร่ซึ่งไม่แตกต่างกับวิธีการใช้พลาสติกดำเทา และการใช้แผ่นชีวมวลให้น้ำหนักสด 1,456.2 และ 1,305.5 กิโลกรัม/ไร่ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีนี้แตกต่างทางสถิติกับอีก 4 กรรมวิธีคือ oxadiazon alachlor ฟางข้าว และไม่มีการกำจัดวัชพืช สำหรับการให้ผลผลิตของฟ้าทะลายโจรเป็นไปในทำนองเดียวกันกับน้ำหนักสดฟ้าทะลายโจร กล่าวคือการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ 410.0 กิโลกรัม/ไร่ ไม่แตกต่างจากวิธีการใช้พลาสติกดำเทา และการใช้แผ่นชีวมวลให้ผลผลิต 391.7 และ 336.7 กิโลกรัม/ไร่ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีนี้แตกต่างทางสถิติกับอีก 4 กรรมวิธีคือ oxadiazon alachlor ฟางข้าว และไม่มีการกำจัดวัชพืช ซึ่งได้ผลผลิต 36.7, 43.3, 23.3 และ 15.5 กิโลกรัม/ไร่ ตามลำดับ ส่วนสารสำคัญของ ฟ้าทะลายโจร total lactone มีความแตกต่างกันทางสถิติ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้สารสำคัญสูงที่สุดคือ 10.4900 % เพราะต้นมีการเจริญเติบโตดีสมบูรณ์แข็งแรง แต่ไม่มีความแตกต่างทางทางสถิติกับกรรมวิธีการไม่กำจัดวัชพืช การใช้ alachlor และ oxadiazon มีสารสำคัญ 10.0533, 10.1400, 9.7806 % ตามลำดับ การใช้แรงงานให้สารสำคัญที่มีความแตกต่างทางทางสถิติกับกรรมวิธี ฟางข้าว พลาสติกดำเทา และแผ่นชีวมวลให้สารสำคัญ 9.0666, 8.7566, 8.2333 % ตามลำดับ (ตาราง 9) เนื่องจากการใช้พลาติกสีดำเทา และแผ่นชีวมวลทำให้เกิดความร้อนและพรวนดินได้ยาก จึงอาจมีผลต่อการสร้างสารสำคัญของฟ้าทะลายโจร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การสำรวจวัชพืชในแปลงปลูกฟ้าทะลายโจร 5 จังหวัด พบวัชพืชทั้งหมด 46 ชนิด

2. จำนวนวัชพืชที่สำรวจพบในแปลงฟ้าทะลายโจร โดยแบ่งประเภทเพื่อใช้ในการป้องกันกำจัด คือ ประเภทวัชพืชใบแคบ พบจำนวน 11 ชนิด ประเภทใบกว้างพบจำนวน 31 ชนิด และประเภทวัชพืชกก พบจำนวน 4 ชนิด

3. การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้น้ำหนักวัชพืชน้อยที่สุด มีผลทำให้ผลผลิตสูงที่สุด รองลงมาการใช้พลาสติกดำเทา และการใช้แผ่นชีวมวล และซึ่งทั้ง 3 วิธีการสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้

4.การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานให้สารสำคัญ total lactone สูงที่สุด

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. การสำรวจวัชพืชในฟ้าทะลายโจร เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนการป้องกันกำจัดวัชพืชและเป็นแนวทางในการจัดการวัชพืช

2. การศึกษาการจัดการวัชพืชในฟ้าทะลายโจร เป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ปลูกฟ้าทะลายโจรที่สามารถนำไปปฏิบัติด้วยวิธีการใช้แรงงาน หรือการใช้แผ่นพลาสติกดำเทา หรือแผ่นชีวมวลเพื่อควบคุมวัชพืช

คำขอบคุณ

ผู้ทดลองขอขอบคุณนายบุญมี เลิศรัตน์เดชากุล ผู้อำนวยการศุนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี และนายสุธน สุวรรณบุตร ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตรที่ได้ให้ความอนุเคราะห์นักวิชาการและพื้นที่ในการดำเนินงานการทดลองจนงานสำเร็จไปด้วยความเรียบร้อย

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.

Table 1 Weed species presented in *Andrographis paniculata* plantation in 5 provinces.

Weed species	Prachin buri	Chacheong sao	Kanchana buri	Ratcha buri	Nakorn pathom
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			

1685

Table 1(cont.) Weed species presented in *Andrographis paniculata* plantation in 5 provinces.

Weed species	Prachin buri	Chacheong sao	Kanchana buri	Ratcha buri	Nakorn pathom
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				
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			

1686

Table 1(cont.) Weed species presented in *Andrographis paniculata* plantation in 5 provinces.

Weed species	Prachinburi	Chacheong sao	Kanchana buri	Ratcha buri	Nakorn pathom
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		

1687

Table 2 Weed species occurrence in *Andrographis paniculata* experimental plot at Kanchanaburi Province, 2008.

Narrowleaved weeds	Broadleaved weeds	Sedges
หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link)	ปอวัชพืช (*Corchorus aestuans* L.)	แห้วหมู
หญ้าตีนติด (*Brachiaria reptans* Gard.& Hubb.)	หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* L.)	(*Cyperus rotundus* L.)
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.)	หญ้ายาง (*Euphorbia heterophylla* L.)	
	ตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* L.)	
	น้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia hirta* L.)	
	ผักปุ้ง (*Ipomoea aquatica*Forsk.)	
	หญ้ากำมะหยี่ (*Lagascea mollis* Cav.)	
	เซ่งใบมน (*Melochia corchorifolia* L.)	
	กะทกรก (*Passiflora foetida* L.)	
	ผักเค็ด (*Cassia tora* L.)	

1688

Table 3 Weed density and weed weight in *Andrographis paniculata* plot at Kanchanaburi Province, 2008.

Treatments	Weed density (no/m2)	Weed weight (g/m2)
1. คลุมด้วยพลาสติกดำเทา	38.5 abc	231.0 b
2. คลุมด้วยหญ้าคาแห้ง	26.0 ab	160.0 b
3. oxadiazon 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	48.0 abc	220.5 b
4. คลุมด้วยแผ่นชีวมวล	31.0 abc	175.0 b
5. alachlor 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	58.0 bc	198.5 b
6. การใช้แรงงาน	17.5 a	26.5 a
7. ไม่กำจัดวัชพืช	62.5 c	275.0 b
C.V.(%)	49.4	40.6

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

Table 4 Plant height and tillers of *Andrographis paniculata* plot at Kanchanaburi Province, 2008.

Treatments	Plant height (cm)	Tiller (no/plant)
1. คลุมด้วยพลาสติกดำเทา	20.3 b	13.7 a
2. คลุมด้วยหญ้าคาแห้ง	23.5 ab	15.1 a
3. oxadiazon 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	24.0 ab	14.7 a
4. คลุมด้วยแผ่นชีวมวล	23.2 ab	15.1 a
5. alachlor 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	22.4 ab	13.8 a
6. การใช้แรงงาน	26.1 a	14.4 a
7. ไม่กำจัดวัชพืช	26.7 a	15.6 a
C.V.(%)	12.6	13.8

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

Table 5 Fresh weight and yield of *Andrographis paniculata* plot at Kanchanaburi Province, 2008.

Treatments	Fresh weight (Kg/rai)	Yield (Kg/rai)
1. คลุมด้วยพลาสติกดำเทา	796.7 bc	310.0 cd
2. คลุมด้วยหญ้าคาแห้ง	1123.3 ab	417.5 bc
3. oxadiazon 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	821.7 bc	320.4 cd
4. คลุมด้วยแผ่นชีวมวล	1376.7 a	461.2 ab
5. alachlor 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	491.7 cd	231.7 de
6. การใช้แรงงาน	1426.7 a	570.0 a
7. ไม่กำจัดวัชพืช	435.0 d	172.9 e
C.V.(%)	24.1	23.1

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

Table 6 Weed density and weed weight in *Andrographis paniculata* plot at Pichit Province, 2009.

Treatments	Weed density (no/m2)	Weed weight (g/m2)
1. คลุมด้วยพลาสติกดำเทา	9.33 a	11.86 a
2. คลุมด้วยฟางข้าว	86.00 bc	541.56 b
3. oxadiazon 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	80.33 b	581.67 bc
4. คลุมด้วยแผ่นชีวมวล	33.67 ab	34.00 a
5. alachlor 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	71.33 b	528.34 b
6. การใช้แรงงาน	9.00 a	2.47a
7. ไม่กำจัดวัชพืช	134.66 c	880.67 c
C.V.(%)	38.10**	39.60**

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

Table 7 Plant height at 30,60 and 90 days of *Andrographis paniculata* at Pichit Province, 2008.

Treatments	Plant height(cm)		
	at 30 day	at 60 day	at 90 day
1. คลุมด้วยพลาสติกดำเทา	27.2 ab	39.3 bc	56.0 b
2. คลุมด้วยฟางข้าว	25.0 b	45.4 ab	94.6 a
3. oxadiazon 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	29.4 a	50.9 a	75.1 ab
4. คลุมด้วยแผ่นชีวมวล	24.8 b	35.4 c	55.4 b
5. alachlor 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	28.9 ab	47.4 a	71.4 ab
6. การใช้แรงงาน	27.7 ab	39.2 bc	52.4 b
7. ไม่กำจัดวัชพืช	25.7 ab	45.9 ab	73.6 ab
C.V.(%)	9.2*	7.1**	16.0**

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

Table 8 Plant width at 30,60 and 90 days of *Andrographis paniculata* at Pichit Province, 2008.

Treatments	Plant width(cm)		
	at 30 day	at 60 day	at 90 day
1. คลุมด้วยพลาสติกดำเทา	12.7 a	25.3 a	39.1 a
2. คลุมด้วยฟางข้าว	12.8 a	15.2 c	20.8 b
3. oxadiazon 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	13.2 a	16.8 c	24.7 b
4. คลุมด้วยแผ่นชีวมวล	13.7 a	25.6 a	38.1 a
5. alachlor 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	12.7 a	15.5 c	23.7 b
6. การใช้แรงงาน	11.8 a	20.8 b	35.2 a
7. ไม่กำจัดวัชพืช	11.8 a	15.9 c	20.5 b
C.V.(%)	11.6^{ns}	8.6**	17.9**

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

Table 9 Flowering day, fresh weight ,yield and total lactone of *Andrographis paniculata* at Pichit Province, 2008.

Treatments	Flowering Period 50%(day)	Fresh weight (Kg/rai)	Yield (Kg/rai)	Total lactone (%)
1. คลุมด้วยพลาสติกดำเทา	90 b	1,456.2 a	391.7 a	8.7566 cd
2. คลุมด้วยฟางข้าว	110 a	98.7 b	23.3 b	9.0666 bcd
3. oxadiazon 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	106 a	150.1 b	36.7 b	9.7806 abc
4. คลุมด้วยแผ่นชีวมวล	93 b	1,305.5 a	336.7 a	8.2333 d
5. alachlor 160 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่	104 a	164.3 b	43.3 b	10.1400 ab
6. การใช้แรงงาน	92 b	1,550.2 a	410.0 a	10.4900 a
7. ไม่กำจัดวัชพืช	107a	70.7 b	15.5 b	10.0533 ab
C.V.(%)	2.18**	42.5**	36.5**	4.8**

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

การบริหารจัดการโรคใบหงิกเหลืองของพริก

Pest Management for Yellow Leaf Curl Disease on Chili

วันเพ็ญ ศรีทองชัย อำนวย อรรถลังรอง อุดม คำชา สมพงษ์ สุขเขตต์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ปลูกพริกจำนวน 10 สายพันธุ์/พันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCB) มี 3 ซ้ำ ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ พันธุ์พริกส่วนใหญ่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในโครงการวิจัยของ ศวส. ศรีสะเกษ และ ศวส. พิจิตร มีการบริหารจัดการศัตรูพืชโดยใช้สารเคมีที่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ เริ่มประเมินการเข้าทำลายของโรคโดยเริ่มพบต้นพริกแสดงอาการใบหงิกเหลืองบริเวณรอบนอกของแปลงปลูกใน 1 เดือนหลังย้ายปลูก จากการตรวจเช็คการเข้าทำลายของโรคใบหงิกเหลืองในพริกสายพันธุ์ต่างๆ ไม่พบการระบาดของโรคนี้ในช่วง 2 เดือนหลังย้ายปลูก แต่เริ่มพบการระบาดของโรคใบหงิกเหลืองในเดือนที่ 3 บนพันธุ์หัวเรือ # 13 และ จินดา ศก. 19-1 น้อยมาก ไม่ถึง 1% แต่กลับพบการระบาดอย่างรุนแรงของโรคจุดวงแหวนที่เกิดจากทอสโพไวรัส (Tospovirus) บนพริกทุกพันธุ์ที่ปลูกทดสอบ โดยพริกแสดงอาการจุดวงแหวนสีเขียวอ่อนบนใบ ซึ่งโรคนี้ระบาดโดยมีเพลี้ยไฟเป็นพาหะนำโรค และมีพืชอาศัยกว้าง จึงได้ทำการตรวจนับและให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคเหมือนกับโรคใบหงิกเหลือง พบว่า โรคนี้เริ่มพบในเดือนที่ 3 หลังย้ายปลูก และระบาดรุนแรงขึ้นในเดือนที่ 6 (มิถุนายน) แต่อัตราการเกิดโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัสบนพริกทุกพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพันธุ์ที่ให้ผลผลิตทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงสุด ได้แก่ พันธุ์จินดา ศก. 24, พันธุ์จินดา ศก. 19-1 และ พันธุ์ CV 7-5 ในงานทดลองปี 2552 สรุปได้ว่า พันธุ์จินดา ศก. 24 หากได้รับการบริหารจัดการที่ถูกต้อง สามารถให้ผลผลิตสูงและมีความทนทานต่อเชื้อทอสโพไวรัส ได้ดีกว่าพริกสายพันธุ์อื่นๆ เมล็ดของพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรคจะได้นำมาทดสอบความต้านทานในเรือนทดลองโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะต่อไป

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 (RCB) 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 14 พฤศจิกายน 2551 และทำการปลูกลงแปลงเมื่อวันที่ 12 มกราคม 2552 เมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 20 วัน ทำการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 1 ช้อนชา/หลุม และปุ๋ยคอกรองก้นหลุม จากนั้นใช้ฟางคลุมแปลงเพื่อรักษาความชื้นในดิน ทำการตัดแต่งกิ่งล่างให้ทรงพุ่มห่างจากพื้นประมาณ 10 เซนติเมตร มีการพ่นยาป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยใช้สารกำจัดแมลง เมโทมิล อัตรา 20-25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรือ อิมิดาโคลพริด อัตรา 25-30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรืออะมีทราซ อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมกับสารกำจัดราไดเทนเอ็ม 45 อัตรา 45 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และผสมสารจับใบ เอบิตอล สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

3. การประเมินอัตราการเข้าทำลายของไวรัสสาเหตุโรคใบหงิกเหลือง

ตรวจนับและให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคใบหงิกเหลืองจำนวน 12 ต้น/treatment โดยกำหนดอัตราการเกิดโรคเป็น 5 ระดับ (0 = ไม่แสดงอาการของโรค, 1 = แสดงอาการของโรค 20 % , 2 = แสดงอาการของโรค 21-50 % , 3 = แสดงอาการของโรค 51-75 % และ 4 = แสดงอาการของโรค 100 % และต้นแคระแกร็น) ทุกเดือนหลังย้ายปลูก เก็บต้นที่แสดงอาการไม่ชัดเจนมาตรวจสอบอีกครั้งในห้องปฏิบัติการ 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 ซึ่งถ่ายทอดไวรัสโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ

เวลาและสถานที่ ระยะเวลา ตุลาคม 2549 - กันยายน 2553
สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร
ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจเช็คการเข้าทำลายของโรคใบหงิกเหลืองในพริกสายพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ ไม่พบการระบาดของโรคนี้ในช่วง 2 เดือนหลังย้ายปลูก อาจเป็นเพราะว่า มีการพ่นสารกำจัดแมลงปากดูดอย่างสม่ำเสมอ ทำให้ปริมาณแมลงหวี่ขาวซึ่งเป็นพาหะของโรคในแปลงพบน้อยมาก แต่เริ่มพบการระบาดของโรคใบหงิกเหลืองในเดือนที่ 3 บนพันธุ์หัวเรือ # 13 และ จินดา ศก. 19-1 น้อยมาก ไม่ถึง 1% แต่กลับพบการระบาดอย่างรุนแรงของโรคจุดวงแหวนที่เกิดจากทอสโพไวรัส (Tospovirus) บนพริกทุกพันธุ์ที่ปลูกทดสอบ โดยพริกแสดงอาการจุดวงแหวนสีเขียวอ่อนบนใบ ซึ่งโรคนี้ระบาดโดยมีเพลี้ยไฟเป็นพาหะนำโรค และมีพืชอาศัยกว้าง เช่น พืชตระกูลแตง มะเขือเทศ และถั่วลิสง เป็นต้น (วิมล และคณะ, 2547) จึงได้ทำการตรวจนับและให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคเหมือนกับโรคใบหงิกเหลือง พบว่า โรคนี้เริ่มพบในเดือนที่ 3 หลังย้ายปลูก และระบาดรุนแรงขึ้นในเดือนที่ 6 (มิถุนายน) แต่อัตราการเกิดโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัสบนพริกทุกพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) และพันธุ์ที่ให้ผลผลิตทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงสุด ได้แก่ พันธุ์จินดา ศก. 24, พันธุ์จินดา ศก. 19-1 และ พันธุ์ CV 7-5 (ตารางที่ 2) ในงานทดลองปี 2552 สรุปได้ว่า พันธุ์จินดา ศก. 24 หากได้รับการบริหารจัดการที่ถูกต้อง สามารถให้ผลผลิตสูงและมีความทนทานต่อเชื้อทอสโพไวรัส ได้ดีกว่าพริกสายพันธุ์อื่นๆ เมล็ดของพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรคจะได้นำมาทดสอบความต้านทานในเรือนทดลองโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะต่อไป

ตารางที่ 1. อัตราการเข้าทำลายพริกของเชื้อทอสโพไวรัส ในแปลง ระหว่างเดือนเมษายน-มิถุนายน 2552

สายพันธุ์พริก	อัตราการเกิดโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัส		
	เมษายน	พฤษภาคม	มิถุนายน
CV 3-14	0.843	1.833	2.960
CV 7-5	1.083	2.100	3.233
หัวเรือ # 13	1.100	2.067	3.500
หัวเรือ # 25	1.123	2.150	3.567
ยอดสน ศก. 119-1	1.190	1.957	3.273
ยอดสน ศก. 165-1	1.150	2.067	3.350
จินดา ศก. 19-1	0.983	2.010	3.190
จินดา ศก. 24	1.910	1.743	2.817
พริกขี้หนูเลย ศก. 40-2	0.843	1.910	3.160
พริกขี้หนูกาญจนบุรี # 5	1.183	2.050	3.220
F-Test	ns	ns	ns
CV (%)	18.2	13.7	9.08

กำหนดอัตราการเกิดโรค เป็น 5 ระดับ

0 = ไม่แสดงอาการของโรค

1 = แสดงอาการของโรค 20 %

2 = แสดงอาการของโรค 21-50 %

3 = แสดงอาการของโรค 51-75 %

4 = แสดงอาการของโรค 100 % และต้นแคระแกร็น

ตารางที่ 2. ผลผลิตเฉลี่ยของน้ำหนักสด (กรัม) และน้ำหนักแห้ง (กรัม) ของพริกสายพันธุ์ต่างๆ

สายพันธุ์พริก	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักสด (กรัม)
CV 3-14	3,646.00 bc	784.13 cde
CV 7-5	4,663.00 ab	1,111.83 abc
หัวเรือเบอร์ 13	3,322.33 bc	803.07 b-e
หัวเรือเบอร์ 25	3,889.00 b	894.10 bcd
ยอดสน ศก. 119-1	1,885.67 cde	491.17 de
ยอดสน ศก. 165-1	2,757.67 bcd	704.60 cde
จินดา ศก. 19-1	4,382.00 ab	1,197.07 ab
จินดา ศก. 24	5,857.33 a	1,357.30 a
พริกขี้หนูเลย ศก. 40-2	398.33 e	99.43 f
พริกขี้หนูกาญจนบุรี #5	1,079.00 de	419.00 ef
F-Test	**	**
CV (%)	32.0	27.4

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ปลูกพริกจำนวน 10 สายพันธุ์/พันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCB) มี 3 ซ้ำ ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ พันธุ์พริกส่วนใหญ่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในโครงการวิจัยของ ศวส. ศรีสะเกษ และ ศวส. พิจิตร มีการบริหารจัดการศัตรูพืชโดยใช้สารเคมีที่เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ เริ่มประเมินการเข้าทำลายของโรคโดยเริ่มพบต้นพริกแสดงอาการใบหงิกเหลืองบริเวณรอบนอกของแปลงปลูกใน 1 เดือนหลังย้ายปลูก จากการตรวจเช็คการเข้าทำลายของโรคใบหงิกเหลืองในพริกสายพันธุ์ต่างๆ ไม่พบการระบาดของโรคนี้ในช่วง 2 เดือนหลังย้ายปลูก แต่เริ่มพบการระบาดของโรคใบหงิกเหลืองในเดือนที่ 3 บนพันธุ์หัวเรือ # 13 และ จินดา ศก. 19-1 น้อยมาก ไม่ถึง 1% แต่กลับพบการระบาดอย่างรุนแรงของโรคจุดวงแหวนที่เกิดจากทอสโพไวรัส (Tospovirus) บนพริกทุกพันธุ์ที่ปลูกทดสอบ โดยพริกแสดงอาการจุดวงแหวนสีเขียวอ่อนบนใบ ซึ่งโรคนี้ระบาดโดยมีเพลี้ยไฟเป็นพาหะนำโรค และมีพืชอาศัยกว้าง เช่น พืชตระกูลแตง มะเขือเทศ และถั่วลิสง เป็นต้น จึงได้ทำการตรวจนับและให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคเหมือนกับโรคใบหงิกเหลือง พบว่า โรคนี้เริ่มพบในเดือนที่ 3 หลังย้ายปลูก และระบาดรุนแรงขึ้นในเดือนที่ 6 (มิถุนายน) แต่อัตราการเกิดโรคที่เกิดจากทอสโพไวรัสบนพริกทุกพันธุ์ไม่มี

ความแตกต่างกันทางสถิติ และพันธุ์ที่ให้ผลผลิตทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงสุด ได้แก่ พันธุ์จินดา ศก. 24, พันธุ์จินดา ศก. 19-1 และ พันธุ์ CV 7-5 ในงานทดลองปี 2552 สรุปได้ว่า พันธุ์จินดา ศก. 24 หากได้รับการบริหารจัดการที่ถูกต้อง สามารถให้ผลผลิตสูงและมีความทนทานต่อเชื้อทอสโพไวรัส ได้ดีกว่าพริกสายพันธุ์อื่นๆ เมล็ดของพันธุ์ที่มีแนวโน้มทนทานต่อโรคจะได้นำมาทดสอบความต้านทานในเรือนทดลองโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะต่อไป

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.

วิมล สีเทา พิสสวรรณ เจียมสมบัติ อรประไพ คชนันท์ อัญจนา บุญชด นุชนาถ วารินทร์ ปิยาภรณ์ เพชรสูงเนิน และชาญณรงค์ ศรีภิบาล. 2547. การจำแนกทอสโพไวรัสที่พบในพริก มะเขือเทศ และพืชตระกูลแตง. การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 42 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 1-4 กุมภาพันธ์ 2547. หน้า 445-451.

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.

การควบคุมโรครากปมสาเหตุจากไส้เดือนฝอยในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร : การคัดพันธุ์ต้านทานพริกต้านทานโรครากปม

Control of Root Gall Disease Cause by Root-knot Nematode on Farm : Screening of Chilli Resistance of Root Gall Disease

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

บทคัดย่อ

เชื้อพันธุกรรมพริก 20 พันธุ์/สายพันธุ์ ของกรมวิชาการเกษตร นำมาคัดเลือกและประเมินความต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* ในระหว่างเดือนตุลาคม 2551 – กันยายน 2552 ทำการคัดเลือก ณ โรงเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร โดยใช้วิธีการตาม Screening protocol เพื่อให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน เริ่มจากการเพาะกล้าสายพันธุ์พริกในดินพีทที่บรรจุในถาดชนิด 104 หลุม เมื่อกล้าอายุ 30 วัน ย้ายปลูกในดินร่วนปนทรายที่บรรจุในถาดชนิด 15 หลุม และ inoculateไข่ของไส้เดือนฝอย 1,000 ฟอง/ต้น ทำการวัดดัชนีการเกิดปมที่ระบบรากและนับจำนวนไข่/ต้นเมื่อพริกอายุ 40 วันหลังปลูกเชื้อ ผลการประเมินระดับความต้านทานพบว่า ทั้ง 20 พันธุ์/สายพันธุ์ ไม่ต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *M. incognita* โดยมีดัชนีการเกิดปมที่ 4 และ 5 (4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก มีความต้านทานระดับน้อย และ 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก พืชอ่อนแอ)

รหัสการทดลอง 01-16-49-01

คำนำ

พริกจัดเป็นพืชที่มีศักยภาพการผลิต เนื่องจากมีปริมาณการผลิตและมูลค่าสูง สามารถปลูกได้ในทุกภาคของประเทศ มีพื้นที่ปลูกรวมทั้งประเทศ 490,000 ไร่ ผลผลิต 548,800 ตัน ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศ มีการส่งออกไปต่างประเทศในลักษณะของพริกสดและแปรรูป จุดเด่นพริกของประเทศไทยคือสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปีและปลูกได้ทุกภาค มีฐานพันธุกรรมที่แพร่หลาย มีลักษณะจำเพาะที่เป็นเอกลักษณ์ เช่น ความเผ็ด มีกลิ่นหอม สามารถแปรรูปได้หลากหลาย แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณพริกออกสู่ตลาดไม่ต่อเนื่องและไม่แน่นอน เป็นผลมาจากปัญหาในเรื่องราคาของผลผลิตพริก กล่าวคือในปีใดที่พริกราคาดีหรือมีราคาสูง ในปีถัดไปเกษตรกรมักจะปลูกพริกเป็นปริมาณมาก ซึ่งทำให้ราคาพริกตกต่ำ ในทางตรงกันข้ามกันหากปีใดราคาของพริกตกต่ำเกษตรกรก็จะเลิกปลูกพริกเป็นจำนวนมากในปีถัดไป ซึ่งจะหมุนเวียนเป็นวัฏจักรเช่นนี้ตลอดมา นอกจากนั้นปัญหาสำคัญของการปลูกพริกอีกประการคือ ศัตรูพืช ซึ่งมักพบการระบาดของศัตรูพืช ได้แก่ เพลี้ยไฟ ไร โรคที่เกิดจากเชื้อรา ไวรัส แบคทีเรีย และไส้เดือนฝอย ฯลฯ การระบาดจะรุนแรงมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น ปริมาณน้ำฝน น้ำค้างหมอก กระแสลม น้ำเพาะปลูก สภาพความเป็นกรด-ด่างของดิน ชนิดของเนื้อดิน การระบายน้ำและอากาศในดิน อุณหภูมิและความชื้น ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน การปนเปื้อนของเชื้อโรคที่ติดมากับปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก เมล็ดพันธุ์ รากต้นกล้า ดินเพาะปลูก เศษซากพืชเป็นโรคในแปลงปลูกและเครื่องมือเกษตรต่างๆ ฯลฯ ปัญหาศัตรูพืชเหล่านี้ส่งผลต่อผลผลิตพริกต่อพื้นที่ลดลง รวมไปถึงการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในปริมาณสูง มีพิษตกค้างในผลผลิตไม่ได้ตามมาตรฐานความปลอดภัยจากสารพิษ ทำให้พริกที่ผลิตได้คุณภาพไม่ตรงกับความต้องการของผู้รับซื้อหรือโรงงานแปรรูป

ในปี พ.ศ. 2549 เกิดปัญหาการระบาดของไส้เดือนฝอยสาเหตุของโรครากปมอย่างรุนแรงในพื้นที่ปลูกพริกของจังหวัดอุบลราชธานี และศรีษะเกษ พบความเสียหายของผลผลิตและคุณภาพลดลงตั้งแต่ 50-100 เปอร์เซ็นต์ จนถึงปัจจุบันในบางพื้นที่ไม่สามารถปลูกพริกได้ เนื่องจากมีการสะสมของประชากรไส้เดือนฝอยปริมาณมากและแพร่ระบาดอย่างรวดเร็วในสภาพดินร่วนปนทราย ไส้เดือนฝอยไหลไปกับน้ำและ/หรือน้ำฝน ติดไปกับเครื่องมือเกษตร โดยเฉพาะดินที่มีไส้เดือนฝอยติดไปกับล้อรถไถจากแปลงหนึ่งสู่แปลงอื่นๆ และดินที่ติดไปกับต้นกล้าพริกสู่แปลงปลูก (นุชนารถ, 2550) เมื่อทำการจำแนกชนิดของไส้เดือนฝอยโดยศึกษารูปร่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยพิจารณาจากริ้วรอยย่นส่วนก้น (perineal pattern) ของตัวตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถจัดจำแนกได้ 2 ชนิด (species) คือ *Meloidogyne incognita* และ *M. javanica* ซึ่งปะปนในแปลงปลูก โดยส่วนใหญ่ตรวจพบ *M. incognita* มากกว่า *M. javanica* ในอัตราส่วน 8 : 2 ของต้นพริก 1 ต้น

ลักษณะการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* spp. เริ่มจากตัวอ่อนระยะที่ 2 หรือระยะเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยที่แพร่กระจายอยู่ในดินปลูกพืช เจาะไชเข้าสู่รากพริกบริเวณปลายรากเคลื่อนที่ต่อไปยังท่อน้ำท่ออาหารของพืชและหยุดนิ่ง จากนั้นเริ่มดูดกินน้ำเลี้ยงของพืช และมีการเจริญเติบโตด้วยวิธีการลอกคราบจากตัวอ่อนระยะที่ 2 เป็นตัวอ่อนระยะที่ 3 และระยะที่ 4 ตามลำดับ จากนั้นพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัย (adult) มีทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยพบว่าพริกเป็นพืชอาหารที่ดี ไส้เดือนฝอยที่เข้าทำลายรากพริกจึงมีอัตราการเปลี่ยนแปลงเป็นเพศเมียสูงกว่าเพศผู้ในสัดส่วน 4 : 1 ของจำนวนไส้เดือนฝอยที่เข้าทำลาย เพศเมียสามารถสร้างไข่ที่มีลักษณะเป็นกลุ่ม (egg mass) ได้โดยไม่ต้องผสมพันธุ์กับเพศผู้เป็นลักษณะการขยายพันธุ์แบบ parthenogenesis (Triantaphyllou, 1981) 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) เกิดความเสียหายต่อพืชและสูญเสียผลผลิตมากกว่า 50 % (นุชนารถ, 2550)

ลักษณะอาการของโรครากปม เมื่อถอนต้นพริกจะพบระบบรากเป็นปุ่มปม สาเหตุจากไส้เดือนฝอยดูดกินน้ำเลี้ยงของพืชบริเวณท่อน้ำ-ท่ออาหาร มีผลทำให้เซลล์ของพืชบริเวณที่ถูกทำลายแบ่งตัวผิดปกติ เกิดเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ (giant cell) ไปปิดกั้นทางเดินน้ำและแร่ธาตุอาหารจากรากไปเลี้ยงลำต้นส่วนเหนือดิน ทำให้พริกแสดงอาการเหี่ยวเฉา ต้นแคระแกร็นและทรุดโทรมหรือแห้งตายในที่สุด (นุชนารถ, 2552)

การแพร่ระบาด ไส้เดือนฝอยสามารถแพร่ระบาดได้ดีในเนื้อดินชนิดร่วนปนทราย ไปกับระบบการให้น้ำหรือไหลไปกับน้ำฝน รวมทั้งติดไปกับดินเพาะกล้าพริกและติดไปกับเครื่องมือเกษตรต่างๆ เช่น ล้อรถไถ รองเท้าเกษตรกร และเครื่องมือเกษตรอื่นๆ (นุชนารถ, 2552)

ปัญหาดังกล่าว ก่อให้เกิดผลกระทบทางเศรษฐกิจโดยเฉพาะในกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกพริกเขตภาคตะวัน ออกเฉียงเหนือตอนล่างที่กำลังประสบปัญหาในขณะนี้ และในอนาคตโรครากปมสามารถที่จะแพร่ระบาดไปยังพื้นที่อื่นๆ ถ้าไม่มีการป้องกันกำจัดอย่างถูกวิธี โดยการควบคุมโรครากปมมีหลายวิธีที่กรมวิชาการเกษตรให้คำแนะนำ ได้แก่ การเตรียมกล้าพริกในดินที่สะอาดไม่มีไส้เดือนฝอยปนเปื้อนในดิน การปลูกพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัยของไส้เดือนฝอย เช่น ดาวเรือง ถั่วลิสง และปอเทือง สลับหมุนเวียนกับพริก การเก็บเศษซากพืชเป็นโรคเผาทำลายนอกแปลง เป็นต้น

(นุชนารถ, 2552) แต่อย่างไรก็ตามวิธีการป้องกันกำจัดเหล่านี้อาจใช้ได้ในบางพื้นที่หรือเกษตรกรในบางพื้นที่ไม่ยอมรับ ดังนั้น วิธีที่ดีที่สุดในป้องกันกำจัดโรคพืชคือการใช้พันธุ์ต้านทาน โดยลักษณะของพืชต้านทานไส้เดือนฝอย Huang (1985) ได้แบ่งเป็น 2 ลักษณะคือ แบบ Pre-infectional resistance เกิดขึ้นเนื่องจาก 1) พืชสามารถผลิตสารเคมีบางชนิดออกมาจากราก (root exudates) ซึ่งสารเคมีดังกล่าวไปมีผลในการขับไล่ไม่ให้ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายรากพืช หรือ 2) การที่พืชบางชนิดสามารถพัฒนาตัวเองให้มีผิวราก (root surface) ที่แข็งแรงจนกระทั่งไส้เดือนฝอยไม่สามารถเข้าทำลายได้ และแบบ Post-infectional resistance เกิดขึ้นได้เนื่องจากพืชสามารถสร้างสาร phenolic compounds หรือการเกิดความไม่สมดุลในเรื่องธาตุอาหารในตัวพืช (nutritional imbalance) จนไส้เดือนฝอยไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ หรือการเกิดปฏิกิริยา hypersensitivity reaction หรือการสร้างสาร phytoalexins หรือสารจำพวก peroxidases หรือ superoxide dismutase ขึ้นในตัวพืช ตัวอย่างการเกิด hypersensitivity reaction ในมะเขือเทศพันธุ์ต้านทานพบสาร phenolic compounds สูงกว่าพันธุ์อ่อนแอ ทำให้ไส้เดือนฝอยไม่เจริญเติบโต หรือพืชสร้างสาร glyceolin (สาร phytoalexins) ทำให้เกิด necrotic cell บริเวณรอบๆ ตัวไส้เดือนฝอย

Hung and Rohde (1973) พบว่าความเข้มข้นของสาร phenolic compound “chlorogenic acid” นั้นจะสูงในมะเขือเทศพันธุ์ Nemared ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานไส้เดือนฝอยที่มียีน Mi เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ B-5 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ

Brueske (1980) พบว่า ในมะเขือเทศพันธุ์ Nematex ที่อยู่ในสภาพความต้านทานคือ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส จะมีการสร้างเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างสาร phenolic compounds มากกว่าในมะเขือเทศพันธุ์เดียวกันแต่อยู่ในสภาพอ่อนแอคือที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

Kaplan *et al.* (1980) พบว่าปริมาณของสาร glyceollin ซึ่งเป็นสาร phytoalexins ชนิดหนึ่งนั้นเพิ่มขึ้นในถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปม เมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองพันธุ์อ่อนแอ นอกจากนี้ ยังพบว่าความเข้มข้นของสาร glyceollin นั้นจะมีปริมาณสูงขึ้นในบริเวณท่อน้ำท่ออาหาร (vascular tissues) ของพืชซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่อาศัยของไส้เดือนฝอย

Bleve-Zacheo *et al.* (1982) พบว่าในมะเขือเทศพันธุ์ต้านทานต่อไส้เดือนฝอยนั้นจะเกิด necrotic cells ในบริเวณรอบๆ ตัวไส้เดือนฝอย นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มของสาร callose ในส่วนของเซลล์ที่อยู่ติดกับ necrotic cells นั้นด้วย

Zacheo *et al.* (1982) พบว่าเมื่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* เข้าทำลายมะเขือเทศพันธุ์ต้านทาน มะเขือเทศพันธุ์ดังกล่าวจะสร้าง peroxidase มากขึ้น ในขณะเดียวกันพบว่าปริมาณของสาร superoxide dismutase จะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากว่า peroxidase นั้นเกี่ยวข้องกับ

กระบวนการผลิต free radicals ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มความต้านทานในพืช ส่วน superoxide dismutase นั้นทำงานตรงกันข้ามคือ คือกำจัด free radicals ให้เป็น hydrogen peroxide ซึ่งจะสลายตัวไปเป็นออกซิเจนและน้ำในที่สุดด้วยเอนไซม์ catalase

Tylka (1995) รายงานว่าการปฏิบัติอย่างผสมผสานด้วยวิธีการใช้พันธุ์ต้านทานและการปลูกพืชที่ไม่ใช่พืชอาศัยของไส้เดือนฝอย สามารถป้องกันกำจัดไส้เดือนฝอย soybean cyst nematode ซึ่งมีแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกถั่วเหลืองกว่า 30 รัฐของสหรัฐอเมริกาได้ ส่งผลให้ประชากรของไส้เดือนฝอยลดลงต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ และเกษตรกรสามารถปลูกถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่อ่อนแอหรือสายพันธุ์ที่ต้องการปลูกลงไปในฤดูปลูกถัดไป

Hussey and Janssen (2001) รายงานถึงขั้นตอนสำหรับการคัดพันธุ์มะเขือเทศ ถั่วเหลือง มันฝรั่ง และพืชอื่นๆ ที่ต้านทานไส้เดือนฝอยรากปมหลายชนิด (*Meloidogyne* spp.)

Richard and Judy (2007) รายงานถึงการปรับปรุงพันธุ์พริกไทยในสหรัฐอเมริกา โดยการผสมพันธุ์ (conventional breeding) ระหว่างพันธุ์ต้านทาน Scotch Bonnet กับพันธุ์ Habanero-type ได้ผลผลิตคือพริกไทยพันธุ์ TigerPaw – NR ที่สามารถต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita, M. arenaria* และ *M. javanica* ได้

นุชนารถ และคณะ (2552) ได้คัดเลือกพันธุ์พริกต้านทานไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* จากเชื้อพันธุกรรม 1,000 accession ของศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม โดยใช้วิธีการตาม Screening protocol ที่ผ่านการทดสอบตามหลักวิทยาศาสตร์เพื่อให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน เริ่มจากการเพาะกล้าสายพันธุ์พริกในดินพีทที่บรรจุในถาดชนิด 104 หลุม เมื่อกล้าอายุ 30 วัน ย้ายปลูกในดินร่วนปนทรายที่บรรจุในถาดชนิด 15 หลุม และ inoculateไข่ของไส้เดือนฝอย 1,000 ฟอง/ต้น ทำการวัดดัชนีการเกิดปมที่ระบบรากและนับจำนวนไข่/ต้นเมื่อพริกอายุ 40 วันหลังปลูกเชื้อ ผลการคัดเลือกและประเมินความต้านทานพบว่า ได้สายพันธุ์พริกที่มีแนวโน้มต้านทานต่อโรครากปมระดับสูง (Highly resistant, HR) ถึงระดับมาก (Very resistant, VR) รวม 86 accession ทำการคัดเลือกซ้ำครั้งที่ 2 พบว่ามีสายพันธุ์พริกที่ยังคงความต้านทานระดับ HR เพียง 5 accession คือ CA1486, CA735, CA1399, CA1356 และ CA1332 และความต้านทานระดับ VR ปรับระดับความต้านทานสูงขึ้นเป็น HR จำนวน 3 accession คือ 238047 01 SD-A, CA1336 และ 406987 01 SD-S ระดับ HR ปรับระดับความต้านทานต่ำลงเป็น VR จำนวน 2 accession คือ CA1352 และ CA747 ในขณะที่ระดับ VR ยังคงที่จำนวน 3 accession คือ CA158, CA1420 และ CA1429 รวมสายพันธุ์พริกที่แสดงความต้านทานระดับ HR ถึง VR จำนวน 13 accession

อย่างไรก็ตาม สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร ยังมีความหลากหลายของพันธุกรรมพริกอยู่มากมายหลายสายพันธุ์/พันธุ์ ที่ควรนำมาศึกษาวิจัย เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีความ

ต้านทานต่อโรครากปม ผลของงานวิจัยที่ได้จะสามารถส่งต่อให้นักปรับปรุงพันธุ์หรือนักวิจัยด้านชีวโมเลกุล นำไปขยายผลต่อยอดเพื่อได้ยีนและ/หรือพันธุ์พริกต้านทานไส้เดือนฝอย ใช้สำหรับแก้ปัญหาโรครากปมในพริกและช่วยเพิ่มศักยภาพในการผลิตภายในประเทศอย่างยั่งยืนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สายพันธุ์พริกจำนวน 20 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ พริกยอดสน ศก. 10 สายพันธุ์ และพริกขี้หนูเลย ศก. 10 สายพันธุ์

2. ไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* แยกได้จากรากพริกที่ปลูกในพื้นที่การระบาด จ. อุบลราชธานี

3. กรงกันแมลงขนาด 85x120x80 ซม.

4. โรงเรือนปลูกพืช

5. บล็อกซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. สำหรับปลูกพืชอาศัย

6. วัสดุปลูกพืช ได้แก่ ดินร่วน ดินร่วนปนทราย (ดินสีดา 50 : ดินทราย 50) และดินพีท-มอส (Pindstrup compressed peat product)

7. ภาชนะปลูก ได้แก่ ภาชนะปลูกชนิด 15 หลุม (กระถางพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.5 ซม. สูง 5.5 ซม.) ภาชนะปลูกชนิด 104 หลุม และกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 และ 12 นิ้ว

8. เครื่องเขย่า 300 รอบ/นาที

9. สารละลาย 0.525 % NaOCl

10. เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ขนาด 50-1,000 มล. Erlenmeyer flask ขนาด 250-500 มล. Petri dish ใช้สำหรับเพาะเมล็ด และจานนับจำนวนไส้เดือนฝอย

11. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ และกำลังขยายสูง

12. วัสดุอื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ เช่น ไมโครไปเปต ขนาด 500-1,000 มล. สไลด์หลุม กระดาษกรอง และกระดาษทิชชู เป็นต้น

13. เครื่องมือสำหรับปลูกพืชและสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ปุ๋ย และฮอร์โมน

วิธีการ

1. การเก็บและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม (*M. incognita*) บริสุทธิ์จากกลุ่มไข่ (egg mass) 1 กลุ่ม

เลือกตัวเต็มวัยเพศเมียของไส้เดือนฝอยรากปม ที่มีกลุ่มไข่สมบูรณ์จากรากของพริกที่เก็บมาจากจังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งเป็นพื้นที่การระบาดของโรครากปม นำตัวเต็มวัยเพศเมียจำแนกชนิดโดยวิธีตัดริ้วรอยย่นส่วนก้น (Perineal pattern) เพื่อยืนยันชนิดของไส้เดือนฝอยรากปมเป็น *M. incognita* ส่วนของกลุ่มไข่ทำการเขี่ยกลุ่มไข่ให้ฟักเป็นตัวอ่อนระยะที่ 2 หรือระยะเข้าทำลายในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปปลูกเชื้อในพืชอาศัย 3 ชนิด ได้แก่ กล้าพริกพันธุ์หัวเรืออายุ 30 วัน กล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 20 วัน และถั่วเขียวผิวมันอายุ 7 วัน ที่ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว ดูแลพืชเป็นเวลา 45 วันในถั่วเขียว และ 60 วันในพริกและมะเขือเทศ ได้ระบบรากของพืชอาศัยเป็นปุ่มปมจากการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอย จากนั้นแยกกลุ่มไข่ไส้เดือนฝอยจากรากของพืชอาศัยแต่ละชนิด นำมาเขย่าในสารละลาย 0.525 % NaOCl เป็นเวลา 3.5 นาที และนำไปปลูกเชื้อในพืชอาศัยทั้งสามชนิดที่ปลูกในบล็อกซีเมนต์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. เพื่อเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย *M. incognita* ให้พอเพียงต่อการทดสอบ และ maintain เพื่อการใช้ตลอดโครงการฯ

2. การคัดเลือกและประเมินความต้านทานของพันธุ์/สายพันธุ์พริกต่อโรครากปม

2.1 การเตรียมกล้าพันธุ์พริก

นำเมล็ดพริกแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ เพาะในกระดาษทิชชูชุ่มน้ำเป็นเวลา 3-4 วัน เมื่อเมล็ดพริกงอก นำไปเพาะในดินพีท-มอสที่บรรจุในภาชนะชนิด 104 หลุม จำนวน 1-2 เมล็ด/หลุม นำไปตั้งวางในกรงกันแมลง (ขนาด 85x120x80 ซม.) เมื่อใบจริงงอก 1 คู่ ทำการใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 จำนวน 1-2 เม็ด/ต้น และใส่ปุ๋ยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง จนได้กล้าพริกอายุครบ 30 วัน

2.2 การเตรียมไข่ไส้เดือนฝอย *M. incognita*

นำรากถั่วเขียวระยะที่ไส้เดือนฝอยสร้างไข่เป็นกลุ่ม (egg mass) มาเขย่าใน 0.525 % NaOCl เป็นเวลา 3.5 นาที ด้วยเครื่องเขย่า 300 รอบ/นาที กลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยจะหลุดออกจาก gelatinous matrix ที่หุ้มไข่ จากนั้นนำไข่ไปผ่านตะแกรง 2 ขนาด (400 และ 500 mesh) เพื่อแยกเศษพืชออก โดยเปิดน้ำไหลผ่าน จากนั้นเก็บไข่ไส้เดือนฝอยจากตะแกรง 500 mesh นำไปนับจำนวน 1,000 + 100 ฟอง/น้ำ 1 มิลลิลิตร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยนับเฉพาะไข่ที่สมบูรณ์และมีตัวอ่อนระยะที่ 1 อยู่ภายในไข่

2.3 การ inoculate ไข่ไส้เดือนฝอย *M. incognita*

ย้ายต้นกล้าอายุ 30 วัน ที่เตรียมจากข้อ 3.1 ของพริกแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ ปลูกในดินชนิดร่วนปนทราย (อัตราส่วน 50 : 50) ในภาชนะชนิด 15 หลุม จำนวนต้นกล้าพริก 15-20 ต้น/พันธุ์ จากนั้นทำการปลูกเชื้อไส้เดือนฝอย *M. incognita* โดยใช้ไข่ที่เตรียมจากข้อ 3.2 จำนวน 1,000

ฟอง/ต้น ที่บริเวณรากพืช นำพืชไปตั้งวางในกรงกันแมลง (ขนาด 85x120x80 ซม.) และดูแลพืชปลูกโดยใส่ปุ๋ย 4-5 ครั้ง จนอายุครบ 40 วันหลังปลูกเชื้อ

2.4 การ rate โรครากปม

การวัดดัชนีการเกิดปมที่ระบบราก ทำการถอนต้นพริกอายุ 70 วัน (หรือ 40 วันหลังปลูกเชื้อ) จำนวน 10 ต้น/พันธุ์ ตรวจวัดดัชนีการเกิดปมที่ระบบราก/ต้น ตามวิธีของนุชนารถ และวราภรณ์ (2550) ดัดแปลงตามวิธีของ Hussey and Jansaen (2001) แบ่งเป็น 5 ระดับความต้านทาน ดังนี้ :-

1 = เกิดปมเล็กน้อย มีความต้านทานระดับสูง [Highly Resistant (HR)]

2 = เกิดปมน้อยกว่า 25% ของระบบราก มีความต้านทานระดับมาก [Very Resistant (VR)]

3 = เกิดปม 25-50%ของระบบราก มีความต้านทานระดับปานกลาง [Moderately resistant (MR)]

4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก มีความต้านทานระดับน้อย [Slightly Resistant (SR)]

5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก พืชอ่อนแอ [Susceptible (S)]

2.5 การนับจำนวนไข่ไส้เดือนฝอยต่อต้น

นำรากพริกแต่ละต้นที่ตรวจวัดดัชนีการเกิดปมของแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์แล้ว มาเขย่าใน 0.525 % NaOCl เป็นเวลา 3.5 นาที ด้วยเครื่องเขย่า 300 รอบ/นาที เพื่อแยกไข่ออกจาก gelatinous matrix และนำไปผ่านตะแกรง 2 ขนาด (400 และ 500 mesh) เพื่อแยกเศษพืชออก โดยเปิดน้ำไหลผ่าน จากนั้นเก็บไข่ไส้เดือนฝอยจากตะแกรง 500 mesh นำไปนับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นับเฉพาะไข่ที่สมบูรณ์

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2551 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2552

สถานที่ ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มงานไส้เดือนฝอย กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย (*Meloidogyne incognita*) บริสุทธิ์จากกลุ่มไข่ (egg mass) 1 กลุ่ม

การเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอย *M. incognita* ในพืชอาศัย 3 ชนิด ได้แก่ พริกพันธุ์หัวเรือ มะเขือเทศพันธุ์สีดา และถั่วเขียวผิวมัน พบว่าพืชทั้ง 3 ชนิด เป็นพืชอาศัยที่ดีของไส้เดือนฝอย *M. incognita* ระบบรากพืชถูกไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย เกิดปุ่มปมได้มาก และตัวเต็มวัยเพศเมียของ

ไส้เดือนฝอยสามารถสร้างไข่ได้ตั้งแต่ 300-500 ฟอง/1 กลุ่มไข่ โดยเฉพาะในมะเขือเทศพันธุ์สีดา มีจำนวนไข่มากที่สุดระหว่าง 450-500 ฟอง/1 กลุ่มไข่ รองลงมาคือ พริกพันธุ์หัวเรือ และถั่วเขียวผิวมัน จำนวนไข่ระหว่าง 300-400 ฟอง แต่อย่างไรก็ตามการเลือกพืชที่จะนำมาใช้เป็นพืชอาศัยเพื่อเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยให้เพียงพอต่อการทดสอบคัดพันธุ์พืชต้านทานจำนวนมากๆ นั้น ต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อได้เพียงพอตามโปรแกรมการทดสอบ ซึ่งจากการปลูกพืชอาศัย 3 ชนิด ในบล็อกซีเมนต์เส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. ณ โรงเรือนปลูกพืชทดลอง กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ พบว่าในมะเขือเทศมีปัญหาโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย โรคใบหงิกเหลืองจากไวรัส เพลี้ยไฟ ไรขาว ทำให้มะเขือเทศอ่อนแอ ไม่เจริญเติบโตหรือตาย เป็นผลให้ระบบรากลดลง การเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยที่รากลดตามไปด้วย สำหรับในพริกประสบปัญหาเพลี้ยไฟและไรขาว พริกเจริญเติบโตไม่ดีเช่นกัน แต่ในถั่วเขียวผิวมันพบว่า ปลูกง่าย เจริญเติบโตเร็ว ปัญหาโรคพืชและแมลงค่อนข้างน้อย ไส้เดือนฝอยเข้าทำลายระบบรากได้ดี ระยะเวลาในการปลูกตั้งแต่หว่านเมล็ดจนได้กลุ่มไข่ไส้เดือนฝอย ใช้เวลาเพียง 30-40 วัน ดังนั้น ถั่วเขียวจึงเป็นพืชอาศัยที่ดีในการเพิ่มปริมาณไข่ที่ใช้เป็น inoculum โดยทำการปลูกในบล็อกซีเมนต์จำนวน 50 วง เพื่อใช้ในโปรแกรมการคัดพันธุ์พริกต้านทานไส้เดือนฝอย

2. การคัดเลือกและประเมินความต้านทานของสายพันธุ์พริกต่อโรครากปม

จากการคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริกต้านทานต่อไส้เดือนฝอยรากปม จำนวน 20 พันธุ์/สายพันธุ์ โดยทำการคัดเลือก ณ โรงเรือนปลูกพืชทดลอง กลุ่มวิจัยโรคพืช ที่กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร ผลการประเมินระดับความต้านทานพบว่า ทั้ง 20 พันธุ์/สายพันธุ์ ไม่ต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *M. incognita* โดยมีดัชนีการเกิดปมที่ 4 และ 5 (4 = เกิดปม 51-75% ของระบบราก มีความต้านทานระดับน้อย และ 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก พืชอ่อนแอ) แสดงตามตารางที่ 1

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดสอบคัดเลือกและประเมินพันธุ์พริกต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *M. incognita* สาเหตุของโรครากปม จำนวน 20 พันธุ์ ดำเนินการทดสอบที่กรมวิชาการเกษตร ทำการทดสอบด้วยเทคนิคการคัดเลือกที่เป็นมาตรฐานเดียวกันตาม Screening Protocol พบว่าทั้ง 20 พันธุ์ ไม่ต้านทานต่อโรครากปม ดังนั้น จึงควรทำการศึกษาในพันธุ์/สายพันธุ์อื่นๆ ของพริกซึ่งยังมีฐานพันธุกรรมหลากหลายที่สามารถนำมาคัดเลือกและประเมินพันธุ์ เพื่อได้พันธุ์พริกต้านทานต่อไส้เดือนฝอยสาเหตุของโรครากปมต่อไป

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยดัชนีการเกิดปม จำนวนไข่ต่อต้น และระดับความต้านทานของพริก จำนวน 20 พันธุ์/สายพันธุ์ โดยคัดเลือกและประเมินความต้านทานต่อไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* สาเหตุของโรครากปม

ลำดับที่	พันธุ์/สายพันธุ์	จำนวนต้นที่วัดได้	ค่าเฉลี่ย		ระดับความต้านทาน[2/]
			ดัชนีการเกิดปม[1/]	จำนวนไข่/ต้น (ฟอง)	
1	พริกยอดสน ศก. No.1	20	4.00	49,200	SR
2	พริกยอดสน ศก. No.2	18	4.20	93,920	SR
3	พริกยอดสน ศก. No.3	20	4.30	84,111	SR
4	พริกยอดสน ศก. No.4	20	4.60	94,067	S
5	พริกยอดสน ศก. No.5	20	5.00	54,500	S
6	พริกยอดสน ศก. No.6	17	5.00	37,067	S
7	พริกยอดสน ศก. No.7	16	5.00	97,975	S
8	พริกยอดสน ศก. No.8	20	5.00	93,380	S
9	พริกยอดสน ศก. No.9	20	4.60	76,150	S
10	พริกยอดสน ศก. No.10	18	4.90	88,810	S
11	พริกขี้หนูเลย ศก. No.1	18	5.00	101,150	S
12	พริกขี้หนูเลย ศก. No.2	19	4.90	163,080	S
13	พริกขี้หนูเลย ศก. No.3	20	4.88	99,820	S
14	พริกขี้หนูเลย ศก. No.4	20	5.00	175,970	S
15	พริกขี้หนูเลย ศก. No.5	20	5.00	100,620	S
16	พริกขี้หนูเลย ศก. No.6	20	4.90	103,160	S
17	พริกขี้หนูเลย ศก. No.7	18	5.00	66,240	S
18	พริกขี้หนูเลย ศก. No.8	19	4.90	106,480	S
19	พริกขี้หนูเลย ศก. No.9	19	5.00	96,780	S
20	พริกขี้หนูเลย ศก. No.10	17	5.00	56,267	S

[1/]0 = ไม่มีปม; 1 = มีปมเกิดขึ้นเล็กน้อย; 2 = เกิดปมน้อยกว่า 25%; 3 = เกิดปม 25-50%; 4 = เกิดปม 51-75% และ 5 = เกิดปมมากกว่า 75% ของระบบราก

[2/]ระดับอ่อนแอ (Susceptible, S) ต้านทานเล็กน้อย (Slightly resistant, SR) ต้านทานปานกลาง (Moderately resistant, MR) ต้านทานมาก (Very resistant, VR) ต้านทานสูง (Highly resistant, HR)

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.

การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของพริกโดยชีววิธี

Biological control of chili bacterial wilt

วงศ์ บุญสีบสกุล[1] ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[1] บูรณี พั่ววงค์แพทย์[1] สุรีย์พร บัวอาจ[1]
วิลาวัลย์ ใคร่ครวญ[2] ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์[3]
[1] = กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2] = ศูนย์วิจัยพืชสวนกาญจนบุรี
[3] = ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างดินและรากจากต้นที่เป็นโรคในแปลงพริกที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวที่ เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย จากแหล่งปลูกพริกของประเทศไทยเก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคกลางได้ 7 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคเหนือได้ 11 ตัวอย่าง แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการจากตัวอย่างโรค เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ 8 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจาก อ. เมือง จ. เพชรบูรณ์ แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียและเตรียมทดสอบคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีการเก็บรักษาที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยาเพื่อหาเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ รวมแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์สาเหตุโรคเหี่ยวของพริกจากตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกที่เก็บได้จาก ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและจาก อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ ได้เชื้อบริสุทธิ์สาเหตุโรคเหี่ยวของพริก 17 ไอโซเลท แยกเก็บรักษาเชื้อระยะยาวเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป จากการทดสอบคุณสมบัติของความเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริก 17 ไอโซเลท และทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวพริกในเรือนปลูกพืชทดลองพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ DOA-WB 1-5 ไม่สามารถควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของพริกได้เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริกเป็นเรส 3 ไบโอวา 2 ซึ่งต่างจากเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพืชอื่นๆ ซึ่งจะได้นำเชื้อปฏิปักษ์จากแหล่งอื่นๆ มาทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกต่อไป

คำนำ

พริกจัดอยู่ในสกุลแคปซิคัม (Capsicum มาจาก ภาษากรีก kapto แปลว่า "กัด") ซึ่งมีประมาณ 25 ชนิด (species) ที่นิยมปลูกกันมีเพียง 5 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ *C. annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinensis* Jacq., *C. frutescens* L., *C. pubescens* R. & P. และมีพันธุ์ที่ถูกพัฒนาขึ้นอีกมากมาย พริกนั้นมีชื่อที่ใช้เรียกกันอยู่หลายคำ ได้แก่ pepper, chili, chilli, chile และ capsicum คนไทยอาจจะคุ้นเคยกับคำว่า chilli พริกเป็นอาหารประจำวันที่มีประโยชน์ เกษตรกรไทยมักนิยมปลูกพริกอยู่ 2 ชนิดซึ่งได้แก่1.พริกหวาน พริกหยวก พริกซี้ฟ้า (ในกลุ่ม*C. annuum*) 2.พริกเผ็ดได้แก่ พริกขี้หนูสวน พริกขี้หนูใหญ่ (ในกลุ่ม*C. furtescens*) พริกมีวิตามิน C สูง เป็นแหล่งของกรด ascorbic acid ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยขยายเส้นโลหิตในลำไส้และกระเพาะอาหารเพื่อให้ดูดซึมอาหารดีขึ้น ช่วยร่างกายขับถ่าย ของเสียและนำธาตุอาหารไปยังเนื้อเยื่อของร่างกาย (tissue) สำหรับพริกขี้หนูสดและพริกซี้ฟ้าของไทย มีปริมาณวิตามิน ซี 87.0 - 90 มิลลิกรัม / 100 gนอกจากนี้พริกยังมีสารเบต้า - แคโรทีนหรือวิตามิน A สูง พริกยังมีสารสำคัญอีก 2 ชนิด ได้แก่ Capsaicin และ Oleoresinโดยเฉพาะสาร Capsaicin (เอื้องฟ้า, 2543) เกษตรกรปลูกพริกกันมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคใต้ สำหรับในภาคกลางนั้นมีการปลูกพริกกันน้อยที่สุด พริกที่ปลูกในประเทศไทยเฉลี่ยปีละ 383,000 ไร่ ผลผลิตรวมประมาณ 356,000 ตัน จังหวัดที่ปลูกพริกมากได้แก่ นครราชสีมา อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ชัยภูมิ เชียงใหม่ นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ เลยและกาญจนบุรี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541)

โรคพริกที่สำคัญ ได้แก่ โรคกุ้งแห้ง เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum* sp., โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum,* โรครากและโคนเน่า *Sclerotium rolfsii*, โรคใบหงิกที่เกิดจากเชื้อไวรัสและโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum*

สำหรับโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียปัจจุบันเชื้อสาเหตุได้เปลี่ยนชื่อวิทยาศาสตร์เป็น *Ralstonia solanacearum* เชื้อนี้เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด ปัจจุบันถูกจัดให้เป็นโรคที่สำคัญมากที่สุดของโลกโรคหนึ่ง เพราะสามารถทำให้เกิดโรคกับพืชต่าง ๆ มากกว่า 200 ชนิด และที่สำคัญยังไม่มีวิธีการใดที่สามารถควบคุมโรคนี้ได้ผลดีพอ โดยเฉพาะการใช้สารเคมีไม่แนะนำให้ใช้ แนวทางในการควบคุมโรคนี้ต้องเน้นที่การป้องกัน เพราะเชื้อสาเหตุโรคนี้มีพืชอาศัยกว้างขวาง สามารถอยู่รอดในดินได้ (soil born disease) สามารถแพร่ระบาดไปกับน้ำได้เป็นอย่างดี สามารถติดไปกับส่วนขยายพันธุ์พืชได้ ในประเทศไทยโรคนี้เป็นโรคที่สำคัญที่ทำให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น พริกต่าง ๆ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา ถั่วลิสง มะเขือต่าง ๆ งาและยาสูบ เป็นต้น สำหรับการป้องกันกำจัด มีรายงานผลการทดลองที่ดำเนินการก่อนหน้านี้ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* DOA-WB4 ที่แยกได้จากดินบริเวณรากต้นมันฝรั่งที่ไม่เป็นโรคในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคสามารถป้องกันควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่

เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* ได้ (วงศ์, 2548) และจากการทดลองใช้วิธีผสมผสานวิธีการต่าง ๆ ร่วมกันในการควบคุมโรคพบว่าการใช้เชื้อปฏิปักษ์DOA-WB4 เพียงอย่างเดียวสามารถควบคุมการเกิดโรคนี้ได้คุ้มทุนที่สุด (วงศ์, 2549) และขยายผลการใช้เชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร พบว่าได้ผลดี สามารถลดการเกิดโรคได้ 0-65 % (วงศ์, 2550) ถ้ามีการขยายผลการใช้เชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกทำนองเดียวกับงานวิจัยมันฝรั่งโดยการแยกที่มีศักยภาพเป็นเชื้อปฏิปักษ์จากต้นที่ไม่เป็นโรคในที่ที่มีการระบาดของโรค คัดเลือกและทดสอบตามขบวนการทางวิชาการเพื่อหาเชื้อที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในพริกเช่นเดียวกันกับที่ใช้ได้ผลในมันฝรั่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้ปลูกพริกอย่างมาก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทางโรคพืชวิทยาและจุลชีววิทยา

วิธีการ

วิธีการดำเนินการวิจัย แบ่งเป็นขั้นตอน ดังนี้

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างดินและรากจากต้นที่ไม่เป็นโรคในแปลงพริกที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวที่ เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย จากแหล่งปลูกพริกของประเทศไทย
2. แยกเชื้อบริสุทธิ์และเก็บรักษาในคลังเชื้อห้องปฏิบัติการกลุ่มงานบักเตรีวิทยาเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป
3. ทดสอบและคัดเลือกเชื้อที่คุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว
4. นำเชื้อเชื้อที่คุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวไปทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง
5. นำเชื้อที่คุณสมบัติสามารถควบคุมโรคเหี่ยวในโรงเรือนปลูกพืชทดลองไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงทดลอง
6. นำเชื้อที่คุณสมบัติสามารถควบคุมโรคเหี่ยวในในแปลงทดลองไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลเกษตรที่มีโรคดังกล่าวระบาด
7. เก็บ รวบรวม วิเคราะห์ข้อมูล การเกิดโรคและผลผลิต เขียนรายงาน

ผลการทดลองและวิจารณ์

เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคกลางได้ 7 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคเหนือได้ 11 ตัวอย่าง แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการจากตัวอย่างโรค เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจากเขตพื้นที่ปลูกภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ 8 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกจาก อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียและเตรียมทดสอบคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีการเก็บรักษาที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยาเพื่อหาเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ รวมแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์สาเหตุโรคเหี่ยวของพริกจากตัวอย่างโรคเหี่ยวพริกที่เก็บได้จาก ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและจาก อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ ได้เชื้อบริสุทธิ์สาเหตุโรคเหี่ยวของพริก 17 ไอโซเลท แยกเก็บรักษาเชื้อระยะยาวเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป จากการทดสอบคุณสมบัติของความเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริก 17 ไอโซเลทดังกล่าวพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ DOA-WB1-5 ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริกได้ และจากทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวพริกในเรือนปลูกพืชทดลองพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ DOA-WB 1-5 ไม่สามารถควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของพริกได้ เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพริกเป็นเรส 3 ไบโอวา2 ซึ่งต่างจากเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของพืชอื่นๆ ซึ่งจะได้นำเชื้อปฏิปักษ์จากแหล่งอื่นๆ มาทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

(อยู่ในระหว่างดำเนินการทดลอง)

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, ปิยรัตน์ รรมกิจวัฒน์ รุ่งนภา คงสุวรรณ์และวิวัฒน์ ภานุอำไพ 2549. การควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่งโดยเชื้อ *Bacillus subtilis* Ehrenberg *วารสารวิชาการเกษตร* ปีที่ 24 ฉบับที่ 2 หน้า 178-197.

วงศ์ บุญสืบสกุล 2550 การควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง น.ส.พ. กสิกร (ISSN 0125-3697) ปีที่ 80 ฉบับที่4 หน้า 68-92.

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, วนิดา ฐิตะฐานและสุเนตรา ภาวิจิตร 2540. การผลิตแอนติเซรัมที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 254 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 17 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณ์และวนิดา ฐิตะฐาน 2543. การพัฒนาชุดตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในขบวนการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2543 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 15 หน้า.

Aino, M., Maekawa, Y., Mayama, S and Kato, H. 1998. The use of endophytic bacteria in biocontrol. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number 2.10.5s.

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

Ciampi, L., Fuentes, R., Schobitz, R., Bernal, G. and Oyarzun, J. 1998. Biological control of *Ralstonia solanacearum* : Alginate beads as carriers for antagonistic cells. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B2.

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

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

French, E.R., Anguiz, R. and Aley, P. 1997. The usefulness of potato resistance to *Ralstonia solanacearum* for the integrated control of bacterial wilt. *In*. Bacterial wilt : Molecular and Ecology aspects. Prior, P., Allen, C. and Elphinestone, J. (eds.) INRA edn., Springer Verlag, Berlin, Germany. pp. 381 – 385.

Frey, P., Prior, P., Marie, C., Kotoujansky, A., Trigalet, D.D. and Trigalet, 1994. Hrp-(sup) mutants of *Pseudomonas solanacearum* as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt. *Appl. Environ. Microbiol*. 60 (9) 3175-3181.

Guo, J., Qi, H. and Li, S. 2002. Biocontrol efficiency of three PGPR strains admixture to pepper bacteria wilt. Bacterial wilt newsletter. 17: 3.

Karuna, K., Khan, A.N.A. and Ravikumar, M.R. 1998. Potential of biocontrol agents in the management of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper no. B3.

Kelaniyangoda, D.B. 1998. Bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) management in potato and tomato using botanicals and chemicals. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B13.

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

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

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

Tans-Kersten, J., Huang, H. and Allen, C. 2001. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *Journal of Bacteriology*. 183 (12) 3597-3605.

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

Wong Boonsuesakul *et al.*2003. Using of biovar type system and host specific pathogenicity to grouping of The bacterial caused bacterial wilt disease of economic crops in Thailand. *Thai Journal of Agricultural Science*. 36 (2) : 173-184.

Wong Boonsuesakul *et al.*2005. Study on rapid and easy differentiation of *Bacillus* spp. With Thin-Layer Chromatogram for amino-lipid. *Thai Phytopathology*. 19 (1-2):1-12.

Wong Boonsuebsakul *et al.* 2006. Controlling of *Ralstonia solanacearum* (Smith)

Yabuuchi *et al.*, a causal agent of potato bacterial wilt by *Bacillus subtilis* Ehrenberg. Thai Agricultural Research Journal. 24 (2): 178-197

ศึกษากลไกความต้านทานของพริกต่อโรคลำต้นไหม้ ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora capsici*

Resistance Machanism of chilli pepper to *Phytophthora capsici*

ศรีสุข พูนผลกุล ศิริพงษ์ คุ้มภัย
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Phytophthora capcisi,* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริกทำความเสียหายต่อการปลูกพริกทั่วโลก การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพด้วยการจำแนกสายพันธุ์ (pathotypes)เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพิจารณาคัดเลือกพันธุ์ต้านทานที่มีประสิทธิภาพ เชื้อรา 6 ไอโซเลทเป็นตัวแทนเชื้อราที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จาก 5 จังหวัด ราดเชื้อรา อัตรา 50,000 สปอร์/ มิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อต้น บนพริกทดสอบ 11 สายพันธุ์ ได้แก่ PI 2301232, CM 331, CNPH 703, PI 2301238, PI 2301234, CM 334, PI 189550, Early calwonder,, PBC 602, PBC 137 และพริกพันธุ์จินดา เมื่อมีอายุ 6 สัปดาห์ ตรวจสอบการเป็นโรคลำต้นไหม้หลังการปลูกเชื้อ 21 วัน ผลการทดสอบพบว่าเชื้อรา *Phytophthora capcisi* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริกที่พบในประเทศไทยจัดไว้ได้ 3 pathotypes โดยพบเชื้อราที่ได้จากจังหวัดเชียงใหม่ เป็นสายพันธุ์รุนแรงที่สุด (pathotype 3) เชื้อราจากจังหวัดเพชรบูรณ์เป็นสายพันธุ์รุนแรงปานกลาง (pathotype 2) และเชื้อราจากจังหวัดเชียงรายและสกลนคร มีความรุนแรงต่ำกว่า (pathotype 1)

การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคได้ดำเนินการผสมพันธุ์พริก โดยใช้พันธุ์แม่ 7 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ พิจิตร 1 (พันธุ์อ่อนแอ) พิจิตร 05 พิจิตร 06 พิจิตร 15-1-1-1 พิจิตร 18 – 1 – 1 – 1 พิจิตร 27-1-2-1 และ PBC 743 ผสมกับพันธุ์พ่อ PI 2301234 ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 67 สายพันธุ์ ปลูกพริกลูกผสมชั่วที่ 1 เพื่อเก็บผลผลิตลูกผสมชั่วที่ 2 สำหรับการปลูกเชื้อทดสอบต่อไป

รหัสการทดลอง 01 16 49 01 01 07 52

คำนำ

เชื้อรา *Phytophthora capcisi* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริก ได้รับการจำแนกสายพันธุ์โดยการใช้พืชอาศัย แต่ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการทำให้เกิดโรคและพืชอาศัย (Polach and Webster,1972) เชื้อราสร้าง oospores เมื่อมีการผสมพันธุ์แบบใช้เพศโดยสามารถผสมพันธุ์กับ Strain ทั้งที่เป็น type เดียวกัน หรือต่าง type กันได้ ซึ่งเป็นเหตุที่ทำให้เชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมขึ้นในธรรมชาติ (Chowdappa and Chandramohanan, 1997) เชื้อราสร้าง zoospores เพื่อการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศภายในเวลา 48-96 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 20-23 องศาเซลเซียส โดย zoospores จะแพร่กระจายไปทางน้ำ (Tlapal Bolanos *et al*,1995) นอกจากนี้เชื้อราสามารถติดไปกับผลพริก ลำต้น ใบ และรากของพืชอาศัย ลักษณะอาการของโรคลำต้นไหม้ของพริก พบรอยไหม้สีดำบนลำต้นในระดับความรุนแรงของสายพันธุ์ ของเชื้อสาเหตุ ซึ่งรอยไหม้สีดำนี้เกิดจากการสะสมของสาร phytoalexin(capsidiol) เป็นกลไกการต้านทานแบบ hypersensitivity reaction (Egea *et al.,*1996)

การป้องกันกำจัดด้วยการใช้สารเคมี metalaxyl หรือ chlorothalonil พ่นบนใบและลำต้นจะป้องกันโรคได้ วิธีการทางเขตกรรม เช่น การตากดินก่อนการปลูกพืช Yucel (1995) พบว่าอุณหภูมิดินสูงถึง 47 องศาเซลเซียสจะกำจัดเชื้อราสาเหตุของโรค ในขณะที่ Rista *et al.(*1995) พบว่าการให้น้ำต้นพริกที่ปลูกในโรงเรือนด้วยวิธีการต่าง ๆ ทำให้การแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคแตกต่างกัน ด้านการคัดเลือกพันธุ์ต้านทาน Yang *et al.* (1996) พบว่าพริกหวานพันธุ์ Zhongjiao 7 ต้านทานปานกลางต่อเชื้อสาเหตุ ส่วนการควบคุมโรคโดยชีววิธี พบเชื้อปฏิปักษ์ที่เป็นศัตรูธรรมชาติ ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma harzianum, Gliocladium virens* และ *Strepptomyces griiseoviirdis* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (Nemec *et al ,* 1996)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. พันธุ์พริกที่ใช้ทดสอบ 11 พันธุ์ ได้แก่ PI 2301232, CM 331, CNPH 703, PI 2301238, PI 2301234, CM 334, PI 189550, Early calwonder,, PBC 602, PBC 137 และพริกพันธุ์ จินดา พันธุ์พริกสำหรับเป็นพันธุ์แม่ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ พิจิตร 1 (พันธุ์อ่อนแอ) พิจิตร 05 พิจิตร 06 พิจิตร 15-1-1-1 พิจิตร 18 – 1 – 1 – 1 พิจิตร 27-1-2-1 และ PBC 743 พันธุ์ต้านทานสำหรับใช้เป็นพันธุ์พ่อได้แก่ PI 2301234,

2. เชื้อรา 6 ไอโซเลท ได้แก่ PPB 1(อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์), PCM 14 และ PCM 17 (อ.สันทราย จังหวัดเชียงใหม่) , PSM (อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่), PSK 16 (อำเภอพรรณนานิคม จังหวัดสกลนคร) 1 และ PCR (อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย)

3. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

4. อุปกรณ์ในเรือนทดลอง

วิธีการ

งานทดลองที่ 1 ศึกษา physiological race ของเชื้อรา *Phytophthora capsici* ไอโซเลทต่าง ๆ ที่พบในประเทศไทย

การสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริกจากแปลงปลูกของเกษตรกรในท้องที่ปลูกพริกจังหวัดต่าง ๆ ทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ (RNV) เพิ่มปริมาณเชื้อและเก็บรักษาเชื้อราด้วยอาหารพีดีเอ เตรียมสปอร์แขวนลอยโดยเลี้ยงเชื้อราบนอาหารพีดีเอนาน 5 วัน ตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใย นำไปลอยในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อในจานเลี้ยงเชื้อ นาน 48 ชั่วโมง ตรวจสอบ sporangium ที่เชื้อราสร้างขึ้น นำจานเลี้ยงเชื้อราไปวางในตู้อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมง ก่อนนำออกมาวางในอุณหภูมิห้องเพื่อให้เชื้อราผลิต zoospore ตรวจสอบปริมาณ zoospore ก่อนเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงผสมให้จำนวนสปอร์แขวนลอยมีจำนวน 20,000 สปอร์/ มิลลิลิตร นำไปใช้เพื่อการปลูกเชื้อภายใน 1 ชั่วโมง

เตรียมปลูกพริกพันธุ์ทดสอบ (differential hosts) จำนวน 11 สายพันธุ์ เมื่อกล้าพริกมีอายุ 4 สัปดาห์ ย้ายลงปลูกในกระถางกระถางละ 5 ต้น จำนวนสายพันธุ์ละ 4 กระถาง เพาะเลี้ยงไว้ 2 สัปดาห์ ก่อนทำการทดลอง ใช้ pipette ดูดสารแขวนลอยเชื้อราแต่ละไอโซเลทที่เตรียมไว้ ราดลงในกระถางพริกทดสอบกระถางละ 25 มิลลิลิตร เก็บพืชทดสอบไว้ในเรือนทดลอง บันทึกข้อมูลการเป็นโรคทุกวัน 4 วัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยให้คะแนนการเป็นโรคระดับต่าง ๆ ดังนี้

ระดับ 0 = ไม่พบอาการของโรค

ระดับ 1 = รอยแผลสีดำ 1 –10 % ของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง ต้นพริกแสดงอาการเหี่ยวเล็กน้อย

ระดับ 2 = รอยแผลสีดำ 11 –50 % ของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง ต้นพริกแสดงอาการเหี่ยว

ระดับ 3 = รอยแผลสีดำ 51 –100 % ของลำต้นส่วนใต้ใบเลี้ยง ต้นพริกแสดงอาการเหี่ยว ใบร่วง

ระดับ 4 = รอยแผลสีดำของลำต้นส่วนเหนือใบเลี้ยง ต้นพริกแสดงอาการตาย

งานทดลองที่ 2 ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคลำต้นไหม้ของพริกสายพันธุ์

เตรียมลูกผสมพันธุ์พริก โดยใช้พันธุ์แม่ 7 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ พิจิตร 1 (พันธุ์อ่อนแอ) พิจิตร 05 พิจิตร 06 พิจิตร 15-1-1-1 พิจิตร 18 – 1 – 1 – 1 พิจิตร 27-1-2-1 และ PBC 743 ผสมกับพันธุ์พ่อ ได้แก่ PI 2301234 เพื่อสร้าง ลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกผสมชั่วที่ 2 ใช้ในการเปรียบเทียบการเป็น โรคระดับต่าง ๆ ร่วมกับ พันธุ์พ่อ –พันธุ์แม่ รวมทั้งสิ้นประมาณ 500 ต้น

ปลูกพริกลูกผสมชั่วที่ 2 และพริกสายพันธุ์พ่อและแม่ในถาดเพาะกล้าขนาด14 X 22 นิ้ว ซึ่งมีจำนวนต้นกล้า 104 ต้นต่อถาด ปลูกเลี้ยงในโรงเรือนจนต้นกล้ามีอายุ 1 เดือน

เลี้ยงเชื้อรา *P. capsici* ไอโซเลทเชียงใหม่ PCM 17 (สายพันธุ์รุนแรง) บนอาหาร PDA เป็นเวลา 6 วัน ชักนำให้เชื้อราสร้าง zoospores เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ตรวจนับและปรับความเข้มข้นของสารแขวนลอย zoospores ที่ความเข้มข้น 20,000 ต่อมิลลิลิตร

ปลูกเชื้อสาเหตุบนพืชทดสอบโดยใช้ pipette ดูดสารแขวนลอยเชื้อราราดโคนต้นด้วยปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อต้น ตรวจสอบปฏิกิริยาของพันธุ์พริกที่มีต่อเชื้อราสาเหตุ บันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1และการคำนวณลักษณะถ่ายทอดความต้านทานด้วยกฎของเมนเดล

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา 1 ตุลาคม 2551 – 30 กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานทดลองที่ 1 ศึกษา physiological race ของเชื้อรา *Phytophthora capsici* ไอโซเลทต่าง ๆ ที่พบในประเทศไทย

พันธุ์พริกทดสอบที่อ่อนแอต่อเชื้อรา ทุกไอโซเลทได้แก่ พันธุ์จินดา แสดงอาการของโรคลำต้นไหม้ ระหว่าง 4.0 -5.0 คะแนน พันธุ์ Early calwonder อ่อนแอต่อทุกไอโซเลท อาการของโรคระหว่าง 3.5 – 5.0 ยกเว้นต้านทานปานกลางต่อไอโซเลท PCM 17 คะแนนของโรคบันทึกได้ 2.0 คะแนน พันธุ์ CNPH 703 อ่อนแอต่อไอโซเลท PCM17, PSK16 PSM1 และ PCR บันทึกคะแนนได้ 3.2 – 4.0 คะแนน และต้านทานปานกลางต่อไอโซเลท PPB1 และ PCM 14 บันทึกคะแนนได้ 2.0 -2.8 (Table 1)

พันธุ์พริกที่แสดงอาการต้านทานต่อเชื้อราทุกไอโซเลทได้แก่พันธุ์ CM 331, CM 334, PI 201238, PI 201232 , PI 201234 คะแนนของโรคระหว่าง 0 – 0.8 คะแนน สำหรับพันธุ์ PI 189550 แสดงอาการของโรคปานกลางระหว่าง 0.4 – 1.6 คะแนน (Table 1)

พริกทดสอบพันธุ์ PBC 602 อ่อนแอต่อไอโซเลท PCM 14 บันทึกคะแนนได้ 3.4 คะแนน แสดงอาการต้านทานปานกลางต่อไอโซเลท PCM17 และ PSM1 คะแนนระหว่าง 2.3 – 2.5 คะแนน และต้านทานต่อไอโซเลท PPB1 และ PCR (Table 1)

พริกทดสอบพันธุ์ PBC 137 แสดงอาการอ่อนแอต่อทุกไอโซเลท มีคะแนนระหว่าง 3.5 – 4.5 ยกเว้น ไอโซเลท PSK 16 และ PCR (Table 1)

เมื่อเปรียบเทียบผลของปฏิกิริยาอาการลำต้นไหม้ของพริกซึ่งเกิดบนพืชทดสอบ ทั้ง 11 ชนิดแสดงว่าเชื้อราทั้ง 6 ไอโซเลท เป็นเชื้อราต่าง pathotype กัน โดยเชื้อราไอโซเลท PCM 17, PSK 16 และ PCR เป็น pathotype 1, PPB 1 เป็น pathotype 2 PCM 14 และ PSM 1 เป็น pathotype (Table 2)

งานทดลองที่ 2 ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคลำต้นไหม้ของพริกสายพันธุ์การผสมพันธุ์พริกเพื่อสร้างลูกผสมสำหรับการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะต้านทานโรคลำต้นไหม้ของพริก ได้ดำเนินการผสมพันธุ์พริก จำนวน 7 คู่ผสม โดยใช้พริกสายพันธุ์ PI 2301234 เป็นพันธุ์พ่อผล การทดลองได้ผสมพันธุ์พริกและสร้างลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้งสิ้น 67 สายพันธุ์ และได้ปลูกพริกลูกผสมทั้งหมดปล่อยให้ผสมตัวเองเพื่อเก็บผลผลิตลูกผสมชั่วที่ 2 สำหรับการปลูกเชื้อทดสอบต่อไป

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาพบว่า เชื้อรา *Phytophthora capcisi* สาเหตุโรคลำต้นไหม้ของพริกที่พบในประเทศไทยจัดไว้ได้ 3 pathotype โดยพบเชื้อราที่ได้จากอำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ เป็นเชื้อราสายพันธุ์รุนแรงที่สุด (pathotype 3) เชื้อราจากจังหวัดเพชรบูรณ์เป็นสายพันธุ์รุนแรงปานกลาง (pathotype 2) และเชื้อราจากจังหวัดเชียงรายและจังหวัดสกลนคร มีความรุนแรงต่ำกว่า (pathotype 1)

การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคได้ดำเนินการผสมพันธุ์พริก โดยใช้พันธุ์แม่ 7 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ พิจิตร 1 (พันธุ์อ่อนแอ) พิจิตร 05 พิจิตร 06 พิจิตร 15-1-1-1 พิจิตร 18 – 1 – 1 – 1 พิจิตร 27-1-2-1 และ PBC 743 ผสมกับพันธุ์พ่อ PI 2301234 ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 67 สายพันธุ์ ปลูกพริกลูกผสมชั่วที่ 1 เพื่อเก็บผลผลิตลูกผสมชั่วที่ 2 สำหรับการปลูกเชื้อทดสอบต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ศรีสุข พูนผลกุล 2548. โรคลำต้นไหม้ของพริกที่พบระบาดใหม่ ข่าวอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 ตุลาคม 2548

Bracy R.P., H.A. Hobbs, D.Dufresne, 1996. Phytophthora blight in bell pepper – can it be controlled? Louisiana Agriculture, 39: 18-19.CAB International, 2003. Crop Protection Compendium. Wallingford, UK: CAB International

Chowdappa P. and R. Chandramohanan, 1997. Occurrence and distribution of mating types of Phytophthora species causing black pod disease of cocao, Indian Phytopathology, 50: 256-260.

Egea *C.,* M.D.Alcazar and M.E. Candela 1996. Capsidiol: its role in the resistance of *Capsicum annum* to *Phytophthora capcisi* . Physiologia Plantarum. 98:737-742.

Nemec S. L.E. Datnoff and J. Strandberg , 1996. Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus. Crop Protection. 15:735-742

Polach, F.T. and R.K. Webster. 1972. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capcisi* . Phytopathology. 62:20-26.

Rista, L.M. , M. Sillon and L. Fornasero. 1995. Effect of different irrigation strategies on the mortality of pepper by *Phytophthora capcisi* Leonian in greenhouses. Horticultura Argentina. 14:44-51

Tlapal Bolanos, B. , S. Osada Kawasoe, F. Gonzalez Cossio, and C. Mendoza Zamora.1995. Physiological behaviour of 30 isolates of *Phytophthora capcisi* Leo. Revista Mexicana de Fitopathologia. 13:41-51.

Yang, Gui Mei, Guo Jia Zhen and Bao Xi Zhang,1996. Breeding of early maturing sweet pepper cultivar Zhongjiao 7. China Vegetables. 3:4-6.

Yucel, S. 1995. A study on soil solarization and combined with fumigant application to control Phytopathora crown blight (*Phytophthora capcisi* Leo) on peppers in the East Mediterranean region of Turkey. Crop Protection. 14:653-655.

Table 1 Disease severity rating , based on root and crown reactions, 21 days after inoculation.

Differencial Host	Fungal Isolates / DSR					
	PPB 1	PCM 14	PCM 17	PSK 16	PSM 1	PCR
Early calwonder	4.5	4	2	3.5	5	4
PBC 137	3.5	4	4	0	4.5	0
PBC 602	1.0	3.4	2.3	0	2.5	0
PI 2301234	0.8	0	0	1	0	0
PI 2301232	0	0.5	0	0	0	0
CM 331	0	0	0	0.8	0	0
CNPH 703	2	2.8	3.9	3.2	4	3.4
PI 2301238	0	0	0.4	0.8	0.4	0
CM 334	0	0	0	0	0	0
PI 189550	0.4	1.2	1.2	2	1.6	0.8
Chinda	4	5	5	5	4.8	4
Pathotype	2	3	1	1	3	1

Note :

PPB 1 = Kao Koh District, Petchaboon Province

PCR = Muang District, Chiang Rai Province

PCM 14, PCM 17 = Sansai District, ChiangMai Province

PSM 1 = Sameuang District, ChiangMai Province

PSK 16 = Pannanikom District, Sakol Nakorn Province

Table 2 Pathotype identification for *Phytophthora capcisi* on 4 differential hosts

Differential hosts	pathotype 1	pathotype 2	pathotype 3
Early calwonder	S	S	S
PBC 137	R	S	S
PBC 602	R	R	S
PI 2301234	R	R	R

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 ประมาณ 2-3 สัปดาห์ ในขณะที่ไอโซเลท OYVV-KB1 แสดงอาการเส้นใบเหลืองและเนื้อใบมีสีเขียวอ่อน หลังการถ่ายทอดโรคโดยแมลงหวี่ขาว 2-3 สัปดาห์ แต่ OYVV-KB2 พบอาการของโรคเริ่มปรากฏให้เห็นหลังการถ่ายทอดเชื้อแล้ว 3-4 สัปดาห์ โดยเส้นใบมีสีเขียวอ่อนหรือสีขาว เนื้อในมีสีเขียวเข้ม ผลการทดสอบความต้านทานของกระเจี๊ยบเขียว จำนวน 19 พันธุ์/สายพันธุ์ จาก ศวส. พิจิตร ต่อโรคเส้นใบเหลือง โดยใช้พันธุ์พิจิตร 03 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ โดยใช้ไวรัสทั้ 3 ไอโซเลท พบว่า สายพันธุ์ F1 OK041 และ F1 OK042 มีความต้านทานสูงมากต่อไวรัสทั้ง 3 ไอโซเลท (อัตราการเกิดโรค 0-4%) แต่สายพันธุ์ N042-B® และ 4369-1® อ่อนแอต่อไวรัสทั้ง 3 ไอโซเลท (อัตราการเกิดโรค 96-100%) จากผลการทดสอบพบว่า สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อไวรัส OYVV-PC มักอ่อนแอต่อ OYVV- KB2 ได้แก่ สายพันธุ์ N025-B®, KN1-B และ พันธุ์กรีนสตาร์ 152-B ® (F4) ส่วนสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อไวรัส OYVV-PC และ OYVV-KB1 ค่อนข้างสูง (อัตราการเกิดโรค 0-10%) ได้แก่ F1 OK032, F1 OK040, F1 OK047 และพันธุ์กรีนสตาร์ 152-B ® (F4) (ตารางที่ 1) ส่วนสายพันธุ์ที่เหลือมีความผันแปรค่อนข้างสูง โดยสายพันธุ์ใดที่ค่อนข้างต้านทานต่อ OYVV- KB2 จะมีความต้านทานต่อไวรัสอีก 2 ไอโซเลทด้วย แสดงว่า ไอโซเลท OYVV-KB2 ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคเส้นใบเหลืองสูงกว่า OYVV-PC และ 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

ทดสอบความต้านทานของกระเจี๊ยบเขียวต่อโรคเส้นใบเหลืองที่เกิดจากไวรัสทั้ง 3 ไอโซเลท จำนวน 19 พันธุ์/สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ F1 OK041 และ F1 OK042 มีความต้านทานสูงมากต่อไวรัสทั้ง 3 ไอโซเลท (อัตราการเกิดโรค 0-4%) แต่สายพันธุ์ N042-B® และ 4369-1® อ่อนแอต่อไวรัสทั้ง 3 ไอโซเลท (อัตราการเกิดโรค 96-100%) จากผลการทดสอบพบว่า สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อไวรัส OYVV-PC มักอ่อนแอต่อ OYVV- KB2 ได้แก่ สายพันธุ์ N025-B®, KN1-B และ พันธุ์กรีนสตาร์ 152-B ® (F4) ส่วนสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อไวรัส OYVV-PC และ OYVV-KB1 ค่อนข้างสูง (อัตราการเกิดโรค 0-10%) ได้แก่ F1 OK032, F1 OK040, F1 OK047 และพันธุ์กรีนสตาร์ 152-B ® (F4) (ตารางที่ 1) ส่วนสายพันธุ์ที่เหลือมีความผันแปรค่อนข้างสูง โดยสายพันธุ์ใดที่ค่อนข้างต้านทานต่อ OYVV- KB2 จะมีความต้านทานต่อไวรัสอีก 2 ไอโซเลทด้วย แสดงว่า ไอโซเลท OYVV-KB2 ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคเส้นใบเหลืองสูงกว่า OYVV-PC และ OYVV-KB1

ตารางที่ 1. ปฏิกิริยาของกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์/พันธุ์ต่างๆต่อไวรัส OYVV-PC และ OYVV-KB1

สายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียว	OYVV-PC	OYVV-KB1	OYVV-KB2
	ลักษณะอาการของโรค (จำนวนต้นเป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด)	ลักษณะอาการของโรค (จำนวนต้นเป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด)	ลักษณะอาการของโรค (จำนวนต้นเป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด)
F1 OK032	- (0/29)	YV (3/29)	YV (15/27)
F1 OK036	CS, YV, YM (29/29)	CS, YV (19/26)	CS, YV, YM (30/30)
F1 OK038	CS, YV, LC (5/24)	CS, YV, YM (11/23)	CS, YV, YM (30/30)
F1 OK039	YV, YM (2/29)	YV (1/27)	CS, YV (5/29)
F1 OK040	- (0/25)	YV (1/27)	YV (30/30)
F1 OK041	- (0/30)	- (0/28)	YV, YM (1/30)
F1 OK042	YV, YM (1/30)	- (0/29)	- (0/30)
F1 OK047	- (0/30)	- (0/30)	CS, YV, YM (5/30)
F1 OK048	- (0/30)	CS, YV (5/30)	YV, YM (3/30)
F1 OK049	YV, YM, LC (3/28)	CS, YV (1/30)	CS, YV, YM (13/30)
N025-B ®	- (0/21)	CS (30/30)	YV (30/30)
N042-B ®	CS, LC, YV, YM (21/21)	CS, YV,YM (18/18)	YV, YM (24/24)
4327-1 ®	- (0/22)	CS (3/28)	YV (8/20)
4369-1 ®	LC, YV (24/25)	YV, YM, LC (30/30)	YV, YM, LC (30/30)
Star 301	- (0/29)	CS (2/27)	YV, YM, LC (21/30)
KN1-B (ชื่อเดิม กาญจนบุรี)	- (0/20)	YV, LC (3/19)	YV (12/12)
KN2-B ®	YV, YM (7/26)	CS, YV (3/30)	YV, YM, LC (27/27)
กรีนสตาร์ 152-B ® (F4)	- (0/30)	- (0/23)	YV (25/29)
พม่า ®	YV, YM, LC (3/30)	- (0/29)	YV, YM (2/30)
พิจิตร 03	YV, YM, LC (30/30)	YV, YM, LC (30/30)	CS, YV, YM, LC (30/30)

CS = Chlorotic spot (จุดเหลือง) YM = Yellow mosaic (ใบด่างเหลือง)

LC = Leaf curl (ใบม้วนงอ) - = No symptom (ไม่แสดงอาการ)

VY = Vein yellowing (เส้นใบเหลือง)

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 19 พันธุ์/สายพันธุ์ จาก ศวส. พิจิตร ต่อโรคเส้นใบเหลือง โดยใช้พันธุ์พิจิตร 03 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ โดยใช้ไอโซเลท OYVV-PC OYVV-KB1 และ OYVV-KB2 พบว่า สายพันธุ์ F1 OK041 และ F1 OK042 มีความต้านทานสูงมากต่อไวรัสทั้ง 3 ไอโซเลท (อัตราการเกิดโรค 0-4%) แต่สายพันธุ์ N042-B® และ 4369-1® อ่อนแอต่อไวรัสทั้ง 3 ไอโซเลท (อัตราการเกิดโรค 96-100%) จากผลการทดสอบพบว่า สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อไวรัส OYVV-PC มักอ่อนแอต่อ OYVV- KB2 ได้แก่ สายพันธุ์ N025-B®, KN1-B และ พันธุ์กรีนสตาร์ 152-B ® (F4) ส่วนสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อไวรัส OYVV-PC และ OYVV-KB1 ค่อนข้างสูง (อัตราการเกิดโรค 0-10%) ได้แก่ F1 OK032, F1 OK040, F1 OK047 และพันธุ์กรีนสตาร์ 152-B ® (F4) (ตารางที่ 1) ส่วนสายพันธุ์ที่เหลือมีความผันแปรค่อนข้างสูง โดยสายพันธุ์ใดที่ค่อนข้างต้านทานต่อ OYVV- KB2 จะมีความต้านทานต่อไวรัสอีก 2 ไอโซเลทด้วย แสดงว่า ไอโซเลท OYVV- KB2 ทำให้เกิดความรุนแรงของโรคเส้นใบเหลืองสูงกว่า OYVV-PC และ OYVV-KB1 ซึ่งสามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปใช้ในการแนะนำพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวต้านทานโรคเส้นใบเหลืองที่เหมาะต่อการปลูกในแต่ละแหล่งของประเทศ

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.

ทดสอบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดเพื่อใช้เป็นพันธุ์การค้า

Researching on *Macrocybe crassa* Strains for the Commercial Use

อัจฉรา พยัพพานนท์ ปิยะรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ [1/]นันทินี ศรีจุมปา
[2/]สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[1/]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขต 1
[2/] ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทคัดย่อ

เห็ดตีนแรด เป็นเห็ดพื้นเมืองที่รวบรวมได้ ไว้มากกว่า 15 สายพันธุ์ระหว่าง ปีพ.ศ. 2549-51 และได้ทดสอบประสิทธิภาพการผลิตจำนวน10สายพันธุ์ไว้ระดับหนึ่งเมื่อ พ.ศ.2549-50 เพื่อให้ได้สายพันธุ์การค้าที่ให้ผลผลิตสูงจึงได้ศึกษาต่อเนื่องและเพิ่มเติมการใช้ประโยชน์โดย ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กทม. และที่ ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพานอันเนื่องมาจากพระราชดำริจังหวัดสกลนคร ระยะเวลาระหว่าง ตุลาคม 2550- กันยายน 2552.

ผล การทดสอบเพาะเห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ DOA-1, DOA-3, DOA-4, DOA-5, DOA-7และ DOA-10 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงอย่างมีนัยสำคัญมีค่าประสิทธิภาพการผลิต อยู่ระหว่าง 21-83.84% (Biological Efficiency =น้ำหนักดอกเห็ดสด x100 / น.น.วัสดุแห้งเพาะ) โดย สายพันธุ์ DOA-1ให้ผลผลิตสูงช่วงอากาศเย็น (ต.ต.-ม.ค.) สายพันธุ์ DOA-3 และ สายพันธุ์ DOA-10ให้ผลผลิตสูง ช่วงฤดูร้อน-ฝน ให้ผลผลิตสูงช่วงฤดูร้อน-ฝน(มี.ค.-ก.ย.) สายพันธุ์ DOA-4ให้ผลผลิตสูงช่วงฤดูฝน(ก.ค.-ก.ย.) สายพันธุ์ DOA-5ให้ผลผลิตสูงช่วงฤดูฝน-หนาว (ส.ค.-ธ.ค.) สายพันธุ์ DOA-7 ให้ผลผลิตได้ดีตลอดทั้งปี ทั้งที่ สกลนครและกรุงเทพมหานคร

ผลการวิเคราะห์ค่าโภชนาการของดอกเห็ดสด สายพันธุ์DOA-9 และสายพันธุ์ DOA-10 มีโปรตีนน้ำตาล คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และไดเอททารี ไฟเบอร์ มีอยู่ ประมาณ 2.77-2.95 , 2.02-4.28 ,9-9.19 0.23-0-31 และ2.09-2-34 กรัม/100กรัม ส่วน เหล็ก และแคลเซี่ยม มีอยู่ 2.76-6.5 และ4.427-6.158มิลลิกรัม/ กิโลกรัมโดยลำดับ นอกจากนั้นดอกเห็ดที่ เก็บอยู่ที่ 22-24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10วัน มีค่าโภชนาการไม่ต่างจากที่เก็บวันแรกนอกจากมี น้ำตาลสูงเพิ่มขึ้น

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-02-01-02-51

ผลการวิเคราะห์ค่ากรดอมิโนทั้ง17 ชนิดจากดอกเห็ดแห้ง สายพันธุ์DOA-1 พบว่ากรดอมิโนที่จำเป็น(Essential amino acid) เช่น ลิวซีน ไลซีน ฟีนีลอลานีน ทรีโอนีน และไอโซลิวซีน มีอยู่ 0.39, 0.33,0.29,0.26 และ0.23 %

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-3 ที่มีต่อการเจริญของกลุ่มโพร์ไบโอติกส์แบคทีเรีย (probiotic bacteria) จำนวน12 ชนิด พบว่า สามารถส่งเสริมการเจริญของ โพร์ไบโอติกส์ แบคทีเรียทั้ง 12ชนิด

ผลการทดสอบส่วนน้ำใสเลี้ยงเส้นใย เห็ดตีนแรด10สายพันธุ์ ทดสอบปฏิกิริยาการเจริญของแบคทีเรียโรคพืชพบว่าสายพันธุ์ DOA-1 และ สายพันธุ์ DOA-7 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* sub sp. *cattleyae* , *Xanthomonas campestris* pv. c*ampestris, X.axonopodis pv. dieffenbachiae, Erwinia chrysanthemi* และ *Burkholderia gladioli* ในระดับห้องปฏิบัติการ

คำนำ

เห็ดตีนแรด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tricholoma crassum* (Berk.) sacc.ซึ่งปัจจุบันปรับเปลี่ยนเป็น *Macrocybe crassa* (Berk.)Pegler&Lodge ซึ่งเป็นเห็ดที่พบได้ทุกภาคของประเทศไทย และได้พยายามพัฒนาการเพาะเรื่อยมา (ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ, 2519,พิมพ์กานต์ และคณะ 2529) ทั้งภาครัฐและเอกชน (ปรีชา ลิ่มไชยฤกษ์, 2540) แต่ยังขาดสายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่จะส่งเสริมเพาะเป็นการค้า

การใช้ประโยชน์เห็ดตีนแรดส่วนใหญ่จะใช้บริโภคเป็นอาหาร ข้อมูลใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆมีน้อย มีรายงานเห็ดกลุ่ม *Tricholoma* จาก ต่างประเทศ ที่ใช้เป็น สมุนไพร อาหารเสริม และยา เช่น Wang และคณะ(1996,1998)รายงานว่า ทั้งเส้นใยและดอกเห็ด *T. mongolicum* มีสารเลคติน(Lectin) ซึ่งเป็น Glycoprotien ต่อต้านการเกิดเนื้องอก ในประเทศไทยมีการศึกษา เห็ด *T. gambosum* และ *T. matsutake* พบสารที่มีผลต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็ง, ควบคุมระบบการหมุนเวียนของโลหิต, ลดไข้ และอื่น ๆ (Saosong, *et al.* , 2003) อัจฉรา (2549) ได้รายงานว่าดอกเห็ดตีนแรดมีสาร ซีลีเนียม (Selenium - Se) อยู่ระหว่าง35 -180 ไมโครกรัม ต่อ ดอกเห็ด หนึ่งกิโลกรัม ซึ่ง ซีลีเนียม สามารถป้องกันและลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก

มีงานวิจัย ใช้ประโยชน์สารสกัดของเห็ดอย่างกว้างขวางและมีเพิ่มมากขึ้น ที่นำไปใช้หลายๆด้านด้วยกัน อาทิ สารสกัดจากเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) และเห็ดนางรมหลวง (*P. eringii*) สามารถกระตุ้นการเจริญของโพไบโอติกส์แบคทีเรีย (Probiotic bacteria) เช่น

Lactobacillus , Bifidobacterium และ Enterococus (Synytsya, *et al*., 2008) ซึ่งอยู่ในลำไส้มนุษย์ สารสกัดจาก กลุ่มเห็ดอื่นๆเช่น หูหนูหนา (*Auricularia polytricha*) , *Corilopsis occidentalis, Daldinia concentrica, Daedalea elegans* และ *T. lobayensis* ยับยั้ง แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus cereus, Escherichia coli , Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris* และ *Staphylococcus aureus* กล่าวได้ว่าเห็ดเหล่านี้มีสารยับยั้งแบคทีเรีย (antibacterial agents) สาเหตุโรค ตามรายงานของ Jonathan และ Fasidi (2005)

นอกจากนั้น มีสารสกัดเห็ดที่สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช ตามผลงานวิจัย ของDi Pierและคณะ (2006) ที่รายงานว่าสารสกัดจากดอกเห็ดหอม สามารถลดความรุนแรงโรคแอนเทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา*Colletotrichum lagenarium* ที่เกิดกับพืชตระกูลแตงระยะกล้า

เห็ดตีนแรดที่ เก็บรวบรวมได้ จากหลายภาคของประเทศไทยมี ไม่น้อยกว่า 15 ตัวอย่าง ได้ ศึกษาทั้ง ลักษณะ ภายนอก และ การให้ผลผลิต เมื่อปีพ.ศ. 2549-2550 พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างตัวอย่าง (อัจฉราและนันทินี,2551) จากการทดลอง เห็นว่านอกจากใช้บริโภคเป็นอาหารแล้ว มีแนวโน้ม สามารถนำสู่การใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆได้มูลค่าที่สูงกว่า วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อให้ได้สายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่เหมาะสมกับการเพาะในแต่ละพื้นที่และฤดูกาลที่ให้ผลผลิตสูง สายพันธุ์ที่ผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์โรคพืช (Bio-control agent) และศึกษาประสิทธิภาพของเห็ดตีนแรดต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ กลุ่ม โพไบโอติกส์ แบคทีเรีย (Probiotics bacteria)ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์สุขภาพที่มีชีวิต ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นที่ต้องการของตลาดไว้เป็นเชื้อพันธุ์บริการ และใช้วิจัยปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด พีดีเอ อาหารเหลวเลี้ยงเส้นใยเห็ด (กลูโกส ยีสต์สกัด $MgSO_4 7H_2O$, K_2HPO_4, น้ำกลั่น ในสัดส่วน 20 2,1,1,1000 กรัม/ ซีซี =YGB) อาหารเลี้ยงแบคทีเรีย Nutrient Agar(NA) , Nutrient Broth (NB=8g /L) ,BHI broth(37 g/L) นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 °ซ เป็นเวลา 13 นาที และ MRS broth(52.2 g/L) นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 °ซ เป็นเวลา 13 นาที

2.เห็ดตีนแรดสดสายพันธุ์DOA-3 อบ 60 °ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง บดละเอียดด้วย hammer mill ซึ่งจะใช้ 2 ส่วน คือ ส่วนดอกเห็ด (Cap) และก้านเห็ด (Stalk)

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ จานแก้ว หลอดแก้ว ไมโครไปเปต เครื่องปั่นผสม เครื่องเขย่า ตู้บ่มตั้งอุณหภูมิ

4. วัสดุสำหรับใช้ในการเพาะเห็ดตีนแรดได้แก่ ฟางข้าว มูลสัตว์ รำ ปูนขาว ดิน ถุงพลาสติกทนร้อน ตะกร้าพลาสติก

5. หม้อนึ่งอัดความดัน หม้อนึ่งไม่อัดความดัน โรงเรือนเปิดดอก

วิธีการ

1. ทดสอบประสิทธิภาพการผลิตเห็ด

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 และที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร

วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 กรรมวิธี (เห็ดตีนแรด 10 สายพันธุ์)

1.2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเห็ด จากการวิเคราะห์ ค่า % ผลผลิตเฉลี่ย/น้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ(% Biological Efficiency (%B.E.))

$$\%B.E = \frac{\text{น้ำหนักเห็ดสด} \times 100}{\text{น้ำหนักวัสดุแห้งที่ใช้เพาะ}}$$

1.3 บันทึกลักษณะภายนอก ขนาดหมวก ก้าน และ น้ำหนัก ของดอกเห็ดแต่ละสายพันธุ์

2.วิเคราะห์ คุณค่าทางโภชนาการของดอกเห็ดตีนแรด

ดอกเห็ดตีนแรดสดที่เกิดจากการเพาะ สายพันธุ์DOA-9 ซึ่งมีดอกขนาดใหญ่และสายพันธุ์ DOA-10 ซึ่งขนาดดอกค่อนข้างเล็ก ส่งวิเคราะห์ หาคุณค่าทางโภชนาการ อายุเก็บรักษาที่ 0 , 10 และ 80วัน เก็บไว้ที่ อุณหภูมิ 22-24°ซโดยส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร(LCFA)

3.วิเคราะห์ ค่า กรดอมิโน ของดอกเห็ดตีนแรด

ดอกเห็ดตีนแรดสดสายพันธุ์DOA-1 ทำให้แห้งด้วยการอบในตู้ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วส่งวิเคราะห์กรดอมิโน ที่หน่วยงานและสิ่งแวดล้อม ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.ทดสอบเห็ดตีนแรดต่อปฏิกิริยาของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

เตรียมเชื้อเห็ดตีนแรด สายพันธุ์DOA-1,DOA-3, DOA-5และ DOA-7 ซึ่งได้ทดสอบเบื้องต้นแล้วมีแนวโน้มในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA และย้าย เส้นใย ลงเลี้ยงในอาหารYGBปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้ว วางบนเครื่องเขย่า ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็น เวลา 25-30วัน เก็บส่วนน้ำใส ทดสอบปฏิกิริยาการเจริญของเชื้อโดยหยดส่วนน้ำใส 5 ไมโครลิตร ลงบน Paper Disc 4 ชิ้น ที่วางบนเชื้อแบคทีเรียที่ได้ เกลี่ย บนอาหาร NBAแล้ว โดยแต่ละชิ้นมีความเข้มข้น 0 ,50, 75,100% แต่ละการทดลอง ทำ3 ซ้ำ

5.การทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดตีนแรดที่มีต่อการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Probiotics bacteria

5.1 การเตรียมหัวเชื้อ

นำเชื้อที่เก็บไว้ในกลีเซอรอลที่อุณหภูมิการเก็บ -20 องศาเซลเซียส มาเลี้ยงใหม่ จำนวน 2 ครั้ง ในอาหารที่จำเพาะต่อจุลินทรีย์นั้นๆ จำนวน 5 มิลลิลิตร ต่อ เชื้อที่เลี้ยง 100 ไมโครลิตร (อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด รวมไปถึงสภาวะการเลี้ยงดูจากตารางในข้อ 1.3) จากนั้น นำไป Streak Plate เพื่อเลือกเอา Single colony แล้วนำเชื้อจำนวน 1 โคโลนี ลงในอาหารใหม่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เลี้ยงให้ครบ 24 ชั่วโมง แล้ววัด O.D ที่ 600 nm เพื่อให้ได้ค่าเท่ากับ 0.5 หรือ ใกล้เคียง หากเชื้อมีปริมาณมากให้ เจือจางเชื้อ ด้วยอาหารที่เลี้ยงนั้นๆ ในสภาวะปลอดเชื้อ เพื่อให้ได้ หัวเชื้อเพื่อนำไปเลี้ยงต่อในอาหารที่เติมเห็ดลงไป

5.2 การทดสอบในเห็ด

นำหัวเชื้อที่ได้จากข้อ1ไปเลี้ยงในอาหารที่จำเพาะต่อเชื้อนั้นๆ ในปริมาณ 1% โดยปริมาตร (50 ไมโครลิตร) ซึ่งอาหารดังกล่าวจะมีการเติมเห็ดตีนแรด สายพันธุ์DOA-3 บดลงไปในจำนวน 1 เปอร์เซนต์ ของปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือ 0.05 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 5 มิลลิลิตร แต่ละการทดลองจะทำทั้งหมด 3 ซ้ำ การเลี้ยงเชื้อกลุ่ม *Lactobacillus* และ กลุ่ม *Peddiococus* จะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะการบ่มไร้อากาศ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วติดตามผลการเจริญของเชื้อด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรแล้วนำค่าที่ได้ของแต่ละเชื้อไปคำนวณด้วยสูตรในข้อ 3 ซึ่งในแต่ละหลอดจะประกอบด้วย

1. MRS+1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *Lactobacillus reuteri* AC-5
2. MRS+1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *L. reuteri* AC-5
3. MRS+1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *L. plantarum* ATCC 14917
4. MRS+ 1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *L. plantarum* ATCC 14917
5. MRS+ 1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *L. sake* TISTR 840
6. MRS+ 1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *L. sake* TISTR 840
7. MRS+ 1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *L. sake*TISTR 890
8. MRS+ 1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *L. sake*TISTR 890
9. MRS+ 1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *L. sake* JCM 1157
10. MRS+ 1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *L. sake* JCM 1157
11. MRS+ 1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *L. sake* TISTR 912
12. MRS+1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *L. sake* TISTR 912
13. MRS+ 1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *L. lactis* ATCCC 19435
14.MRS+ 1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *L. lactis* ATCCC 19435
15. MRS+1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *L.reuteri* KUB-AC5
16. MRS+1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *L.reuteri* KUB-AC5
17. BHI+ 1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *Pd. pentosacens* JCM 5885
18. BHI+ 1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *Pd. pentosacens* JCM 5885
19. BHI+1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *Pd. acidilactici* TISTR 953
20. BHI+ 1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *Pd. acidilactici* TISTR 953
21. BHI+ 1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *En. faecalis* JCM 5805
22. BHI+ 1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *En. faecalis* JCM 5805
23. BHI+ 1%ดอกเห็ด +1%Inoculum ของเชื้อ *En. faecalis* TISTR 927
24. BHI+ 1%ก้านเห็ด + 1%Inoculum ของเชื้อ *En. faecalis* TISTR 927

5.3. สูตรการคำนวณ

Effect of *Tricholoma crassa* on Lactic acid bacteria

Enhanced activity (%)=$\frac{SB-CB}{CB}$ x100 เมื่อ CB= ค่าที่ได้จากอาหารที่ไม่ได้เติมเห็ด

SB= ค่าที่ได้จากอาหารที่เติมเห็ด

ระยะเวลา (เริ่มต้น - สิ้นสุด) ตุลาคม 2550 - กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ

: กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

: ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพานอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดสกลนคร

: ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการทดลอง และวิจารณ์

1. ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดดอกเห็ด

1.1 ผลศึกษาการให้ผลผลิตดอกเห็ดระหว่าง การเพาะในฤดูร้อน ฝน และฤดูหนาว

1.1.1 ดำเนินการที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาภูพาน จ. สกลนคร

ผลผลิตดอกเห็ดระหว่างกรกฎาคม-พฤศจิกายน 2550 ซึ่งเป็น ช่วงฤดูฝน-ต้นฤดูหนาว พบว่าเส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมัก ภายใน 60 วัน (ก.ค.-ก.ย. 2550) และเกิดดอกช่วง ตค-พ.ย.2550 ทั้ง10 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 124.63 -243.25 กรัมต่อถุง (ข้อมูลไม่ได้แสดงในตาราง) เห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-4,DOA-5, DOA6 และDOA-7ให้ผลผลิตสูงระหว่าง 186.0-243.25 กรัมต่อถุง(ข้อมูลไม่ได้แสดงในตาราง) สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ

ผลผลิตดอกเห็ดระหว่าง มีนาคม- สิงหาคม 2551 ซึ่งเป็น ช่วงฤดูร้อน-ฝน พบว่า เส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมักภายใน 65-70 วัน เกิดดอกและเก็บผลผลิตได้ช่วง มิ.ย.-ส.ค. 2551 เห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-1,DOA-3, DOA-5, DOA7 และ DOA-10 ให้ผลผลิต ระหว่าง 37.33-119.0 กรัมต่อถุง ค่าB.E. 13.33-42.5% โดยสายพันธุ์ DOA-3 ให้ผลผลิตสูงสุด (ตารางที่ 1)

1.1.2 ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กทม.

ผลผลิตดอกเห็ด ระหว่างตุลาคม 2550- มกราคม2551 ซึ่งเป็นช่วงฤดูหนาว พบว่าเส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารฟางข้าวหมักภายใน 60 วัน และเกิดดอกช่วง ธ.ค.2550-ม.ค.2551 ทั้ง10 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 63 -234.75 กรัมต่อถุง(ข้อมูลไม่ได้แสดง)หรือค่าB.E.22.5-83.84% โดยสายพันธุ์ DOA-1 ให้ผลผลิต มีค่าB.E.83.84% สูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1) รองลงมาได้แก่ DOA-7 และ DOA-5

ผลผลิตดอกเห็ดระหว่างมกราคม-มีนาคม 2551ซึ่งเป็นช่วงฤดูหนาว- ต้นร้อน ผลการทดสอบ 5 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 23.38 -76.88 กรัมต่อถุง(ข้อมูลไม่ได้แสดง)หรือค่า B.E.13.88-27.45% โดยสายพันธุ์ DOA-6,DOA-7และ DOA-10 ให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่1)

ผลผลิตดอกเห็ดระหว่าง เมษายน-มิถุนายน 2551ซึ่งเป็นช่วงฤดูร้อน ผลการทดสอบ 5 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตระหว่าง 48.38-90.38 กรัมต่อถุง(ข้อมูลไม่ได้แสดง) หรือ ค่าB.E.17.28-34.55% โดยสายพันธุ์ DOA-6,DOA-7และ DOA-10 ให้ผลผลิต สูงกว่าสายพันธุ์อื่น (ตารางที่1)

ผลผลิตดอกเห็ดระหว่าง กรกฎาคม-สิงหาคม 2551 ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน พบว่า สายพันธุ์ DOA-4,DOA-7และ DOA-10ให้ผลผลิตระหว่าง88-130กรัมต่อถุง(ข้อมูลไม่ได้แสดง)หรือค่าB.E 16.51-46.43%. สูงกว่าสายพันธุ์อื่น (ตารางที่ 1)

ผลผลิตดอกเห็ดระหว่าง ตุลาคม-ธันวาคม2551ซึ่งเป็นช่วงฤดูหนาว พบว่า สายพันธุ์ DOA-7และ DOA-1ให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์อื่น

ผลผลิตดอกเห็ดระหว่าง มกราคม-มีนาคม 2552 ซึ่งเป็นช่วงฤดูหนาว- ร้อน พบว่า สายพันธุ์ DOA-1ให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์ อื่นอย่างมีนัยสำคัญ

ผลผลิตดอกเห็ดระหว่าง เมษายน-มิถุนายน 2552 ซึ่งเป็นช่วงฤดูร้อน-ต้นฝน อุณหภูมิค่อนข้างแปรปรวน ระหว่าง 27-32 องศาเซลเซียส ขณะที่เส้นใยรวมกันเป็นตุ่มเล็กๆ จะ เกิดการฝ่อไม่พัฒนาต่อเป็นดอก พบว่ามีเพียงสายพันธุ์ DOA-1, DOA-7 และ DOA-10 ที่เกิดดอกเห็ด แต่ข้อมูลไม่เพียงพอที่จะวิเคราะห์

ผลผลิตดอกเห็ดระหว่าง สิงหาคม-กันยายน 2552 ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน พบว่า สายพันธุ์ DOA-4ให้สูงกว่าสายพันธุ์อื่นผลผลิตมีค่าB.E 38.84% รองลงมาเป็นDOA-3 และ DOA-10

ผล การทดลองประสิทธิภาพการเกิดดอก ตลอด ปี 2551-52 สรุป ได้ว่า DOA-1ให้ผลผลิตสูงช่วงอากาศเย็น (ต.ต.-ม.ค.) สายพันธุ์ DOA-3 ,DOA-10ให้ผลผลิตสูงช่วงฤดูร้อน-ฝน (มี.ค.-ก.ย.) สายพันธุ์ DOA-4ให้ผลผลิตสูงช่วงฤดูฝน(ก.ค.-ก.ย.) สายพันธุ์ DOA-5ให้ผลผลิตสูงช่วงฤดูฝน-หนาว(ส.ค.-ธ.ค.) สายพันธุ์ DOA-7 ให้ผลผลิตได้ดีตลอดทั้งปี ทั้งที่ สกลนครและกรุงเทพมหานคร

กล่าวได้ว่า อุณหภูมิ และ ฤดูกาลมีอิทธิพล ต่อการเจริญเติบโตและเกิดดอกเห็ด ของเห็ดตีนแรด แต่ละสายพันธุ์

1.2.เปรียบเทียบลักษณะและรูปร่าง ขนาดและน้ำหนัก ของดอกเห็ด

เห็ดตีนแรด 10สายพันธุ์ เพาะที่ จ.สกลนคร และกทม.เมื่อปีพ.ศ.2549-2550 พบว่าสายพันธุ์ DOA-1มีลักษณะของ ก้าน ป้อม สั้น ส่วนสายพันธุ์DOA-4 มีก้าน ค่อนข้างตรง สั้นและกลางหมวกดอก ลักษณะแอ่นลง (ภาพที่4) และสายพันธุ์ DOA-10 จัดเป็นเห็ดมีขนาดของก้านเล็ก เรียวและหมวกเล็กซึ่งเป็นลักษณะ ที่แตกต่างเด่นชัด เช่นเดียวกับการเพาะช่วงปี2551-52 เมื่อจัดลักษณะรูปร่างดอกเห็ดแต่ละสายพันธุ์ พบว่าไม่ต่างกัน คือ สายพันธุ์DOA-1 มีโคนใหญ่ อ้วนป้อม กว่าทุกสายพันธุ์ ขอบหมวกเป็นร่อง (ภาพที่4) น้ำหนักดอกค่อนข้างคงที่อยู่ระหว่าง 30-50 กรัม /ดอก สายพันธุ์DOA-7 มีขนาดหมวกใหญ่กว่าและมีก้านยาว ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ DOA-3, DOA-5

ส่วนDOA-10 มีก้านยาวแต่หมวกเล็ก ส่วนน้ำหนักดอกอยู่ ระหว่าง 30-70 กรัม/ดอก (ภาพที่ 1-4) จากลักษณะรูปร่างจำเพาะของสายพันธุ์จะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคและผู้ผลิต เช่นสายพันธุ์ DOA-1 , DOA-10 เพื่อการบริโภคสดหรือสายพันธุ์DOA-3,DOA-7 เพื่อผลิตสู่โรงงานบรรจุกระป๋อง

2. ผลการวิเคราะห์ค่าทางโภชนาการของดอกเห็ดตีนแรด

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 ดอกเห็ดตีนแรดเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 22-24 ^{O}ซ นาน 10 วัน ทั้งสายพันธุ์ DOA-9 และ DOA-10 พบว่า น้ำตาล แคลเซี่ยม และ เยื่อใย (Dietary Fiber)มีปริมาณ เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 2)

ผลการ วิเคราะห์ ดอกเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-7 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 22-24 ^{O}ซ นาน 60 วัน พบว่ามีโปรตีน4.49 g/100g แต่น้ำตาลลดลง เหลือเพียง 0.58 g/100g ความชื้น 84.05 g/100g (ตารางที่ 2)

จากที่ดอกเห็ดมีอายุเก็บรักษาความสดได้นานไม่น้อยกว่า 10 วันเมื่อไว้ที่อุณหภูมิ 20-24 ^{O}ซ และคงให้คุณค่าทางโภชนาการไม่แตกต่างจากวันแรกที่เก็บ ซึ่งน่าจะเป็นผลจากการที่เห็ดชนิดนี้มีน้ำตาลทรีฮาโรสประกอบอยู่ ตามข้อมูล ของอัจฉราและคณะ 2552 (อยู่ระหว่างจัดพิมพ์) ซึ่งน้ำตาลชนิดนี้ มีคุณสมบัติเป็น Protein stabilizer สามารถ รักษาเซลล์ให้คงรูปได้ จึงน่าจะเป็นเห็ดเมืองร้อนที่เก็บรักษาได้ยาวนานกว่าเห็ดอื่นๆเพื่อจำหน่ายสดทั้งในประเทศและต่างประเทศ

3.ผลการวิเคราะห์ ค่า กรดอมิโน ของดอกเห็ดตีนแรด

ผลการวิเคราะห์ ค่ากรดอมิโนทั้ง17 ชนิดจากดอกเห็ดแห้งพบกรดอมิโนที่จำเป็น(Essential amino acid)ซึ่งมนุษย์ไม่สามารถจะสังเคราะห์เองได้ เช่น ลิวซีน ไลซีน ฟีนีลอลานีน ทรีโอนีน และไอโซลิวซีน มีอยู่ 0.39, 0.33,0.29,0.26และ0.23%.โดยเฉพาะไลซีนไม่มีในเมล็ดธัญญาพืชจึงเป็นประโยชน์กับกลุ่มรับประทานพืชผัก ที่จะได้ไลซีนเมื่อบริโภคเห็ดตีนแรด จากข้อมูลผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณ กรดอมิโนในดอกเห็ดแห้ง *Pleurotus sajor-caju* ของทั้งสายพันธุ์ป่าและสายพันธุ์ปลูก จาก Oyetayoและคณะ(2007) รายงานว่า มีลิวซีนปริมาณสูงสุด เมทธิโอนิล และ ซีททีน มีปริมาณน้อยที่สุด ซึ่งปริมาณกรดอมิโนในดอกเห็ดตีนแรดแห้งที่วิเคราะห์ในครั้งนี้ได้ผลเช่นเดียวกัน ส่วนกลุ่ม Non Essential amino acid เช่น กลูตามิก อลานีน และกรดแอสพาติกมีอยู่ในปริมาณ 1.87 ,0.44 และ 0.33 % ตามลำดับ (ตารางที่ 3) กรดกลูตามิกเป็นส่วนประกอบหลักของผงชูรส (โซเดียมกลูตาเมท) ที่ช่วยเพิ่มรสชาติอาหาร ดังนั้นจึงเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคที่ใช้เห็ดปรุงอาหารลดการใช้ผงชูรสได้เป็นอย่างดี

4. ผลการทดสอบปฏิกิริยาระหว่างสารจากสายพันธุ์เห็ดตีนแรด และแบคทีเรีย

จากการเลี้ยงเชื้อเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆในอาหารเหลว พบว่าส่วนน้ำใสในอาหารเหลวเลี้ยงเส้นใย ของสายพันธุ์ DOA-1, DOA-2, DOA-3, DOA-4 และ DOA-5 เมื่อทดสอบปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรีย พบว่าสายพันธุ์ DOA-1 และ DOA-7 (ภาพ ที่ 5)สามารถยับยั้งการเจริญของ แบคทีเรีย *Acidovorax avenae* sub sp. *cattleyae*,เชื้อสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียของกล้วยไม้ *Xanthomonas cam pestris pv. campestris* , เชื้อสาเหตุโรคเน่าดำของกะหล่ำ *X. axonopodis pv. dieffenbachiae,* สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว *Erwinia chrysanthemi* เชื้อสาเหตุ โรคเน่าเละของกล้วยไม้ และ *Burkhoderia glodioli* (เชื้อสาเหตุโรคเน่าของกล้วยไม้) ซึ่งผลการทดสอบครั้งนี้เช่นเดียวกับผลทดสอบของปีพ.ศ.2551 (อัจฉราและนันทินี, 2551) ตามรายงานของ Jonathan และ Fasidi (2005) ว่าสารสกัดจากเห็ด *T. lobayensis* สามารถยับยั้งการเจริญแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุก่อโรคกับมนุษย์ ที่ปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีประสิทธิภาพในการควบคุม ทั้งนี้เห็ด*T. lobayensis* กับเห็ดตีนแรดจัดอยู่ในตระกูลเดียวกัน จึงมีแนวโน้มในการนำมา ควบคุมแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชได้ ส่วนสารสกัดจาก เห็ดหูหนูหนา (*Auricularia polytricha*) , *Corilopsis occidentalis, Daldinia concentrica, Daedalea elegans* ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*

5.การทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดตีนแรดที่มีต่อการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Probiotics

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของเห็ดตีนแรดที่มีต่อการเจริญของเชื้อกลุ่มโพรไบโอติกส์ ได้แก่ *L. plantarum* TISTR 541(L1), *L. plantarum* ATCC 14917(L2), *L. sake* TISTR 840(L3), *L. sake*TISTR 890(L4), *L. sake* JCM 1157(L5), *L. sake* TISTR 912(L6), *L. lactis* ATCCC 19435(L7), *L.reuteri* KUB-AC5(L8), *Pd. pentosacens* JCM 5885(PD1), *Pd. acidilactici* TISTR 953(PD2), *En. faecalis* JCM 5805 (E1) และ *En. faecalis* TISTR 927 (E2) แล้วติดตามผลการเจริญของเชื้อดังกล่าว ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร นั้น พบว่า การเติมเห็ดตีนแรดบด ส่วนที่เป็นก้านเห็ด และดอกเห็ดนั้น มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อกลุ่มโพรไบโอติกส์ เพิ่มมากขึ้นกว่าเชื้อชนิดเดียวกันที่เลี้ยงในอาหารปกติที่ไม่มีการเติมเห็ดบดลงไปและเมื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ ที่เลี้ยงในอาหารที่เติมก้านเห็ดบดและดอกเห็ดบดนั้น พบว่าเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่เติมก้านเห็ดแล้วมีการเจริญมากกว่าการเติมดอกเห็ด ได้แก่ *L. plantarum* TISTR 541, *L. plantarum* ATCC 14917, *L. sake*TISTR 890, *Pd. pentosacens* JCM 5885, *Pd. acidilactici* TISTR 953 และ *En. faecalis* TISTR 927 ส่วนเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่เติมดอกเห็ดแล้วมีการเจริญมากกว่าการเติมก้านเห็ด ได้แก่ *L. sake* TISTR 840,

L. sake JCM 1157, *L. sake* TISTR 912, *L. lactis* ATCCC 19435, *L.reuteri* KUB-AC5 และ *En. faecalis* JCM 5805 แสดงดังภาพที่ 3 โดยที่กลุ่มเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่เติมก้านเห็ดบด ได้แก่ L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, PD1, PD2, E1 และ E2 พบว่า มีค่า Enhanced activity เท่ากับ 12.59, 20, 15, 43, 36, 16, 2.8, 9.35,11.55, 26.84, 7.59 และ25.19 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่เติมดอกเห็ดบด พบว่า มีค่า Enhanced activity เท่ากับ 6.76, 9,25, 37.5, 44, 29.82,22.6, 32.37, 10.75, 18.65, 17.87 และ 15.8 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 6)

เห็ดตีนแรดมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Probiotics แสดงให้เห็นว่าในเห็ดตีนแรดมีสารอาหารที่สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์หรือเป็นสารพรีไบโอติกPrebiotic)ได้(ภาพที่6) ข้อมูลจากวราสารอาหาร(2548)ว่าอินนูลิน(inulin) ซึ่งเป็นโอลิโกเซคคารายด์(Oligosaccharide) เป็น พรีไบโอติก จากเห็ดมีแคลอรี่ต่ำ หวานน้อย เมื่อทดสอบกับหนู พบว่า ช่วยการดูดซึมแร่ธาตุ ลดไขมันในเลือด เพิ่มHDL เช่นเดียวกับสารสกัดเห็ด *P.ostreatus* และ *P. eryngii* ที่ทั้งส่วนก้านและดอกเห็ดจะเป็น glucan ซึ่งส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์ ผลการวิจัยประสิทธิภาพของเห็ดตีนแรดต่อ
จุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์ ครั้งนี้ จะได้ศึกษาวิจัย เพิ่มเติมต่อไป

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากพันธุ์เห็ดตีนแรดที่ผ่านการคัดเลือกมาระดับหนึ่งระหว่าง ปีพ.ศ. 2549-2551 และได้ทดสอบต่อเนื่องในปีพ.ศ.2552 ในพื้นที่ จ.สกลนคร และกรุงเทพมหานคร พบว่า

1. สายพันธุ์ DOA-1, DOA-3, DOA-4, DOA-5, DOA-7และ DOA-10 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงอย่างมีนัยสำคัญมีค่าประสิทธิภาพการผลิต อยู่ระหว่าง 21-83.84% (Biological Efficiency =น้ำหนักดอกเห็ดสด x100 / น.น.วัสดุแห้งเพาะ) โดย สายพันธุ์ DOA-1ให้ผลผลิตสูงช่วงอากาศเย็น (ต.ต.-ม.ค.) สายพันธุ์ DOA-3 และ สายพันธุ์ DOA-10ให้ผลผลิตสูง ช่วงฤดูร้อน-ฝน ให้ผลผลิตสูงช่วงฤดูร้อน-ฝน(มี.ค.-ก.ย.) สายพันธุ์ DOA-4ให้ผลผลิตสูงช่วงฤดูฝน(ก.ค.-ก.ย.) สายพันธุ์ DOA-5ให้ผลผลิตสูงช่วงฤดูฝน-หนาว (ส.ค.-ธ.ค.) สายพันธุ์ DOA-7 ให้ผลผลิตได้ดีตลอดทั้งปี ทั้งที่ สกลนครและกรุงเทพมหานคร

ลักษณะสายพันธุ์ DOA-1 มีลักษณะของ ก้าน ป้อม สั้น ส่วนสายพันธุ์DOA-4 มีก้าน ค่อนข้างตรง สั้นและกลางหมวกดอก ลักษณะแอ่นลง และสายพันธุ์ DOA-10 จัดเป็นเห็ดมีขนาดของก้านเล็กเรียวและหมวกเล็ก สายพันธุ์DOA-7 มีขนาดหมวกใหญ่กว่าและมีก้านยาว ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ DOA-3และ DOA-5 ลักษณะรูปร่างจำเพาะของสายพันธุ์จะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคและผู้ผลิต

เช่นสายพันธุ์DOA-1 , DOA-10 เพื่อการบริโภคสดหรือสายพันธุ์DOA-3,DOA-7 เพื่อผลิตสู่โรงงานบรรจุกระป๋อง สายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่กรมวิชาการเกษตรได้จากการทดสอบสามารถแนะนำสายพันธุ์เหล่านี้สู่เกษตรกรเพื่อผลิตเห็ด เพิ่มรายได้ให้กับครอบครัว และชุมชน

2.ได้ข้อมูลคุณค่า ทางโภชนาการ ชนิด ปริมาณ กรดอมิโนของเห็ด รวมทั้งคุณสมบัติความมีอายุยืนยาวในการเก็บรักษาได้นานไม่น้อยกว่า10วันที่22-25°ซ โดยคุณค่าทางโภชนาการไม่เปลี่ยนแปลง นำไปสู่การประชาสัมพันธ์เป็นเห็ดอาหารสุขภาพ ให้มีผู้สนใจบริโภคเพิ่มมากขึ้นเพื่อเพิ่มการผลิต

3.ได้เห็ดตีนแรดสายพันธุ์DOA-1และDOA-7ไว้ใช้ประโยชน์ควบคุมการเจริญของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* sub sp. *cattleyae*,เชื้อสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียของกล้วยไม้ *Xanthomonas cam pestris pv. campestris* , เชื้อสาเหตุโรคเน่าดำของกะหล่ำ *X. axonopodis pv. dieffenbachiae*, สาเหตุโรคใบไหม้ของหน้าวัว *Erwinia chrysanthemi* เชื้อสาเหตุ โรคเน่าเละของกล้วยไม้ และ *Burkhoderia glodioli*
(เชื้อสาเหตุโรคเน่าของกล้วยไม้) ในห้องปฏิบัติการ และจะได้ขยายการใช้ในระดับแปลงทดลอง

4.นอกจากนั้นเห็ดตีนแรดสายพันธุ์DOA-3 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของโพรไบโอติกส์แบคทีเรีย ในระดับ ห้องปฏิบัติการ และจะได้มีการทดสอบการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

การนำไปใช้ประโยชน์

1. พันธุ์เห็ดตีนแรดทั้ง 7สายพันธุ์ กรมวิชาการเกษตรจะได้อนุรักษ์ไว้ใช้เป็นพันธุ์การค้า แนะนำบริการแก่เกษตรกรเพื่อเพาะเพิ่มรายได้ให้กับครอบครัว ชุมชน และประโยชน์การวิจัยเช่นการปรับปรุงพันธุ์เห็ด
2. ข้อมูลเห็ดตีนแรด เป็นแหล่งอาหารอีกชนิดของประเทศไทย ที่มีคุณค่าทางโภชนาการ มีความปลอดภัย ต่อผู้บริโภคสูง จะได้ส่งเสริมการบริโภคและผลิต เพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถช่วยลดความรุนแรง ภาวะวิกฤติโลก ขาดอาหารได้
3. ได้สายพันธุ์เห็ดตีนแรด ที่ใช้ประโยชน์เพิ่มการเจริญเติบโตของโพรไบโอติกส์แบคทีเรีย ซึ่งเป็นแบคทีเรียสุขภาพที่มีชีวิตในกระเพาะอาหารและลำไส้
4. สายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่สามารถควบคุมแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชในระดับห้องปฏิบัติการ จะได้นำไปใช้ประโยชน์มีการศึกษาวิจัยระดับแปลงทดสอบต่อไป

เอกสารอ้างอิง

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

ปรีชา ลิ่มไชยฤกษ์. 2542. ปลูกผักสวนครัวแซมแปลงเห็ดตีนแรด เห็ดถั่งเฉ้า 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.

วารสารอาหาร สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปีที่ 35 ฉบับที่ 2 เมษายน – มิถุนายน 2548. หน้า 96-101

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

อัจฉรา พยัพพานนท์ และ นันทินีศรีจุมปา. 2551. รวบรวมคัดเลือกพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่างๆ เพื่อเป็นพันทางการค้า. หน้า 513-520 *ใน* การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 46 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 29 มกราคม – 1 กุมภาพันธ์ 2551 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร.

Di Piero,R.M.,N.A.Wulff and F.P. Sergio. 2006. Partial purification of elicitors from *Lentinula edodes* basidiocarps protecting cucumber seedlings against *Colleyotrichum laginarium*. Braz. J.Microbiol. 37(2),pp. 1-12.

Functional foods fact sheet : Probiotics and Prebiotics . June 2006.

Gheibi, N., A.A.,Saboury,K.Haghbeen and A.A.Moosavi-Movahedi.2006. The effect of some osmolytes on the activity and stability of mushroom tyrosinase. J. Biosci; 31(3). pp.355-362.

Jonathan, S.G. and Fasidi, I, O. 2005. Antimicrobial activities of some selected Nigerian mushroom. African J. Biomed.Research 8:(2), pp.83-87.

Oyetayo, FI., AA.Akindahunsi and VO. Oyetayo.2007. Chemical profile and amino acid composition of edible mushrooms *Pleurotus sajor-caju*. Nutr. Health,18(4):383-389.

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.

Synytsya, A., K. Mickova, A. Synytsya, I.Jablonsky, J.Spevavacek,V. Erban, E. Kovarikova and J. Copikova. 2009. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *P. eringii*: structure and potential probiotic activity. Carbohydrate polymers. Vol.76 (4) : pp 548-556.

Wang, HX, NgTB, Ooi VE,Liu WK, S.T.Chang .1996.A polysaccharide –peptide complex from cultured mycelia of the mushroom *Tricholoma mongolicum* with immunoenhancing and antitumor activities. Biochem. Cell. Biol., 74(1):95-100.

Wang, HX, NgTB, Ooi VE,Liu WK, S.T.Chang .1998.Lectin activity in fruiting body of the edible mushroom *Tricholoma mongolicum*. Biochem. Mol.Biol.Int.,44(1):135-141.

ตารางที่1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต(%B.E)ของเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆ เมื่อเพาะช่วงเวลาที่ต่างๆกัน ที่ [1/]จ. สกลนคร และกทม. ระหว่าง ต.ค.50- ส.ค.52

สายพันธ์	ผลผลิตเฉลี่ยต่อน้ำหนักแห้งวัสดุเพาะ(%B.E.)							
	ต.ค.51-ม.ค.52	ม.ค.-มี.ค.51	[1/]มี.ค.-ส.ค.51	เม.ย.-มิ.ย.51	ก.ค.-ส.ค.51	ต.ค.-ธ.ค.51	ม.ค.-มี.ค.52	ส.ค.-ก.ย.52
DOA-1	83.84 a	-	31.60 a	-	28.95 bc	26.75 ab	42.61 a	15.56 b
DOA-2	32.58 ef	-	-	-	-	-	-	-
DOA-3	45 cde	13.88 b	42.5 a	21.38 a	-	-	25.875 b	28.41 ab
DOA-4	37.05 def	-	-	-	45.49 ab	22.065 b	22.65 bc	38.84 a
DOA-5	55.26bc	-	30.71 a b	-	16.51 c	25.396 ab	19.89 bc	25.03 ab
DOA-6	22.5 f	27.45 a	-	32.28 a	27.46 c	-	-	-
DOA-7	66.25 b	22.97 a	13.33 b	22.05a	31.43 abc	46.107 a	27.09 b	16.24 b
DOA-8	49.107 cd	-	-	-	-	-	-	-
DOA-9	22.76f	8.35 b	-	17.28a	-	-	-	-
DOA-10	28.66f	25.66 a	29.375 a b	34.55a	46.43 a	14.50 b	13.6 c	26.19 ab
C.V.(%)	14.9	30.4	41.3	52.9	32.6	46.8	30.1	34.8

ตัวเลข ที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 **%** โดยวิธี DMRT

1748

ตารางที่ 2 ค่าวิเคราะห์ เกลือแร่ สายพันธุ์ เห็ดตีนแรด (26 มิ.ย.-15ก.ย.51)

รายการวิเคราะห์	สายพันธุ์ DOA-9		สายพันธุ์ DOA-10		สายพันธุ์DOA-7	หน่วย
	อายุ 0 วัน	อายุ 10 วัน	อายุ 0 วัน	อายุ 10 วัน	อายุ 80วัน	
Protein	2.77	3.06	2.95	2.93	4.49	g/100g
Fat	0.31	-	0.23	0.23	0.29	g/100g
Sugar	4.28	5.11	2.02	3.98	0.58	g/100g
Dietary Fiber	2.09	3.10	2.34	2.68	-	g/100g
Carbohydrate	9.19	9.04	9.0	7.30	9.77	g/100g
Iron	2.756	3.617	6.555	3.297	-	mg/kg
Calcium	4.427	7.261	6.158	6.386	-	mg/kg
Ash	1.26	1.20	1.14	1.08	1.40	g/100g
Moisture	86.47	86.38	86.68	88.46	84.05	g/100g

แหล่ง :วิเคราะห์จากห้องปฏิบัติกลาง(ประเทศไทย) จำกัด (Laboratory Center for Food and Agricultural Products = LCFA) พ.ศ. 2551

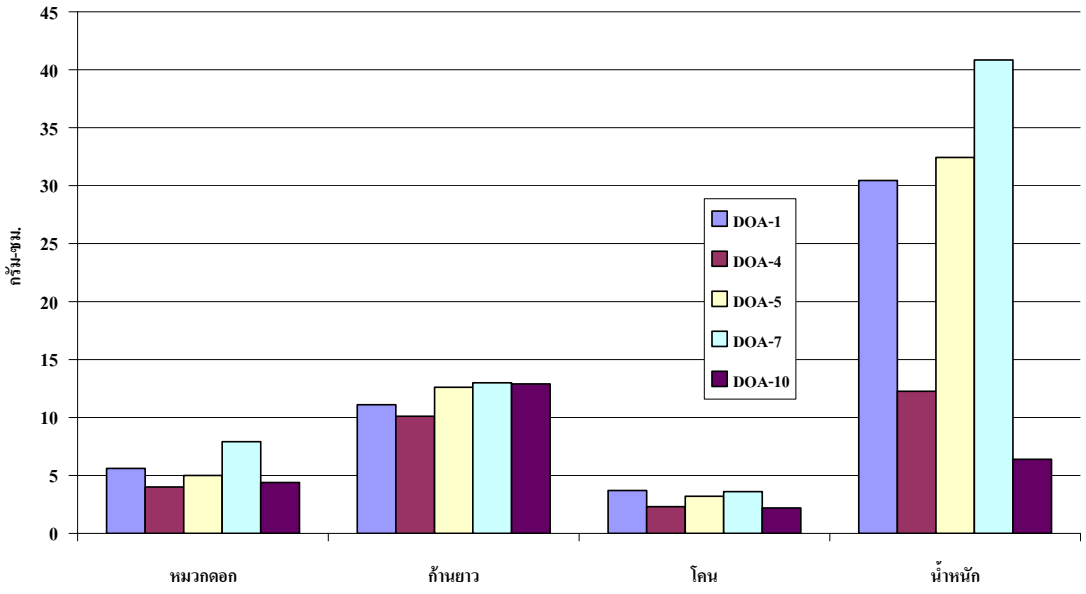
1749

ตารางที่3 ค่าวิเคราะห์กรดอะมิโน เห็ดตีนแรด สายพันธุ์ DOA-1

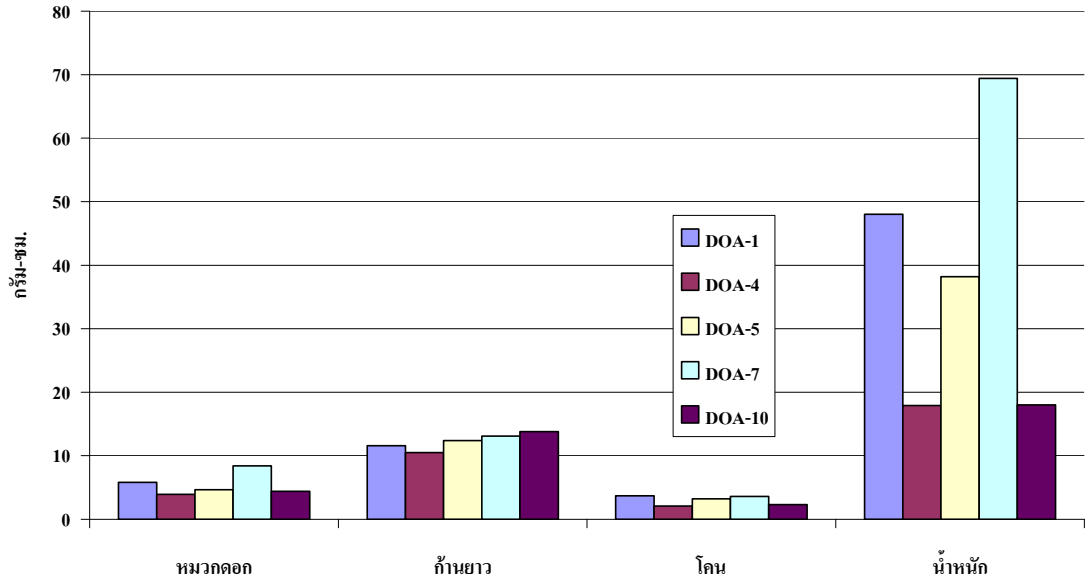
Non Essential amino acid	เปอร์เซ็นต์ (เห็ดแห้ง)	Essential amino acid	เปอร์เซ็นต์ (เห็ดแห้ง)
Aspartic acid	0.33	Cystine	0.04
Serine	0.27	Tyrosine	0.16
Glutamic	1.87	Valine	0.23
Glycine	0.30	Methionine	0.07
Histidine	0.16	Lysine	0.33
Arginine	0.25	Isoleucine	0.23
Alanine	0.44	Leucine	0.39
Proline	0.19	Phenylalanine	0.29
-	-	Threonine	0.26

แหล่ง: หน่วยงานและสิ่งแวดล้อม ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2552

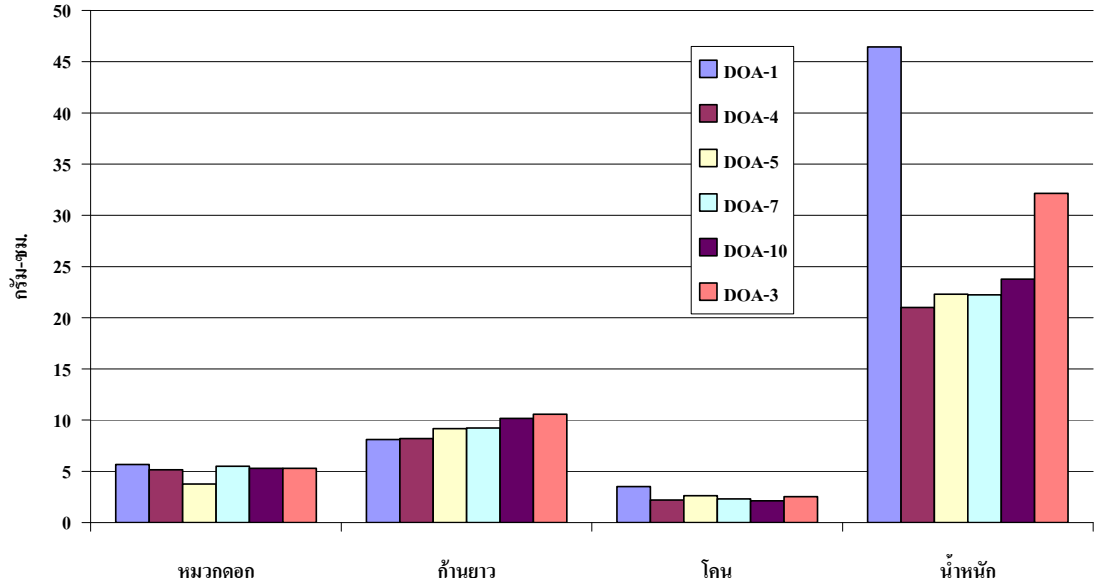
ภาพที่ 1 เปรียบเทียบขนาดหมวก ก้านและน.น.ดอกเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆระหว่างต.ค.-ธ.ค.2551



ภาพที่2 เปรียบเทียบขนาดหมวกก้านและน.น.ดอกเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆที่เพาะ ระหว่าง ม.ค.-เม.ย.2552



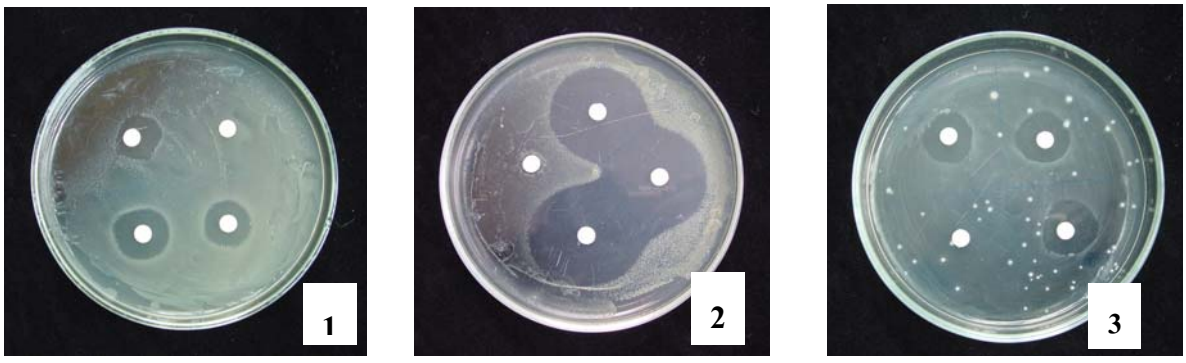
ภาพที่ 3 เปรียบเทียบขนาดหมวกก้านและน.น.ดอกเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆที่เพาะระหว่างก.ค.-ก.ย.2552



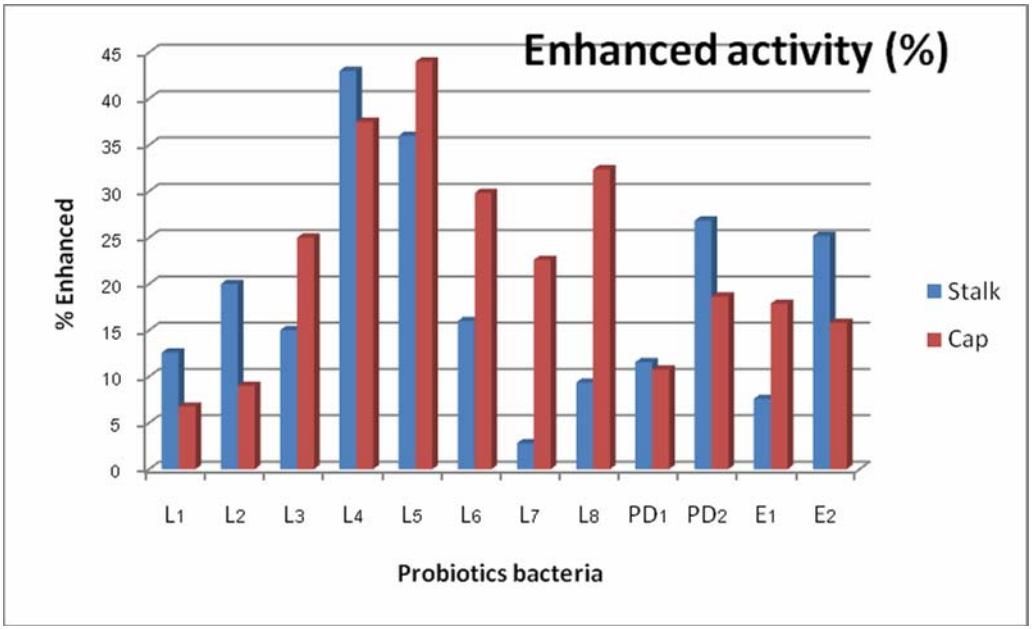
DOA-1 **DOA-3** **DOA -4**

DOA-7 **DOA-10** **DOA-5**

ภาพที่ 4 แสดงลักษณะดอกเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีศักยภาพจะใช้เป็นสายพันธุ์แนะนำ



ภาพที่ 5 ลักษณะ การเกิดปฏิกิริยาระหว่าง แบคทีเรีย 1) *Burkhoderia glodioli* , 2) *X. axonopodis pv. dieffenbachiae* ,3) *Acidovorax avenae* sub sp. *cattleyae* กับ ส่วนน้ำใสจากอาหารเหลวเลี้ยงเส้นใยเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ DOA-1



ภาพที่ 6 การเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์ Enhance activity ของการเจริญของเชื้อกลุ่มโพร์ไบโอติกส์ ระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมก้านเห็ด และเติมดอกเห็ดตีนแรดบด

ทดสอบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่ผลิตสารโพลีแซคคารายด์ที่เป็นประโยชน์

อัจฉรา พยัพพานนท์ [1/]จิรเวท เจตน์จันทร์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[1/] ภาควิชาอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทคัดย่อ

เห็ดที่รับประทานได้มักมีคุณค่าทางโภชนาการ ในการ เป็นอาหาร เป็นอาหารเสริม และมีสรรพคุณทางยาที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ เห็ดตีนแรดเป็นเห็ดพื้นเมืองที่กำลังส่งเสริมให้เป็นเห็ดเศรษฐกิจ และเป็นที่ต้องการของตลาดมากขึ้น จึงได้ศึกษาชนิดของน้ำตาลในดอกเห็ด โดยการสกัดโพลีเซคคารายด์จากดอกเห็ดตีนแรด ซึ่งเพาะจากเชื้อพันธุ์เห็ดตีนแรดกรมวิชาการเกษตร สายพันธุ์ DOA-1, DOA-3, DOA-4. DOA-5, DOA-7, DOA-8 และDOA-10 สกัดด้วยน้ำร้อนผสมเอทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 95 °ซ และจำแนกชนิดของน้ำตาล ด้วยเครื่องHigh performance liquid chromatography (HPLC) ดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และภาควิชาอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร ระยะเวลาตุลาคม2550- กันยายน 2552

ผลการสกัดและจำแนกโพลีเซคคารายด์ของดอกเห็ดตีนแรด 7 สายพันธุ์ จากดอกเห็ดสด ได้น้ำตาลหลักเป็น ทรีฮาโรส ในปริมาณ 64-350 มิลลิกรัม/10กรัมเห็ดสด แมนโนส165-370 มิลลิกรัม/10กรัมเห็ดสด และจากดอกเห็ดแห้ง ได้น้ำตาลทรีฮาโรส 64-158 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง กลูโกส 4-35 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง ไซโลส 5-22.4 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง จากสายพันธุ์ DOA-3, DOA-5 ,DOA-7 และกาแลคโตส 8.50 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง จากสายพันธุ์DOA-10

รหัสการทดลอง 01-16-49-03

คำนำ

การใช้ประโยชน์เห็ดไม่ว่าจะเป็นเห็ดป่าพื้นบ้านหรือเห็ดปลูกในต่างประเทศแล้วนอกจากเพื่อการบริโภคแล้ว ยังใช้เห็ด เป็นอาหารเสริม สมุนไพร และยา โดยเฉพาะประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนได้มีมานานกว่า100ปี แล้ว ปัจจุบันมีการศึกษา วิจัยพัฒนา การใช้ประโยชน์เห็ดเพิ่มขึ้น อย่างกว้างขวาง เช่นมีงานวิจัยในประเทศเกาหลีที่สกัดสารจากเห็ดป่า *Polyozellus multiplex* เพื่อใช้ในการเป็นเคมีบำบัด ต่อต้านมะเร็งในกระเพาะอาหาร (Lee and Nishikawa, 2003) มีการวิจัยใช้ประโยชน์สารสกัดของ เห็ดปลูกจาก เห็ดหอม เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) เพื่อเป็นสารยับยั้งกลุ่มแบคทีเรียก่อโรค(Hearst and *et al*, 2009)

ได้มีการจดสิทธิบัตร การผลิตโพลีเซคคารายด์ซึ่งสกัดจากเห็ดหูหนูขาว (*Tremella fruciformis*) ด้วยการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ที่มีคุณสมบัติลดรอยด่างดำบนผิวหนังและให้ความชุ่มชื้นบนผิวหน้า (http;//WWW.freshpatent.com/Edible-tremella-polysaccharide –for-skin-care-dt…2/12/2552)

ในประเทศไทยมีการศึกษาวิเคราะห์สารสกัดจากเห็ด อาทิ ไพรินทร์และ ปกขวัญ (2544) ได้สกัดและศึกษาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากสายพันธุ์เห็ดบางชนิดในป่า ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. และมีการวิเคราะห์ โพลีเซคคารายด์ของเห็ด เอกโตไมคอไรซาร์ ในป่าภาคเหนือ (Sanmee. e*t al* . 2003)

จากที่ได้ สำรวจรวบรวม ศึกษา เห็ดตีนแรด(*Macrocybe crassa* (Berk.) sacc.) จำนวนไม่น้อยกว่า10สายพันธุ์ ระหว่าง ปีพ.ศ. 2549-2550 พบว่าต่างมีความแตกต่างกัน (อัจฉราและนันทินี,2551) เห็นว่านอกจากใช้บริโภคเป็นอาหารแล้ว มีแนวโน้ม สามารถนำสู่การใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆได้มูลค่าที่สูงกว่าเช่น อัจฉรา (2549) ได้รายงานว่าดอกเห็ดตีนแรดมีสาร ซีลีเนียม (Selenium - Se) อยู่ระหว่าง35 -180 ไมโครกรัม ต่อ ดอกเห็ด หนึ่ง กิโลกรัม ซึ่ง ซีลีเนียม สามารถป้องกันและลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งต่อมลูกหมาก และจากการวิเคราะห์ดอกเห็ดตีนแรดพบว่ามีน้ำตาลรวมเฉลี่ยประมาณ2-5 กรัม ต่อน้ำหนักดอกเห็ดสด100 กรัม (อัจฉราและนันทินี,2551) ได้มีการสกัดโพลีเซคคารายด์แล้วทำการแยก น้ำตาลทรีฮาโรส(Trehalose) ออกจากเห็ด *Pleurotus eringii* ,*P. cystidiosus* และ *P.sajor-caju* และนำไปสู่การจดสิทธิบัติโดยกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ ไทเป ประเทศไต้หวัน ซึ่งทรีฮาโรสเป็นน้ำตาลใช้ประโยชน์ ในอุตสาหกรรมเก็บรักษาอาหารช่วยให้พืชผัก ผลไม้ คงความสดได้ยาวนาน

ดังนั้นแล้ว วัตถุประสงค์ในการศึกษาโพลีเซคคารายด์ และชนิดน้ำตาล ที่มีอยู่ในดอกเห็ดตีนแรดในครั้งนี้ เพื่อ ใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร อุตสาหกรรม เภสัชกรรม และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เป็นช่องทางการเพิ่มมูลค่าเห็ด เพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร และขยายให้เป็นประโยชน์กับองค์การต่าง ๆ

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1 อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด พีดีเอ พีดีบี น้ำตาลกลูโคส(Glucose) กาแลกโตส(Galectose) ไซโลส (Xylose) อะราบิโนส (Arabinose) เซลโลไบโอส(Cellobiose) มอลโตส(Maltose) ทรีฮาโลส (Trehalose) ฟลุคโตส (Fructose) และแมนโนส (Mannose) บิวทานอล(Butanol) ไอโซโพรพานอล(Isopropanol) เอทธานอล(Ethanol)

2 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ: เครื่อง High performance liquid chromatography ของบริษัท Shimadzu (Class LC10)ประเทศญี่ปุ่น เครื่องเขย่า เครื่องเหวี่ยงความเร็วสูง แทงค์แก้ว แผ่น TLC (Kieselgel 60 (Merck)) ไมโครไปเปต อ่างน้ำร้อนตั้งอุณหภูมิได้

3 วัสดุสำหรับใช้ในการเพาะเห็ดตีนแรดได้แก่ ฟางข้าว ขี้เลื่อย มูลสัตว์ ดิน ถุงพลาสติกทนร้อน ตะกร้าพลาสติก

4 หม้อนึ่งอัดความดัน หม้อนึ่งไม่อัดความดัน โรงเรือนเปิดดอก

วิธีการ

1. เตรียมเส้นใยเห็ดตีนแรด สกัดโพลีเซคคารายด์

1.1 ขยายเส้นใยเห็ดตีนแรดจำนวน5 สายพันธุ์ บนพีดีเอ เมื่อเส้นใยเจริญเต็มจานแก้ว ย้ายเส้นใยลงเลี้ยงในอาหารเหลวที่บรรจุในขวดแก้ว วางบนเครื่องเขย่าความเร็ว120รอบต่อนาที

1.2 กรองเอาเส้นใยไว้พร้อมล้างทิ้งอาหารที่ปนอยู่กับเส้นใยออกด้วยน้ำกลั่น

2.เตรียมดอกเห็ดตีนแรด

เพาะเห็ดตีนแรด 7 สายพันธุ์ในฟางข้าวหมักด้วยระบบถุง (อัจฉราและนันทินี 2551) ทำให้เกิดดอกโดยวิธีการเปลือยถุงใส่ตะกร้าคลุมผิวหน้าก้อนเชื้อด้วยดินที่นึ่งด้วยหม้อนึ่งชนิดไม่อัดความดัน ไว้ในห้องเปิดดอก เมื่อเกิดดอกนำดอกเห็ดหั่นเป็นชิ้นบาง อบให้แห้งด้วยความร้อนในตู้อบอุณหภูมิ 50^{O}ซ

เก็บตัวอย่างไว้วิเคราะห์ โพลีแซคคาไรด์ วางแผนการทดลองแบบ CRD 7 กรรมวิธี (ตีนแรด 7สายพันธุ์)

3.สกัดโพลีเซคคารายด์

3.1 บดเส้นใยเห็ดตีนแรดด้วยโกร่งบด ย้ายลงหลอดทดลอง เติมสารละลายน้ำผสมกับแอลกอฮอล์ นำไปต้มในน้ำร้อนอุณหภูมิ 60°ซ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง....

3.2 นำหลอดทดลองที่บรรจุส่วนผสมผ่านการต้มแล้ว เข้าเครื่องเหวี่ยง เหวี่ยงแยกน้ำสกัดออกมานำไปเข้าเครื่องระเหยน้ำออกเก็บตัวอย่างไว้ วิเคราะห์โพลีเซคคารายด์

3.3 นำดอกเห็ดตีนแรดสด10 กรัม สับย่อยเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่โกร่งบดเมื่อบดจนละเอียดแล้ว เติมน้ำกลั่นผสมแอลกอฮอล์ 30 มิลลิลิตร (น้ำกลั่นผสมแอลกอฮอล์ สัดส่วน 40:10) ถ่ายลง

หลอดพลาสติกทนร้อน (ขนาด 50 มล) นำไปแช่ในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 95 ^{0}ซ บ่มไว้ 4 ชั่วโมง แล้วเข้าเครื่องเหวี่ยง(centrifuge) ความเร็ว1400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้ว แยกส่วนใส โดยดูดส่วนใส ลงหลอดเก็บ ตัวอย่างไว้ใช้วิเคราะห์ โพลีแซคคาไรด์

3.4 นำดอกเห็ดตีนแรด 2-5 กรัม ที่ผ่านการอบแห้งด้วยความร้อนอุณหภูมิ 50 ^{0}ซ สับย่อยเป็นชิ้นเล็กๆใส่โกร่งบด เมื่อบดจนละเอียดแล้ว เติมน้ำกลั่นผสมแอลกอฮอล์ 30 มิลลิลิตร ผสมแอลกอฮอล์ ถ่ายลงหลอดพลาสติกทนร้อน(ขนาด 50 มล) นำไปแช่ในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 95 ^{0}ซ บ่มไว้ 4 ชั่วโมง แล้ว เข้าเครื่องเหวี่ยง(centrifuge) ความเร็ว1400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้ว แยกส่วนใส โดยดูดส่วนใส ลงหลอดเก็บ ตัวอย่างไว้วิเคราะห์ โพลีแซคคาไรด์

3.วิเคราะห์หาน้ำตาล(โพลีเซคคารายด์)ของสารสกัด จากทั้งเส้นใยและดอกเห็ด

วิเคราะห์น้ำตาล ที่สกัดจากดอกเห็ด โดย TLC ด้วย การ ดัดแปลงจากวิธีการ ของ Akiyama et al (1996) ร่วมกับการทำให้เกิดสีกับตัวอย่างโดยรมด้วยไอโอดีน

4.วิเคราะห์โพลีเซคคารายด์ของสารสกัดด้วยเครื่อง HPLC

นำตัวอย่างของเหลว(สารละลายสกัดจากเห็ด)กรองผ่านเซลลูโลสอะซิเตตเมมเบรนขนาดรู (pore size) 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นบรรจุสารตัวอย่างลงในขวด(vial)ปริมาตร 1มิลลิลิตร แล้วนำไปฉีดวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่องHPLC ซึ่งมีสภาวะต่างๆดังนี้

เครื่อง: High performance liquid chromatography ของบริษัทShimadzu (Class LC10) ประเทศญี่ปุ่น

คอลัมน์: Aminex HPX-87C column (Bio-Rad)

Detector:Refractive index (RI) detector

Mobile phase: น้ำดีไอออน

Injection volume: 20 ไมโครลิตร

สภาวะที่ใช้: อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

อัตราการไหล: 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที

วิธีการวิเคราะห์: การคำนวณค่าแบบexternal standard โดยมีน้ำตาลกลูโคส(Glucose) กาแลกโตส(Galectose) ไซโลส(Xylose) อะราบิโนส (Arabinose) มอลโตส(Maltose) ทรีฮาโลส (Trehalose) และแมนโนส (Mannose) เป็นมาตรฐานในการอ้างอิง

การคำนวณ:

$$\text{ความเข้มข้นของน้ำตาล (แต่ละชนิดในตัวอย่าง มีหน่วยเป็น mg /L)} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟของน้ำตาลแต่ละชนิด}}{\text{ค่าความชัน(M)ของน้ำตาลแต่ละชนิดในcalibration curve}}$$

ตารางที่ 1 แสดงค่าประมาณ Retention time ของน้ำตาลแต่ละชนิด

ชนิดของน้ำตาล	ค่าประมาณ Retention time (นาที)
ทรีฮาโรส	10.36
มอลโตส	10.81
กลูโกส	12.37
ไซโลส	13.42
กาแลกโตส	14.44
อะลาบิโนส	15.78
แมนโนส	16.44

4. การบันทึกข้อมูล

บันทึก ชนิดและปริมาณ โพลีแซคคาไรด์ ของเห็ดตีนแรดแต่ละสายพันธุ์

ระยะเวลา (เริ่มต้น - สิ้นสุด) ตุลาคม 2550 - กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

คณะอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการทดลอง และวิจารณ์

1.วิเคราะห์โพลีเซคคารายด์ของสารสกัด จากทั้งของเส้นใย และของดอกเห็ด

ผลการวิเคราะห์น้ำตาล ที่สกัดจากดอกเห็ด โดย TLC ด้วย การดัดแปลงจากวิธีการ ของ Akiyama *et al* (1996) ร่วมกับการทำให้เกิดสีกับตัวอย่างโดยรมด้วยไอโอดีน พบสายพันธุ์ ที่สารสกัดจากดอกเห็ด เกิด SPOT สีน้ำตาลบน TLC ได้เพิ่มเวลาสกัดด้วยน้ำร้อนที่100 องศาเซลเซียส เพิ่มเวลาสกัดเป็น 4 ชั่วโมง วิเคราะห์สารสกัด โดยTLC พบว่ามี สองสายพันธุ์ ที่สารสกัดจากดอกเห็ด เกิด SPOT บน TLC แต่แยกไม่ชัดเจนเมื่อเทียบกับน้ำตาลอ้างอิง Arabinose Cellobiose ซึ่งไม่สามารถอ่านผลได้ เนื่องจากสารสกัดเป็นส่วนผสมทั้งโปรตีนและอื่นๆที่นอกเหนือน้ำตาลในโพลีเซคคารายด์ ซึ่งไม่อาจจะเคลื่อนที่ไปกับตัวพาที่เป็นทั้งแอลกอฮอล์ และน้ำ นอกจากนั้นได้สารประกอบจากเส้นใยเห็ดตีนแรดซึ่ง สกัดด้วยน้ำร้อนที่100 องศาเซลเซียส ทุกการทดลองนาน4 ชั่วโมง มีลักษณะเป็น เจลลาติน ซึ่ง ต่างกับที่สกัดจากเนื้อดอกเห็ด การวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี TLC ควรจะต้องสกัด ย่อย และแยกด้วยวิธีการจำเพาะ ให้ได้โพลีเซคคารายด์ที่บริสุทธิ์ (Ranganatan and Pushpa,2002)

2.วิเคราะห์โพลีเซคคารายด์ของสารสกัดด้วยวิธี HPLC

จากการสกัด ดอกเห็ดตีนแรดสดและแห้ง 7 สายพันธุ์ ได้แก่เห็ดตีนแรด สายพันธุ์ DOA-1, DOA-3, DOA-4. DOA-5, DOA-7, DOA-8 และDOA-10 ด้วยน้ำร้อน และน้ำร้อนผสมแอลกอฮอล์ แล้ววิเคราะห์ด้วยด้วยเครื่อง HPLC เปรียบเทียบกับน้ำตาลอ้างอิง 7 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์พบพีค (peak) ที่เกิดขึ้นมีไม่น้อยกว่า 5 ชนิด น้ำตาลทรีฮาโรส เป็นหลักทุกการทดลองมี แมนโนส กลูโกส กาเลคโตส และ ไซโลส (ตารางที่2,3) จากดอกเห็ดสดได้น้ำตาลทรีฮาโรส ในปริมาณ 64-350 มิลลิกรัม/10กรัมเห็ดสด แมนโนส 165-370 มิลลิกรัม/10กรัมเห็ดสด และจากดอกเห็ดแห้งได้น้ำตาลทีฮาโรส 64-158 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง กลูโกส 4-35 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง ไซโลส 5-22.4 มิลลิกรัม/กรัมเห็ดแห้ง จากสายพันธุ์DOA-3, DOA-5 ,DOA-7 และกาแลคโตส 8.50 มิลลิกรัม /กรัมเห็ดแห้ง จากสายพันธุ์DOA-10 นอกจากนั้น พบพีกอื่นๆ หากมีน้ำตาลอ้างอิงเพิ่มขึ้นคาดว่าจะได้ชนิดน้ำตาลเพิ่มขึ้น

การใช้ปริมาณตัวอย่างเพื่อการสกัด ต้องเป็นสัดส่วนเหมาะกับปริมาตรน้ำที่จะสกัด เช่น เห็ดแห้ง 5กรัม หากใช้น้ำ 30 มล. การสกัดจะได้สารละลายโพลีเซคคารายด์ปริมาตรน้อยมาก เมื่อแยกน้ำตาล ด้วย HPLC ได้น้ำตาล แมนโนส แต่ปริมาณต่ำ(ข้อมูลมิได้รายงาน) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เห็ดสด10 กรัม หรือใช้เห็ดแห้งเพียง1-2 กรัม

วิธีการสกัด การแยกส่วน(Fractionation) การทำให้บริสุทธิ์ จะได้ชนิดน้ำตาลเพิ่มขึ้นเช่น จากการทดสอบสายพันธุ์เห็ดตีนแรดที่ผลิตโพลีเซคคารรายด์ที่เป็นประโยชน์ เห็นได้ว่า เช่น Hearst (2009) สกัด เห็ดหอม เห็ดสกุลนางรม ด้วยน้ำร้อน พบว่าได้ active compound ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย น้ำตาลมีคุณสมบัติการละลายต่างกัน น้ำตาลบางชนิดละลายน้ำ บางชนิดไม่ละลายน้ำ บางชนิดละลายในน้ำร้อน Lin, *et al* (2002) สกัดดอกเห็ดแห้ง *A. blazei* ด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ตกตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ แยกโปรตีนออกด้วยเอนไซม์โพรเนสและแยก ชั้นส่วนของโพลีเซคคารายด์โดยผ่านคอลัมน์ของDEAE –cellulose Sepharose และ Sephadex นำไปตรวจน้ำตาลด้วย HPLC พบ Rhamnose Xylose Galactose Mannose และ Glucose ปริมาณต่างกันตามการแยกให้บริสุทธิ์

ทั้งชนิดเห็ด อายุดอกเห็ด ส่วนที่เป็นหมวกดอก ก้านดอก หรือจะเป็นเส้นใยเห็ด ที่นำมา สกัดโพลีเซคคารายด์ จะมีชนิดน้ำตาล ปริมาณน้ำตาล และสารแตกต่างกัน

เช่นCheung (1996) ศึกษาโพลีเซคคารายด์ จากเส้นใย เห็ดหอม นางฟ้า ฟาง และเห็ดชิเมจิ (*Lycophyllum shimeji*) พบว่าน้ำตาลซึ่ง สกัดจากเส้นใยเห็ดชิเมจิ หนึ่งในสามจะเป็นน้ำตาล กาแลคโตส และจากการสกัดเส้นใยเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) ด้วยแอลกอฮอล์ ที่ Lakshmi และคณะ (1995) วิจัย ได้รายงานว่าพบสาร anti peroxidative จากการศึกษาสารสกัดเห็ด *Agaricus bisporus* ของ Wannet และคณะ (1998) พบเอนไซม์ trehalose phosphorylase

ที่สามารถสังเคราะห์(synthesis)และหรือย่อยสลาย (degradation) ทรีฮาโรส Wim และคณะ (2000) ศึกษาสารละลายโพลีเซคคารายด์ของเห็ด *Agaricus bisporus* ได้ทั้งน้ำตาล แมนนิทอล (Mannitol) และทรีฮาโรส

การสกัดโพลีเซคคารายด์จากเห็ดตีนแรดครั้งนี้ แยกได้น้ำตาลทรีฮาโรสเป็นหลักซึ่งเป็นน้ำตาลเชิงคู่(ประกอบด้วยกลูโกส 2 ตัว) ต่างประเทศมักผลิตน้ำตาลทรีฮาโรสจาก แป้งมันสำปะหลัง นิยมใช้เป็นตัวปกป้องเซลล์เนื้อเยื่อ มิให้ถูกทำลายจากการแช่แข็ง (anti-freezing agent) ในอุตสาหกรรม อาหาร ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ยา เป็นต้น การผลิตน้ำตาลจากดอกเห็ดตีนแรด หรือเส้นใยเห็ด ไม่ว่าจะเป็นน้ำตาลทรีฮาโรส น้ำตาลชนิดอื่นๆ หรือน้ำตาลที่เกาะติดกับโปรตีน ที่จะเป็นประโยชน์กับสุขภาพ มีความเป็นไปได้สูง ดังนั้นแล้วจึงน่าจะเป็นโอกาสดีต่อการเพิ่มรายได้สู่ เกษตรกรในการเพาะเห็ดตีนแรด เมื่อตลาดขยายมากขึ้น

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาชนิดของน้ำตาลในดอกเห็ด โดยการสกัดโพลีเซคคารายด์จากดอกเห็ดตีนแรด 7 สายพันธุ์ ด้วยน้ำร้อน และด้วยน้ำผสมเอทิลแอลกอฮอล์ ที่อุณหภูมิ 95 °ซ และจำแนกชนิดของน้ำตาลโดย การใช้ HPLC ได้น้ำตาลหลักเป็น ทรีฮาโรส แมนโนส และ กลูโกส มีไซโลสและกาแลคโตสบ้าง สมควรมี การวิจัยวิธีการสกัด รวมทั้งทำให้สารสกัดบริสุทธิ์ เพิ่มขึ้น เพื่อให้ได้ชนิดน้ำตาลที่เป็นประโยชน์มากยิ่งขึ้นที่จะได้ใช้เป็นข้อมูล เพิ่มการบริโภค และส่งเสริมการผลิตให้กับเกษตรกร ส่งไปใช้ประโยชน์ด้าน เกษตรกรรม -อุตสาหกรรมเพิ่มมูลค่าเห็ดได้อีก.

การนำไปใช้ประโยชน์

โพลีเซคคารายด์ที่สกัดได้จากเส้นใยเห็ดตีนแรดและดอกเห็ดตีนแรดจำนวน7สายพันธุ์ด้วยน้ำร้อนเมื่อ จำแนกได้น้ำตาลหลักเป็น ทรีฮาโรส มี กลูโกส แมนโนส ไซโลสและกาแลคโตส ซึ่งนิยมใช้ประโยชน์ด้านอุตสาหกรรม เภสัชกรรมในต่างประเทศ จึงเป็นช่องทางที่นักวิจัยจะได้เพิ่มการศึกษาโพลีเซคคารายด์จากเห็ดตีนแรดและเห็ดพื้นเมือง เพื่อเพิ่มมูลค่าเห็ดไทยให้มากยิ่งขึ้น.

เอกสารอ้างอิง

ไพรินทร์ กปิลานนท์และปกขวัญ หุตางกูร.2544. การสกัดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากสายพันธุ์เห็ดบางชนิดในป่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย.คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระ
จอมเกล้าพระนคร

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

อัจฉรา พยัพพานนท์ และ นันทินีศรีจุมปา. 2551. รวบรวมคัดเลือกพันธุ์เห็ดตีนแรดจากแหล่งต่างๆ เพื่อเป็นพันธุ์ทางการค้า. หน้า 513-520 *ใน* การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 46 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 29 มกราคม – 1 กุมภาพันธ์ 2551 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร.

Akiyama,T.,H.Kaku and N. Shibuya. 1996.Purification and partial characterization of an endo-(1-3,1-4)-B-glucanase from rice ,*Oryza sativa* L. Biosci.Biochem.,60(12):2078-2080.

Cheung,P.C.K. 1996. Dietary fiber content and composition of some cultivated edible mushroom fruiting bodies and mycelia. J.Agric. Food Chem., 44(2): 468-471.

Hearst, R., D. Nelson, G. McCollum, B. C. Miller,Y.Maeda, C.E. Goldsmmith, P.J. A.Loughrey, J.R.Rao and J.E.Moore.2009.An examination of antibacterial and antifungal properties of constituents of shiitake (*Lentinula edodes*) and oyster (*P. ostreatus*) mushroom. Complementary therapies in clinical practice. 15(1):5-7.

Lee,IS and A.Nishikawa. 2003. Polyozellus multiplex , a Korean wild mushroom , as a potent chemopreventive agent against stomach cancer. Life Sci. 73(25):3225-34.

Lin ,Y., Z.Ye, Y.Huang and H. Xie.2002.Fractionation and characterization of water soluble polysaccharides from culinary-medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murril (Agaricomycetidae).International Journal of Medicinal mushrooms.Vol.4:313-319.

Ranganatan ,T.V. and Pushpa, R. Kulkarni. 2002. A simple method for the analysis of trehalose using HPTLC. Food Chemistry ,Vol.77 (2):263-265.

Sanmee,R.,R.B.Dell,P.Lumyong,K.Izmori and S.Lumyong. 2003. Nutritive value of popular wild edible mushroom Northern Thailand. Food Chemistry , 82(4): 527-532.

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

Wannet,WJ., CH.Opden,HW.Wisselink,DC.,Van,GL.,Van, and J.Vogels DD. 1998.Purification and characterization of trehalose phosphorylase from the commercial mushroom *Agaricus bisporus* Biochem Biophys Acta. 1452(1):177-88.

Wim J.B. Wannet, John H.M.Hermans, Chivas van der Drift and Huub J.M.Op den Camp .2000. HPLC detection of soluble carbohydrates involved in mannitol and trehalose metabolism in the edible mushroom *Agaricus bisporus* . J.Agric. Food Chem.,Vol.48(2):287-291.

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณน้ำตาล(มิลลิกรัม/10กรัมดอกเห็ดสด) จากดอกเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆ(ค่าเฉลี่ย 2ซ้ำ)

สายพันธุ์เห็ดตีนแรด	mg / 10g **ดอกเห็ดสด**	
	Trehalose	Mannose
DOA-1	64.09	289.135
DOA-3	252.90	-
DOA-4	348.22	165.4
DOA-5	117.90	268.88
DOA-7	89.13	190.38
DOA-8	-	-
DOA-10	198.05	378.72

ตารางที่3 ชนิดและปริมาณน้ำตาล(มิลลิกรัม/กรัมดอกเห็ดแห้ง) จากดอกเห็ดตีนแรดสายพันธุ์ต่างๆ(ค่าเฉลี่ย 2ซ้ำ)

สายพันธุ์เห็ดตีนแรด	mg / g **ดอกเห็ดแห้ง**			
	Trehalose	Glucose	Galactose	Xylose
DOA-1	66.46	34.64	-	15.35
DOA-3	97.53	4.62	-	-
DOA-4	158.40	6.85	-	22.4
DOA-5	99.36	5.70	-	4.25
DOA-7	63.90	27.48	-	5.01
DOA-8	107.53	3.76	-	-
DOA-10	102.63	4.47	8.50	-

การประเมินสายพันธุ์เห็ดต่งฝนเพื่อการใช้ประโยชน์

Evaluation of *Lentinus giganteus* Strains for Utilization

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ อัจฉรา พยัพพานนท์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บรวบรวม เส้นใยเห็ดจากแหล่งต่างๆ ได้อีก 1 ตัวอย่าง (005) รวมเป็นเห็ดต่งฝนสายพันธุ์ทดสอบ จำนวน 5 ตัวอย่าง เมื่อทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ดสายพันธุ์ที่รวบรวมได้ใหม่ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน บนอาหารพีดีเอ พบว่าเส้นใยเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15,20,25 และ 30°ซ แตกต่างกัน แต่เส้นใยไม่เจริญที่ 35 และ 40°ซ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มองเห็นด้วยตาเปล่า พบว่าดอกมีลักษณะรูปกรวยตื้นจนถึงกรวยลึก สีน้ำตาลอ่อนหรือน้ำตาลอ่อนอมเหลืองหรือน้ำตาลอมเทา มีเกล็ด ก้านมีลักษณะกว้างตอนบนแล้วเรียวเล็กลงไปที่โคนซึ่งมีลักษณะเป็นราก มีขนหรือเกล็ด สีเดียวกับหมวกหรือเข้มกว่า สปอร์เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบมีลักษณะทรงรี และภาพพิมพ์สปอร์สีขาวหรือขาวนวล และเมื่อทดสอบการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกบนวัสดุเพาะของเห็ดต่งฝนทั้ง 5 ตัวอย่าง จำนวน 4 ครั้ง พบว่าเส้นใยเห็ด 3 ตัวอย่างให้ผลผลิตได้

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

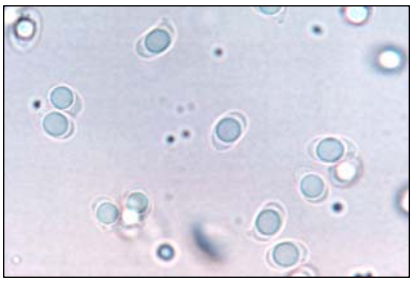
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองนี้ดำเนินการต่อเนื่องจากปีงบประมาณ 2551 ซึ่งผลการทดลองในปีงบประมาณ 2552 เป็นดังนี้

1. เก็บรวบรวม เส้นใยเห็ดจากแหล่งต่างๆ ได้อีก 1 ตัวอย่าง (005) รวมเป็นเห็ดต่งฝนสายพันธุ์ทดสอบ จำนวน 5 ตัวอย่าง (001,002,003,004 และ 005)

2. ทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ดที่รวบรวมได้ใหม่ (005) ที่อุณหภูมิ 15,20,25,30,35 และ 40°ซ บนอาหารพีดีเอ พบว่าเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15,20,25 และ 30°ซ แตกต่างกัน แต่เส้นใยไม่เจริญที่ 35 และ 40°ซ

3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเห็ดทดสอบที่รวบรวมได้ใหม่ (005) มองเห็นด้วยตาเปล่า (Macroscopic features) พบว่าดอกมีลักษณะรูปกรวยตื้นจนถึงกรวยลึก สีน้ำตาลอ่อนหรือน้ำตาลอ่อนอมเหลืองหรือน้ำตาลอมเทา มีเกล็ด ก้านมีลักษณะกว้างตอนบนแล้วเรียวเล็กลงไปที่โคนซึ่งมีลักษณะเป็นราก มีขนหรือเกล็ด สีเดียวกับหมวกหรือเข้มกว่า สปอร์เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (Microscopic features) พบมีลักษณะทรงรี แสดงดังภาพที่ 1 และภาพพิมพ์สปอร์สีขาวหรือขาวนวล



ภาพที่ 1 สปอร์เห็ดต่งฝนสายพันธุ์ทดสอบ 005 จากดอกเห็ดที่เพาะเลี้ยง

4. การทดสอบการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกบนวัสดุเพาะ ของเส้นใยเห็ดเห็ดต่งฝน 5 สายพันธุ์ที่ทดสอบ พบว่า

4.1 การเพาะครั้งที่ 1 ในช่วงตุลาคม 2551-25 มิถุนายน 2552 พบว่าเห็ดต่งฝน 2 สายพันธุ์ (002และ003) ให้ผลผลิตแสดงดังภาพที่ 2 จากจำนวน 4 สายพันธุ์ที่ทดสอบ (001,002,003 และ 004)

ภาพที่ 2 ลักษณะดอกเห็ดต่งฝนจากการเพาะ

4.2 การเพาะครั้งที่ 2 ในช่วง 27 มกราคม – 20 สิงหาคม 2552 พบว่าเห็ดต่งฝน 1 สายพันธุ์ที่ทดสอบ (005) ให้ผลผลิตแสดงดังภาพที่ 3 จากจำนวน 5 สายพันธุ์ที่ทดสอบ (001,002,003,004 และ 005)

ภาพที่ 3 ลักษณะดอกเห็ดต่งฝนจากการเพาะ

4.3 การเพาะครั้งที่ 3 ในช่วง 24มีนาคม–31สิงหาคม 2552 พบว่าเห็ดต่งฝนทั้ง 5 สายพันธุ์ที่ทดสอบ (001,002,003,004 และ 005) ไม่ให้ผลผลิต

4.4 การเพาะครั้งที่ 4 ในช่วง 10 มิถุนายน–30 กันยายน 2552 พบว่าเห็ดต่งฝน 2 สายพันธุ์ (002 และ 005) ให้ผลผลิตแสดงดังภาพที่ 4 จากจำนวน 5 สายพันธุ์ที่ทดสอบ (001,002,003,004 และ 005)

ภาพที่ 4 ลักษณะดอกเห็ดต่งฝนจากการเพาะ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เก็บรวบรวม เส้นใยเห็ดจากแหล่งต่างๆ ได้อีก 1 ตัวอย่าง (005) รวมเป็นเห็ดต่งฝนสายพันธุ์ทดสอบ จำนวน 5 ตัวอย่าง (001,002,003,004 และ 005) เมื่อทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ดสายพันธุ์ที่รวบรวมได้ใหม่ (005) ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน บนอาหารพีดีเอ พบว่าเส้นใยเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15,20,25 และ 30°ซ แตกต่างกัน แต่เส้นใยไม่เจริญที่ 35 และ 40°ซ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มองเห็นด้วยตาเปล่าพบว่าดอกมีลักษณะรูปกรวยตื้นจนถึงกรวยลึก สีน้ำตาลอ่อนหรือน้ำตาลอ่อนอมเหลืองหรือน้ำตาลอมเทา มีเกล็ด ก้านมีลักษณะกว้างตอนบนแล้วเรียวเล็กลงไปที่โคนซึ่งมีลักษณะเป็นราก มีขนหรือเกล็ด สีเดียวกับหมวกหรือเข้มกว่า สปอร์เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์พบมีลักษณะทรงรี และภาพพิมพ์สปอร์สีขาวหรือขาวนวล และเมื่อทดสอบการเจริญของเส้นใยและการเกิดดอกบนวัสดุเพาะของเห็ดต่งฝนทั้ง 5 ตัวอย่าง จำนวน 4 ครั้ง พบว่าเส้นใยเห็ดให้ผลผลิตได้แก่ 002, 003 และ 005

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

รวบรวม และคัดเลือกพันธุ์เห็ด *Oudemansiella* spp. จาก แหล่งต่าง ๆ เพื่อเป็นพันธุ์ทางการค้า

อัจฉรา พยัพพานนท์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ [1/] อุทัยวรรณ แสงวณิช
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขา
[1/]ภาควิชาจุลชีววิทยาป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทคัดย่อ

Oudemansiella spp. เป็นเห็ดที่บริโภคได้ มีคุณค่าทางโภชนาการและมีสรรพคุณทางยา สามารถจะส่งเสริมเป็นเห็ดเศรษฐกิจ ที่มีความปลอดภัยสูงจากสารเคมีได้ แต่ปัจจุบันขาดแคลนเชื้อพันธุ์ที่จะนำไปใช้เป็นเชื้อขยาย จึงได้ทำการ สำรวจ รวบรวม คัดเลือก เห็ดชนิดนี้จากที่ต่างๆ ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติพร้อมทดสอบประสิทธิภาพการผลิตในอาหารขี้เลื่อยและอาหารฟางหมักด้วยการเพาะในระบบถุง โดยดำเนินการที่กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชกรุงเทพมหานคร ระยะเวลาระหว่าง ตุลาคม 2551- กันยายน 2552

ผล การทดสอบ *Oudemansiella* spp. จำนวน 3 สายพันธุ์ พบว่าเส้นใยเห็ด เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 ^{O}ซ การให้ผลผลิตบนอาหารขี้เลื่อยและฟางหมัก ช่วงฤดูหนาว (เก็บผลผลิตระหว่างมกราคม-กุมภาพันธุ์ 2552) ช่วงฤดูร้อน-ฝน(เก็บผลผลิตระหว่างเมษายน-มิถุนายน 2552) และฤดูฝน-หนาว (เก็บผลผลิตกันยายน-ตุลาคม2552) พบว่า*Odemansiell* sp.-2 เจริญและให้ผลผลิตได้ดี โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 82.10, 88.305 และ 69.34 กรัมต่อถุง (800กรัม)ในอาหารขี้เลื่อย และ 51.17,32.154และ57.35 กรัมต่อ ถุง (800กรัม) ในอาหารฟางหมัก ส่วน*Oudemansiella* sp.-1 และ*Oudemansiella* sp.-3 เจริญไม่ดี เก็บผลผลิตวิเคราะห์ไม่ได้

ผลการวิเคราะห์ ดอกเห็ดสด มีโปรตีน 2.3 g/100g ไดเอทารี ไฟเบอร์ (Dietary Fiber) 3.8 g/100g แคลเซียม 22.80mg/kg นอกจากนั้นมี สังกะสี ซีลีเนียม เหล็ก วิตามินบี1 วิตามินบี2 และอื่นๆ

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-02-01-02-51

คำนำ

เห็ด *Oudemansiella* spp. พบได้ทั้งในเขตอบอุ่น (Temperate) และเขตร้อนชื้น (Tropical) เห็ดสกุล ซึ่ง Pegler (1986) รายงานว่าพบ *O. canarii* ได้ทั่วไปในเขตร้อน เช่น ประเทศบราซิล แทนซาเนีย อูกานดา และเคนยา แต่จะไม่ค่อยพบในพื้นที่เขตอบอุ่นตอนเหนือ ส่วนในเขตอบอุ่น Horn et al (1993) แจ้งรายละเอียดข้อมูลของเห็ด *O. radicata* ไว้ใน A Guide to Kansas Mushroom ว่าเป็นเห็ดที่เจริญเติบโตจากรากไม้ผุ มีรากยาวลึกลงจากหน้าผิวดินไม่น้อยกว่า 1 ฟุต ในประเทศญี่ปุ่น(Imazeki and Hongo,1995) มีเห็ดสกุลนี้ที่ได้มีการจำแนกไว้แล้วหลายชนิด ได้แก่ *O. mucida, O. pudans, O. veno-lamellata, O. fruneomarginate, O. platyphylle, O.canarii* และ *O. radicata* ส่วน Arora (1979) รายงานไว้ใน A Mushroom Demystified ลำดับเห็ดสกุลนี้ได้ 3 ชนิด คือ *O. platyphylle, O. radicata และ O. longipes* .

มีบางชนิดรับประทานได้มีคุณค่าทางด้านโภชนาการ บางชนิดมีสรรพคุณเป็นสมุนไพรสำหรับมนุษย์ และบางชนิดมีสารประกอบที่สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ ได้มีการเก็บตัวอย่างและบันทึกข้อมูลตั้งแต่ปีพ.ศ.2537 ไว้ ศึกษาประเมินการใช้ประโยชน์ เชื้อพันธุ์เพื่อนำไปใช้เป็นเชื้อขยาย กลุ่มเห็ดนี้ยังไม่มีการนำเข้าจากต่างประเทศโอกาสที่จะได้เชื้อเห็ด ต้องเก็บจากธรรมชาติ จึงต้องรีบเร่งสำรวจ รวบรวม และ คัดเลือก เห็ดชนิดนี้จากที่ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในธรรมชาติให้ได้เชื้อพันธุ์ไว้เป็นทรัพย์สิน ด้วยในสภาพภูมิอากาศที่มีการเปลี่ยนแปลงไม่เป็นไปตามฤดูกาล ส่งผลให้เห็ดลดน้อยลงทุกปี เมื่อไม่มีการเพิ่มเชื้อขยายในธรรมชาติ ดอกเห็ดย่อมเกิดไม่ได้ และที่สุดแล้วเห็ดชนิดนี้อาจสูญหายไปจากประเทศไทย.

วัตถุประสงค์ในการศึกษา เพื่อรวบรวมและคัดเลือกเชื้อพันธุ์เห็ด ไว้ขยายเป็นเชื้อบริการและเป็นพันธุ์อ้างอิงสำหรับไว้ใช้งานวิจัยขยายและวิจัยปรับปรุงพันธุ์ในอนาคตนั้น ในประเทศไทยยังไม่มีการรวบรวมเชื้อเห็ด *Oudemansiella* spp. และ ไม่พบรายงานว่าได้ได้มีการรวบรวมพันธุ์เห็ด เก็บรักษาไว้ นอกจากที่กรมวิชาการเกษตรซึ่งมีเชื้อพันธุ์อยู่บ้างจึงเห็นควรต้องรีบ สำรวจรวบรวมเห็ดดังกล่าว.

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1 อาหารเลี้ยงเชื้อเห็ด พีดีเอ

2 อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ จานแก้ว หลอดแก้ว ไมโครไปเปต เครื่องปั่นผสม

3 วัสดุสำหรับใช้เพาะได้แก่ ขี้เลื่อย ฟางข้าว มูลสัตว์ รำ ปูนขาว ถุงพลาสติกทนร้อน

4 หม้อนึ่งอัดความดัน หม้อนึ่งไม่อัดความดัน โรงเรือนเปิดดอก

วิธีการ

1.สำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างในธรรมชาติและแหล่งต่าง ๆ

1.1รวบรวม คัดเลือกเก็บตัวอย่างในธรรมชาติ (ภาคกลาง, ภาคใต้, ภาคเหนือ, ภาคตะวันออก,
ภาคตะวันตก) นำตัวอย่างจากแหล่งต่าง ๆ แยกเนื้อเยื่อเลี้ยงเป็นเส้นใยคัดเลือกเก็บไว้บนอาหารพีดีเอ

1.2 ศึกษาลักษณะสี ขนาด ดอกเห็ด โครงสร้างดอกเห็ด จากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ หมวกและครีบดอก ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์

1.3 บันทึกข้อมูล :บันทึกชนิดและขนาดของ trama, pleurocystidea, chyrocystidea สปอร์และอื่น ๆของดอกเห็ด ที่เก็บจากแหล่งต่างๆ

2. ทดสอบประสิทธิภาพการเกิดดอกเห็ด

2.1 ทดสอบการเจริญของเส้นใยที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45^{O}ซ บนอาหารพีดีเอ , วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวนกรรมวิธี (เชื้อพันธุ์เห็ด) ไม่น้อยกว่า 3 เชื้อพันธุ์

2.2 ศึกษาการให้ผลผลิต ลักษณะและคุณภาพดอกเห็ดจากการเพาะใน ฤดูหนาว ฤดูร้อนและฤดูฝน

2.2.1 เตรียม ก้อนอาหารเพาะ

2.2.1.1 ก้อนอาหารฟางหมัก

สูตรอาหารฟางหมัก : ฟางข้าว : มูลวัว :รำละเอียด : ปูนขาว ในอัตราส่วน 100: 25 : 5 :1 โดยน้ำหนักบรรจุถุงละ 500 กรัม เป็นก้อนอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ในหม้อนึ่งชนิดไม่อัดความดันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

2.2.1.2 ก้อนอาหารขี้เลื่อย

สูตร อาหารขี้เลื่อย : ขี้เลื่อย: รำ: ดีเกลือ :ปูนขาว: ยิปซัม ในอัตราส่วน 100:7:0.2:1 โดยน้ำหนักบรรจุถุงละ600กรัม เป็นก้อนอาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในหม้อนึ่งชนิดไม่อัดความดันเป็นเวลา3 ชั่วโมงใส่เชื้อเห็ด 3 สายพันธุ์ที่เลี้ยงอยู่ในเมล็ดข้าวฟ่าง

2.3 การเปิดดอก

เมื่อเส้นใยเจริญเต็มก้อนอาหารทั้ง 2 สูตร ย้ายถุงก้อนเชื้อไปเปิดให้เกิดดอกโดยถอดจุกสำลีออกจากปากถุงให้เกิดดอก ในโรงเรือนสภาพธรรมชาติที่ กลุ่มวิจัยโรคพืชสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร

วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 กรรมวิธี (เห็ด 3 สายพันธุ์)

บันทึกข้อมูล: บันทึกการเจริญเติบโตของเส้นใย ลักษณะ สี ขนาด น้ำหนักของดอกเห็ด

3.วิเคราะห์ คุณค่าทางโภชนาการของดอกเห็ด

ดอกเห็ดสดส่งวิเคราะห์ หาคุณค่าทางโภชนาการ โดยส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร (LCFA)

เวลาและสถานที่: ตุลาคม 2551 - กันยายน 2552

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

พื้นที่จังหวัด สกลนคร ตาก ชุมพร สุราษฎร์ธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.ผลการสำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างในธรรมชาติและแหล่งต่าง ๆ

ได้ รวบรวม เห็ด *Oudemansiella* spp. ซึ่ง ตัวอย่าง *Oudemansiella* sp-1 จาก อัจฉรา (2545) ได้เก็บ เห็ดที่ มีลักษณะเด่นคือสีผิวของหมวกคล้ายเห็ดหอม แต่มีความเป็นเมือกเนื้อหมวกหนาขณะยังไม่บาน ก้านดอกสีขาวมีขนบางๆ ดอกเห็ดเกิดบนขอนไม้ยางพาราในแปลงทดลองปลูกต้นยางพาราของพื้นที่งานวิชาการในศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดนราธิวาสในช่วง เดือนสิงหาคม-พฤศจิกายน ปี พ.ศ.2539 จากลักษณะดังกล่าวคาดว่าจะเป็นเห็ดที่รับประทานได้ จึงได้แยกเนื้อเยื่อเลี้ยงเส้นใยบริสุทธิ์ศึกษาพร้อมทดลองเพาะเบื้องต้น อาจารย์อนงค์ จันทร์ศรีกุล และ ดร. อุทัยวรรณ แสงวณิช ได้จำแนกเบื้องต้นว่าเป็นเห็ดในสกุล *Oudemansiella* spp. ในเดือน กรกฎาคม พ.ศ.2540–42 ยังคงพบเห็ดชนิดนี้เกิดในบริเวณพื้นที่เดิม แต่หลังจากนั้นมาจนปัจจุบันไม่พบอีกเลย ตัวอย่าง *Oudemansiella* sp-2 คุณศุภนิตย์ หิรัญประดิษฐ์ และ คุณยงยุทธ สายฟ้าได้ เก็บเห็ดชนิดนี้จากจังหวัดตาก เมื่อ พ.ศ. 2544 ได้ทดสอบเพาะเบื้องต้นเกิดเป็นดอกเช่นกันแต่ สายพันธุ์นี้มีลักษณะบางอย่างที่ต่างกับสายพันธุ์จากจังหวัดนราธิวาส ตัวอย่าง *Oudemansiella* sp-3เก็บได้ที่ อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย ในช่วงฤดูฝน เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2545 ซึ่งมีก้านดอกยาวปลายเรียวเหมือนรากพืช ก้านมีสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้มและดำ ส่วนของขอบครีบดอกมีสีน้ำตาลดำ Dr. Yusuaki Murakami จาก Oita Mushroom Research Institute ประเทศญี่ปุ่นจำแนกไว้ว่าเป็น *O. radicata* และ Horn et al (1993) แจ้งรายละเอียดข้อมูลของเห็ด *O. radicata* ไว้ใน A Guide to Kansas Mushroom ว่าเป็นเห็ดที่เจริญเติบโตจากรากไม้ผุ มีรากยาวลึกลงจากหน้าผิวดินไม่น้อยกว่า 1 ฟุต

จะได้จำแนก *Oudemansiella* sp.-1 และ *Oudemansiella* sp.-2 จากลักษณะรูปร่าง สี ขนาด ดอกเห็ด รูปร่างและขนาดสปอร์ และลักษณะโครงสร้างดอกเห็ด จากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ หมวกและครีบดอก ต่อไป

2. ประสิทธิภาพการให้ผลผลิต

2.1 ผลทดสอบการเจริญของเส้นใย O*demansiella* spp. 3 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45^{O}ซ บนอาหารพีดีเอ พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 ^{O}ซ

2.2 การให้ผลผลิตบนอาหารขี้เลื่อยและฟางหมักช่วงฤดูหนาว(เก็บผลผลิตระหว่างมกราคม-กุมภาพันธุ์ 2552) พบว่าO*demansiell* sp. -2 เจริญและให้ผลผลิตได้ดี โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 82.10 กรัมต่อถุง(800กรัม) ในอาหารขี้เลื่อย และ 51.17 กรัมต่อถุง(800กรัม) ในอาหารฟางหมัก ส่วน *Oudemansiella* sp. -1 และ *Oudemansiella* sp.-3 เจริญไม่ดี เก็บผลผลิตวิเคราะห์ไม่ได้

2.3 การให้ผลผลิตบนอาหารขี้เลื่อยและฟางหมักช่วงฤดูร้อน-ฝน(เก็บผลผลิตระหว่างเมษายน-มิถุนายน2552) พบว่า *Oudemansiella* sp. -2 ให้ผลผลิตได้ทั้งในอาหารขี้เลื่อย และฟางหมัก (ตารางที่1) ผลผลิตเห็ดจากอาหารขี้เลื่อยช่วงฤดูร้อนต่ำกว่าช่วงฤดูหนาว ส่วน *Oudemansiella* sp. -1 และ *Oudemansiella* sp.-3ไม่เกิดดอกเห็ด อุณหภูมิขณะเปิดดอกค่อนข้างสูง ภายในห้องเปิดดอกเวลา 08.00น.อุณหภูมิ อยู่ระหว่าง 27-29^{O} ซ และเวลา 13.00น.อุณหภูมิ อยู่ระหว่าง 29-33 ^{O}ซ จึงส่งผลการพัฒนาเส้นใยให้เกิดเป็นดอกได้ต่ำ

2.4 การให้ผลผลิตบนอาหารขี้เลื่อยและฟางหมักช่วงฤดูฝน-หนาว(เก็บผลผลิตระหว่างกันยายน-ตุลาคม2552) พบว่า *Oudemansiella* sp. -2 ให้ผลผลิตได้ดีบนอาหารขี้เลื่อย แต่ให้ผลผลิตต่ำบนอาหารฟางหมัก(ตารางที่2) ส่วน *Oudemansiella* sp.-3ให้ผลผลิตเพียงเล็กน้อย แต่ *Oudemansiella* sp. -1 ไม่เกิดดอก

สายพันธุ์ *Oudemansiella* sp. -1 จะเกิดดอกได้ง่ายบนพีดีเอ ที่อุณหภูมิห้อง และ *Oudemansiella* sp.-3 สามารถเกิดดอกบนพีดีเอ ที่อุณหภูมิ 20-25 ^{O}ซ

3. ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการเห็ด

ผลการวิเคราะห์ ดอกเห็ดสด มีโปรตีน 2.3 g/100g ไดเอทารี ไฟเบอร์(Dietary Fiber) 3.8 g/100g มีแคลเซียม 22.80mg/kg ซึ่ง สูงกว่า เห็ดตีนแรดที่มีแคลเซียม 6.16 mg/kg นอกจากนั้นมี สังกะสี ซีลีเนียม(อัจฉรา, 2549) ที่ช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากและมีวิตามินบี1 วิตามินบี2 ปริมาณ0.06,0.16 mg/100g (ตารางที่ 3)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

พันธุ์เห็ด Ou*demansiell* spp. ที่ผ่านการคัดเลือกและทดสอบ ในปี พ.ศ.2552 ได้สายพันธุ์ที่มีแนวโน้ม สามารถนำไปใช้เพาะในพื้นที่ กรุงเทพมหานคร ทุกฤดู จำนวน1 สายพันธุ์ จะทดสอบสายพันธุ์ที่รวบรวมได้เพิ่มในปี2553เพื่อ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ที่ทดสอบในปี2552.

เอกสารอ้างอิง

อัจฉรา พยัพพานนท์ 2545. เห็ดสกุล *Oudemansiella* จะเป็นเห็ดพาณิชย์. หน้า 45-55 ใน : เห็ดไทย 2545. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย. พิมพ์ที่บริษัท นิวธรรมดาการพิมพ์ (ประเทศไทยจำกัด).

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

Arora, D.1979. Mushroom demystified, a comprehensive guide to the fleshy fungi , 2nd ed. Ten Speed Press,Berkeley. 409 p.

Pegler, D.N. 1986. Agaric Flora of Srilanka. Kew Bull Add.Ser.XII, HMSO. London. 519 p.

ตารางที่ 1 ผลผลิตเห็ด *Oudemansiella* spp-2 เพาะด้วยอาหาร ขี้เลื่อย และ ฟางหมัก (กรัมต่อถุง)

กรรมวิธี	ม.ค. – ก.พ. 52	เม.ย.-มิ.ย.52
1.เพาะด้วยอาหารขี้เลื่อย	82.10	69.34
2.เพาะด้วยอาหารฟางหมัก	51.17	57.35
C.V. (%)	5.5	9.1
	Significant at 1% level	Significant at 5% level

ตารางที่2 ผลผลิตเห็ด *Oudemansiella* spp-2 เพาะด้วยอาหาร ขี้เลื่อย และ ฟางหมัก (ก.ย. -ต.ค. 2552)

กรรมวิธี	ผลผลิตเฉลี่ย (กรัมต่อ ถุง	จำนวนครั้งที่เก็บ
1.เพาะด้วยอาหารขี้เลื่อย	88.305	4.35
2.เพาะด้วยอาหารฟางหมัก	32.154	1.87
C.V. (%)	12.0	10.8
	Significant at 1% level	**Significant at 1% level**

ตารางที่3 ค่าวิเคราะห์ สารอาหาร เกลือแร่ ของ *Oudemansiella* sp-2

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ		รายการทดสอบผล	ผลการทดสอบ	
Protein	2.30	g/100g	Calcium	22.803	mg/kg
Fat	0.06	g/100g	Phosphorous	95.23	mg/100g
Sugar	Not detected		Ash	1.23	g/100g
Dietary Fiber	3.80	g/100g	Zn	0.52	mg/100g
Carbohydrate	8.60	g/100g	Selenium	0.003	mg/kg
Calories from Fat	0.54	Kcal/100g	Sodium	7.0	mg/100g
Calories	44.14	Kcal/100g	Vitamin B1	0.06	mg/100g
Iron	6.535	mg/kg	Vitamin B2	0.16	mg100g
			Moisture	87.81	g/100g

แหล่ง :ห้องปฏิบัติกลาง(ประเทศไทย) จำกัด พ.ศ.2552

(Laboratory Center for Food and Agricultural Products, 2009)

1 ลักษณะดอกเห็ดและการให้ผลผลิตของเห็ด *Oudemansiella* spp.

ภาพที่1. เห็ด *Oudemansiella* sp-2 ผลิตในอาหารฟางหมัก

ภาพที่2. เห็ด *Oudemansiella* sp -3 บน อาหาร พี ดี เอ

ภาพที่ 3.*Oudemansiella* sp-3 เพาะในอาหารขี้เลื่อย

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/]กลุ่มวิจัยกีฏวะและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]กลุ่มวิจัย และวิเคราะห์สถิติการเกษตร ศูนย์สารสนเทศ
[3/]คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทคัดย่อ

การผลิตปุ๋ยหมักเพื่อเพาะเห็ดฟางจะมี แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* spp.ที่มีบทบาทสำคัญต่อการย่อยสลายวัสดุที่จะทำปุ๋ยหมักให้ได้สารที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของเห็ดฟางและควบคุมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ปนเปื้อนอยู่ในปุ๋ยหมัก เพื่อให้ได้ผลผลิตเห็ดฟางที่มีคุณภาพดีและได้ปริมาณมากจากการเพาะเห็ดฟางระบบโรงเรือน จึงได้ทดสอบการเพาะเห็ดฟาง ด้วยปุ๋ยหมักที่ไม่เติมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. , เติม *Bacillus* sp.B-1, เติม *Bacillus* sp.B-2 , และเติมอาหารเหลว (Nutrient broth) เปรียบเทียบผลผลิต ดำเนินการ ระหว่าง ตุลาคม2550-กันยายน 2552 ที่ฟาร์มเพาะเห็ดฟางของ เกษตรกร ที่ อำเภอภาชี จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ผลการทดลอง ทั้งปีพ.ศ.2551 และปีพ.ศ.2552 พบว่า การใช้ ปุ๋ยหมักที่เติม *Bacillus* sp.B-1, *Bacillus* sp.B-2 เพาะเห็ดฟางให้ผลผลิต4.28,4.21 (ปีพ.ศ.2551)และ 3.74 ,3.99 (ปีพ.ศ.2552) สูงกว่าการเพาะด้วยปุ๋ยหมักที่ เติมอาหารเหลวและปุ๋ยหมักไม่ได้เติมแบคทีเรีย ที่ได้ผลผลิต 3.44,3.50 (ปีพ.ศ.2551) และ 3.24 ,3.34 (ปีพ.ศ.2552) กิโลกรัม ต่อตารางเมตร โดยลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดการเพาะของช่วงฤดูหนาว ร้อนและฤดูฝนทั้ง 2 ปี

รหัสทะเบียนวิจัย 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) ได้มีการศึกษาวิธีการใช้รา้อนหมักปุ๋ยขั้นสุดท้าย 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) จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สิรินันท์ 2550.) 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. เตรียมหมักปุ๋ย และอบไอน้ำวัสดุเพาะ

หมักวัสดุเพาะในสัดส่วนฟางข้าว:ขี้ฝ้าย:ยิปซัม:ปูนเปลือกหอย:ปูนขาว:ยูเรีย:แป้งข้าวเหนียว:รำ ละเอียด 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 และเตรียมเป็นเชื้อฉีดพ่น เลี้ยงลงอาหารNB วางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 24 ชม.

2.2พ่นอาหารที่เลี้ยงผสม*Bacills* sp.(B-1)มีจำนวน1.5x10^7cfu. ในปริมาณ 1ลิตร ลงปุ๋ยหมักบนแปลงขนาด1X5เมตร^{2}จำนวน3แปลง ต่อโรงเรือน

2.3 พ่นอาหารที่เลี้ยงผสม *Bacillus* sp. (B-2)มีจำนวน1.0 x10^7cfu. ในปริมาณ 1ลิตร ลงปุ๋ยหมักบนแปลงขนาด 1X5 เมตร^{2}จำนวน3 แปลงต่อโรงเรือน

2.4 พ่นอาหาร NBในปริมาณ 1ลิตร ลงปุ๋ยหมักบนแปลงขนาด 1X5 เมตร^{2}จำนวน3 แปลง ต่อโรงเรือน

2.5 พ่นน้ำเปล่าในปริมาณ 1ลิตร ลงปุ๋ยหมักบนแปลงขนาด 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

: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลการทดลองและวิจารณ์

เปรียบเทียบการให้ผลผลิตเห็ดฟางต่อการใช้ *Bacillus* spp.

1.ประสิทธิภาพการผลิตเห็ดฟางต่อการใช้ *Bacillus* spp. ปี 2552

เปรียบเทียบการให้ผลผลิตเห็ดฟาง ต่อการใช้ *Bacillus* sp. ปี พ.ศ.2552 การใช้แบคทีเรีย ทั้ง *Bacillus* sp. (B-1) และ *Bacillus* sp. (B-2) เพิ่มลงบนวัสดุหมักเพาะเห็ดฟาง ทั้ง ช่วง ฤดูหนาว ฤดูร้อน ฤดูร้อน-ฝน และ ฤดูฝน พบว่าให้ผลผลิตสูงกว่า การเพิ่ม อาหารNB และ เพิ่มเพียงน้ำเปล่า (ตารางที่ 1-7) ผลการทดลองเช่นเดียวกับปี2551 ซึ่ง จะให้ผลผลิตสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วง ฤดูร้อน และฤดูฝน ปีพ.ศ.2551(อัจฉรา และคณะ. 2551.)

2. ความสัมพันธ์ของฤดูกาล กับ *Bacillus* spp. ต่อการให้ผลผลิตเห็ดฟาง

ผลผลิตเห็ดฟางที่เพาะบนปุ๋ยหมัก ช่วงฤดูหนาว การเพิ่ม *Bacillus* sp. (B-2) ได้ผลผลิตสูงกว่า การเพิ่ม *Bacillus* sp. (B-1) และให้ผลผลิตสูงกว่า ส่วนการเพิ่ม *Bacillus* sp. (B-2)ให้ผลผลิต ได้สูงกว่าทั้ง ช่วงฤดูร้อน ฤดูฝน และการเพิ่ม *Bacillus* sp. (B-1) และ *Bacillus* sp. (B-2) ได้ผลผลิต สูงกว่า การเติ่มอาหารเหลวNB และไม่เพิ่มเติมใดๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งปี2551 และ2552 (ตารางที่8,9,10, 11,12)

ข้อสังเกตแปลงทดลองที่เพิ่ม *Bacillus* sp. (B-1) และ *Bacillus* sp. (B-2) ไม่พบเชื้อรา เช่นกลุ่มTrichoderma , Monilia , Aspergillus และ Penicillium หรือ อื่นๆ ซึ่ง สิรินันท์ (2550) ได้รายงานว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์10 หรือ *Paenibacillus polymyxa* หรือ *Bacillus* sp. (B-1) สามารถยับยั้งเชื้อราโรคพืช *Fusarium oxysporum ,Aspergillus niger, Alternaria* sp.และ *Sclerotium* sp. ได้ดี จากรายงานของ Nalisha และ Farizan (2006) ว่า *Bacillus subtilis* สามารถ ผลิต สารชีวภัณฑ์ ที่ต่อต้านการเจริญของ *Sclerotium rolfsii* ได้. การทำลาย *Monilinia fructicola* เชื้อสาเหตุ ทำให้ผลส้มเน่าเสีย พบว่าสามารถควบคุมโดยทางชีวภาพโดยใช้ *Bacillus subtilis* เป็นต้น *Bacillus* sp. (B-2) ซึ่งได้ตัวอย่างจาก โรงเรือนเพาะเห็ดฟาง ที่จ.

พระนครศรีอยุธยา และสามารถเพิ่มผลผลิตเห็ดฟางได้ดีตลอดทั้ง 2ปี จะได้มีการศึกษารายละเอียดคุณสมบัติของเชื้อต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลการทดลอง ทั้งปีพ.ศ.2551 และปีพ.ศ.2552 พบว่า การใช้ ปุ๋ยหมักที่เติม *Bacillus* sp.B-1, *Bacillus* sp.B-2 เพาะเห็ดฟางให้ผลผลิต สูงกว่าการเพาะด้วยปุ๋ยหมักที่ เติมอาหารเหลวและปุ๋ยหมักไม่ได้เติมแบคทีเรีย ตลอดการเพาะของช่วงฤดูหนาว ร้อนและฤดูฝนทั้ง 2 ปี เกษตรกรในพื้นที่ทำการทดสอบเห็นชอบนำไปใช้ประโยชน์ ต่อไปและผู้วิจัยจะได้พัฒนารูปแบบที่เหมาะสมที่เกษตรกรจะได้นำจุลินทรีย์ไปใช้

เอกสารอ้างอิง

สิรินันท์ ชมพูแสง. 2550. การจัดจำแนกและศึกษาคุณสมบัติของ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ N10. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัจฉรา พยัพพานนท์. 2541. เอกสารวิชาการเทคโนโลยีการผลิตเห็ดฟางในโรงเรือนกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 65 หน้า.

Nalisha,I., M.Muskhazli and T.Nor Farizan.2006.Production of Bioactive compounds by *Bacillus subtilis* against *Sclerotium rolfsii*.. Malaysian Jounal of Microbiology, 2:2 .19-23.

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 29 ธ.ค. 51 - 7ม.ค.52 ฤดูหนาวครั้งที่ 1

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	3.0250 c	26.37 c	2.8913 b	25.23b
2.B-2	5.113 a	44.62 a	4.5750 a	39.92 a
3.NB	4.0087 b	34.98 b	3.3413 b	29.16b
4.Control	4.1113 b	35.87 b	3.6081 b	31.48b
C.V. (%)	11.7		13.3	

ตารางที่ 2 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 23 ม.ค.-14 ก.พ 2552 ฤดูหนาวครั้งที่ 2

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	4.1417 a	36.13	3.4417 a	30.03
2.B-2	4.0917 a	35.70	3.8333 a	33.45
3.NB	3.3917 b	29.58	2.6500 c	23.12
4.Control	3.4583 b	30.10	3.1167 b	27.19
C.V. (%)	7.1		17.7	

ตารางที่ 3 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 6-30 มี.ค.2552 ช่วงฤดูร้อน ครั้งที่1

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	5.4167a	47.29	4.8083 a	41.98
2.B-2	5.2167a	45.54	4.8167a	42.05
3.NB	4.2417b	36.81	4.3250 a	37.76
4.Control	4.4583b	38.92	4.2833 a	37.96
C.V. (%)	6.5		12.1	

ตารางที่ 4 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 24 เม.ย.-12 พ.ค.2552 ช่วงฤดูร้อนครั้งที่ 2

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	4.4083a	38.48	4.3667 a	38.12
2.B-2	3.7000ab	32.30	4.2917ab	37.47
3.NB	3.2083 b	28.01	3.2000 bc	27.94
4.Control	3.0917 b	26.99	2.8583 c	24.95
C.V. (%)	12		15	

ตารางที่ 5 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อ วันที่ 22 พ.ค. -10 มิ.ย.52 ช่วงฤดูร้อนครั้งที่ 3

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	3.5667a	31.12	3.5917 a	31.3412
2.B-2	3.2833ab	28.65	3.4083a	29.7408
3.NB	3.0167 b	26.3237	2.7917a	24.0986
4.Control	3.2250 b	28.1414	3.4083 a	29.7408
C.V. (%)	4.6		12.6	

ตารางที่ 6 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อวันที่14-ก.ค.-4ส.ค.52 ช่วงฤดูฝน ครั้งที่ 1

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	3.1750a	27.7051	3.1000 a	27.0506
2.B-2	3.1333a	27.3412	3.2500a	28.3595
3.NB	2.6333a	22.9782	2.6667a	23.2696
4.Control	2.9750a	25.9598	2.4750a	21.5968
C.V. (%)	17.8		13.1	

ตารางที่ 7 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ เมื่อวันที่14ส.ค.-4 ก.ย. 52) ช่วงฤดูฝนครั้งที่ 2

กรรมวิธี	โรงเรือนที่1		โรงเรือนที่2	
	กก./ตรม.	%B.E.	กก./ตรม.	%B.E.
1.B-1	3.3167ab	28.9415	4.3167a	37.6675
2.B-2	3.5917a	31.3412	3.8167b	33.3045
3.NB	2.9833b	26.0323	3.3667c	29.3778
4.Control	2.9083b	25.3778	3.2750c	28.5776
C.V. (%)	6.7		4.5	

ตารางที่ 8 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย (กก./ตร.ม.) เพาะจากวัสดุหมักซึ่ง เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ ช่วงฤดูหนาว ร้อน และฤดู ฝน (ระหว่าง ธ.ค.51- ก.ย.52)

กรรมวิธี	ฤดูหนาว	ฤดูร้อน	ฤดูฝน	ผลผลิตเฉลี่ย ทั้ง3 ฤดู
1.B-1	3.3750 **b**	4.35973 **a**	3.47710 **a**	3.73729 **a**
2.B-2	4.40213 **a**	4.11943 **a**	3.44793 **a**	3.98983 **a**
3.NB	3.34793 **b**	3.46377 **b**	2.91253 **b**	3.24141 **b**
4.Control	3.57303 **b**	3.55417 **b**	2.90833 **b**	3.34518 **b**
ผลผลิตเฉลี่ย แต่ละฤดู	3.67453	3.87428	3.18648	3.57843
C.V. **(%)**	4.8	5.8	5.8	5.5

ตารางที่ 9 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย(กก./ตรม.) เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ ระหว่าง ต.ค.50- ก.ย.51

กรรมวิธี	ครั้งที่/ฤดู						
	ฤดูหนาว		ฤดูร้อน			ฤดูฝน	
	1	2	1	2	3	1	2
1.B-1	4.06	5.346	4.309 a	3.59 a	5.6 a	4.85 a	2.42
2.B-2	4.33	4.49	4.625 a	3.58 a	4.85 b	4.32 ab	2.41
3.NB	4.073	4.57	3.44 b	2.71 b	3.53 c	3.4 c	2.15
4.Control	3.98	4.68	3.155 b	2.90 b	3.68 c	3.45 bc	2.21
C.V.(%)	6.1	20.5	9.7	7.4	5.7	10.6	13.7

ตารางที่ 10 ผลผลิตเห็ดฟางเฉลี่ย (กก./ตรม.) เพาะจากวัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์ ระหว่าง ต.ค.51-ก.ย.52

กรรมวิธี	ครั้งที่/ ฤดู						
	ฤดูหนาว		ฤดูร้อน			ฤดูฝน	
	1	2	1	2	3	1	2
1.B-1	2.950 c	3.790 a	5.125 a	4.387 a	3.579 a	3.137	3.817 a
2.B-2	4.841 a	3.960 a	5.0167 a	3.996 ab	3.3458 a	3.192	3.704 a
3.NB	3.675 b	3.020 b	4.283 b	3.204 bc	2.904 b	2.650	3.175 b
4.Control	3.850 b	3.280 ab	4.371 b	2.975 c	3.167 a	2.725	3.092 b
C.V.(%)	4.5	9.5	5.5	13.3	6.1	10.2	4.1

ตารางที่ 11 ความสัมพันธุ์ ของฤดูกาลต่อการให้ผลผลิตเห็ดฟาง จากการเพาะด้วย วัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์เมื่อปีพ.ศ.2551

กิจกรรม	หนาว	ร้อน	ฝน	เฉลี่ย
1.B-1	4.688	4.500	3.689	4.28 a
2.B-2	4.910	4.355	3.369	4.21 a
3.NB	4.320	3.229	2.779	3.44 b
4.Control	4.330	3.247	2.916	3.50 b
Mean	4.564	3.834	3.176	3.857
C.V. (%)	7.1			

ตารางที่ 12 ความสัมพันธ์ของฤดูกาลต่อการให้ผลผลิตเห็ดฟาง จากการเพาะด้วย วัสดุหมัก เติม/ไม่เติมจุลินทรีย์เมื่อปีพ.ศ.2552

กิจกรรม	หนาว	ร้อน	ฝน	เฉลี่ย
1.B-1	3.375 b	4.359 a	3.477	3.737 a
2.B-2	4.402 a	4.119 a	3.448	3.989 a
3.NB	3.347 b	3.464 b	2.913	3.241 b
4.Control	3.573 b	3.554 b	2.908	3.345 b
Mean	3.675	3.874	3.186	3.578
C.V.(%)	5.5			

การใช้ฟางข้าวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเห็ดนางรม

Using Rice Straw for Efficiency of Pleurotus Mushroom Production

สุวลักษณ์ ชัยชูโชติ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

นำฟางข้าวมาใช้เป็นวัสดุเพื่อเพาะเห็ดนางรมฮังการีซึ่งเป็นหนึ่งในเห็ดสกุลนางรม โดยมีการใช้น้ำปูนเพื่อช่วยปรับสภาพวัสดุเพาะเปรียบเทียบกับการแช่น้ำ พบว่าการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 3, 6 หรือ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปเตรียมเป็นวัสดุเพาะเห็ดสูตรที่ไม่มีรำเป็นอาหารเสริม และสูตรที่เติมรำเป็นอาหารเสริมโดยนึ่งฆ่าเชื้อแบบไม่มีความดัน สามารถใช้เพาะเห็ดนางรมฮังการีได้ โดยการปฏิบัติงานสามารถทำได้ ซึ่งงานที่จะดำเนินการต่อไปจะนำน้ำหมักชีวภาพทดสอบเพื่อช่วยปรับสภาพวัสดุเพาะเปรียบเทียบกับการใช้น้ำปูนและการใช้น้ำ

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 ($Ca(OH)_2$) ความเข้มข้น 0.5 % เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และเตรียมเป็นวัสดุเพาะ 4 สูตร และทดสอบเพาะเห็ดสกุลนางรม

1.1 เตรียมเชื้อเห็ดทดลองบนอาหารพีดีเอ นำไปขยายเชื้อบนเมล็ดข้าวฟ่างที่บรรจุในขวดแก้วผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อปนเปื้อนแล้ว บ่มเส้นใยในอุณหภูมิห้อง เมื่อเส้นใยเจริญเต็มนำไปใช้เป็นเชื้อเพาะ

1.2 เตรียมวัสดุเพาะ โดยใช้ฟางสับแช่ในน้ำปูน ($Ca(OH)_2$) ความเข้มข้น 0.5 % เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และใช้ฟางข้าวแช่น้ำเป็นตัวเปรียบเทียบ

1.3 เตรียมเป็นวัสดุเพาะ 4 สูตร ได้แก่สูตรที่1: ฟางแช่น้ำ, สูตรที่2: ฟางแช่น้ำ+รำ ,สูตรที่3: ฟางแช่น้ำปูน และ สูตรที่4: ฟางแช่น้ำปูน+รำ อัดวัสดุเพาะแต่ละสูตรใส่บล็อกไม้สี่เหลี่ยม อัดให้แน่น ถอดบล็อกไม้ คลุมด้วยพลาสติก ทิ้งไว้ค้างคืน

1.4 บรรจุและอัดวัสดุเพาะใส่ถุงพลาสติกเพาะเห็ดน้ำหนัก 500 กรัม นึ่งฆ่าเชื้อแบบไม่มีความดันเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100°ซ

1.5 ใส่เชื้อเพาะที่เตรียมไว้ บ่มก้อนเชื้อในโรงเรือนสภาพไม่ควบคุมอุณหภูมิ

1.6 เมื่อเส้นใยเจริญเต็มถุง นำไปเปิดดอกในโรงเรือนไม่ควบคุมอุณหภูมิ รักษาอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ด้วยการให้น้ำ และระบายอากาศ จนเกิดดอกเห็ด เก็บผลผลิต

1.7 การเก็บข้อมูล

- บันทึกการเจริญของเส้นใย น้ำหนักดอกสด อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
- วัดความชื้น / ความเป็นกรด-ด่าง ของวัสดุเพาะทั้ง 4 สูตร ก่อนใส่เชื้อเพาะ
- ตรวจหาจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียในวัสดุเพาะ ทั้ง 4 สูตร ก่อนใส่เชื้อเพาะ

2. ศึกษาการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 6 และ 3 ชั่วโมง และทดสอบเพาะเห็ดสกุลนางรม

ดำเนินงานเช่นเดียวกับข้อ 1

เวลาและสถานที่

เริ่มดำเนินงานตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553

สถานที่ :- กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

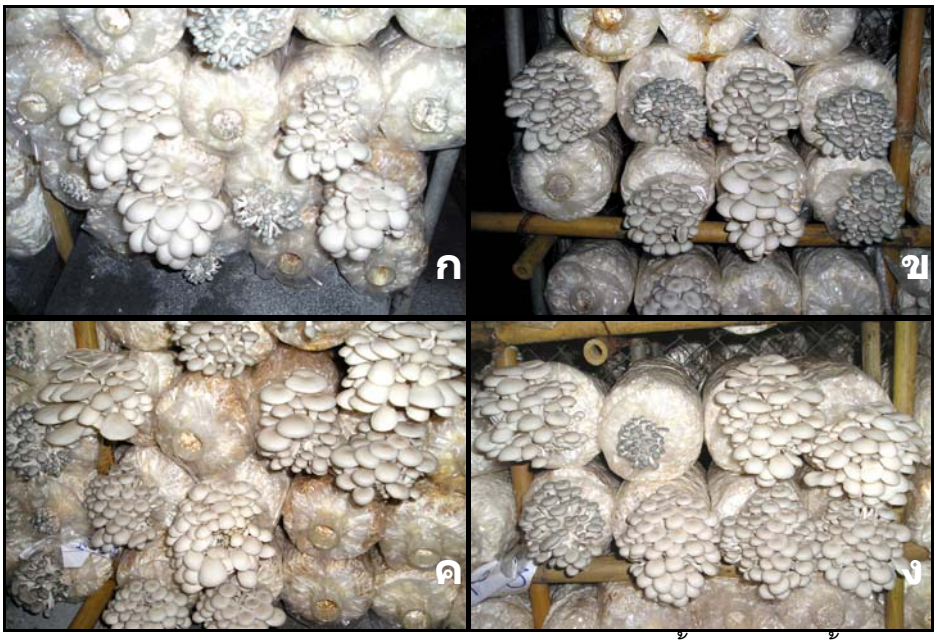
การทดลองนี้ดำเนินการต่อเนื่องจากปีงบประมาณ 2551 ซึ่งผลการทดลองในปีงบประมาณ 2552 เป็นดังนี้

1. ศึกษาการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 12 ชั่วโมง และทดสอบเพาะเห็ดสกุลนางรม

จากการทดสอบเพาะเห็ดนางรมฮังการีบนฟางข้าวแช่ในน้ำปูน (CaOH) 0.5 % หรือ แช่น้ำธรรมดา เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และเตรียมเป็นวัสดุเพาะ 4 สูตร ดำเนินการเพาะ 2 ชุด

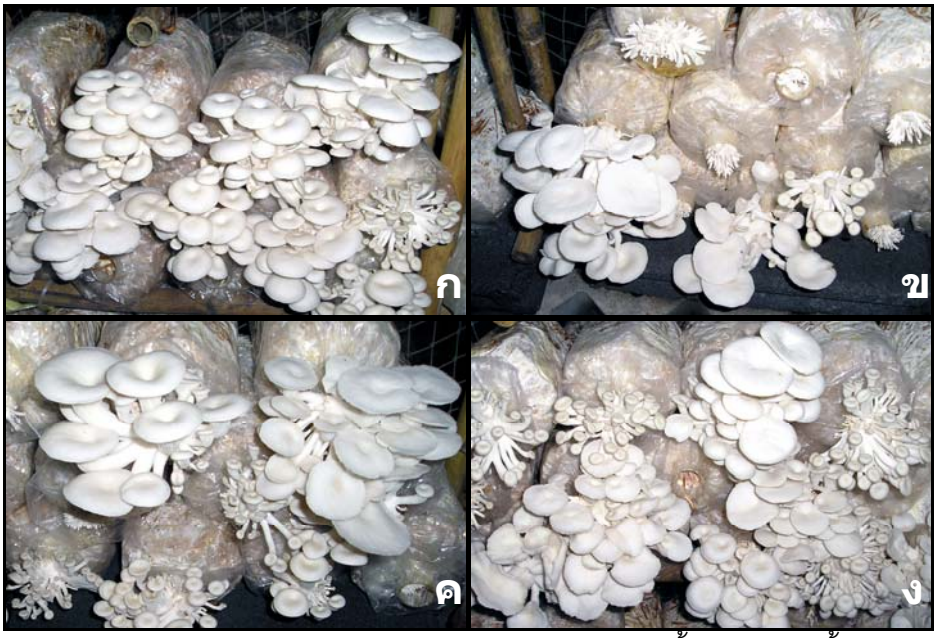
1.1 ชุดที่ 1 ช่วงการเพาะเดือนธันวาคม 2551-มีนาคม 2552 (ระยะเวลาเก็บผลผลิต 60 วัน) พบว่าเห็ดนางรมฮังการีให้ผลผลิตบนวัสดุเพาะทั้ง 4 สูตร

1.2 ชุดที่ 2 ช่วงการเพาะเดือนกุมภาพันธ์ - พฤษภาคม 2552 (ระยะเวลาเก็บผลผลิต 60 วัน) พบว่าเห็ดนางรมฮังการีให้ผลผลิตบนวัสดุเพาะทั้ง 4 สูตร



ภาพที่ 1 ดอกเห็ดนางรมฮังการีบนวัสดุเพาะเป็นฟางข้าวแช่น้ำปูนและแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จำนวน 4 สูตร (ชุดที่ 1)

ก : สูตรที่1 **ข** : สูตรที่2 **ค**: สูตรที่3 และ **ง** : สูตรที่ 4

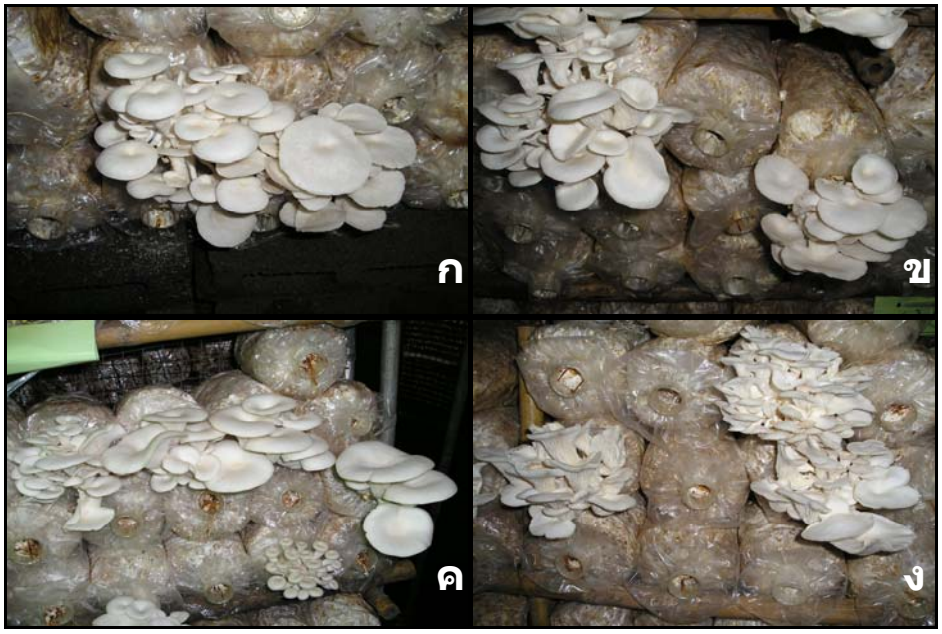


ภาพที่ 2 ดอกเห็ดนางรมฮังการีบนวัสดุเพาะเป็นฟางข้าวแช่น้ำปูนและแช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จำนวน 4 สูตร (ชุดที่ 2)

ก : สูตรที่1 **ข** : สูตรที่2 **ค**: สูตรที่3 และ **ง** : สูตรที่ 4

2. **ศึกษาการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 6 ชั่วโมง และทดสอบเพาะเห็ดสกุลนางรม**

จากการทดสอบเพาะเห็ดนางรมฮังการีบนฟางข้าวแช่ในน้ำปูน (CaOH) 0.5 % หรือ แช่น้ำธรรมดา เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และเตรียมเป็นวัสดุเพาะ 4 สูตร ช่วงการเพาะเดือนมิถุนายน-กันยายน 2552 (ระยะเวลาเก็บผลผลิต 60 วัน) พบว่าเห็ดนางรมฮังการีให้ผลผลิตบนวัสดุเพาะทั้ง 4 สูตร



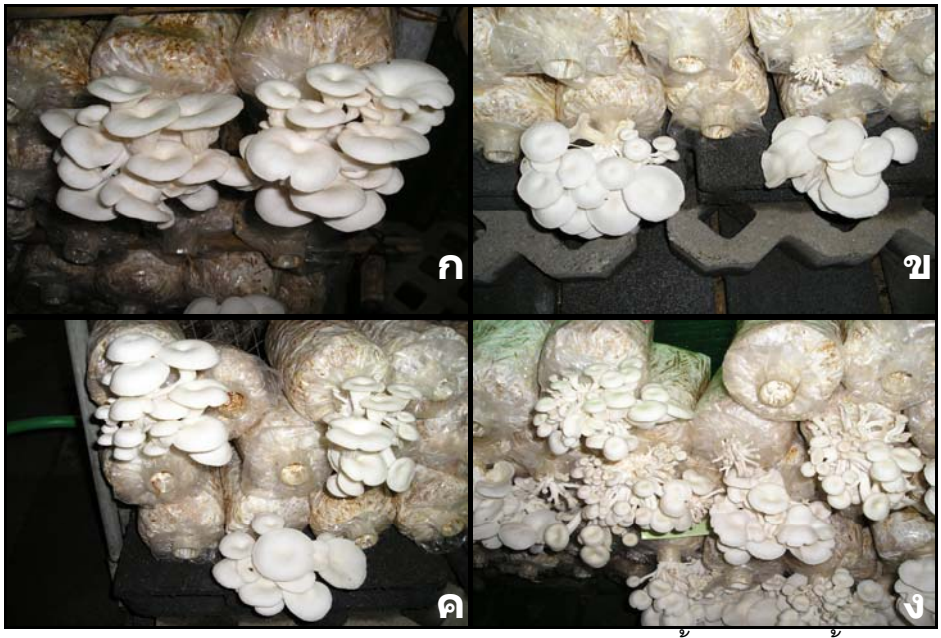
ภาพที่ 3 ดอกเห็ดนางรมฮังการีบนวัสดุเพาะเป็นฟางข้าวแช่น้ำปูนและแช่น้ำเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จำนวน 4 สูตร

ก : สูตรที่1 **ข** : สูตรที่2 **ค**: สูตรที่3 และ **ง** : สูตรที่ 4

3. **ศึกษาการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 3 ชั่วโมง และทดสอบเพาะเห็ดสกุลนางรม**

จากการทดสอบเพาะเห็ดนางรมฮังการีบนฟางข้าวแช่ในน้ำปูน (CaOH) 0.5 % หรือ แช่น้ำธรรมดา เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และเตรียมเป็นวัสดุเพาะ 4 สูตร ดำเนินการเพาะ 2 ชุด

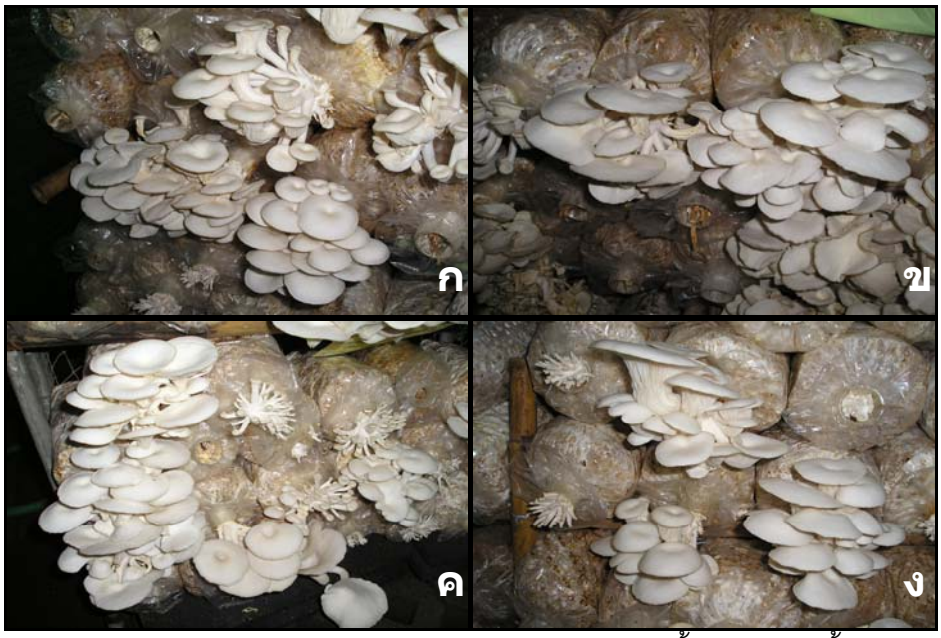
3.1 ชุดที่ 1 ช่วงการเพาะพฤษภาคม-กรกฎาคม 2552 (ระยะเวลาเก็บผลผลิต 60 วัน) พบว่าเห็ดนางรมฮังการีให้ผลผลิตบนวัสดุเพาะทั้ง 4 สูตร



ภาพที่ 4 ดอกเห็ดนางรมฮังการีบนวัสดุเพาะเป็นฟางข้าวแช่น้ำปูนและแช่น้ำ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จำนวน 4 สูตร (ชุดที่ 1)

ก : สูตรที่1 **ข** : สูตรที่2 **ค**: สูตรที่3 และ **ง** : สูตรที่ 4

3.2 ชุดที่ 2 ช่วงการเพาะสิงหาคม – ตุลาคม 2552 (ระยะเวลาเก็บผลผลิต 60 วัน) พบว่าเห็ดนางรมฮังการีให้ผลผลิตบนวัสดุเพาะทั้ง 4 สูตร



ภาพที่ 5 ดอกเห็ดนางรมฮังการีบนวัสดุเพาะเป็นฟางข้าวแช่น้ำปูนและแช่น้ำ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จำนวน 4 สูตร (ชุดที่ 2)

ก : สูตรที่1 **ข** : สูตรที่2 **ค**: สูตรที่3 และ **ง** : สูตรที่ 4

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการนำฟางข้าวมาใช้เป็นวัสดุหมุนเวียนหรือทดแทนเพื่อเพาะเห็ดสกุลนางรม โดยมีการใช้น้ำปูนเพื่อช่วยปรับสภาพวัสดุเพาะเปรียบเทียบกับการแช่น้ำ พบว่าการแช่ฟางข้าวในน้ำปูน 3, 6 หรือ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปเตรียมเป็นวัสดุเพาะเห็ดสูตรที่ไม่มีรำเป็นอาหารเสริม และสูตรที่เติมรำเป็นอาหารเสริมโดยนึ่งฆ่าเชื้อแบบไม่มีความดัน สามารถใช้เพาะเห็ดนางรมฮังการีได้ โดยการปฏิบัติงานสามารถทำได้ ซึ่งงานที่จะดำเนินการต่อไปจะนำน้ำหมักชีวภาพทดสอบเพื่อช่วยปรับสภาพวัสดุเพาะเปรียบเทียบกับการใช้น้ำปูนและการใช้น้ำ

เอกสารอ้างอิง

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

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

การศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดโดยการใช้สารฆ่าไร

Studies on Biology and Control of Dolichocybid Mite, *Dolichocybe indica* Mahunka on Mushrooms by Aplication of Some Acaricides

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

บทคัดย่อ

การศึกษาการเพิ่มปริมาณไรลูกโป่ง ชีววิทยา การทำลาย อาหาร และการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง ประกอบด้วย 5 การทดลอง คือ 1. วิธีการเลี้ยงไรลูกโป่งให้ได้ปริมาณมาก 2. ชีววิทยาของไรลูกโป่ง 3. การทำลายเห็ดหูหนูของไรลูกโป่ง 4. ศึกษาเห็ดชนิดต่างๆที่เป็นอาหารของไรลูกโป่ง และ 5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะก่อนท้องในสภาพโรงเรือนที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 27±2°c และความชื้นสัมพัทธ์ 65±3% และที่โรงเรือนเพาะเห็ดกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2548-กันยายน พ.ศ. 2552 ผลการทดลองพบว่าวิธีการเลี้ยงไรลูกโป่งให้ได้ปริมาณมากพอเพียงต่อความต้องการและสะดวกต่อการนำไปใช้ในงานทดลองด้านต่างๆ คือ การใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างใส่ในขวดฝาเกลียวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. สูง 8.5 ซม. โดยใส่เมล็ดข้าวฟ่างสูง 1.5 ซม. จากก้นขวด ไรลูกโป่งเพศเมียระยะก่อนท้องใช้เวลานานเฉลี่ย 3.22 วัน ไรลูกโป่งเพศเมียระยะตั้งท้องใช้เวลานานเฉลี่ย 7.22 วัน สามารถให้ลูกได้เฉลี่ย 109.53 ตัว/เพศเมีย การทำลายเห็ดหูหนูของไรลูกโป่งจำนวน 200 ตัว/ก้อน ในขณะที่เส้นใยเริ่มเดิน มีผลทำให้ผลผลิตลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ถูกไรลูกโป่งทำลาย

เห็ดที่ไรลูกโป่งสามารถทำลายได้ 4 ชนิด ได้แก่ เห็ดหูหนู เห็ดเข็มเงิน เห็ดแครง และเห็ดยานางิส่วนเห็ดที่ไรลูกโป่งไม่สามารถทำลายได้ ได้แก่ เห็ดขอนขาว เห็ดนางฟ้า เห็ดกระด้าง เห็ดนางรม เห็ดนางรมอังการี และเห็ดหอมและสารฆ่าไรที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง ได้แก่ amitraz อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร pyridaben อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร propargite อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ fenbutatin oxide อัตรา 10 มล./น้ำ 20 ลิตร

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-01-01-49

คำนำ

เห็ดถูกนำมาใช้เป็นอาหารของมนุษย์เป็นเวลานานแล้ว มีหลักฐานว่าเห็ดเกิดขึ้นบนโลกมานานกว่า 130 ล้านปี ก่อนที่มนุษย์จะเกิดขึ้นบนโลก (พิมพ์กานต์, 2543) ในปี พ.ศ. 2544/2545 ผลผลิตเห็ดมีมูลค่าประมาณ 5,446 ล้านบาท (ชาญยุทธ์, 2544) จัดว่ามีมูลค่าการผลิตสูงอย่างหนึ่ง และส่วนใหญ่บริโภคภายในประเทศ โดยเฉพาะเห็ดยานางเป็นเห็ดชนิดหนึ่งที่เกษตรกรนิยมเพาะ เนื่องจากได้ราคาดีและเป็นที่ต้องการของตลาด แต่การเพาะเห็ดชนิดนี้มีศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งคือ ไรลูกโป่ง *D. indica* ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความยาวของลำตัวเฉลี่ย 132.81 ไมครอน กว้างเฉลี่ย 52.97 ไมครอน ลำตัวแคบ ด้านท้ายมน ลำตัวด้านหน้าจะแคบ ส่วนกว้างที่สุด จะอยู่ตรงบริเวณกึ่งกลางลำตัว ตัวมีสีขาวใส ผนังลำตัวเรียบ บนลำตัวด้านหลังส่วนหน้ามีขน ซึ่งมีลักษณะพิเศษคือ bothrydium 1 คู่ ตัวเต็มวัยเพศผู้มีรูปร่างลักษณะโดยทั่วไปคล้ายเพศเมีย แต่ลำตัวอ้วนและสั้นกว่าเพศเมียเล็กน้อย ความยาวของลำตัวเฉลี่ย 114.06 ไมครอน กว้างเฉลี่ย 64.06 ไมครอน ตัวใสไม่มีสี บนหลังบริเวณลำตัวด้านหลังส่วนหน้าไม่มีขน bothrydium ไรชนิดนี้สามารถเคลื่อนไหวได้รวดเร็วมาก และจะเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา เพศเมียเมื่อออกจากท้องแม่และได้รับการผสมพันธุ์จากเพศผู้แล้ว ส่วนท้องบริเวณที่อยู่ถัดจากขา 2 คู่แรกลงมา (hysterosoma) จะค่อยๆขยายพองออกคล้ายลูกโป่ง และหยุดการเคลื่อนไหว เกาะตัวติดแน่นอยู่กับวัสดุที่ใช้เพาะเห็ด ส่วนท้องของไรเพศเมียที่ขยายพองออกนี้ จะมีขนาดโตขึ้นจนสามารถมองเห็นได้ชัดเจนด้วยตาเปล่า มีลักษณะเป็นเม็ดกลม ใส หัวท้ายแหลม ภายในมีไข่และตัวอ่อนเจริญอยู่ ขนาดตัวของเพศเมียขณะท้อง ไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับจำนวนตัวอ่อนภายในท้องและอาหารที่เพศเมียกินเข้าไป เมื่อตัวอ่อนใกล้จะฟักจากท้องแม่ เม็ดกลมๆเหล่านี้จะมีสีขาวขุ่นหรือขาวอมเหลือง เป็นศัตรูสำคัญของเห็ดที่เพาะเป็นการค้าหลายชนิด เช่น เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดนางรม เห็ดนางรมภูฏาน เห็ดหูหนู และเห็ดหอม (วัฒนาและคณะ, 2529) ไรชนิดนี้ยังเป็นศัตรูสำคัญของเห็ดยานาง โดยทำลายเส้นใยเห็ดยานางทั้งในระยะที่เส้นใยกำลังเจริญอยู่ในขวดหัวเชื้อ ซึ่งทำด้วยเมล็ดข้าวฟ่าง และในก้อนเชื้อเห็ดที่กำลังบ่มเส้นใย จะทำลายส้นใยที่อยู่ในขวด ทำให้เส้นใยบาง และยังทำให้ปนเปื้อนมาสู่ก้อนเชื้อเห็ด เมื่อถ่ายใส่ก้อนเชื้อเห็ด ไรเพิ่มจำนวนมากขึ้น จะทำลายเส้นใยเห็ดที่กำลังเจริญเติบโตเป็นสีขาวรอบๆก้อนเชื้อเห็ดหายไป เหลือแต่วัสดุที่ใช้เพาะเป็นสีน้ำตาล ทำให้ไม่สามารถเจริญให้ดอกดังเช่นปกติได้

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับชีววิทยาและสารฆ่าไรที่จะนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง เพื่อใช้เป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งในเห็ดที่ไรชนิดนี้ทำลาย เพื่อลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ไรลูกโป่ง
- 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% SC)
- ขวดเชื้อเห็ดหูหนู
- ก้อนเชื้อเห็ดหูหนู

วิธีการ

1. **ศึกษาวิธีการเลี้ยงไรลูกโป่งให้ได้ปริมาณมาก**

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 ซ้ำๆละ 2 ขวด มีทั้งหมด 3 กรรมวิธี ดังนี้ คือ

1. ใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างสูง 1.5 ซม. จากก้นขวด
2. ใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างสูง 3.0 ซม. จากก้นขวด
3. ใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างสูง 4.5 ซม. จากก้นขวด

ทำการปล่อยไรลูกโป่งในระยะก่อนท้อง จำนวน 20 ตัว/ขวด ในทุกกรรมวิธีทิ้งไว้ 15 วัน ทำการตรวจนับปริมาณไรลูกโป่งในระยะก่อนท้อง โดยสุ่มเมล็ดข้าวฟ่างซ้ำละ 10 เมล็ด บันทึกปริมาณไรลูกโป่ง/เมล็ด ในแต่ละกรรมวิธีและนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

2. **ศึกษาชีววิทยาของไรลูกโป่ง**

ใส่ไรลูกโป่งระยะก่อนท้องที่พึ่งออกจากท้องแม่จำนวน 1 ตัว/ขวด (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม.) บนเส้นใยเห็ดหูหนู เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตจนกระทั่งเข้าสู่ระยะตั้งท้อง

เช็คผลทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวเต็มวัยออกจากท้องแม่ บันทึกระยะตัวเต็มวัยเพศเมียระยะก่อนท้อง ระยะตั้งท้อง และจำนวนลูกที่ได้

3. ศึกษาการทำลายเห็ดหูหนูของไรลูกโป่ง

เปรียบเทียบ 2 กรรมวิธีแบบรวมกลุ่มมี 10 ซ้ำๆละ 5 โดยเตรียมถุงก้อนเชื้อโดยมีส่วนผสมของขี้เลื่อยและอาหารเสริม นึ่งฆ่าเชื้อโดยไม่อัดความดัน แล้วเติมหัวเชื้อเห็ดหูหนูลงไปในถุง บ่มก้อนเชื้อ กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ไรลูกโป่งในก้อนเชื้อ ส่วนกรรมวิธีที่ 2 ใส่ไรลูกโป่งระยะก่อนท้อง 200 ตัวในก้อนเชื้อ 1 ก้อน บันทึกน้ำหนักของผลผลิตและนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยผลผลิตของ 2 กรรมวิธี โดยใช้สถิติ t-test

4. ศึกษาเห็ดชนิดต่าง ๆ ที่เป็นอาหารของไรลูกโป่ง

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 ซ้ำๆละ 3 ขวด มีทั้งหมด 11 กรรมวิธี ดังนี้ คือ

1. เห็ดนางรม
2. เห็ดเป๋าฮื้อ
3. เห็ดเข็มเงิน
4. เห็ดนางรมฮังการี
5. เห็ดขอนขาว
6. เห็ดหูหนู
7. เห็ดนางฟ้า
8. เห็ดแครง
9. เห็ดกระด้าง
10. เห็ดหอม
11. เห็ดยานางิ

เริ่มทำการทดลองโดยใส่ไรลูกโป่งระยะก่อนท้องที่พึ่งออกจากท้องแม่จำนวน 2 ตัว/ขวด (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. สูง 4ซม.) บนเส้นใยเห็ดทั้ง 12 ชนิด เพื่อให้เจริญเติบโตจนกระทั่งเข้าสู่ระยะตั้งท้อง เช็คผลทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวเต็มวัยออกจากท้องแม่ บันทึกระยะตัวเต็มวัยเพศเมียระยะก่อนท้อง ระยะตั้งท้องและจำนวนลูกที่ได้และนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะก่อนท้องในสภาพโรงเรือน

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 ซ้ำๆละ 5 ก้อน มีทั้งหมด 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)

เริ่มทำการทดลองโดยการเติมหัวเชื้อข้าวฟ่างจำนวน 20 ขวด แล้วปล่อยไรลูกโป่ง ระยะก่อนท้องลงในขวดหัวเชื้อข้าวฟ่างจำนวน 200 ตัว/ขวด เก็บไว้นาน 15 วัน นำเอาเชื้อเห็ดบนเมล็ดข้าวฟ่างที่มีไรลูกโป่งจำนวน 200 ตัว/เมล็ด วางบนจานแก้ว 1 ขวด/1 จานแก้ว ใช้ forcep แยกเมล็ดข้าวฟ่างแต่ละเมล็ดออกจากกัน พ่นสารฆ่าไรแต่ละชนิด และไม่พ่นสารฆ่าไร(พ่นน้ำเปล่า) แต่ละกรรมวิธีผสมสารจับใบ 250 ppm ใส่เมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงก้อนเชื้อจำนวน 5 เมล็ด/ก้อน ทำซ้ำละ 5 ก้อน บ่มก้อนเชื้อไว้ในโรงเรือนเป็นเวลา 15 วัน เช็คผลโดยตรวจนับปริมาณไรลูกโป่ง 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. บันทึกปริมาณไรลูกโป่ง/พท.ถุงพลาสติก 1 ตร.ซม. โดยการสุ่มถุงละ 4 จุด ในแต่ละกรรมวิธีและนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ตุลาคม 2548 **สิ้นสุด** กันยายน 2552

ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ห้องปฏิบัติการและโรงเพาะเห็ดกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ศึกษาวิธีการเลี้ยงไรลูกโป่งให้ได้ปริมาณมาก

จากผลการทดลองทั้ง 3 กรรมวิธี พบว่ากรรมวิธีที่ 1 ใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างสูง 1.5 ซม. จากก้นขวด ให้ปริมาณไรลูกโป่งระยะก่อนท้อง 82.867 ตัว/เมล็ด กรรมวิธีที่ 2 ใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างสูง 3 ซม. จากก้นขวดให้ปริมาณไรลูกโป่ง 72.167 ตัว/เมล็ด และกรรมวิธีที่ 3 ใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างสูง 4.5 ซม.

จากก้นขวดให้ปริมาณไรลูกโป่ง 67.667 ตัว/เมล็ด (ตารางที่ 1) ปริมาณไรลูกโป่งในทุกกรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

2. ศึกษาชีววิทยาของไรลูกโป่ง

จากการศึกษาชีววิทยาของไรลูกโป่งในห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่อุณหภูมิ 27±2°c และความชื้นสัมพัทธ์ 65±3% พบว่าวงจรชีวิตของไรลูกโป่งประกอบไปด้วยตัวเต็มวัยเพศเมีย ซึ่งมี 2 ระยะ คือ ระยะก่อนท้องซึ่งมีลำตัวแคบยาว ลำตัวด้านหน้าจะแคบเล็ก ด้านท้ายของลำตัวจะกว้างกว่าด้านหน้า ลำตัวมีสีขาวใส ผนังลำตัวเรียบ ระยะนี้เป็นระยะที่ว่องไวมาก เคลื่อนไหวได้รวดเร็วและเคลื่อนไหวตลอดเวลา ตัวเต็มวัยเพศเมียเมื่อฟักออกมาจะผสมพันธุ์กับเพศผู้ทันที เมื่อตัวเต็มวัยฟักหมดแล้วท้องแม่จะแตก ตัวเต็มวัยเพศเมียจะออกมาดูดกินเส้นใยเห็ดระยะนี้ใช้เวลานานเฉลี่ย 3.22 วัน จากนั้นจะหยุดการเคลื่อนไหว ท้องเริ่มใหญ่มีสีขาวขุ่นคล้ายสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน และค่อยๆพองออกขึ้นเรื่อยๆ ตรงส่วนท้องบริเวณที่อยู่ถัดจากขา 2 คู่หน้าลงมา จนมีลักษณะคล้ายลูกโป่ง โดยใช้ส่วนปากเกาะอยู่ที่เส้นใยเห็ด จากนั้นจะเป็นท่อนยาวเป็นมันสะท้อนแสง ภายในมีไข่และตัวอ่อนเจริญอยู่ ขนาดตัวของเพศเมียขณะท้องไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับจำนวนตัวอ่อน ระยะนี้ใช้เวลานานเฉลี่ย 7.23 วัน สามารถให้ลูกได้ 109.53 ตัว/ตัวเต็มวัยเพศเมียตั้งท้อง ส่วนตัวเต็มวัยเพศผู้มีรูปร่างคล้ายเพศเมียแต่ลำตัวอ้วนและสั้นกว่าเพศเมียเล็กน้อย ตัวใส ไม่มีสี

3. ศึกษาการทำลายเห็ดหูหนูของไรลูกโป่ง

ความเสียหายของเห็ดหูหนูที่เกิดจากไรลูกโป่ง พบว่ากลุ่มที่ใส่ไรลูกโป่งสามารถเก็บผลผลิตได้เฉลี่ย 71.72 กรัม/ก้อน ส่วนกลุ่มที่ไม่ใส่ไรลูกโป่งได้ผลผลิตเฉลี่ย121.32 กรัม/ก้อน (ตารางที่ 2) กลุ่มที่ใส่ไรมีผลทำให้ผลผลิตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ใส่ไร โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

4. ศึกษาเห็ดชนิดต่าง ๆที่เป็นอาหารของไรลูกโป่ง

ไรลูกโป่งสามารถเจริญเติบโตจนครบอายุขัยบนเส้นใยเห็ดรวม 4 ชนิด ได้แก่ เห็ดหูหนู เห็ดเข็มเงิน เห็ดแครง และเห็ดยานางิ ส่วนที่เหลืออีก 6 ชนิด คือ เห็ดขอนขาว เห็ดน้างฟ้า เห็ดกระด้าง เห็ดนางรม เห็ดนางรมฮังการี เห็ดหอม ไรลูกโป่งไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ในระยะตัวเต็มวัยเพศเมียก่อนท้องบนเห็ดเข็มเงิน ไรลูกโป่งใช้เวลาในการเจริญเติบโตรองลงมาเฉลี่ย 3.780 วัน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบการใช้เวลาในการเจริญเติบโตบนเห็ดหูหนู เห็ดยานางิ และเห็ดแครง เฉลี่ย 3.22, 3.220 และ 3.165 วัน และเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เวลาในการเจริญเติบโตของตัวเต็มวัยเพศเมียก่อนท้องบนเห็ดทั้ง 3 ชนิด พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในระยะตัวเต็มวัยเพศเมียตั้งท้อง บนเห็ดเข็มเงิน ไรลูกโป่ง ใช้เวลาในการเจริญเติบโตน้อย

ที่สุดเฉลี่ย 5.332 มีความแตต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตของตัวเต็มวัยเพศเมียตั้งท้องบนเห็ดยานางิ ซึ่งใช้เวลาน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตบนเห็ดแครง และเห็ดหูหนู พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ จำนวนลูกที่ได้จากตัวเต็มวัยเพศเมียตั้งท้องของไรลูกโป่งบนเห็ดยานางิ มีจำนวนน้อยที่สุดเฉลี่ย 92.165 ตัว/เพศเมียตั้งท้อง 1 ตัว มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนลูกที่ได้บนเห็ดเข็มเงิน เห็ดหูหนู และ เห็ดแครง เฉลี่ย 109.688, 109.528 และ 103.862 ตัว/เพศเมียตั้งท้อง 1 ตัว และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนลูกที่ได้บนเห็ดทั้ง 3 ชนิดพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3)

5. ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งระยะก่อนท้องในสภาพโรงเรือน

การทดลองที่ 1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรชนิดต่างๆ ต่อไรลูกโป่งศัตรูสำคัญของเห็ดหูหนู พบว่าปริมาณประชากรของไรลูกโป่งในกรรมวิธีพ่นด้วยสารฆ่าไร amitraz, propargite, pyridaben, และ fenbutatin oxide เฉลี่ย 0.080, 0.080, 0.103 และ 0.103 คะแนน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าไร ซึ่งมีปริมาณประชากรของไรลูกโป่งเฉลี่ย 4.208 คะแนน

การทดลองที่ 2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรชนิดต่างๆ ต่อไรลูกโป่ง พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยมีปริมาณประชากรของไรลูกโป่งในกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารฆ่าไร amitraz, propargite, pyridaben และ fenbutatin oxide เฉลี่ย 0.103, 0.103, 0.080 และ 0.103 คะแนน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารฆ่าไร ซึ่งมีปริมาณประชากรของไรลูกโป่งเฉลี่ย 3.168 คะแนน (ตารางที่ 4)

ก่อนที่จะศึกษาข้อมูลต่างๆ เกี่ยวกับไรลูกโป่งนั้น จำเป็นต้องศึกษาหาวิธีการเลี้ยง เพื่อเพิ่มปริมาณไรลูกโป่งให้ได้ปริมาณมากเพียงพอต่อการทดลอง จากผลการทดลองทั้ง 3 กรรมวิธี พบว่าวิธีที่ดีที่สุด คือ การใช้ขวดฝาเกลียวปากกว้าง 5 ซม. สูง 8.5 ซม. ใส่เมล็ดข้าวฟ่างสูง 1.5 ซม. เพราะเป็นการเตรียมหัวเชื้อข้าวฟ่างที่ทำได้ รวดเร็ว และสะดวกในการนำมาใช้ปฏิบัติงาน สามารถนำเอาไรออกจากขวดมาใช้ทดลองได้ง่าย สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อย และเพิ่มปริมาณไรลูกโป่งได้ตามต้องการ วิธีการเลี้ยงไรลูกโป่งนี้ได้วิธีการเช่นเดียวกับวิธีการเลี้ยงไรดีดของเทวินทร์และคณะ (2547) ซึ่งได้พบวิธีการเลี้ยงไรดีดให้มีปริมาณมากโดยการใช้ขวดฝาเกลียวปากกว้าง 5 ซม. สูง 8.5 ซม. ใส่เมล็ดข้าวฟ่างสูง 1.5 ซม.

ไรลูกโป่งสามารถเคลื่อนไหวได้รวดเร็วมากในระยะตัวเต็มวัยเพศเมียก่อนท้อง เมื่อผสมพันธุ์แล้วก็จะเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียตั้งท้อง ภายในท้องแม่มีไข่และตัวอ่อนเจริญอยู่ มีวงจร

ชีวิตเหมือนไรดีด(เทวินทร์และคณะ, 2552) คือมีระยะตัวเต็มวัยเพศเมียก่อนท้อง ตัวเต็มวัยเพศเมียตั้งท้อง ระยะตัวเต็มวัยเพศเมียก่อนท้องของไรลูกโป่งและไรดีดใกล้เคียงกัน คือ เฉลี่ย 3.22 และ 3.00 วัน ส่วนในระยะตัวเต็มวัยเพศเมียก่อนท้องสามารถเคลื่อนไหวได้รวดเร็วมาก โดย 1.การเดิน 2. ติดไปกับแมลง มนุษย์ สัตว์เลี้ยง 3. ขวดเชื้อเห็ดและ 4.ก้อนเชื้อเห็ด ดังนั้นต้องรักษาความสะอาดของโรงเรือนโดยไม่ทิ้งก้อนเชื้อเห็ดที่เพาะแล้วไว้ใกล้โรงเรือน เพราะว่าไรอาจจะเดิน ติดไปกับแมลง มนุษย์ สัตว์เลี้ยงและติดไปกับขวดเชื้อเห็ดและก้อนเชื้อเห็ด

เห็ดชนิดต่างๆ ที่เป็นอาหารของไรลูกโป่งจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เส้นใยเห็ดหูหนู เห็ดแครง เห็ดเข็มเงินและเห็ดยานางิ โดยสามารถเจริญเติบโตจนครบอายุขัย ให้ลูกมากที่สุดเฉลี่ย 109.668 ตัว/ตัวเต็มวัยเพศเมียตั้งท้อง 1 ตัว บนเห็ดเข็มเงิน รองลงมาเฉลี่ย109.528, 103.862 และ 92.165 ตัว บนเห็ดหูหนู เห็ดแครง และ เห็ดยานางิ แต่ไม่ดูดกินเส้นใยเห็ดขอนขาว เห็ดนางฟ้า เห็ดกระด้าง เห็ดนางรม เห็ดนางรมฮังการี และ เห็ดหอม เหตุที่ไรลูกโป่งไม่ดูดกินเส้นใยเห็ดดังกล่าว เนื่องจากเห็ดต้านทานต่อการทำลายของไรลูกโป่ง ที่เป็นกลไกต้านทานที่เกิดจากไรลูกโป่งไม่ชอบดูดกินเส้นใยเห็ดดังกล่าว(non-preference mechanism) เช่นเดียวกับการศึกษาของ punpeng(1990) ที่พบว่าเพลี้ยกระโดดหลังขาวไม่ทำลายข้าวบางพันธุ์ ด้วยกลไกการต้านทานแบบ non-preference จากข้อมูลนี้สามารถนำไปปรับใช้ในการเพาะเห็ดหูหนู เห็ดแครง เห็ดเข็มเงินและเห็ดยานางิได้ โดยในช่วงที่พบไรลูกโป่งระบาดมากบนเห็ดทั้ง 4 ชนิด ให้หยุดเพาะเห็ดชนิดดังกล่าวก่อน และเปลี่ยนไปเพาะเห็ดชนิดอื่นๆ ที่ไรลูกโป่งไม่ดูดกินเส้นใย เพื่อเป็นการลดปัญหาที่จะเกิดจากไรลูกโป่ง ถ้าหากไม่สามารถหลีกเลี่ยงการเพาะเห็ดดังกล่าว เมื่อตรวจพบว่ามีไรลูกโป่งระบาดในขวดหัวเชื้อบนเมล็ดข้าวฟ่าง ให้ทำการรมด้วยสารรมฟอสฟีนอัตรา 1 เม็ด รมนาน 72 ชั่วโมง หรือ 2 เม็ด รมนาน 48 ชั่วโมง ในภาชนะรมขนาดความจุ 0.5 ลบ.ม.(เทวินทร์และคณะ, 2552ก)แล้วถ่ายเชื้อเห็ดลงบนก้อนและทำการพ่นสารฆ่าไรคลุมที่จุกสำลี

ก้อนเชื้อเห็ดที่กำลังบ่มเส้นใย เมื่อถูกไรศัตรูเห็ดเข้าไปทำลายเส้นใยในก้อน มีผลทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก เช่น ฉัตรชัยและคณะ (2543) ศึกษาความเสียหายของเห็ดขอนขาวที่เกิดจากไรไข่ปลา พบว่าก้อนเชื้อเห็ดที่ถูกไรไข่ปลาทำลาย ส่งผลให้ผลผลิตลดลง 92.6% จากสายพันธุ์ปราจีนบุรี และลดลง 89.7% จากสายพันธุ์ภูผาม่าน ทั้ง 2 การทดลองให้ผลเป็นไปในทางเดียวกัน คือ ก้อนเชื้อเห็ดที่กำลังบ่มเส้นใย เมื่อถูกไรศัตรูเห็ดเข้าไปทำลายเส้นใยในก้อน มีผลทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก เทวินทร์และคณะ(2552ก) ศึกษาความเสียหายของเห็ดนางรมฮังการี พบว่าก้อนเชื้อเห็ดที่ถูกไรดีดทำลายเส้นใยในระยะบ่มเส้นใย ส่งผลให้ผลผลิตลดลง 74.16% จากการศึกษาความเสียหายของเห็ดหูหนูในครั้งนี้ พบว่าก้อนเชื้อเห็ดที่ถูกไรลูกโป่งทำลายเส้นใยในระยะบ่มเส้นใย ส่งผลให้ผลผลิตลดลง 40.88 % ทั้ง 4 การทดลองนี้ให้ผลเป็นไปในทางเดียวกัน ดังนั้นเกษตรกรผู้เพาะเห็ดต้องควบคุมไรศัตรูเห็ด มิให้เข้าไปทำลายเชื้อเห็ดในก้อนในระยะบ่มเส้นใย

ประสิทธิภาพของสารฆ่าไร 4 ชนิด ได้แก่ amitraz, pyridaben, propargite และ fenbutatin oxide พบว่าสารฆ่าไรทั้ง 4 ชนิด มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง นอกจากป้องกันกำจัดไรลูกโป่งได้ผลดีแล้ว สารฆ่าไรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ amitraz, pyridaben และ propargite ยังสามารถป้องกันกำจัดรศัตรูส้มที่สำคัญได้แก่ ไรสนิมส้มและไรขาวพริก (กลุ่มกีกฏและสัตววิทยา, 2551) นอกจากนี้สาร pyridaben ยังสามารถป้องกันกำจัดไรไข่ปลาได้ดีอีกด้วย (ฉัตรชัยและคณะ, 2543) สารฆ่าไร propargite อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพต่ำในการป้องกันกำจัดไรดีด (เทวินทร์และคณะ 2552ก) แต่สารนี้อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง การใช้สารฆ่าไรนับเป็นวิธีการหนึ่งที่เกษตรกรยังจำเป็นต้องใช้เพื่อป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับผลผลิตเห็ด แต่ให้ใช้ในการพ่นโรงเรือนหลังจากทำความสะอาดเพื่อกำจัดไรศัตรูเห็ดที่ยังหลงเหลืออยู่ และให้พ่นคลุมปากขวดหัวเชื้อและปากถุงก้อนเชื้อในระยะบ่มเส้นใย เพื่อป้องกันไร มิให้เข้าไปก้อนและขวด (เทวินทร์และคณะ, 2552 ข)

สรุปผลการทดลอง

วิธีการเลี้ยงไรลูกโป่งให้ได้ปริมาณมากเพียงพอต่อคงามต้องการและสะดวกต่อการนำไปใช้ในงานทดลองด้านต่างๆ คือ การใช้หัวเชื้อข้าวฟ่างใส่ในขวดฝาเกลียว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. สูง 8.5 ซม. โดยใส่เมล็ดข้าฟ่างสูง 1.5 ซม. จากก้นขวด

วงจรชีวิตของไรลูกโป่งประกอบไปด้วยตัวเต็มวัยเพศเมียซึ่งมี 2 ระยะ คือ ระยะก่อนท้องซึ่งเป็นระยะที่ว่องไวมาก เคลื่อนไหวได้รวดเร็ว ใช้เวลานานเฉลี่ย 3.22 วัน และระยะตั้งท้อง/ใช้เวลานานเฉลี่ย 7.22 วัน ส่วนระยไข่และตัวอ่อนฟักอยู่ภายในท้องแม่ เมื่อท้องแม่แตกลูกจะออกจากท้องแม่เป็นตัวเต็มวัย เพศเมียสามารถให้ลูกได้ 109.53 ตัว/เพศเมีย 1 ตัว

ไรลูกโป่งจำนวน 200 ตัว/ก้อน ทำลายเส้นใยเห็ดหูหนูในก้อนเชื้อเห็ดในระยะบ่มเส้นใย มีผลทำให้ผลผลิตลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ถูกไรลูกโป่งทำลาย

เห็ดชนิดต่างๆ ที่ไรลูกโป่งสามารถทำลายได้ได้แก่ เห็ดหูหนู เห็ดแครง เห็ดเข็มเงินและเห็ดยานางิ ส่วนเห็ดชนิดต่างๆ ที่ไรลูกโป่งไม่สามารถทำลายได้ได้แก่ เห็ดขอนขาว เห็ดนางฟ้า เห็ดกระด้าง เห็ดนางรม เห็ดนางรมฮังการี และ เห็ดหอม

สารฆ่าไรที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง ได้แก่ 1.amitraz อัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร 2.pyridaben อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร 3.propargite อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตรและ 4.fenbutatin oxide อัตรา 15 มล./น้ำ 20 ลิตร

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณอนุพงษ์ กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ได้โปรดช่วยอนุเคราะห์เตรียมหัวเชื้อเห็ดชนิดต่างๆ เพื่อใช้ในงานทดลอง ตลอดจนทุกท่านที่มีส่วนช่วยในงานทดลองนี้ จนทำให้งานทดลองสำเร็จ สามารถแนะนำแก่เกษตรกรได้

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. 2551. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืชปี 2551. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ. 295 หน้า.

ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, อัญชลี เชียงกูล และ วัฒนา จารณศรี. 2543. ไรไข่ปลา, หน้า 23-42. *ใน* : แมลงและสัตว์ศัตรูพืช. เอกสารวิชาการประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการ ครั้งที่ 13 ประจำปี 2543. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

ชาญยุทธ์ ภาณุฑัต. 2544. ข้อมูลประกอบการตัดสินใจเพาะเห็ด,หน้า1-12. *ใน* : เห็ดไทย 2544. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, วัฒนา จารณศรี และศุภนิตย์ หิรัญประดิษฐ์. 2547. การป้องกันกำจัดไรดีดในเห็ดนางรม, หน้า 136-144. *ใน* : รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 5 ภาคบรรยาย 20-21 พฤษภาคม 2547. ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้, จังหวัดเชียงใหม่.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์, อัจฉรา พยัพพานนท์, วิภาดา วังศิลาบัตร, มานิตา คงชื่นสิน, พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และพลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2552 ก. การป้องกันกำจัดไรลูกโป่ง *Dolichocybe indica* Mahunka ในเห็ดยานางิโดยการใช้สารรมฟอสฟีน.ว.กีฏและสัตววิทยา 26(1) : 24-32.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ อัจรา พยัพพานนท์ วิภาดา วังศิลาบัตร มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์ และพลอยชมพู กรวิภาสเรือง. 2552 ข. ไรดีดในเห็ดและการป้องกันกำจัด.ว.วิชาการเกษตร 27(1) : 2-25.

พิมกานต์ อร่ามพงษ์พันธ์. 2543. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเห็ด, หน้า 1-8. *ใน* :การเพาะเห็ดเศรษฐกิจ. เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กลุ่มงานจุลชีววิทยาประยุกต์, กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

วัฒนา จารณศรี, ฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, มานิตา คงชื่นสิน และ นวลศรี วงษ์ศิริ. 2529. การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของไรศัตรูเห็ดในประเทศไทย, หน้า 1-35 *ใน* :รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยปี 2529. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร, กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

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).

Punpeng, V. 1990. Varietal Resistance of Rice to Whitebacked Planthopper, *Sogatella furcifera* (Horvath). M.S. thesis, Kasetsart University, Bangkok. 97 p.

ตารางที่ 1. ปริมาณประชากรของไรลูกโป่ง ก่อนท้องที่ 15 วัน ภายหลังการปล่อยไร 30 ตัว ลงในขวดหัวเชื้อ

กรรมวิธี	ปริมาณไรลูกโป่ง/เมล็ดข้าวฟ่าง
ความสูงของหัวเชื้อ 1. ซม. จากก้นขวด	82.87 [1/]
ความสูงของหัวเชื้อ 3.0 ซม. จากก้นขวด	72.167
ความสูงของหัวเชื้อ 4.5 ซม. จากก้นขวด	67.667
F-test	ns

ตารางที่ 2. แสดงผลผลิตเฉลี่ยของเห็ดหูหนู

กรรมวิธี	ผลผลิตเฉลี่ยของเห็ดหูหนู(กรัม/ก้อนเชื้อ)
ไม่ใส่ไรลูกโป่ง	121.32 a[1/]
ใส่ไรลูกโป่งก่อนท้อง 200 ตัว/ก้อนเชื้อ	71.72 b
T-test	*

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3. แสดงค่าเฉลี่ยช่วงเวลาการเจริญเติบโตและความสามารถในการให้ลูกของไรลูกโป่งเมื่อเลี้ยงบนเห็ดชนิดต่างๆ ที่เป็นอาหารภายใต้ห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 27±2°C และความชื้นสัมพัทธ์ 65±3%

กรรมวิธี	ตัวเต็มวัยเพศเมียก่อนท้อง(วัน)	ตัวเต็มวัยเพศเมียตั้งท้อง(วัน)	จำนวนลูกที่ได้/ตัวเต็มวัยเพศเมียตั้งท้อง
เห็ดหูหนู	3.222 a	7.228 c	109.528 a
เห็ดยานางิ	3.165 a	6.557 b	92.165 b
เห็ดแครง	3.220 a	7.223 c	103.862 a
เห็ดเข็มเงิน	3.780 b	5.332 a	109.668 a
CV(%)	6.1	5.3	8

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4. ประสิทธิภาพของสารฆ่าไรบางชนิดในการป้องกันกำจัดไรลูกโป่งที่โรงเรือนเพาะเห็ดเขตจตุจักร กรุงเทพฯ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 – กันยายน 2550

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยของประชากรไรลูกโป่ง (คะแนน/พื้นที่ถุงพลาสติก 1 ตร.ซม.)	
	การทดลองที่ 1	การทดลองที่ 2
Amitraz	0.080 a[1/]	0.103 a
Propargite	0.080 a	0.103 a
Pyridaben	0.103 a	0.080 a
Fenbutatin oxide	0.103 a	0.103 a
Control	4.208 b	3.168 b
CV (%)	13.1	50.6

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และการป้องกันกำจัดแมลงหางดีดในเห็ด

Study on Biology Ecology and Controlling Springtails on Mushroom

อุราพร หนูนารถ เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ สัญญาณี ศรีคชา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจแมลงหางดีด ในปี พ.ศ. 2552 จากแปลงเพาะเห็ดในเขตภาคกลาง พบว่าแมลงหางดีดเป็นแมลงขนาดเล็ก 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 ทำการเก็บตัวอย่าง เลี้ยงขยายและทำสไลด์ เพื่อจำแนกชนิด สามารถจำแนกชนิดได้ว่าเป็น *Lapidocyrtus cyaneus* มีสีน้ำตาลเงิน อยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ และดำเนินการเลี้ยงขยายในกระป๋องพลาสติกทรงกลม เพื่อให้มีปริมาณมาก และนำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการ และหาแนวทางในการป้องกันกำจัด

คำนำ

เห็ดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง ที่มีคุณค่าทั้งทางด้านโภชนาการ และมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้ การเพาะเห็ดในปัจจุบันได้ขยายพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ เห็ดที่เพาะส่วนมากมีปัญหาเกี่ยวกับแมลงศัตรูทำลายจนทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิต แมลงหางดีดเป็นศัตรูเห็ดที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่เป็นปัญหาในการเพาะเห็ด จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาชีววิทยาและการป้องกันกำจัด

รหัสการทดลอง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ตัวอย่างแมลงหางดีดทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยที่รวบรวมได้จากแปลงเพาะเห็ด

-อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างแมลง ได้แก่ขวดดองตัวอย่างแมลง พู่กัน กล่องพลาสติก แว่นขยาย ถุงพลาสติก

-อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพ กล้องถ่ายรูป

-กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound microscope และ stero microscope

-อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ ได้แก่ sodium hydroxide , potassium hydroxide , alcohol clove oil ,fuchsin , บิกเกอร์ เตาไฟฟ้า ตู้อบแผ่นสไลด์ แผ่นสไลด์ และแผ่นแก้วปิดสไลด์

วิธีการทดลอง

1 สำรวจรวบรวมตัวอย่างแมลงหางดีดที่พบใน แหล่งการระบาดของแมลงหางดีดในเห็ดในภาคกลางโดยเก็บตัวอย่างของแมลงหางดีดทุก 2 สัปดาห์ จากก้อนอาหารเห็ด แล้วนำมาแยก ใช้ alcohol ในการดองตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างมีชีวิตด้วย

2 นำตัวอย่างทั้งหมดที่รวบรวมได้กลับไปยังห้องปฏิบัติการทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยนำไปศึกษาชีวประวัติ พฤติกรรม และการเจริญเติบโต ของแมลงหางดีดในเห็ดในห้องปฏิบัติการ

3 นำแมลงหางดีดที่ทำสไลด์ เรียบร้อยแล้ว ไปตรวจวิเคราะห์ชนิด ตามหลักของนักอนุกรมวิธาน

4 ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดแมลงหางดีด

การบันทึกข้อมูล

- บันทึกข้อมูลพื้นที่การระบาดและลักษณะการเข้าทำลายของแมลงหางดีด
- บันทึกรายละเอียดของชนิดของแมลงหางดีดที่พบ

เวลาและสถานที่

เวลา พฤศจิกายน 2551 - สิงหาคม 2552

สถานที่ แปลงเกษตรกรเพาะเห็ดในเขตภาคกลาง

ห้องปฏิบัติการวิจัยกลุ่มงานวิจัยการใช้สาร ฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจแมลงหางดีดในแปลงเพาะเห็ดในเขตภาคกลาง พบว่า แมลงหางดีดเป็นแมลงขนาดเล็ก จัดอยู่ใน Subclass Apterygota ในอันดับ Collembola และพบกระจายทั่วไป แมลงหางดีดมีสีที่หลากหลายมาก เช่น สีขาว สีเทา สีส้ม สีเขียว และสีแดง แมลงหางดีดมีท่อเล็ก ๆ ติดอยู่บริเวณปลายท้อง เรียกว่า collophore ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่ พบในแมลงหางดีด ทำหน้าที่

ยึดติดกับพื้นผิวสัมผัส แมลงหางดีดมีลักษณะเฉพาะ ที่มีลักษณะเฉพาะที่มีลักษณะคล้ายส้อมที่เรียกว่า furcula ซึ่งอยู่บริเวณตอนปลายส่วนท้อง ใช้ในการกระโดดเมื่อถูกรบกวน แมลงหางดีดพบระบาดในแปลงเห็ดที่มีความชื้น ซึ่งสามารถปรับตัว และขยายพันธ์ได้รวดเร็ว จึงทำให้เกิดการระบาดของแมลงหางดีดได้อย่างกว้างขวาง ทำการเก็บตัวอย่าง เลี้ยงขยาย และทำสไลด์ เพื่อจำแนกชนิด สามารถจำแนกชนิดได้ว่าเป็น *Lapidocyrtus cyaneus* มีสีน้ำตาล เงิน อยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ และดำเนินการเลี้ยงขยายในกระป๋องพลาสติกทรงกลม เพื่อให้มีปริมาณมาก และนำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการ และหาแนวทางในการป้องกันกำจัด

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 และระหว่างเดือนตุลาคม 2551-กันยายน 2552 พบความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีเดือนพฤษภาคมและมิถุนายนเฉลี่ย 100% และ 30%

คำนำ

เห็ดเป็นผลิตผลทางการเกษตรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่ให้ผลตอบแทนในระยะเวลาสั้น การเพาะเห็ดในถุงพลาสติกได้ขยายพื้นที่ปลูกกันทั่วประเทศ ปัญหาการระบาดของศัตรูเห็ดจึงเกิดขึ้นอันเนื่องมาจากเกษตรกรมุ่งสนใจในด้านการผลิตมากกว่าการดูแลรักษา โดยเฉพาะการระบาดของไรศัตรูเห็ดชนิดต่างๆ ทำให้ผลผลิตลดลงมาก ปัจจุบันนี้การเพาะเห็ดนางรมฮังการี มีเกษตรกรเพาะเห็ดชนิดนี้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นเห็ดที่ให้ผลผลิตเร็วกว่าเห็ดชนิดอื่นๆอีกทั้งยังมีราคาดี ไรดีดเป็นศัตรูที่สำคัญของเห็ดชนิดนี้ มันจะดูดกินเส้นใยเห็ดทุกระยะของการเพาะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจะพบว่าไรชนิดนี้ระบาดมากในก้อนเชื้อเห็ดในระยะบ่มเส้นใย ทำให้เห็ดไม่ออกดอกเนื่องจากถูกไรดีดดูดกินเส้นใย ทำให้เกษตรกรขาดทุนจนต้องเลิกกิจการไปในที่สุด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีและวิธีการแก้ปัญหาไรดีด เพื่อลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-03-03-51

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 200 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* ในระยะตั้งท้องบนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีบนเมล็ดข้าวฟ่างในขวดจำนวน 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

จากการสำรวจความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีจากฟาร์มเห็ดในเขตภาคกลาง ในระยะบ่มเส้นใย ที่เกิดจากการทำลายของไรดีดระหว่างเดือนตุลาคม 2550 - กันยายน 2551 พบความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการีเดือนเมษายน พฤษภาคม มิถุนายน สิงหาคม และกันยายน เฉลี่ย 31.47, 57.14, 34.36, 25.00 และ 41.00% ตามลำดับ และระหว่างเดือนตุลาคม 2551-กันยายน 2552 พบความเสียหายของก้อนเชื้อเห็ดนางรมฮังการี เดือนพฤษภาคมและมิถุนายน เฉลี่ย 100% และ 30% จากการสำรวจความเสียหายเฉพาะเดือนพฤษภาคมและมิถุนายน ส่วนเดือนอื่นไม่พบความเสียหายเนื่องจากในปีที่ 2 นี้ เกษตรกรได้มีการวางแผนการป้องกันการเข้าทำลายของไรดีดเป็นอย่างดี

การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และเขตการแพร่ระบาดของหนอนแมลงวันเซียริดแมลงศัตรูเห็ดที่สำคัญ

สัญญาณี ศรีคชา อุราพร หนูนารถ เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาชีววิทยา นิเวศวิทยา และเขตการแพร่ระบาดของหนอนแมลงวันเซียริด แมลงศัตรูเห็ดที่สำคัญในห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และโรงเพาะเห็ดของเกษจรกรจังหวัดกาญจนบุรี และนครปฐม จากการสำรวจและเก็บรวบรวมแมลงวันเซียริดจากโรงเพาะเห็ดเกษตรกรในจังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี ชลบุรี และระยอง พบหนอนแมลงวันเซียริด *Lycoriella* sp. ลงทำลายเห็ดนางฟ้าภูฐาน เห็ดนางนวล และเห็ดฮังการี จากการศึกษาวงจรชีวิตของหนอนแมลงวันเซียริด (*Lycoriella* sp. ; Dipterra : Sciaridae) ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิเฉลี่ย 25.61±0.62 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพันธ์เฉลี่ย 92.00±0.25 เปอร์เซ็นต์ พบว่าตัวเต็มวัยมีอายุ 18-20 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียหลังฟักออกจากดักแด้แล้ว 1 วัน จึงเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์ ระยะไข่ 3-4 วัน หนอนมี 4 วัย ระยะหนอน 12-13 วัน ระยะดักแด้ 3-5 วัน ตลอดวงจรชีวิต 18-22 วัน

คำนำ

เห็ด จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง มีคุณค่าทางด้านโภชนาการสูงและมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้ ในปัจจุบันเกษตรกรมีการตื่นตัวในการเพาะเลี้ยงเห็ดมากขึ้น โดยมีการขยายกิจการการเพาะเลี้ยงเห็ดอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว และประกอบกับการเพาะเลี้ยงเห็ดสามารถทำได้ทุกพื้นที่ของประเทศ ในการเพาะเลี้ยงเห็ดส่วนใหญ่มักจะประสบกับปัญหาแมลง-ศัตรูพืชเข้าทำลาย ทำความเสียหายแก่ผลผลิต จากการศึกษาของกอบเกียรติ์ และคณะ (2544) พบหนอนแมลงวัน 4 ชนิด คือ หนอนแมลงวันเซียริด (*Lycoriella* sp.) หนอนแมลงวันฟอริด (*Megasellia* sp.) หนอนแมลงวันซีซิด (*Heteropeza* sp.) และแมลงหวี่ดำ (*Scatopse* sp.) เข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ด และดอกเห็ด โดยเฉพาะอย่างยิ่งหนอนแมลงวันเซียริดเมื่อมีการระบาดสามารถทำความเสียหายได้มากกว่า 80% ในประเทศสหรัฐอเมริกา ส่วนในบ้าน

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-03-10-52

เราพบว่าทำให้ผลผลิตลดลง 30% ในการลงทำลายเห็ดหูหนู ที่ปลูกด้วยขี้เลื่อยจากไม้ยางพารา ที่อำเภอแกลง จังหวัดระยอง โดยทำให้ดอกเห็ดเสียหาย คุณภาพต่ำ และราคาตก นอกจากนี้ยังพบลงทำลายเห็ดแชมปิญองที่ผลิตในจังหวัดเชียงรายและเชียงใหม่ ทำให้ผลผลิตลดลง 26-40% ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยา นิเวศวิทยา และการแพร่ระบาดของหนอนแมลงวันเซียริด เพื่อใช้เป็นแนวทางเพื่อวางแผนการดำเนินการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูเห็ดทั้งระยะสั้นและระยะยาวต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. โรงเพาะเห็ดเกษตรกร
2. ถุงพลาสติก กล่องพลาสติก
3. แว่นขยาย กล้องจุลทรรศน์
4. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น เช่น แอลกอฮอล์ พู่กัน มีด จานเลี้ยงเชื้อ คีมคีบ ที่นับแมลง ถุงพลาสติก เครื่องชั่งน้ำหนัก

วิธีการ

1. ศึกษาชีววิทยาของหนอนแมลงวันเซียริด โดยทำการเก็บรวบรวมก้อนเห็ดที่ถูกหนอนแมลงวันลงทำลายจากโรงเพาะเห็ดของเกษตรกร แล้วนำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นทำการจำแนกชนิด เมื่อได้แมลงวันเซียริดจึงนำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อจนได้รุ่นที่ 1 (F_1) แล้วดำเนินการศึกษาหาวงจรชีวิตในระยะต่าง ดังนี้

ระยะไข่ ศึกษาอายุของไข่ และหาอัตราการฟัก ตรวจนับและบันทึกจำนวนไข่ที่ฟัก โดยทำการศึกษาจากไข่ 500 ฟอง

ระยะหนอน ศึกษาอายุและลักษณะของหนอนวัยต่างๆ รวมทั้งอัตราการอยู่รอดของหนอน บันทึกขนาด ลักษณะ และการตายของหนอนวัยต่างๆ โดยทำการศึกษาจากหนอน 100 ตัว

ระยะดักแด้ ศึกษาอายุและลักษณะของดักแด้ รวมทั้งอัตราการฟักเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ บันทึกขนาด และลักษณะของดักแด้ โดยทำการศึกษาจากดักแด้ 50 ดักแด้

ระยะตัวเต็มวัย ศึกษาอายุขัย การผสมพันธุ์ การวางไข่ และลักษณะของตัวเต็มวัย โดยใช้แมลงวันเซียริดจำนวน 10 คู่

2. ศึกษานิเวศน์วิทยาของหนอนแมลงวันเซียริด นำไข่ของแมลงวันเซียริด 100 ฟอง ใส่ในก้อนเชื้อเห็ด จากนั้นนำไปไว้ในโรงเรือนเพาะเห็ด ทำการบันทึกจำนวนจำนวนไข่ที่ฟัก จำนวนหนอน

ที่มีชีวิตรอดในวัยต่างๆ จำนวนดักแด้ และปริมาณตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยทำการศึกษา 5 ซ้ำ ซ้ำละ 100 ฟอง/ก้อนเชื้อ

3. ศึกษาชนิดของเห็ดอาหารของหนอนแมลงวันเชียริด โดยนำก้อนเชื้อของเห็ดชนิดต่างๆ ชนิดละ 3 ก้อน จากนั้นนำหนอนแมลงวันเชียริดที่พึ่งฟักจากไข่ ใส่ก้อนละ 50 ตัว แล้วนำไปไว้ในโรงเรือนเพาะเห็ด ทำการบันทึกจำนวนดักแด้ที่ได้ และปริมาณตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเมีย

4. ศึกษาเขตการแพร่ระบาดของหนอนแมลงวันเชียริด และศัตรูธรรมชาติ โดยออกสำรวจและเก็บรวบรวมก้อนเชื้อเห็ดที่ถูกหนอนแมลงวันลงทำลายจากโรงเพาะเห็ดของเกษตรกรในเขตต่างๆ แล้วนำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นทำการจำแนกชนิด เมื่อได้แมลงวันเชียริคทำการบันทึกแหล่งที่พบและชนิดของเห็ดที่ถูกทำลาย นอกจากถ้าพบศัตรูธรรมชาติ นำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยแล้วทำการจำแนกชนิด

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2551 – กันยายน 2553
ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
โรงเพาะเห็ดของเกษตรกร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. **ศึกษาชีววิทยาของหนอนแมลงวันเชียริด** *Lycoriella* sp. ดำเนินการศึกษาในปี พ.ศ. 2552 ณ ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพมหานคร โดยมีอุณหภูมิเฉลี่ย 25.61±0.62 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพันธ์เฉลี่ย 92.00±0.25 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาชีววิทยาหนอนแมลงวันเชียริด *Lycoriella* sp. บนก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้า พบว่าการเจริญเติบโตของแมลงชนิดนี้แบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

ระยะไข่ ตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่เป็นกลุ่ม โดยสามารถวางไข่ได้สูงสุดถึงกลุ่มละ 40 ฟองในก้อนเชื้อเห็ด หรือตามผิวหน้าของดินในโรงเพาะเห็ดที่มีความชื้นพอสมควร หรือตามต้นวัชพืชที่ขึ้นในโรงเพาะเห็ด ไข่มีสีขาวผิวเป็นมันสะท้อนแสง มีขนาดเล็ก ขนาดกว้างเฉลี่ย 0.17±0.01 มิลลิเมตร ยาวเฉลี่ย 0.24±0.30 มิลลิเมตร ระยะไข่ 3-4 วัน

ระยะหนอน หนอนมีลักษณะหัวแหลม ท้ายป้าน ไม่มีขา ส่วนหัวมีลักษณะเป็นตะขอแข็งสีดำ หนอนที่ฟักออกใหม่ๆ มีขนาดลำตัวกว้างเฉลี่ย 0.25±0.19 มิลลิเมตร ยาวเฉลี่ย 0.78±0.23 มิลลิเมตร ตัวหนอนเคลื่อนที่โดยการยืดหดลำตัว หนอนมี 4 วัย หนอนโตเต็มมีขนาดลำตัวกว้างเฉลี่ย 1.67±0.14 มิลลิเมตร ยาวเฉลี่ย 5.52±1.22 มิลลิเมตร ระยะหนอน 12-13 วัน

ระยะดักแด้ ดักแด้มีลักษณะกลมรีคล้ายถังเบียร์ ระยะนี้แมลงไม่มีการเคลื่อนไหว ดักแด้อยู่ที่ผิวด้านนอกของก้อนเชื้อเห็นในถุงพลาสติกมองเห็นได้ง่าย บ้างครั้งอาจเข้าดักแด้ในก้อนเห็ดสำหรับก้อนเห็ดที่ถูกทำลายรุนแรง หรืออาจลงมาเข้าดักแด้ในดินที่พื้นโรงเพาะเห็ด ดักแด้มีขนาดกว้างเฉลี่ย 0.89±0.03 มิลลิเมตร ยาวเฉลี่ย 2.54±0.35 มิลลิเมตร ระยะดักแด้ 3-5 วัน

ระยะตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยเป็นมีลักษณะคล้ายยุ้ง ขนาดประมาณ 2 มิลลิเมตร หัวและอกมีสีดำ ส่วนท้องมีสีน้ำตาล มีปีกบางใสสะท้อนแสง 1 คู่ หนวดยาวชี้ตั้ง ระยะนี้ไม่ทำลายพืช ตัวเต็มวัยหลังจากออกจากดักแด้ 1 วัน จึงเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์และเริ่มวางไข่ โดยวางไข่ในก้อนเชื้อเห็ด ตัวเต็มวัยเพศเมียมีความสามารถในการวางไข่ตลอดอายุขัยได้ 150 ฟอง วางไข่ได้สูงสุด 40 ฟอง/วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียเมื่อกางปีกมีขนาดกว้างเฉลี่ย 0.75±0.11 เซนติเมตร ลำตัวยาวเฉลี่ย 3.42±0.21 เซนติเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียมีอายุ 12-13 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้เมื่อกางปีกมีขนาดกว้างเฉลี่ย 0.48±0.05 เซนติเมตร ลำตัวยาวเฉลี่ย 2.81±0.21 เซนติเมตร ตัวเต็มวัยเพศผู้มีอายุ 10-12 วัน

จากการศึกษาวงจรชีวิตของหนอนแมลงวันเชียริด *Lycoriella* sp. ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ พบว่ามีวงจรชีวิต (จากไข่ถึงตัวเต็มวัย) 18-22 วัน

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาวงจรชีวิตของหนอนแมลงวันเชียริด (*Lycoriella* sp. ; Dipterra : Sciaridae) ในห้องปฏิบัติการ พบว่าตัวเต็มวัยมีอายุ 18-20 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียหลังฟักออกจากดักแด้แล้ว 1 วัน จึงเริ่มจับคู่ผสมพันธุ์ โดยวางไข่เป็นกลุ่ม ตัวเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้ 150 ฟอง ระยะไข่ 3-4 วัน หนอนมี 4 วัย ระยะหนอน 12-13 วัน ระยะดักแด้ 3-5 วัน ตลอดวงจรชีวิต 18-22 วัน

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ พรทิพย์ วิสารทานนท์ ฉัตรไชย ศฤงฆไพบูลย์ และสัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2544. แมลง-ไรศัตรูเห็ดในประเทศไทย. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพมหานคร. 80 หน้า.

การศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดของแมลงศัตรูเห็ดที่สำคัญ

Study on Controlling Insect Pest of Mushroom

อุราพร หนูนารถ สัญญาณี ศรีคชา เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ พฤทธิชาติ ปุณวัฒโท

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ในปี พ.ศ. 2552 ดำเนินการทดลองในโรงเพาะเห็ดที่เกษตรกลางบางเขน โดยนำก้อนเชื้อที่หยอดเชื้อแล้ว เชื้อเดินประมาณ 25 % เข้าไปในโรงเรือน ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันแมลงศัตรูเห็ด ในระยะบ่มก้อนเชื้อ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี คือ. สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย)อัตรา 200 มล./ น้ำ 20 ลิตร, Diflubenzuron (Dimilin) อัตรา 30 กรัม / น้ำ 20 ลิตร, ไส้เดือนฝอย *Steinerma carpocapsae* 1 ซอง/น้ำ 2 ลิตร ,คาร์บาริล (Sevin 85 wp) อัตรา 20 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร, คาร์โบซัลแฟน (Posses 20% EC) อัตรา 60 มล./ น้ำ 20 ลิตร, เบต้าไซฟลูทริน (Folitec 2.5 % EC) อัตรา 40 มล. / น้ำ 20 ลิตร , สปินโนแซด (Success 120 SC) อัตรา 20 มล./ น้ำ 20 ลิตรและกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง พบว่า Diflubenzuron (Dimilin) อัตรา 30 กรัม/น้ำ 2 0 ลิตร มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันในระยะบ่มก้อนได้ดี และเตรียมดำเนินการทดสอบซ้ำในปี พ.ศ.2553

คำนำ

เห็ด เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง ที่มีคุณค่าทั้งทางด้านโภชนาการและมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้ การเพาะเห็ดในปัจจุบันได้ขยายพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ เห็ดที่เพาะส่วนมากมีปัญหาเกี่ยวกับแมลง-ศัตรูทำลายจนทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิต บางแห่งต้องเลิกกิจการไปอย่างถาวร แต่เนื่องจากได้มีการตื่นตัวเพาะเห็ดกันมากจนเป็นการค้า โดยขยายกิจการเพาะเห็ดอย่างกว้างขวางและรวดเร็ว ต่อมาก็เกิดปัญหาการระบาดทำลายของแมลงศัตรูเห็ดเกิดติดตามขึ้นมา จากการศึกษาได้พบแมลงศัตรูเห็ดชนิดต่างๆ เพิ่มขึ้น การศึกษาเกี่ยวกับแมลงศัตรูเห็ด ได้ทำการรวบรวมชนิดของแมลงศัตรูเห็ด เพื่อทราบถึงชนิดและชีวประวัติ การวางแผนการป้องกันกำจัด ศึกษาถึงความรุนแรง บทบาทของแมลงศัตรูเห็ด ระยะการเข้าทำลายของแมลงศัตรูแต่ละชนิด ในช่วงการเจริญเติบโตของเห็ดแต่ละชนิด การศึกษาดังกล่าวได้ดำเนินการแล้วบางส่วนซึ่งพอจะวางแผนการดำเนินการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูเห็ดทั้งระยะสั้นและระยะยาวต่อไปได้

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-03-10-52

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- โรงเพาะเห็ด
- อุปกรณ์อื่นๆ เช่น สมุดบันทึก ขวดดอง แอลกอฮอล์ ถุงพลาสติก
- ก้อนเชื้อเห็ด
- อุปกรณ์ในการพ่นสารเคมี
- สารเคมีชนิดต่าง ๆ
- อุปกรณ์อื่น ๆ

วิธีการ

โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี

1. สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย)อัตรา 200 มล./ น้ำ 20 ลิตร
2. Diflubenzuron (Dimilin) อัตรา 30 กรัม / น้ำ 20 ลิตร
3. ไส้เดือนฝอย *Steinerma carpocapsae* 1 ซอง/น้ำ 2 ลิตร
4. คาร์บาริล (Sevin 85 wp) อัตรา 20 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร
5. คาร์โบซัลแฟน (Posses 20% EC) อัตรา 60 มล./ น้ำ 20 ลิตร
6. เบต้าไซฟลูทริน (Folitec 2.5 % EC) อัตรา 40 มล. / น้ำ 20 ลิตร
7. สปินโนแซด (Success 120 SC) อัตรา 20 มล./ น้ำ 20 ลิตร วางแผนการทดลองแบบ
8. กรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง

สำรวจและเลือกโรงเรือนเพาะเห็ด ทำความสะอาดด้วยน้ำยา Chlorox เพื่อป้องกันกำจัดเชื้อรา หรือพ่น diazion อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร พ่นให้ทั่งโรงเรือน นำก้อนเชื้อที่บรรจุเสร็จแล้ว พร้อมใส่หัวเชื้อ เข้าไปในโรงเรือนบ่มก้อน วางเรียงกัน แบ่งเป็นช่อง ๆ ดำเนินการพ่นสารตามกรรมวิธี เมื่อเชื้อเดินประมาณ 25 % พ่นสารตามกรรมวิธีทดลอง 1 ครั้ง ทำการเช็ดก้อนเชื้อเพื่อตรวจปริมาณก้อนเชื้อที่ถูกทำลาย โดยแมลงศัตรูเห็ด ทั้งจากหนอนแมลงวัน และจากหนอนผีเสื้อ บันทึกจำนวนก้อนเชื้อที่ถูกทำลาย พร้อมกับเก็บผลผลิตเห็ดมาทดสอบพิษตกค้าง บันทึกปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์

เวลาและสถานที่

เวลา พฤศจิกายน 2551- สิงหาคม 2552

สถานที่ แปลงเกษตรกรเพาะเห็ดในเขตภาคกลาง

ห้องปฏิบัติการวิจัยกลุ่มงานวิจัยการใช้สาร ฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพสารในการป้องกันแมลงศัตรูเห็ด ในระยะบ่มก้อนเชื้อ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี คือ. สารสกัดจากสะเดา (สะเดาไทย)อัตรา 200 มล./ น้ำ 20 ลิตร, Diflubenzuron (Dimilin) อัตรา 30 กรัม / น้ำ 20 ลิตร, ไส้เดือนฝอย *Steinerma carpocapsae* 1 ซอง/น้ำ 2 ลิตร ,คาร์บาริล (Sevin 85 wp) อัตรา 20 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร, คาร์โบซัลแฟน (Posses 20% EC) อัตรา 60 มล./ น้ำ 20 ลิตร, เบต้าไซฟลูทริน (Folitec 2.5 % EC) อัตรา 40 มล. / น้ำ 20 ลิตร , สปินโนแซด (Success 120 SC) อัตรา 20 มล./ น้ำ 20 ลิตรและกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง พบว่า Diflubenzuron (Dimilin) อัตรา 30 กรัม / น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนแมลงวันในระยะบ่มก้อนได้ดี และเตรียมดำเนินการทดสอบซ้ำในปี พ.ศ.2553

ศึกษาเทคนิคการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูเห็ด

Study on Spraying Techniques for Controlling Mushroom Insect and Mite Pests

พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย
สิริกัญญา ขุนวิเศษ สรรชัย เพชรธรรมรส สิริวิภา พลตรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการศึกษาเทคนิคการพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูเห็ด ด้านกายภาพ (Qualitative assessment) ด้วยการพ่นสารละลายของสี Saturn yellow ความเข้มข้น 1% ในเห็ด 2 ระยะ ทีห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ระหว่างเดือนกรกฎาคม-กันยายน 2552 ทำการทดลอง 2 การทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB **การทดลองที่ 1** เป็นการพ่นเห็ดระยะก่อนเปิดดอกมี 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 พ่นสารแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone (แบบเกษตรกร) ที่อัตราพ่น 240 (อัตราของเกษตรกร)และ 120 ลิตร/ไร่ ตามลำดับ กรรมวิธีที่ 3 ประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบแผ่นกระแสวนและหัวฉีดแยกกัน (disc and core) ที่อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่ กรรมวิธีที่ 4 ประกอบหัวฉีดแบบพัดที่อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่ และกรรมวิธีที่ 5 พ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่องพ่นสาร CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted (Turbair) ที่อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ **การทดลองที่ 2** เป็นการพ่นเห็ดระยะเปิดดอก ซึ่งกรรมวิธีและอัตราการพ่นเหมือนการทดลองที่ 1 หลังพ่นทดลองนำก้อนเห็ดและดอกเห็ดไปตรวจวัดการแพร่กระจายภายใต้หลอดแสงสีม่วง (Ultraviolet light) ตรวจวัดโดยให้คะแนนเป็นระดับ โดยการทดลองที่ 1 ทำการตรวจนับการแพร่กระจายของละอองสารบริเวณรอบปากถุงบริเวณจุกด้านนอกและด้านใน ตามลำดับ การทดลองที่ 2 ตรวจนับการแพร่กระจายของละอองสารด้านบนและด้านล่างของดอกเห็ด ผลการทดลองในการทดลองที่ 1 พบว่าค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นของละอองในกรรมวิธีที่ 2,3 และ 4 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกรรมวิธีที่ 1 และกรรมวิธีที่ 5 โดยกรรมวิธีที่ 4 ให้ค่าเฉลี่ยโดยรวมสูงที่สุดคือ 6.2375 และกรรมวิธีที่ 1 ให้ค่าเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 5.75 โดยสรุปพบว่าค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นของละอองในทุกกรรมวิธีสามารถใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูเห็ดได้ คือมากกว่า 30 ละออง/ตร. ซม.จากข้อมูลเบื้องต้นดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูเห็ดต่อไป ซึ่งสามารถลดการใช้สารฆ่าแมลงได้มากกว่า 75% เมื่อเทียบกับอัตราการพ่นของเกษตรกร สำหรับการทดลองที่ 2 ข้อมูลอยู่ระหว่างการวิเคราะห์ผล

รหัสการทดลอง 01-16-49-03

คำนำ

เห็ดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่ง เนื่องจากใช้เพื่อการบริโภคสดภายในประเทศและส่งออกต่างประเทศ เป็นพืชที่มีคุณค่าทั้งทางด้านโภชนาการและมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพรรักษาโรคได้ อีกทั้งเป็นพืชที่สามารถเพาะได้ในครัวเรือน จึงทำให้สถานการณ์การปลูกเห็ดในประเทศไทยได้ขยายพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ จากการที่เกษตรกรผู้ปลูกเห็ดมีการขยายกำลังการผลิตและพื้นที่ปลูกมาก จนทำให้ละเลยการป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูเห็ด ในปัจจุบันเห็ดที่ปลูกส่วนใหญ่มีปัญหาเกี่ยวกับแมลงและไรลงทำลาย จนทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิตจนบางแห่งต้องเลิกกิจการไปอย่างถาวร จากสถานการณ์การระบาดของแมลงและไรศัตรูเห็ดในปัจจุบัน เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบเดิม (conventional method) ด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงและใช้เครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดต่ำและไม่ทันต่อการระบาด จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องศึกษาและพัฒนาเทคนิคการพ่นสาร ตลอดจนพัฒนาและปรับปรุงเครื่องพ่นสารต่างๆ ให้มีประสิทธิภาพที่เหมาะสม เพื่อให้ทราบถึงอัตราการพ่น อัตราการใช้ และสารออกฤทธิ์ที่เหมาะสมกับชนิดของแมลง อายุของพืช เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ในการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูเห็ด นอกจากนี้ยังได้ทำการทดลองเครื่องพ่นสารแบบใหม่ ได้แก่ เครื่อง Turbair ซึ่งเป็นเครื่องพ่นสารประเภท CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted เครื่องพ่นสารชนิดนี้เป็นเครื่องที่สามารถควบคุมขนาดละอองสารได้ค่อนข้างสม่ำเสมอ ละอองสารมีขนาดเล็ก สามารถแทรกซอนสู่เป้าหมายได้ดี จึงควรนำเครื่องพ่นสารชนิดนี้มาทำการศึกษาสมรรถนะของการพ่นสารในโรงเรือนกึ่งปิด เช่น โรงเรือนเห็ด เป็นต้น เพื่อจะได้ไปแนะนำแก่เกษตรกร ให้ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพ ประหยัดแรงงาน และสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชมีการตกค้างในผลผลิตน้อย ตลอดจนมีความปลอดภัยต่อผู้พ่นสาร และสภาพแวดล้อม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง (Motorized high pressure knapsack sprayer) ประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone, ประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบรูฉีดและแผ่นกระแสวนแยกกัน (Disc and core) ขนาด D_4C_{23} และหัวฉีดแบบพัดเบอร์ 11003(ภาพที่ 1 ก, 1 ข และ 1 ค) ตามลำดับ
2. เครื่องพ่นสาร CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted (Turbair) ประกอบที่บังคับการไหล (restrictor) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.4 มม.(ภาพที่ 2 ก และ 2 ข)
3. โรงเรือนเห็ด / ก้อนเห็ดทดลอง
4. สี Saturn yellow
5. เครื่องมือวัดความเป็นกรด ด่าง ของน้ำ
6. สารจับใบ (Tension CS-7)
7. อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ วัดความเร็วลม
8. หลอดแสงสีม่วง (Ultraviolet light)
9. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น อุปกรณ์ตวงและผสมสาร ชุดพ่นสารป้องกันสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

วิธีการ ทำการทดลอง 2 การทดลองที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

การทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ Factorial in RCB มี 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ พ่น ด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้

1. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone แรงดัน 15 บาร์ อัตราพ่น 240 ลิตร/ไร่ (วิธีของเกษตรกร)
2. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone แรงดัน 15 บาร์ อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่
3. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง ประกอบหัวฉีดแบบกรวยกลวงแบบรูฉีดและแผ่นกระแสวนแยกกัน (Disc and core) ขนาด D_4C_{23} 15 บาร์ อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่
4. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดแบบพัดเบอร์ 11003 แรงดัน 3 บาร์ อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่
5. พ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่องพ่นสาร CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted (Turbair) อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่

การทดลองที่ 2 เหมือนการทดลองที่ 1

วิธีปฏิบัติ

การทดลองที่ 1

ทำการพ่นก้อนเชื้อเห็ดที่ยังไม่เปิดดอก ด้วยสี Saturn yellow 1% หลังจากพ่นทดลองแล้วเก็บก้อนเห็ด ตรวจวัดการแพร่กระจายภายใต้หลอดแสงสีม่วง (Ultraviolet light) ที่ก้อนเชื้อเห็ด 3 จุดคือบริเวณรอบปากถุง ด้านนอกจุกและด้านในจุกตามลำดับ (ภาพที่ 3) ตรวจวัดโดยให้คะแนนเป็นระดับความหนาแน่นทั้ง 3 จุด ตรวจนับซ้ำละ 30 ก้อนเชื้อเห็ด ดังนั้นใน 1 กรรมวิธีตรวจนับทั้งหมด 120 ก้อนเชื้อ

การทดลองที่ 2

ทำการพ่นก้อนเชื้อเห็ดที่เปิดดอก ด้วยสี Saturn yellow 1% หลังจากพ่นทดลองแล้วเก็บก้อนเห็ด ตรวจวัดการแพร่กระจายภายใต้หลอดแสงสีม่วง (Ultraviolet light) ที่ดอกเห็ดทั้งด้านบนและด้านใต้ดอกเห็ด (ภาพที่ 4) ตรวจวัดโดยให้คะแนนเป็นระดับความหนาแน่น ตรวจนับซ้ำละ 30 ก้อนเชื้อเห็ด ดังนั้นใน 1 กรรมวิธีตรวจนับทั้งหมด 120 ก้อนเชื้อเห็ด ทั้งสองการทดลองทำการวัดระดับการแพร่กระจายของละอองสารดังนี้

ระดับ 1 ไม่มีละอองสาร

ระดับ 2 มีละอองสาร 1 - 2 ละออง

ระดับ 3 มีละอองสารเล็กน้อยมีความหนาแน่นน้อยกว่า 20 ละอองสาร/ตร.ซม. แต่ไม่สม่ำเสมอ

ระดับ 4 มีละอองสารเล็กน้อยมีความหนาแน่นน้อยกว่า 20 ละอองสาร/ตร.ซม.แต่สม่ำเสมอ

ระดับ 5 มีละอองสารปานกลางมีความหนาแน่น 21 - 50 ละอองสาร/ตร.ซม. แต่ไม่สม่ำเสมอ

ระดับ 6 มีละอองสารปานกลางมีความหนาแน่น 21 - 50 ละอองสาร/ตร.ซม. แต่สม่ำเสมอ

ระดับ 7 มีละอองสารมากมีความหนาแน่นมากกว่า 50 ละอองสาร/ตร.ซม. แต่ไม่สม่ำเสมอ

ระดับ 8 มีละอองสารมากมีความหนาแน่นมากกว่า 50 ละอองสาร/ตร.ซม. แต่สม่ำเสมอ

ระดับ 9 ละอองสารมีมากเกินไปจนเกิด อาการหยดลงพื้นดิน (Run - off)

เวลาและสถานที่

การทดลองที่ 1 ทำการทดลองระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึง สิงหาคม 2552

การทดลองที่ 2 ทำการทดลองระหว่างเดือนสิงหาคม ถึง กันยายน 2552

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

จากการทดลองกับก้อนเห็ดที่ยังไม่เปิดดอกเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าการพ่นสารแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone (แบบเกษตรกร) ที่อัตราพ่น 240 (อัตราของเกษตรกร) และ 120 ลิตร/ไร่ การพ่นด้วยหัวฉีดกรวยกลวงแบบแผ่นกระแสวนและหัวฉีดแยกกัน (disc and core) ที่อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่ การพ่นด้วยหัวฉีดแบบพัดที่อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่ และการพ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่องพ่นสาร CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted (Turbair) ที่อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ พบค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของการแพร่กระจายของละอองสารโดยรวมคือที่ระดับ 5.75, 6.15, 6.12, 6.23 และ 5.77 ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการพ่นด้วยหัวฉีดแบบพัดอัตรา 60 ลิตร/ไร่ ให้ค่าเฉลี่ยของความหนาแน่นโดยรวมสูงที่สุดคือ 6.23 ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยหัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone (แบบเกษตรกร) ที่อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่และกรรมวิธีการพ่นด้วยหัวฉีดกรวยกลวงแบบแผ่นกระแสวนและหัวฉีดแยกกัน (disc and core) ที่อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่ ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยที่ระดับ 6.15 และ 6.12 ตามลำดับ แต่ทั้งสามกรรมวิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีการพ่นด้วยหัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone (แบบเกษตรกร) ที่อัตราพ่น 240 ไร่ และการพ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่องพ่นสาร CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted (Turbair) ที่อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ ที่ให้ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของละอองสารที่ 5.75 และ 5.77 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการพ่นสารด้วยอัตราพ่นของเกษตรกรที่อัตราพ่นสูงถึง 240 ลิตร/ไร่ ให้ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของละอองสารต่ำที่สุดกว่าทุกกรรมวิธี สำหรับบริเวณจุดพ่นที่จุดต่างๆ คือบริเวณรอบปากถุง ด้านนอกจุกและด้านในจุก ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของละอองสารดังนี้ ที่บริเวณรอบปากถุง พบค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของการแพร่กระจายของละอองสารคือที่ระดับ 8.02, 8.43, 9.00, 8.97 และ 7.68 ตามลำดับ ซึ่งทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยกเว้นการพ่นด้วยหัวฉีดกรวยกลวงแบบแผ่นกระแสวนและหัวฉีดแยกกัน (disc and core) ที่อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่ ให้ค่าเฉลี่ยสูงสุดคือที่ระดับ 9 ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีการพ่นด้วยหัวฉีดแบบพัดที่อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่ที่ให้ค่าเฉลี่ยที่ระดับ 8.97 โดยกรรมวิธีที่ให้ค่าเฉลี่ยต่ำที่สุดคือการพ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่องพ่นสาร CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted (Turbair) ที่อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่คือที่ระดับ 7.68 (ตารางที่ 1) สำหรับบริเวณปากจุกด้านนอกค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของละอองดังนี้ 4.53, 4.87, 4.61 4.53 และ 4.73 และส่วนปากจุกด้านในค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของละอองดังนี้ 4.71, 5.16, 4.75, 5.20 และ 4.92 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าทั้งสองจุดนี้ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของละอองทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) จากผลการทดลองของการ

ทดลองที่ 1 พบว่าทุกกรรมวิธีการพ่นสารสามารถให้ละอองสารที่เพียงพอต่อการป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูเห็ด เนื่องจากละอองสารที่มีความหนาแน่นแค่เพียงระดับ 5 - 6 ความหนาแน่นของละอองสารที่ระดับดังกล่าวสามารถให้ละอองสารอยู่ที่ประมาณ 21-50 ละออง/ตร.ซม. ซึ่งเพียงพอที่จะทำการป้องกันกำจัดแมลงได้แล้ว (Matthews, 2000) ดังนั้นจึงสามารถนำเอาข้อมูลทางกายภาพที่ได้มาเป็นข้อมูลพื้นฐานในการทดลองทางด้านประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงจริงต่อไป ซึ่งสามารถลดการใช้สารฆ่าแมลงลงจากเดิมที่เกษตรกรใช้อยู่ที่ 200-240 ลิตร/ไร่ ลงได้อย่างน้อย 50-70% นอกจากนี้ยังสามารถนำเอาข้อมูลทางกายภาพที่ได้มาพัฒนาเทคนิคการพ่นสารแบบใหม่ที่เป็นการพ่นแบบน้ำน้อยมากโดยใช้เครื่อง Turbair ซึ่งเป็นเครื่องพ่นสารประเภท CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted ซึ่งเป็นเครื่องที่สามารถควบคุมขนาดละอองสารให้ค่อนข้างสม่ำเสมอ ละอองที่ได้มีขนาดเล็ก สามารถแทรกซอนสู่เป้าหมายได้ดี เพื่อเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรต่อไป

การทดลองที่ 2 อยู่ระหว่างการวิเคราะห์ผล

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. จากข้อมูลทางกายภาพ สามารถนำมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงและไรศัตรูเห็ด ในระยะก่อนเปิดดอกซึ่งในเบื้องต้นจะเลือกวิธีการพ่นด้วยหัวฉีดแบบพัดที่อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่ มาใช้ในการทดลองกับสารฆ่าแมลงจริงที่ได้จากเอกสารคำแนะนำ การใช้สารป้องกันกำจัดแมลงของกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ซึ่งอัตราพ่นดังกล่าวเป็นอัตราที่ลดการใช้สารเดิมของเกษตรลงกว่า 75% เมื่ออัตราดังกล่าวให้ผลดีทางด้านประสิทธิภาพ ก็จะใช้เป็นแนวทางในการศึกษาต่อในด้านประสิทธิภาพในอัตราพ่นที่น้อยลงและนำมาทดลองกับการพ่นแบบน้ำน้อยมาก เพื่อใช้ในการแนะนำอัตราการพ่นที่เหมาะสมและเป็นทางเลือกสู่เกษตรกรต่อไป

2. เนื่องจากเครื่อง Turbair เป็นเครื่องพ่นสารที่ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงที่ดีมาก สามารถผลิตละอองที่เล็ก ขนาดละอองมีความสม่ำเสมอสูง ตลอดจนมีแรงลมช่วยในการพัดพาละอองแทรกซอนเข้าสู่เป้าหมายได้ดี ในต่างประเทศจึงนิยมใช้การพ่นสารในโรงเรือนปิด (greenhouse) ทางผู้วิจัยเห็นว่าเครื่องนี้น่าจะมีประสิทธิภาพในโรงเรือนกึ่งปิด เช่น ในโรงเรือนเห็ดเหมือนกัน จึงได้นำมาทดลองเพื่อประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงและไรศัตรูเห็ด แต่เนื่องจากเป็นครั้งแรกที่ได้มีการนำมาใช้ในประเทศไทยจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งในด้านกายภาพและประสิทธิภาพในโรงเรือนเห็ด เพื่อหาอัตราพ่น และแนวพ่นสารที่เหมาะสมต่อไป

3. ในกรณีที่ต้องการพ่นด้วยเครื่อง Turbair ด้วยสารฆ่าแมลงจริงการพ่นสารเป็นแบบน้ำน้อยมาก ปริมาณสารที่ผสมเท่ากับการพ่นแบบน้ำมาก ละอองสารที่กระจายจึงมีขนาดเล็ก แต่มีความเข้มข้นมาก อาจเกิดอันตรายต่อผู้พ่น จึงควรมีการสวมชุดป้องกันอันตราย นอกจากนี้จากการที่การพ่นแบบน้ำน้อยมากน้ำยามีความเข้มข้นมากจึงควรมีการศึกษาเรื่องความเป็นพิษต่อพืช (phytotoxic) ด้วยสารฆ่าแมลงสูตรต่างๆ ที่นิยมใช้ ได้แก่ สูตร EC, SC, G, WP หรือ WDG

เอกสารอ้างอิง

กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์ พรทิพย์ วิสารทานนท์ ฉัตรไชย ศฤงฆไพบูรณ์ และ สัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2544. แมลง-ไร ศัตรูเห็ดในประเทศไทย. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 80 หน้า

จีรนุช เอกอำนวย ดำรง เวชกิจ อำพล แก้วทอง สรรชัย เพชรธรรมรส ไพศาล รัตนเสถียร. 2546. ศึกษาประสิทธิภาพวิธีการพ่นสารแบบ HV และ LV ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูคะน้า.

นิทรรศการแผ่นภาพ *ใน* หนึ่งทศวรรษแห่งการอารักขาพืชในประเทศไทย. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 5 หน้า 97.

ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท สรรชัย เพชรธรรมรส สิริวิภา พลตรี. 2551. ศึกษาประสิทธิภาพของ ULEM เพื่อการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกล้วยไม้บางชนิด. รายงานผลวิจัยเรื่องเต็ม. กรมวิชาการเกษตร. 57 หน้า.

ไพศาล รัตนเสถียร ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย สมบูรณ์ ทองสกุล ทรงวุฒิ พจนานุวงศ์ และสมชาย อามีน. 2543. เทคนิคการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช. เอกสารวิชาการกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 177 หน้า

Anonymous. 1998. Pesticide Application Manual 2nd edition. Department of Primary Industries. 154 pp.

Matthews, G.A. 1979. Pesticide Application methods Longman, London. 334 pp.

Matthews, G.A. 2000. Pesticide Application methods 3rd edition. Blackwell Science 432 pp.

ตารางที่ 1 ระดับความหนาแน่นของละอองสารโดยรวม ด้วยกรรมวิธีต่างๆ 5 กรรมวิธี ทำการทดลองระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึง สิงหาคม 2552 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (การทดลองที่ 1)

กรรมวิธี	ระดับความหนาแน่นของละอองสารโดยรวม
กรรมวิธีที่ 1[1/]	5.75b[2/]
กรรมวิธีที่ 2	6.15a
กรรมวิธีที่ 3	6.12a
กรรมวิธีที่ 4	6.23a
กรรมวิธีที่ 5	5.77b

DMRT = 0.06 (5%); CV = 4.38%

[1/] 1. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone แรงดัน 15 บาร์ อัตราพ่น 240 ลิตร/ไร่

2. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone แรงดัน 15 บาร์ อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่

3. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง ประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบรูฉีดและแผ่นกระแสวนแยกกัน (Disc and core) ขนาด D_4C_{23} 15 บาร์ อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่

4. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดแบบพัดเบอร์ 11003แรงดัน 3 บาร์ อัตราพ่น 60 ลิตร/ไร่

5. พ่นสารด้วยเครื่องพ่นสาร CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted (Turbair) อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่

[2/] ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแต่ละสดมภ์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ P = 0.05% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 ระดับความหนาแน่นของละอองสารที่ก้อนเชื้อเห็ดทั้ง 3 จุดคือบริเวณรอบปากถุง ด้านนอกจุกและด้านในจุกด้วยกรรมวิธีต่างๆ 5 กรรมวิธี ทำการทดลองระหว่างเดือนสิงหาคม ถึงกันยายน 2552 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช (การทดลองที่ 1)

กรรมวิธี	**ตำแหน่ง**		
	รอบปากถุง	**ด้านนอกจุก**	**ด้านในจุก**
กรรมวิธีที่ 1[1/]	8.02c[2/]	4.53a	4.71a
กรรมวิธีที่ 2	8.43b	4.87a	5.16a
กรรมวิธีที่ 3	9.00a	4.61a	4.75a
กรรมวิธีที่ 4	8.97a	4.53a	5.20a
กรรมวิธีที่ 5	7.68d	4.73a	4.92a
CV %	1.931	4.88	7.47

[1/] และ [2/] เหมือนตารางที่ 1

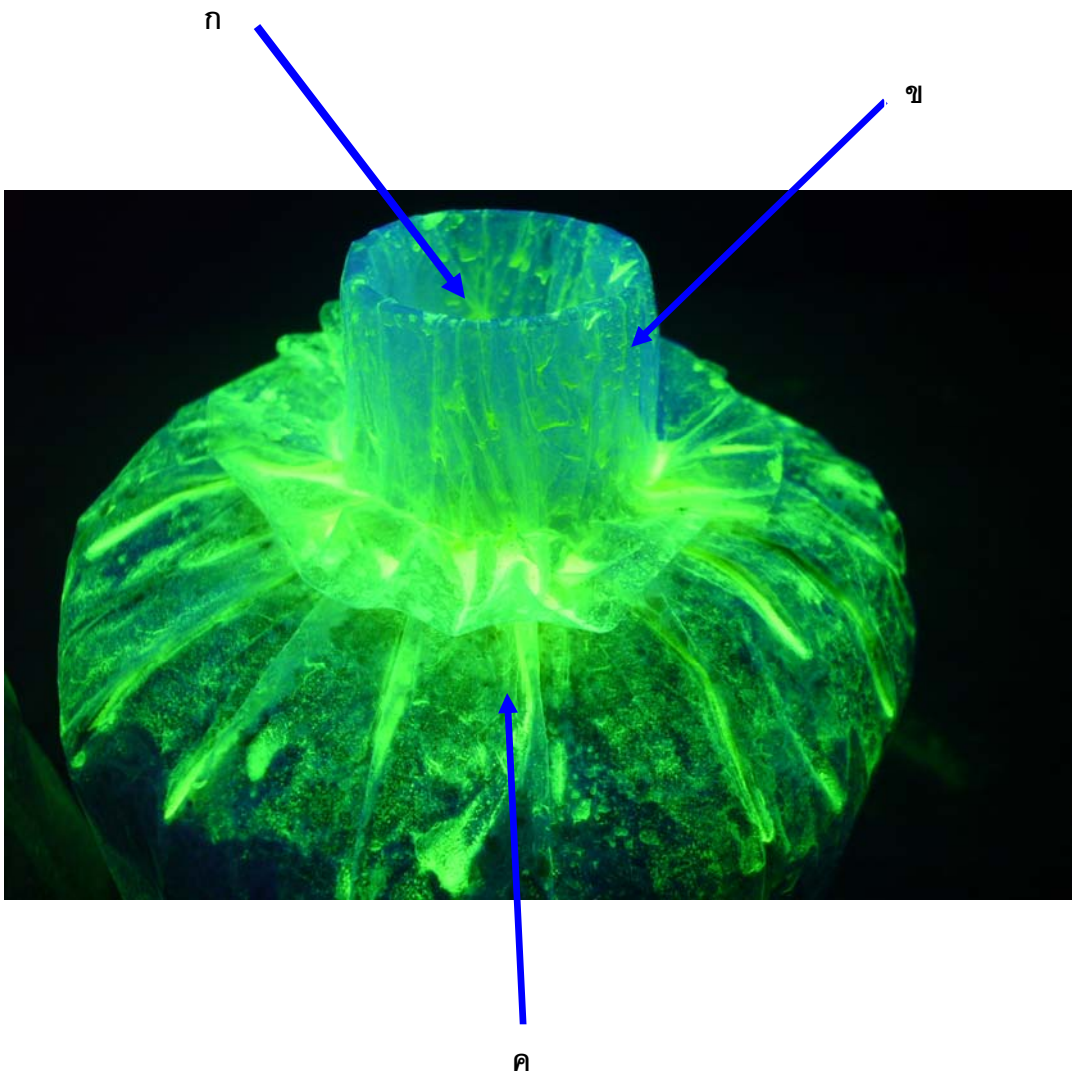
ภาพที่ 1 ก หัวฉีดกรวยกลวงแบบ adjustable cone

ภาพที่ 1 ข หัวฉีดกรวยกลวงแบบรูฉีดและแผ่นกระแสวนแยกกัน (disc and core)

ภาพที่ 1 **ค** หัวฉีดแบบพัด

ภาพที่ 2 **ก** เครื่องพ่นสาร CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted (Turbair)

ภาพที่ 2 **ข** ที่บังคับอัตราการไหล

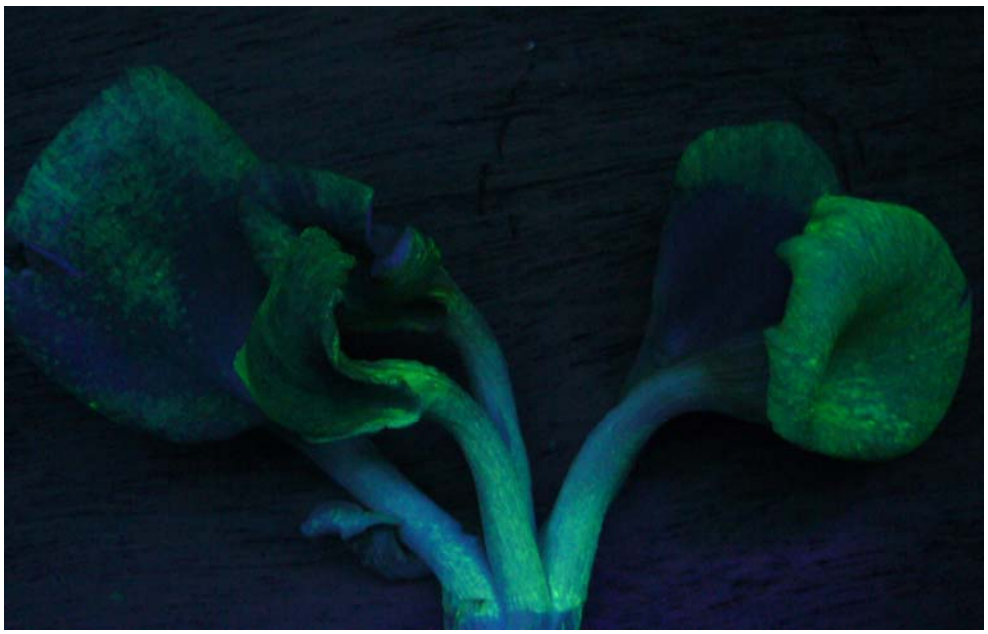


ภาพที่ 3 แสดงจุดที่ทำการตรวจนับการแพร่กระจายของละอองสารภายใต้หลอดแสงสีม่วง (Ultraviolet light) (การทดลองที่ 1)

ก. บริเวณรอบปากถุง

ข. บริเวณด้านนอกจุก

ค. บริเวณด้านในจุก



ภาพที่ 4 ก

ภาพที่ 4 ข

ภาพที่ 4 แสดงการตรวจนับการแพร่กระจายของละอองสารภายใต้หลอดแสงสีม่วง (Ultraviolet light)

(การทดลองที่ 2) **ภาพที่ 4 ก.** ด้านบนดอก และ**ภาพที่ 4 ข.** ด้านใต้ดอก

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 2552 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 เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อราสามารถจำแนกได้เป็นเชื้อราสกุล *Cladobotryum verticillatum* ซึ่งเป็นระยะ anamorph ของรา *Hypomyces ochraceus* การทดสอบสารเคมีในการป้องกันกำจัดราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชสารคาร์เบนดาซิม (carbendazim) สารเคมีโพรคลอราซ (prochloraz) และสารเคมีโพรพิโคนาโซล (propiconazole) มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ดี การทดสอบการใช้สารสกัดจากขมิ้นชัน ไพล ใบพลู และ เปลือกมังคุด ในการกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของเชื้อรา *Hypomyces* สาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ แต่ไม่ดีเทียบเท่าการใช้สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช การทดสอบผลของน้ำส้มควันไม้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำส้มควันไม้ พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดเป๋าฮื้อไม่สามารถเจริญได้บนอาหารที่ผสมน้ำส้มควันไม้ในอัตราส่วน น้ำส้มควันไม้ ต่อน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เท่ากับ 1 : 20 และในอัตราส่วนนี้ เส้นใยเห็ดก็ชะงักการเจริญด้วย

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* ลงบนดอกเห็ดเป๋าฮื้อ บ่มเชื้อ 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

เวลา เดือน ตุลาคม 2550 – เดือน กันยายน 2553

สถานที่ - กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- ฟาร์มเพาะเห็ดเศรษฐกิจของเกษตรกร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2552 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 พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชสารคาร์เบนดาซิม (carbendazim) สารเคมีโพรคลอราซ (prochloraz) และ

สารเคมีโพรพิโคนาโซล (propiconazole) มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ดี

การทดสอบการใช้สารสกัดจากขมิ้นชัน ไพล ใบพลู และ เปลือกมังคุด ในการกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราของเชื้อรา *Hypomyces* สาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ แต่ไม่ดีเทียบเท่าการใช้สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช

การทดสอบผลของน้ำส้มควันไม้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำส้มควันไม้ พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดเป๋าฮื้อไม่สามารถเจริญได้บนอาหารที่ผสมน้ำส้มควันไม้ในอัตราส่วน น้ำส้มควันไม้ ต่อน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1 : 20 และในอัตราส่วนนี้ เส้นใยเห็ดก็ชะงักการเจริญด้วย

งานวิจัยเรื่องนี้ยังดำเนินการไม่จบ จะต้องทำการศึกษาวิจัยต่อไปจนถึง ปี พ.ศ. 2553 คาดว่าเมื่อถึงเวลานั้นแล้ว คงผลการทดลองที่มีข้อมูล และรายละเอียดที่ชัดเจนและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2552 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 พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชสารคาร์เบนดาซิม (carbendazim) สารเคมีโพรคลอราซ (prochloraz) และสารเคมีโพรพิโคนาโซล (propiconazole) มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ดี

การทดสอบการใช้สารสกัดจากขมิ้นชัน ไพล ใบพลู และ เปลือกมังคุด ในการกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุม พบว่า สารสกัดทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการ

เจริญของเชื้อราของเชื้อรา *Hypomyces* สาเหตุโรคใยแมงมุมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และในสภาพโรงเรือนได้ แต่ไม่ดีเทียบเท่าการใช้สารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช

การทดสอบผลของน้ำส้มควันไม้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Hypomyces* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมน้ำส้มควันไม้ พบว่า เชื้อราสาเหตุโรคใยแมงมุมของเห็ดเป๋าฮื้อไม่สามารถเจริญได้บนอาหารที่ผสมน้ำส้มควันไม้ในอัตราส่วน น้ำส้มควันไม้ ต่อน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1 : 20 และในอัตราส่วนนี้ เส้นใยเห็ดก็ชะงักการเจริญด้วย

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 และดอกเห็ดตีนแรด ในฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า และโรงเรือนทดลองเพาะก้อนเชื้อเห็ด *Oudemansiella* spp.ในพื้นที่ 18 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร ชลบุรี เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม ราชบุรี ระยอง พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี ลำปาง ร้อยเอ็ด ลพบุรี ลำพูน ศรีสะเกษ สุรินทร์ อุดรธานี และอุบลราชธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2552 สามารถรวบรวมราเมือกได้จำนวน 82 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 82 ไอโซเลท สามารถจำแนกเบื้องต้นได้เป็นราเมือก 4 สกุล (genus) ได้แก่ สกุล *Arcyria*, สกุล *Fuligo,* สกุล *Physarum* และ สกุล *Stemonitis* เมื่อประเมินความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของราเมือกพบว่ามีความเสียหายตั้งแต่ 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 “ราเมือก” 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) และภาควิชาพฤกษศาสตร์ (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 เพื่อให้

ข้อมูลและผลสรุปที่เป็นประโยชน์ต่อการหาวิธีการป้องกันกำจัดราเมือกนี้อย่างมีประสิทธิภาพ 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

เวลา เดือน ตุลาคม 2550 – เดือน กันยายน 2553

สถานที่ - กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

- ฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างราเมือกที่พบเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ด และดอกเห็ดนางรม เห็ดภูฏาน เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดขอนขาว และดอกเห็ดตีนแรด ในฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า และโรงเรือนทดลองเพาะก้อนเชื้อเห็ด *Oudemansiella* spp.ในพื้นที่ 18 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร ชลบุรี เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม ราชบุรี ระยอง พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี ลำปาง ร้อยเอ็ด ลพบุรี ลำพูน ศรีสะเกษ สุรินทร์ อุดรธานี และอุบลราชธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2552 สามารถรวบรวมราเมือกได้จำนวน 82 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 ลักษณะคล้ายหมอน ขนาดเท่ากับขนาดกลุ่มของพลาสโมเดียม 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 กลุ่มซ่อสปอร์ ยาวจนเกือบถึงยอดสปอร์แรงเจียมหรือแคปิลลีเทียม มีลักษณะเป็นตาข่ายหรือร่างแห สปอร์สีดำปนม่วงเมื่ออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ผนังตะปุ่มตะป่ำ (wart) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของสปอร์เท่ากับ 7-9 ไมครอน เมื่อมีสภาพแวดล้อมเหมาะสม จะเจริญเป็นพลาสโมเดียม มีการเจริญและเคลื่อนที่คล้ายอะมีบา มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ดราเมือกหรือ 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 อาจพบพลาสโมเดียมของราสามารถคืบคลานไปบนลำต้น และใบพืชที่ยังมีชีวิตอยู่ 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 และดอกเห็ดตีนแรด ในฟาร์มเพาะเห็ดเป็นการค้า และโรงเรือนทดลองเพาะก้อนเชื้อเห็ด *Oudemansiella* spp.ในพื้นที่ 18 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร

ชลบุรี เชียงใหม่ เชียงราย นครปฐม ราชบุรี ระยอง พังงา ประจวบคีรีขันธ์ ปราจีนบุรี ลำปาง ร้อยเอ็ด ลพบุรี ลำพูน ศรีสะเกษ สุรินทร์ อุดรธานี และอุบลราชธานี ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือนกันยายน 2552 สามารถรวบรวมราเมือกได้จำนวน 82 ไอโซเลท 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.

<u>ตารางที่ 1</u> 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*

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*

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 - พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม	สกุล *Stemonitis* 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*

1847

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*
50-54	อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม	40	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
55-57	อ.พัฒนานิคม จ.ลพบุรี	50	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
58-62	อ.เมือง จ.อุดรธานี	30	ก้อนเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*

1848

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ไอโซเลทที่	สถานที่	ระดับความเสียหาย (%)	ชนิดเห็ด/ก้อนเห็ดที่พบ	ลักษณะราเมือก	ชนิดราเมือก
63-64	เขตจตุจักร กรุงเทพฯ	10	ก้อนเชื้อเห็ด *Oudemansiella* spp.	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
65-66	อ.นิคมพัฒนา จ.ระยอง	50	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
67-68	อ.นิคมพัฒนา จ.ระยอง	50	ก้อนเชื้อเห็ดขอนขาว	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
69-70	อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่	30	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
71-72	อ.แม่ทา จ.ลำพูน	25	ก้อนเชื้อเห็ดนางรม	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
73-74	อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี	40	ก้อนเชื้อเห็ดนางรม	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*

1849

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ไอโซเลทที่	สถานที่	ระดับความเสียหาย (%)	ชนิดเห็ด/ก้อนเห็ดที่พบ	ลักษณะราเมือก	ชนิดราเมือก
75-78	อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี	20	ก้อนเชื้อเห็ดภูฏาน	เป็นกลุ่มสปอร์แรงเจียม รูปทรงกระบอกปลายมน มีสีน้ำตาลปนม่วงเข้มจนถึงสีดำ พลาสโมเดียม มีสีเหลืองอ่อนหรือขาว แผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด อยู่ภายในก้อนเชื้อเห็ด	สกุล *Stemonitis*
79-82	อ.ขุนวาง จ.เชียงใหม่	10	ก้อนเชื้อเห็ดนางรม	พลาสโมเดียมแผ่ขยายในลักษณะคล้ายรูปพัด สีเหลืองสดเป็นมันเยิ้ม	สกุล *Physarum*

1850

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 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบผลของสารทดสอบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม พบว่า น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มีผลทำให้ปลายเส้นใยของเห็ดนางรมเจริญไม่ปกติ และทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในโรงเรือนเพาะเห็ดเบื้องต้น พบว่า คาซูกามายซิน และน้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้น ตั้งแต่ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ คือ คาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดโรคเน่าสีน้ำตาล 60.0 50.0 58.0 และ40.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าพบการเกิดโรค 67.0 เปอร์เซ็นต์ และน้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดโรคเน่าสีน้ำตาล 50.0 48.0 40.0 และ

รหัสการทดลอง 01-16-49-03-06-09-01-51

40.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าพบการเกิดโรค 65.0 เปอร์เซ็นต์ สารไคโตซานและซีโอไลท์ ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ ไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้

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. ทดสอบประสิทธิภาพของสารทดสอบในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ

1.1 เตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp.สาเหตุโรคของเห็ด โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเจือจางเชื้อในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อให้ ได้ความเข้มข้น 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 และspread บนอาหารPDAในจานเลี้ยงเชื้อเพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

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 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 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

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารทดสอบในการป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในโรงเรือนเพาะเห็ด

2.1 เตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. สาเหตุโรคของเห็ด โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PSA ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเจือจางเชื้อในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้น 10^8 เซลต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

2.2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารทดสอบในการป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ด

โดยใส่เชื้อแบคทีเรียที่เตรียมจากข้อ 2.1 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในก้อนเห็ดนางรมที่อยู่ในโรงเพาะเห็ด เปิดดอก และรดน้ำตามปกติ หลังจากพบการเกิดโรค นำก้อนเห็ดที่เป็นโรค ไปวางรวมกับก้อนเห็ดปกติในโรงเรือน แล้วพ่นสารทดสอบความเข้มข้นต่างๆ โดยพ่นสารบริเวณผิวรอบนอกของถุงก้อนเห็ด บริเวณชั้นวาง พื้น และผนังโรงเรือนโรงเรือน ใช้แผ่นพลาสติกคลุมกั้นแยกบริเวณในแต่ละกรรมวิธี มีกรรมวิธีพ่นน้ำนึ่งฆ่าเชื้อเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ตรวจบันทึกการเกิดโรคของเห็ดทุกวัน เป็นเวลา 2 เดือน ทดสอบประสิทธิภาพของคาซูกามายซิน และน้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ และไคโตซาน และซีโอไลท์ ที่ความเข้มข้น 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์

เวลาและสถานที่

เวลา **เริ่มต้น** ตุลาคม 2550 **สิ้นสุด** กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ทดสอบประสิทธิภาพของสารทดสอบในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ

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 โดยตรวจวัดบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดรอบๆแผ่นกระดาษกรอง คิดเป็นค่าเฉลี่ย ผลการทดลองพบว่าไคโตซาน 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 15.0และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ทดสอบผลของสารทดสอบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม พบว่า สารไคโตซาน และ ซีโอไลท์ ทุกความเข้มข้น ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม ส่วนน้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มีผลทำให้ปลายเส้นใยของเห็ดนางรมเจริญไม่ปกติ (ตารางที่ 2)

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

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารทดสอบในการป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในโรงเรือนเพาะเห็ด

ทดสอบประสิทธิภาพของคาซูกามายซิน และน้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ และไคโตซาน และซีโอไลท์ ที่ความเข้มข้น 5.0 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ผลจากการทดสอบเบื้องต้น พบว่า คาซูกามายซิน และน้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0 เปอร์เซ็นต์ สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ คือ คาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดโรคเน่าสีน้ำตาล 60.0 50.0 58.0 และ40.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าพบการเกิดโรค 67.0 เปอร์เซ็นต์ และน้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้น 1.0 3.0 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ พบการเกิดโรคเน่าสีน้ำตาล 50.0 48.0 40.0 และ 40.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีพ่นน้ำเปล่าพบการเกิดโรค 65.0 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) สารไคโตซาน และซีโอไลท์ ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ ไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ ดังแสดงในตารางที่ 4 และเพื่อความถูกต้องของผลการทดลองจึงทำการทดลองต่อในปีที่ 3

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรม เมื่อพ่นสารคาซูกามายซิน และน้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารในการป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในโรงเรือนเพาะเห็ด

ความเข้มข้นของสาร (%)	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของเห็ดนางรม	
	คาซูกามายซิน	น้ำส้มควันไม้
0.0	67.0	65.0
0.5	67.0	66.0
1.0	60.0	50.0
3.0	50.0	48.0
5.0	58.0	40.0
10.0	40.0	40.0

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรม เมื่อพ่นสารไคโตซาน และซีโอไลท์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารในการป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในโรงเรือนเพาะเห็ด

ความเข้มข้นของสาร (%)	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของเห็ดนางรม	
	ไคโตซาน	ซีโอไลท์
0.0	60.0	62.0
5.0	60.0	63.0
10.0	60.0	62.0
15.0	61.0	63.0
20.0	68.0	63.0

สรุปผลการทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารไคโตซาน ซีโอไลท์ น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในห้องปฏิบัติการ พบว่าไคโตซาน ที่ความเข้มข้น 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ ซีโอไลท์ ที่ความเข้มข้น 10.0 15.0 และ 20.0 เปอร์เซ็นต์ น้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค และเมื่อทดสอบผลของสารทดสอบต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางรม พบว่า น้ำส้มควันไม้ และคาซูกามายซิน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป มีผลทำให้ปลายเส้นใยของเห็ดนางรมเจริญไม่ปกติ และจากการทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเน่าสีน้ำตาลของเห็ดนางรมในโรงเรือนเพาะเห็ด พบว่าคาซูกามายซิน และน้ำส้มควันไม้ ที่ความเข้มข้น ตั้งแต่ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ ส่วนไคโตซาน และซีโอไลท์ ทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ ไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้

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 Agriculture and the Pennsylvania State University, United States of America.

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

การทดสอบประสิทธิภาพของสารอะบาเมคติน ในการควบคุมโรครากปมและหัวหูดของมันฝรั่งในแปลงทดลอง ที่มีขนาดแปลงทดลองย่อย 1x2 เมตร พบว่าการราดดินก่อนปลูกด้วย abamectin 1.8% EC อัตรา 25 หรือ 50 มิลลิลิตร/น้ำ 5 ลิตร/แปลง การราดดินก่อนปลูกและ 60 วันหลังปลูกในอัตรา 25 มิลลิลิตร/น้ำ 5 ลิตร/แปลง การราดดินหลังปลูก 60 วันในอัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 5 ลิตร/แปลง ให้ผลไม่แตกต่างกับการไม่ใช้สารเคมี หรือการโรยในร่องปลูกและคลุกดินก่อนปลูกด้วยสาร carbofuran อัตรา 10 กรัม/แปลง ถึงแม้ว่าจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมในดินหลังปลูก ในบางกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีมีแนวโน้มที่ลดลง และน้ำหนักของหัวมันฝรั่งในกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น แต่ระดับการเกิดหูดของหัวมันฝรั่งไม่แตกต่างกันมากนัก

รหัสกิจกรรม 01 16 49 05

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

เพื่อทราบถึงประสิทธิภาพของสาร abamectin ในการควบคุมโรครากปมและหัวหูดของมันฝรั่ง ที่เกิดจากไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne* spp.

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

- หัวพันธุ์มันฝรั่งพันธุ์ atlantic
- สารอะบาเมคติน 1.8% EC
- อุปกรณ์การปลูกมันฝรั่งและเตรียมสารเคมี
- อุปกรณ์สำหรับการตรวจผลการทดลอง เช่น เครื่องชั่ง กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ถุงพลาสติก ถ้วยนับตัวอย่าง กล้องจุลทรรศน์
- อุปกรณ์แยกไส้เดือนฝอย

วิธีการ

ทำการทดลองในแปลงทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB 6 กรรมวิธี 5 ซ้ำ มีขนาดแปลงทดลองย่อย 1 X 2 เมตร ปลูกมันฝรั่ง 2 แถวต่อแปลง โดยมีระยะห่างระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างต้น 25 เซนติเมตร กรรมวิธีทดลองประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 ราดสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 25 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 5 ลิตร ต่อแปลง ก่อนปลูกมันฝรั่ง

กรรมวิธีที่ 2 ราดสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 5 ลิตร ต่อแปลง ก่อนปลูกมันฝรั่ง

กรรมวิธีที่ 3 ราดสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 25 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 5 ลิตร ต่อแปลง ก่อนปลูกมันฝรั่ง และราดซ้ำอีกครั้ง 60 วันหลังปลูก

กรรมวิธีที่ 4 ราดสาร abamectin 1.8% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 5 ลิตร ต่อแปลง หลังปลูกมันฝรั่ง 60 วัน

กรรมวิธีที่ 5 ใช้สาร carbofuran 3 G โรยในร่องปลูกและคลุกเคล้ากับดินก่อนปลูกมันฝรั่งใน อัตรา 10 กรัมต่อแปลง

กรรมวิธีที่ 6 ไม่ใช้สารเคมี (Control)

บันทึกจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมในดินก่อนปลูกและเมื่อเก็บผลผลิตมันฝรั่ง เก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกจากแต่ละแปลงย่อย แปลงละ 1 ตัวอย่าง โดยสุ่มเก็บดินจำนวน 5 จุดต่อแปลงด้วยพลั่วมือ โดยเก็บดินที่ความลึกประมาณ 15-20 เซนติเมตร และคลุกเคล้าเข้าด้วยกัน เก็บตัวอย่างดินในวันที่เก็บผลผลิตมันฝรั่ง เมื่อมันฝรั่งอายุ 100 วัน โดยเก็บดินบริเวณรากของมันฝรั่งจำนวน 5 ต้นต่อแปลง แยกตัวอ่อนไส้เดือนฝอยรากปมจากดินหนัก 500 กรัม โดยวิธีการใช้ตะแกรงและกรวยแยก (Cobb's Sieving and Baermann funnel techniques) และตรวจนับใต้กล้อง Stereo microscope

เก็บหัวมันฝรั่งทั้งหมดจากต้นมันฝรั่งจำนวน 5 ต้นที่สุ่มได้จากแต่ละแปลงทดลองย่อย บันทึกน้ำหนักรวมของหัวมันฝรั่ง และสุ่มตัวอย่างหัวมันฝรั่งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 1 ½ นิ้ว จำนวน 10 หัว เพื่อวัดระดับการเกิดหูดของหัวมันฝรั่งโดยการให้คะแนน โดย

ระดับ 0 = ไม่เกิดหูด

ระดับ 1 = เกิดหูดเล็กน้อย หรือน้อยกว่า10% ของหัว

ระดับ 2 = เกิดหูด 11-25% ของหัว

ระดับ 3 = เกิดหูด 26-50% ของหัว

ระดับ 4 = เกิดหูด 51-75% ของหัว

ระดับ 5 = เกิดหูดมากกว่า 75% ของหัว

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี One-way Analysis of Variance โดยใช้โปรแกรม IRRI Stat for DOS สำหรับข้อมูลของจำนวนไส้เดือนฝอยในดิน ทำการแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูปของ log (X+1) ก่อนวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองและวิจารณ์

การตรวจนับจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมเมื่อเริ่มปลูกมันฝรั่ง จากดินที่ได้ในแต่ละแปลงทดลองย่อย ไม่พบตัวอ่อนไส้เดือนฝอยในทุกตัวอย่างดินที่ตรวจ ทั้งนี้อาจเนื่องจากจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดินอยู่ในระดับที่ต่ำมาก การเปรียบเทียบจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมในดิน จึงทำได้จากตัวอย่างดินเมื่อเก็บผลผลิตมันฝรั่งเท่านั้น อย่างไรก็ตามมันฝรั่งในแปลงทดลองแสดงอาการของโรครากปม และหัวมันฝรั่งแสดงอาการหูด จำนวนตัว

อ่อนระยะที่สองในดินเมื่อเก็บผลผลิตอยู่ในระดับที่สูง แสดงให้เห็นว่าไส้เดือนฝอยสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว

ผลการทดลอง (ตารางที่ 1) พบว่าน้ำหนักหัวมันฝรั่ง และจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยในดินไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) โดยกรรมวิธีที่มีน้ำหนักหัวมันฝรั่งเฉลี่ยสูงที่สุดคือ การราดดินด้วย abamectin 1.8% EC อัตรา 25 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 5 ลิตร ต่อแปลง 2 ครั้ง คือก่อนปลูก และ 60 วันหลังปลูก โดยมีน้ำหนักหัวมันฝรั่งเฉลี่ย 1.61 กิโลกรัม กรรมวิธีที่มีน้ำหนักหัวมันฝรั่งเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ กรรมวิธีที่ไม่ใช้สารเคมี โดยมีน้ำหนักหัวมันฝรั่งเฉลี่ย 1.37 กิโลกรัม อย่างไรก็ตาม กรรมวิธีที่มีจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมเฉลี่ยสูงที่สุดคือ การราดดินด้วย abamectin 1.8% EC อัตรา 25 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 5 ลิตร ต่อแปลง 2 ครั้ง คือก่อนปลูก และ 60 วันหลังปลูกเช่นเดียวกัน โดยมีจำนวนไส้เดือนฝอยเฉลี่ย 1,354 ตัวต่อดิน 500 กรัม ในขณะที่กรรมวิธีที่มีจำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปมเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ การราดดินด้วย abamectin 1.8% EC อัตรา 50 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 5 ลิตร ต่อแปลงก่อนปลูก โดยมีจำนวนไส้เดือนฝอยเฉลี่ย 692 ตัวต่อดิน 500 กรัม ระดับการเกิดอาการหูดบนหัวมันฝรั่ง ระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ และไม่ใช้สารเคมี ไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งการเกิดหูดโดยเฉลี่ยประมาณ 10-25% ของหัว

สรุปผลการทดลอง

ประสิทธิภาพของสาร abamectin อัตราที่ใช้ในการทดลองนี้ ยังไม่ดีพอในการใช้ควบคุมโรครากปมและหัวหูดของมันฝรั่ง โดยวิธีการราดดินในสภาพแปลงปลูก เนื่องจากอัตราสารที่ใช้ในการทดลองค่อนข้างสูง แต่ยังไม่สามารถลดอาการหูดของมันฝรั่ง และจำนวนไส้เดือนฝอยรากปมในดินได้อย่างน่าพอใจ จึงควรศึกษาถึงวิธีการใช้ abamectin ในรูปแบบอื่นๆ เช่น การเคลือบหัวมันฝรั่งด้วย abamectin ก่อนปลูก หรือการใช้ abamectin ร่วมกับสารเคมีชนิดอื่น ในการควบคุมโรค หรือการใช้ในรูปแบบ shank injection เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารเคมี ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของ น้ำหนักหัวจากมันฝรั่งจำนวน 5 ต้นต่อแปลง, จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปม ต่อดินหนัก 500 กรัม ในวันเก็บผลผลิต และระดับการเกิดหูดเฉลี่ยบนหัวมันฝรั่งจำนวน 10 หัว

กรรมวิธี	น้ำหนักหัว (กก.)	จำนวนตัวอ่อนระยะที่สองในดิน (ตัว)	ระดับการเกิดหูดบนหัวมันฝรั่ง
abamectin 25 มล./น้ำ 5 ล. ก่อนปลูก	1.58	1,264	2.1
abamectin 50 มล./น้ำ 5 ล. ก่อนปลูก	1.57	692	1.7
abamectin 25 มล./น้ำ 5 ล. ก่อนปลูก และ 60 วันหลังปลูก	1.61	1,354	1.8
abamectin 50 มล./น้ำ 5 ล. 60 วันหลังปลูก	1.42	807	1.5
carbofuran 10 กรัม/แปลง	1.49	953	1.6
ไม่ใส่สารเคมี	1.37	1,282	1.9
F - test	ns	ns	ns
C.V. (%)	30.57	45.13	19.45

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

ปลูกมันฝรั่งพันธุ์ แอตแลนติก ในบริเวณพื้นที่ของศูนย์บริการวิชาการฯตาก(ดอยมูเซอ) ตรวจพบปริมาณตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* จำนวน 200 ตัว/ดิน 500กรัม นำเชื้อราปฏิปักษ์ *Paecilomyces lilacinus* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น PDA มีทั้งเส้นใยและสปอร์จำนวน 1 กรัม 10 กรัม และ 20 กรัมรองใต้หัวปลูก และใช้สารแขวนลอยสปอร์(spore suspensions) เทลงบนหัวพันธุ์จำนวน 1 ล้าน 2 ล้าน และ3 ล้านสปอร์เปรียบเทียบกับการไม่ใส่เชื้อรา รวมเป็น 8 กรรมวิธี วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ เก็บเกี่ยวผลผลิตหัวมันฝรั่งอายุ 3 เดือน พบว่าผลผลิตหัวมันฝรั่งต่อต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือประมาณเฉลี่ย 305 กรัม วิเคราะห์จากแปลงที่ไม่ใส่เชื้อรามีดัชนีโรคหัวหูด 2.8 ซึ่งเป็นระดับสูง โรงงานไม่รับซื้อ การใช้กรรมวิธีใช้ PDA 30 กรัม ทำให้เกิดดัชนีโรคหัวหูดระดับ 1.2 ต่างกันเล็กน้อยจากการใช้เชื้อราบน PDAขนาด 1 กรัม 10 กรัม และ 20 กรัม ซึ่งเกิดโรคหูดดัชนีเท่ากันทั้ง 3 กรรมวิธีคือระดับ 1.5 การใช้สารแขวนลอยของสปอร์ทุกกรรมวิธี เกิดโรคหูดระดับ 1.7 เท่าๆกัน เท่ากับค่าเฉลี่ยทั้งการทดลอง จากการทดลองครั้งนี้ทำให้ทราบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *P. lilacinus* มีคุณสมบัติลดอาการโรครากปมได้ แต่แสดงให้เห็นว่า การใช้เชื้อราที่ต้องเลี้ยงในอาหาร PDA ปริมาณมาก มีค่าใช้จ่ายสูง วิธีการยุ่งยาก ก็ยังลดการระบาดของไส้เดือนฝอยดังกล่าวไม่หมด และยังมีรอยแตก คุณภาพของหัวไม่สวย อาจถูกกดราคาลงอีก ปี2553 ได้ปรับการใช้เชื้อราดังกล่าวให้เป็นสูตรผง วิธีการที่ใช้ไม่ยุ่งยากต่อไป

รหัสกิจกรรม 01 16 49 05

*ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตตาก

คำนำ

การทำลายของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* กับมันฝรั่ง ต้นจะแคระแกรนและเหี่ยวในเวลาแดดจัดเนื่องจากรากเกิดเป็นปม ทำให้การเคลื่อนที่ของน้ำและแร่ธาตุไม่สะดวก ขนาดของหัวเล็กลง ที่สำคัญคือบริเวณผิวรอบๆหัว จะเกิดอาการที่เรียกว่า ผิวหูด หรือผิวคางคก 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 ในปี 2551 มนตรีและคณะ ได้ติดตามการแพร่กระจายของเชื้อรา *P. lilacinus* จากแหล่งปลูกมันฝรั่งหลายแห่งในอำเภอพบพระ จังหวัดตาก โดยนำหัวมันฝรั่งที่เป็นโรคหัวหูด รวมทั้งรากพืชหลายชนิดที่เป็นโรครากปม เช่นรากมันฝรั่ง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง วัชพืชพวกสาบแร้งสาบกา ไม้ประดับพวกฤาษีผสม มาแยกหาเชื้อรา *P. lilacinus* ที่ทำลายกลุ่มไข่ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. Incognita* ไม่สามารถพบเชื้อราดังกล่าว การเพาะเลี้ยงมีการปนเปื้อนโดยเชื้ออื่นที่เจริญได้เร็วกว่า จึงต้องนำเชื้อใน stock ของ ธารทิพยและนุชนารถ ที่แยกได้จากรากพริก จังหวัดอุบลราชธานี มาใช้ประโยชน์ เพื่อศึกษาความสามารถในการทำลายไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งในจังหวัดตากต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. หัวมันฝรั่งพันธุ์ Atlantic

2. แปลงมันฝรั่งที่มีพืชที่เป็นโรครากปมมีไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ระบาดอยู่
3. อุปกรณ์การแยกไส้เดือนฝอยในห้องปฏิบัติการ
4. อุปกรณ์เพาะเลี้ยงเชื้อรา *P. lilacinus*
5. ปุ๋ยสูตร 15-15-15
6. เครื่องชั่ง และเครื่องแก้วใช้ในการใส่เชื้อราลงดิน

วิธีการ

1. นำเชื้อรา *P. lilacinus* ที่เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งเป็น stock ของ ดร.นุชนารถ ตั้งจิตสมคิด (ธารทิพยและนุชนารถ, 2550) มาเลี้ยงขยายต่อในอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อและ Flasks ให้มีเส้นใยเต็มและให้สร้างสปอร์เมื่อได้ปริมาณมากแล้ว จึงนำไปทดลองในขั้นที่2

2. ปลูกมันฝรั่งหลุมละ 1 หัว ในหลุมปลูกห่างหลุมละ 50 ซม. ระยะแถว(ร่อง) 80 ซม. ในพื้นที่ที่เคยปลูกมันฝรั่งมาก่อนแล้วปลูกตามด้วยถั่วเขียวเพื่อบำรุงดินและเพิ่มปริมาณไส้เดือนฝอยรากปม ก่อนปลูกทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินนำไปตรวจในห้องปฏิบัติการพบว่ามีตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ระบาดอยู่มากกว่า 200 ตัว/ดิน 500 กรัม วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำประกอบด้วย

กรรมวิธีที่1 ใช้เส้นใยของเชื้อรา*P. lilacinus* ที่เจริญในอาหาร PDA อัตรา 1 กรัม/ หลุม รองใต้หัวพันธุ์พร้อมปลูก

กรรมวิธีที่2 ใช้เส้นใยของเชื้อรา*P. lilacinus* ที่เจริญในอาหาร PDA อัตรา 10 กรัม/หลุม รองใต้หัวพันธุ์พร้อมปลูก

กรรมวิธีที่3 ใช้เส้นใยของเชื้อรา*P. lilacinus* ที่เจริญในอาหาร PDA อัตรา 20 กรัม/หลุม รองใต้หัวพันธุ์พร้อมปลูก

กรรมวิธีที่4 ใช้เส้นใยของเชื้อรา*P. lilacinus* ที่เจริญในอาหาร PDA อัตรา 30 กรัม/หลุม รองใต้หัวพันธุ์พร้อมปลูก

กรรมวิธีที่5 ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา*P. lilacinus* จาก Flask อัตรา 1 ล้านสปอร์/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่6ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา*P. lilacinus* จาก Flask อัตรา 2 ล้านสปอร์/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่7 ใช้สารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา*P. lilacinus* จาก Flask อัตรา 3 ล้านสปอร์/น้ำ 1 ลิตร ราดดิน 1ลิตร/หลุมพร้อมปลูก

กรรมวิธีที่8 ไม่ใช้สาร

ปฏิบัติตามกรรมวิธีที่กำหนดทั้ง 8 กรรมวิธี ดูแลกำจัดวัชพืชและใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15ตามคำแนะนำ ตรวจนับปริมาณตัวอ่อนระยะที่ 2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในดิน ก่อน

ปลูก ชั่งน้ำหนักผลผลิตหลังเก็บเกี่ยวเมื่อมันฝรั่งอายุ 3 เดือน วิเคราะห์ผลการเกิดโรครากปมและหัวหูดเปรียบเทียบการใช้ เชื้อรา *P. lilacinus* ในอัตราต่างๆ เปรียบเทียบกับการไม่ใช้สาร

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น พฤศจิกายน 2551 สิ้นสุด กันยายน 2552 ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไส้เดือนฝอยและกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตตาก

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนแรกการเพาะเลี้ยงเชื้อรา ปฏิปักษ์ *P. lilacinus* โดยการเพิ่มปริมาณในจานเลี้ยงเชื้อและในFlasksให้สร้างสปอร์ปริมาณมาก (ภาพที่ 1)ตามเทคนิคของ ธารทิพยและนุชนารถ (2550) เมื่อนำไปใส่แปลงปลูกมันฝรั่ง(ภาพที่ 2) และเก็บเกี่ยวอายุ 3 เดือน ตรวจอาการหัวหูด (ภาพที่ 3)พบว่า ตามตารางที่1 ปริมาณตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปมในดินเฉลี่ยทั้งแปลงคือ 200ตัว/ดิน 500 กรัม ถือว่าเป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการศึกษาความเสียหายของพืชหลายชนิดในระดับไร่นา (มนตรีและบัญชา,2538) น้ำหนักผลผลิตหัวมันฝรั่งซึ่งจัดเป็นปริมาณ (Quantity)ต่อต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทุกกรรมวิธีคือเฉลี่ย 304.75 กรัม การวิเคราะห์คุณภาพ (Quality)กรรมวิธีจากแปลงเปรียบเทียบที่ไม่ใส่เชื้อรามีดัชนีโรคหัวหูด 2.8 ซึ่งเป็นระดับสูง โรงงานไม่รับซื้อ การใช้กรรมวิธีใช้ PDA 30 กรัม ทำให้เกิดดัชนีโรคหัวหูดระดับ 1.2 ต่างกันเล็กน้อยจากการใช้เชื้อราบน PDA ขนาด 1 กรัม 10 กรัม และ 20 กรัม ซึ่งเกิดโรคหูดดัชนีเท่ากันทั้ง 3 กรรมวิธี คือระดับ 1.5 การใช้สารแขวนลอยของสปอร์ทุกกรรมวิธี เกิดโรคหูดระดับ 1.7 เท่าๆกัน เท่ากับค่าเฉลี่ยทั้งการทดลอง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การใช้เส้นใยของเชื้อรา*P. lilacinus* ที่เจริญในอาหาร PDA อัตรา 30 กรัม/หลุม รองใต้หัวพันธุ์พร้อมปลูก ช่วยทำให้หัวมันฝรั่งเกิดโรคหัวหูดในระดับ 1.2 ให้ผลดีกว่าการไม่ใส่เชื้อราซึ่งเกิดโรคในระดับ 2.8 แม้ว่าผลผลิตทางด้านปริมาณไม่แตกต่างกัน แต่คุณภาพของผลผลิตที่เป็นโรคหัวหูดระดับสูงกว่าระดับ 2 ขึ้นไป เป็นข้อกำหนดของพ่อค้าหรือโรงงานรับซื้อ มักถูกปฏิเสธหรือคัดทิ้งผลผลิตทำให้สูญเสียรายได้ จึงแนะนำการใช้เชื้อราในอัตราดังกล่าวหรือสูงกว่าก็ได้

เอกสารอ้างอิง

ขจรศักดิ์ ภวกุล และพรพิมล อธิปัญญาคม. 2547. โรคเหี่ยวของฝรั่ง. วารสารโรคพืช 18(1-2):65-75.

ธารทิพย ภาสบุตร และนุชนารถ ตั้งจิตสมคิด 2549. การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการทำลายไส้เดือนฝอยรากปม รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2549 เล่มที่1 สำนักวิจัย พัฒนาการอารักขาพืช 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.

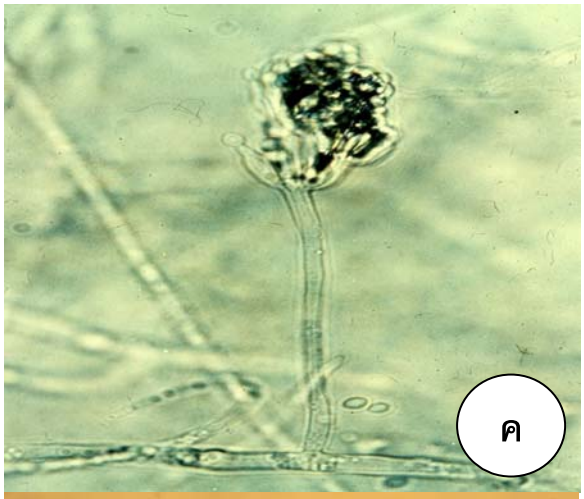
มนตรี เอี่ยมวิมังสา ไตรเดช ข่ายทอง อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และเสงี่ยม แจ่มจำรูญ. 2551. การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Paecilomyces lilacinus* ควบคุมไส้เดือนฝอยศัตรูมันฝรั่ง. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551 เล่มที่ 3 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร หน้า 1783–1787.

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.

ภาพที่1. การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Paecilomyces lilacinus* ในจานแก้ว (ก) และใน Flasks (ข) ลักษณะเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา(ค) และตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* (ง)

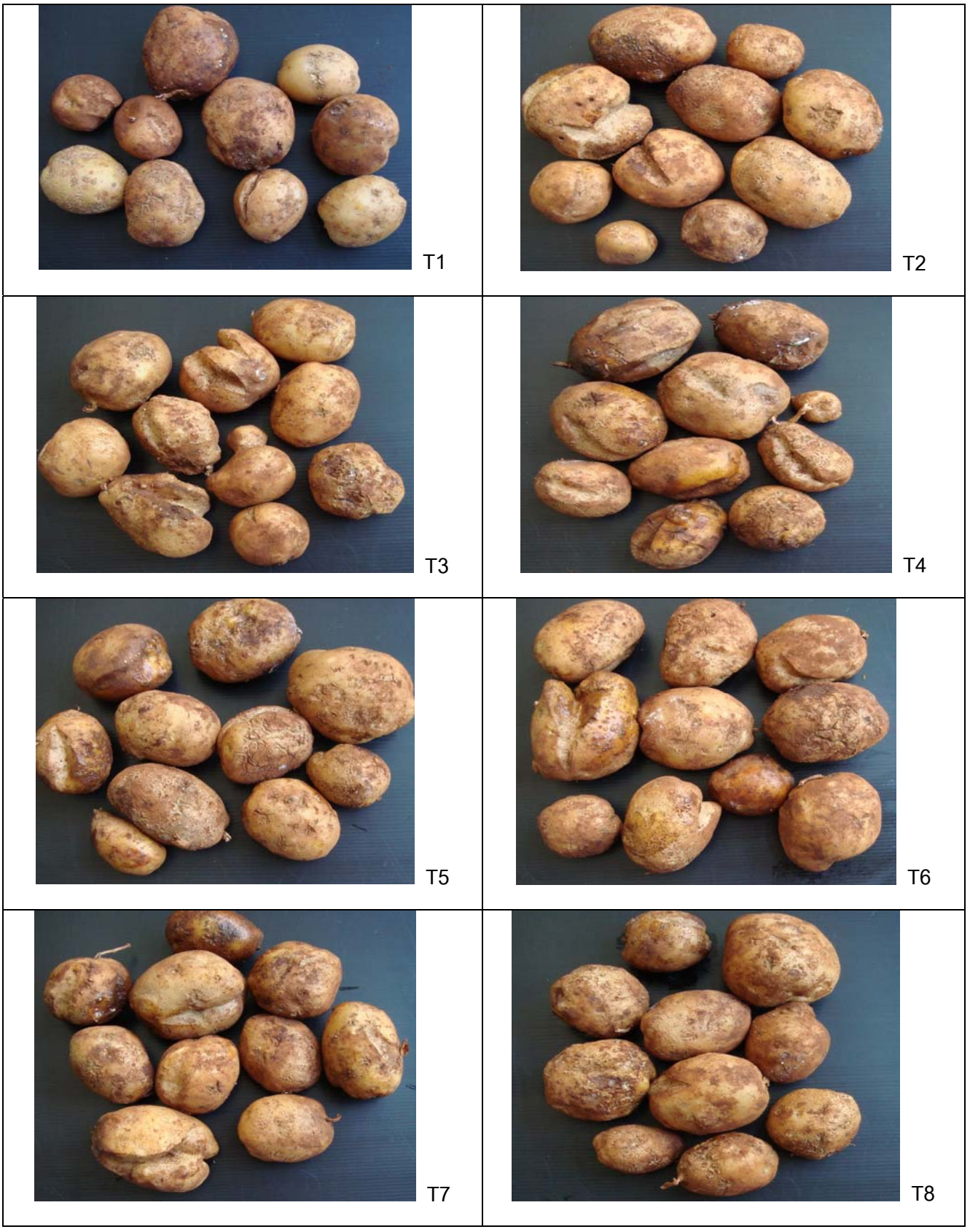


ค

ง

ภาพที่2. การปลูกมันฝรั่ง การใส่เชื้อราพร้อมปลูก และแปลงมันฝรั่งอายุ 2 เดือน

ภาพที่3. ผลผลิตมันฝรั่ง เก็บเกี่ยวอายุ 3 เดือน ทั้ง 8 กรรมวิธี



ตารางที่1. ปริมาณตัวอ่อนระยะที่สองของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ผลผลิต และดัชนีโรคหัวหูด ของมันฝรั่ง

กรรมวิธี	Pi	**น้ำหนักผลผลิต* กรัม./ต้น**	**ดัชนีโรคหัวหูด****
1. เชื้อรา *P. lilacinus* บน PDA 1 กรัม	210	283.2 a	1.5 ab
2. เชื้อรา *P. lilacinus* บน PDA 10 กรัม	230	316.9 a	1.5 ab
3. เชื้อรา *P. lilacinus* บน PDA 20 กรัม	180	317.4 a	1.5 ab
4. เชื้อรา *P. lilacinus* บน PDA 30 กรัม	170	302.5 a	1.2 a
5. สารแขวนลอยสปอร์ของ *P. lilacinus* ปริมาณ 1 ล้านสปอร์/ลิตร	200	329.6 a	1.7 b
6. สารแขวนลอยสปอร์ของ *P. lilacinus* ปริมาณ 2 ล้านสปอร์/ลิตร	190	289.2 a	1.7 b
7. สารแขวนลอยสปอร์ของ *P. lilacinus* ปริมาณ 3 ล้านสปอร์/ลิตร	220	294.8 a	1.7 b
8. ไม่ใส่เชื้อรา	200	304.4 a	2.8 c
ค่าเฉลี่ย	200	304.75	1.7
C.V.(%)	-	39.6	28.8

Pi = Initial Population ปริมาณตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในดิน 500 กรัม ขณะปลูก มันฝรั่ง

* ผลผลิตมันฝรั่ง ชั่งน้ำหนักรวมหัวมันจำนวน 10 ต้นแล้วคำนวณเป็นผลผลิตต่อต้น

** ดัชนีโรคหัวหูดคุณภาพของผลผลิต ดัดแปลงจากอาการดัชนีโรครากปม โดยแสดงออกเป็นเปอร์เซ็นต์ปริมาณหูดตามพื้นที่ผิวของหัวมันฝรั่งแบ่งเป็น 5 ระดับคือ ระดับ 0 = ไม่มีอาการหัวหูด, ระดับ 1 = มีปริมาณหูด 1 – 10 % ของพื้นที่ผิว, ระดับ 2 = มีปริมาณหูด 11 - 25 % ของพื้นที่ผิว, ระดับ 3 = มีปริมาณหูด 26 - 75 % ของพื้นที่ผิวและระดับ 4 = มีปริมาณหูด 76 - 100 % ของพื้นที่ผิว

ขยายผลการใช้ชุดควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมันฝรั่ง ในแปลงเกษตรกรโดยชีววิธี

Increased utility of biocontrol kit for bacterial wilt of potato on commercial farm

วงศ์ บุญสืบสกุล[1] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1] ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[1]
รุ่งนภา คงสุวรรณ์[1] สุรีย์พร บัวอาจ[1] วิวัฒน์ ภานุอำไพ[2]
1 = กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2 = ศบป. เชียงใหม่ อ.ฝาง จ. เชียงใหม่

บทคัดย่อ

ได้ใช้เชื้อ DOA-WB4 ที่พัฒนาเป็นชุดสำเร็จ (Kit) ทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรพื้นที่ 300 ไร่ ระหว่าง ตค. 2550 ถึง กย. 2551 ทำการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวแปลงเกษตรกรโดย คลุกเชื้อปฏิปักษ์กับหัวพันธุ์มันฝรั่งใช้เชื้อ 10^9 cfu ปริมาตร 50 ลิตร แล้วจึงนำไปปลูกในแปลงหรือพื้นที่ที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวหรือเคยมีโรคนี้ระบาดมาก่อน แล้วรดเชื้อปฏิปักษ์โดยใช้เชื้อ 10^6 cfu ปริมาตรหลุมละ 5 ม.ล. จำนวน 2 ครั้ง เมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 10 และ 25 วัน ตามลำดับ เปรียบเทียบการเกิดโรคกับแปลงของเกษตรกรแต่ละรายที่ไม่ได้ใช้เชื้อปฏิปักษ์ พบว่าการใช้ชุดสำเร็จควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งเชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 50 ราย พื้นที่ 300 ไร่ ใน 6 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูนและพระเยา พบว่าเชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 80 % ปี2552 พบว่าการใช้ชุดสำเร็จควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งเชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 85 ราย พื้นที่ 1,200 ไร่ ใน 7 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูน พะเยา และหนองคาย พบว่าเชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 80 % มีเกษตรกร 22 ราย ที่พบว่าการควบคุมโรคโดยใช้สำเร็จดังกล่าวไม่แตกต่างจากการไม่ใช้ซึ่งจากการได้ติดตามประเมินผลและสัมภาษณ์เกษตรกรพบว่าไม่พบว่ามีการระบาดของโรคเหี่ยวจึงไม่พบความแตกต่าง มีเกษตรกร 21 ราย ที่เห็นว่าเชื้อใช้เชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรคได้ เนื่องจากเกษตรกรใช้หัวพันธุ์ที่เป็นโรคและการเชื้อในอาหารนมได้ไเชื้อปฏิปักษ์ไม่มากพอที่จะนำไปใช้ควบคุมโรคเหี่ยวได้ ซึ่งจะได้ศึกษาหาวิธีแก้ไขต่อไป

รหัสการทดลอง 01-16-49-05-

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) ซึ่งไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้จากดิน แต่ดินนั้นสามารถทำให้เกิดโรคได้ เมื่อเป็นเช่นนี้กลยุทธ์ในการควบคุมโรคจึงต้องใช้วิธีป้องกัน 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 ช่วยลดความรุนแรง

ของโรคดังกล่าวในมะเขือเทศ 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

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อสาเหตุโรคเหี่ยว *R. solanacearum* ที่เก็บรักษาอยู่ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา

2. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ อุปกรณ์และเครื่องมือปฏิบัติการทางโรคพืชวิทยา เช่น ห้องเขี่ยเชื้อ (clean room) ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้เพาะเชื้อ เครื่องเขย่าตั้งอุณหภูมิและความเร็วรอบได้ เครื่องผสมเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้อบฆ่าเชื้อ สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ จานเลี้ยงเชื้อ เครื่อง นับโคโลนี เครื่องวัด-ปรับค่าความเป็นกรด/ด่าง ภาชนะแก้วต่าง ๆ เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมอุปกรณ์ ชุดตรวจ ELISA และ กระดาษ
เป็นต้น

3. วัสดุวิทยาศาสตร์ที่ใช้เตรียมชุดสำเร็จ เช่น หลอดพลาสติก ลวดอลูมิเนียม กระดาษทนความร้อนใช้นึ่งฆ่าเชื้อได้ ขวดน้ำขนาด 10 มล. ฝาปิดขวดอลูมิเนียม อื่น ๆ

4. แปลงเกษตรกรผู้ปลูกมันฝรั่ง รถยนต์ อุปกรณ์การและวัสดุต่าง ๆ เช่น จอบ เสียม พลั่ว กระดาษ ถุงพลาสติกขนาดต่าง ๆ กาวทนความชื้น ปากกาหมึกเคมีชนิดถาวร สมุดบันทึก ถังโฟม blue Ice pack ฯลฯ หัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดเชื้อ *R. solanacearum* อื่น ๆ

วิธีการ

ใช้เชื้อ DOA-WB4 ที่พัฒนาเป็นชุดสำเร็จ (Kit) ทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรพื้นที่ มากกว่า 1,000 ไร่ (2551-2553) ตรวจดินหาเชื้อสาเหตุโรค ตรวจหัวพันธุ์ของเกษตรกรที่เข้าร่วมการทดลอง ด้วยชุดตรวจ NCM ELISA Rs Kit แล้ว ทำการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวแปลงเกษตรกรโดย คลุกเชื้อปฏิปักษ์กับหัวพันธุ์มันฝรั่งใช้เชื้อ 10^9 cfu ปริมาตร 50 ลิตร แล้วจึงนำไปปลูก ในแปลงหรือพื้นที่ที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวหรือเคยมีโรคนี้ระบาดมาก่อน แล้วรดเชื้อปฏิปักษ์โดยใช้เชื้อ 10^6 cfu ปริมาตรหลุมละ 5 ม.ล. จำนวน 2 ครั้ง เมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 10 และ 25 วัน ตามลำดับ เปรียบเทียบการเกิดโรคกับแปลงของเกษตรกรแต่ละรายที่ไม่ได้ใช้เชื้อปฏิปักษ์

เวลาและสถานที่ เริ่ม ต.ค. 2550 ถึง ก.ย..2553 ทำการทดลองในแห่งปลูกมันฝรั่งของเกษตรกร เช่น จังหวัดเชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูน พระเยาและอื่น ๆ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ได้วิธีการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งโดยการใช้เชื้อปฏิปักษ์ที่พัฒนาเป็นชุดสำเร็จ กับพื้นที่เกษตรกรที่ประสบปัญหาโรคเหี่ยว จำนวนประมาณ 300 ไร่ ในปี 2550-2551 การผลิตและใช้ชุดสำเร็จควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งเชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 50 ราย พื้นที่ 300 ไร่ ใน 6 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูนและพระเยา พบว่าเชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้

0- 80 % มีเกษตรกร 1 ราย ที่พบว่าการควบคุมโรคโดยใช้สำเร็จดังกล่าวไม่แตกต่างจากการไม่ใช้ เนื่องจากหัวพันธุ์ที่เกษตรกรใช้ไม่เหมาะที่จะใช้เป็นหัวพันธุ์เพราะเป็นหัวมันฝรั่งที่เกษตรกรไม่สามารถจำหน่ายได้แต่จะทิ้งก็เสียดายจึงนำมาใช้ปลูกทำพันธุ์ซึ่งเป็นความคิดและวิธีที่ผิด เพราะเชื้อปฏิปักษ์ไม่สามารถควบคุมโรคได้ถ้าหัวพันธุ์ถูกเชื้อเข้าทำลายแล้ว และเกษตรกรอีกรายหนึ่งพบว่าหลังจากผสมเชื้อในอาหารนมแล้วได้นำไปเลี้ยงในตู้เย็นซึ่งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อปฏิปักษ์ทำให้ปริมาณเชื้อปฏิปักษ์มีไม่มากพอที่จะยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวได้และเกิดโรคระบาดต่อมา

ปี2552 พบว่าการใช้ชุดสำเร็จควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งเชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 85 ราย พื้นที่ 1,200 ไร่ ใน 7 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูน พะเยา และหนองคาย พบว่าเชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 80 % มีเกษตรกร 22 ราย ที่พบว่าการควบคุมโรคโดยใช้สำเร็จดังกล่าวไม่แตกต่างจากการไม่ใช้ซึ่งจากการได้ติดตามประเมินผลและสัมภาษณ์เกษตรกรพบว่าไม่พบว่ามี

การระบาดของโรคเหี่ยวจึงไม่พบความแตกต่าง มีเกษตรกร 21 ราย ที่เห็นว่าเชื้อใช้เชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรคได้ เนื่องจากเกษตรกรใช้หัวพันธุ์ที่เป็นโรคและการเชื้อในอาหารนมได้ไเชื้อปฏิปักษ์ไม่มากพอที่จะนำไปใช้ควบคุมโรคเหี่ยวได้ ซึ่งจะได้ศึกษาหาวิธีแก้ไขต่อไป

เอกสารอ้างอิง

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

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

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

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

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, ปิยรัตน์ รรมกิจวัฒน์ รุ่งนภา คงสุวรรณ์และวิวัฒน์ ภานุอำไพ 2549. การควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่งโดยเชื้อ *Bacillus subtilis* Ehrenberg *วารสารวิชาการเกษตร* ปีที่ 24 ฉบับที่ 2 หน้า 178-197.

วงศ์ บุญสืบสกุล 2550 การควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง น.ส.พ. กสิกร (ISSN 0125-3697) ปีที่ 80 ฉบับที่4 หน้า 68-92.

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.

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.

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*

การสำรวจและจำแนกโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ PVS PVX และ PLRV

Survey and Identification of Potato Virus Diseases caused by PVS, PVX and PLRV

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล[1/] วิวัฒน์ ภาณุอำไพ[2/] ปรียพรรณ พงศาทิชณ์[3/]

[1/] [3/]สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่

บทคัดย่อ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างของมันฝรั่งจากแปลงปลูกของเกษตรกรใน อ.ไชยปราการ, อ.แม่อาย, อ.ฝาง, อ.สันทรายและอ.เจดีย์แม่ครัว จ.เชียงใหม่, อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง, อ.พบพระและอ.แม่สอด จังหวัดตาก โดยได้คัดแยกเฉพาะที่เป็นโรคมาทำการตรวจสอบ นำตัวอย่างมาตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัส PVS PVX และ PLRV ด้วยวิธี GLIFT และ NCM-ELISA ในห้องปฏิบัติการพบการเกิดโรคไวรัส โดยพบเชื้อไวรัส PVS ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอ.แม่สอด จ.ตาก และ อ.เจดีย์แม่ครัว จ.เชียงใหม่ พบเชื้อไวรัส PVX ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอ.ฝาง จ.เชียงใหม่ และพบเชื้อ PLRV ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอ.ชัยปราการ อ.แม่อายและอ.เจดีย์แม่ครัว จ.เชียงใหม่ ซึ่งการเก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งในพื้นที่ปลูกในปีสุดท้ายนั้นเพื่อทำการตรวจสอบและจำแนกเชื้อไวรัส PVS PVX และ PLRV แล้วทำการรวบรวมและสรุปผล ยังอยู่ในระหว่างการดำเนินงาน

รหัสการทดลอง 01-16-49-05-01-03-07-52

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีข้อตกลงเปิดการค้าเสรีกับหลายประเทศ มีการวางข้อกำหนดด้านคุณภาพของสินค้า ความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมาเป็นข้อกำหนดการนำเข้าสินค้า ดังนั้นแต่ละประเทศจำเป็นต้องมีข้อมูลด้านวิชาการที่ชัดเจนเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการเจรจาตกลงในเรื่องข้อกำหนดในแต่ละเรื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลด้านศัตรูพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืช ที่จะถูกหยิบยกขึ้นมาเป็นเรื่องการกีดกันทางการนำเข้าได้เป็นอย่างดี ในระยะเวลา 5 ปีที่ผ่านมาประเทศไทยได้มีการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งมากกว่าปีละ 8,000-12,000 ตัน จากหลายประเทศ ได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา สก๊อตแลนด์ เป็นต้น เนื่องจากประเทศไทยไม่สามารถผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้ปลูก แต่จากการนำเข้าหัวพันธุ์จากต่างประเทศมีปัญหาการติดเชื้อไวรัสเข้ามา ได้แก่เชื้อ PVS PVX PVY PLRV ฯลฯ จากการรายงานของ Gray *et.al.* (2003) ได้ทำการสำรวจและประเมินความรุนแรงของโรคใบด่างจาก PVY ในหัวมันฝรั่งใน Maine and New Yoke. โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างจากต้นมันฝรั่งจำนวน 1,330 ต้น จาก 90 ฟาร์ม 300 ตัวอย่าง เก็บจากต้นมีอาการด่างอย่างชัดเจน และ 1,030 ตัวอย่าง สุ่มจากต้นทั่วๆ ไป และทำการตรวจทางเซรุ่มวิทยากับแอนติซีรัมของไวรัส 6 ชนิด ได้แก่ PVA, PVS, PVX, PVY, PVM และ PLRV ซึ่งในโปรแกรมการผลิตหัวพันธุ์รับรองได้ทำการตรวจสอบไวรัสทั้ง 6 ชนิด เพราะไวรัสทั้ง 6 ชนิดนี้ เป็นเชื้อไวรัสที่พบเสมอในแหล่งปลูกมันฝรั่งในสหรัฐอเมริกา ผลจากการสำรวจพบว่ามีการเข้าทำลายของเชื้อ PVY สูงที่สุดมีการเข้าทำลายถึง 68% และ PVS 61% ส่วน PVX มีเพียง 10 % ส่วนไวรัสอื่นๆ มีน้อยกว่า 1% ผลการสำรวจที่ได้นี้มีแนวโน้มใกล้เคียงกับการสำรวจในปี 2002 กิตติศักดิ์และคณะ(2531) ได้ทำการทดลองศึกษาความเสียหายที่เกิดขึ้นกับมันฝรั่งพันธุ์ Kennebec จากการเข้าทำลายของเชื้อ PVY และ PVX ที่เป็นโรคใน 3 อัตรา คือ 65% 41% และ 30% ตามลำดับ พบว่าหัวมันฝรั่งที่เก็บได้จากต้นเป็นโรคจะมีขนาดของหัวเล็กลงมีน้ำหนักโดยเฉลี่ย 30 กรัม ในขณะที่หัวมันที่เก็บได้จากต้นปกติมีน้ำหนักโดยเฉลี่ยเป็น 70 กรัม แต่ผลผลิตโดยรวมตามน้ำหนักต้นเป็นโรคจะได้น้ำหนักน้อยกว่าไม่เป็นโรค ประมาณ 9.67% เมื่อวิเคราะห์ตัวเลขทางสถิติไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่คุณภาพของหัวพันธุ์ที่ได้จากต้นไม่เป็นโรคมีขนาดใหญ่กว่า

ในภาวะปัจจุบันที่ประเทศไทยต้องสั่งหัวพันธุ์จากประเทศต่างๆ เข้ามาจำนวนมากทุกปี จึงจำเป็นต้องเร่งดำเนินการสำรวจ รวมถึงเร่งรวบรวมและหาข้อมูลของเชื้อไวรัสโดยเฉพาะ PVS PVX และ PLRV ให้เป็นปัจจุบัน ว่าเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ยังคงมีปรากฏอยู่ในแหล่งปลูกของประเทศไทยหรือไม่ หากปรากฏว่าสำรวจไม่พบว่ามีอยู่ในประเทศไทยอีกเลย นับว่าเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ที่จะนำมาแจ้งประกาศใน IPPC ว่าเชื้อเหล่านี้ไม่ได้มีอยู่ในประเทศไทยโดยถิ่นกำเนิด และปัจจุบัน

ได้หายไปจากแหล่งปลูกมันฝรั่งของไทยแล้ว จากการที่ไทยมีข้อกำหนดให้มีการติดเชื้อไวรัสมากับหัวพันธุ์ได้ไม่เกิน 0.1% และฝ่ายวิชาการกักพืชมีการตรวจสอบอย่างเข้มงวดจริงจังทำให้หัวพันธุ์ที่นำเข้ามามีคุณภาพดี ปลอดโรคไวรัสมากขึ้น สุรภีและคณะ(2551) ดังนั้นการสำรวจให้ได้ข้อมูลของเชื้อทั้ง 3 ชนิดนี้จะเป็นประโยชน์ในการจัดทำเพื่อเป็นใช้ข้อมูล ในการจัดทำรายชื่อศัตรูพืช (Pest list) และ วิเคราะห์ความเสี่ยง (Pest Risk Analysis) ไวรัสของมันฝรั่ง และเป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดเพื่อการผลิตหัวพันธุ์ปลอดเชื้อไวรัส

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- ตู้แช่แข็ง -80 ^{0}C
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการปลูกเชื้อไวรัส
- สารเคมีและวัสดุที่ใช้ในการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA
- พืชทดสอบและพืชอาศัย

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างใบมันฝรั่ง เพื่อใช้ในการตรวจสอบและจำแนกโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ PVS, PVX และ PLRV

สำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างของมันฝรั่งจากแหล่งปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรโดยเก็บตัวอย่างใบจากแปลงปลูกที่ใช้หัวพันธุ์นำเข้าและแปลงที่ใช้หัวพันธุ์ที่ผลิตในประเทศไทยหรือเก็บใช้เองของผู้ปลูกมันฝรั่ง ใช้หลักการเก็บแบบ grid pattern (Canada/USA PVY-n Management plan) นำมาใช้สุ่มเก็บตัวอย่างในแปลงปลูกมันฝรั่งสำหรับตรวจหาเชื้อไวรัส PVS PVX และ PLRV จะเก็บเฉพาะตัวอย่างที่แสดงอาการที่สงสัยว่าเป็นโรค โดยการเดินสำรวจในแปลงหาต้นเป็นโรคที่มีอาการด่างและอาการใบม้วนงอที่เกิดจากเชื้อ PVS, PVX และ PLRV การเดินแบบ grid pattern จะเดินเป็นรูปตัว U ดูแถวริมตลอดแถวแล้วเดินเว้นไป 10 แถว หรือ 10 เมตร เดินเข้าแถวที่ 10 และ 11 แล้วเดินตลอดแถวมาจนทะลุหัวแถว ขณะเดินสามารถมองสำรวจดูออกไปในรัสมีของแถวที่ 9, 10, 11 และ 12 ได้เป็น 4 แถว เมื่อมาถึงปลายแถวก็เดินขึ้นไปข้างหน้าของแถวที่ยังไม่ได้เดินผ่าน เดินผ่านหัวแถวเว้นไปอีก 10 แถว เดินเข้าระหว่างแถวที่ 20 และ 21 เดินดูได้ อีก 4 แถวคือ 19, 20, 21 และ 22 จึงเดินเป็นรูปตัว U คว่ำหงายชนกันไปตลอดแปลง การเก็บตัวอย่างเลือกเก็บที่มีอาการด่างทุกชนิดที่พบระหว่างการสำรวจ หากมีอาการด่าง

มากทั้งแปลงให้เก็บโดยเว้นระยะ 3 เมตรต่อ 1 ต้น ในแถวที่เดินผ่านทั้งซ้ายและขวา เพราะอาการใบด่างเกิดจากเชื้อไวรัสได้หลายชนิดจำเป็นต้องเก็บให้มาก ส่วนอาการใบม้วนงอที่มีความชัดเจนอยู่ในต้นว่าเกิดจากเชื้อ PLRV เก็บในลักษณะเดียวกับใบด่าง

2. ตรวจจำแนกด้วยวิธี Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA)

นำตัวอย่างใบพืชที่ต้องการตรวจสอบใส่ในถุงพลาสติก เติม Extraction buffer (0.02 M Tris, 0.2 M NaN_3, 0.2% Na_2SO_3, pH 7.5) ในอัตราส่วน (ใบพืช : บัฟเฟอร์ = 1:5) แล้วบดตัวอย่างให้ละเอียด ทำการวางรูปแบบของแผ่น Nitrocellulose membrane (NCM) ขนาด 0.45 µm ชนิด High bone N+ ด้วยการตีเป็นช่องตารางสี่เหลี่ยม (ขนาด 1X1 ตารางเซนติเมตร) ทำเครื่องหมายที่ตารางของตัวแผ่น NCM หัวท้ายเพื่อเรียงลำดับตัวอย่างจาก 1 ถึงตัวอย่างสุดท้าย นำแผ่น NCM พร้อมกับวางกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ตัดให้มีขนาดพอดีกับแผ่น NCM แช่ใน TBS (0.02M Tris, 0.5 M NaCl, pH 7.5) ประมาณ 5 นาที หลังจากนั้นคีบแผ่นกระดาษกรองเบอร์ 1 ขึ้นมาพร้อมกับแผ่น NCM ที่แช่ไว้ด้วยกัน วางลงบนแผ่นกระดาษกรองแผ่นใหม่ที่แห้งและมีขนาดใหญ่กว่า โดยใช้ pasteur pipette ที่สะอาดรีดแผ่น NCM ให้แนบติดกับกระดาษกรอง ทำการหยดตัวอย่างน้ำคั้นพืช 1 หยด หรือประมาณ 20-25 ไมโครลิตร ลงในช่องตารางบนแผ่น NCM ตามรูปแบบที่วางไว้ เมื่อหยดตัวอย่างเสร็จแล้วคีบแผ่น NCM ออกมาวางบนกระดาษสะอาดผึ่งไว้ประมาณ 10-20 นาที นำแผ่นตัวอย่างที่แห้งแล้วแช่ลงในกล่องสี่เหลี่ยมที่มี blocking buffer (2% non fat milk ใน TBS pH 7.5) อยู่ 10 มิลลิลิตร + 0.8 มิลลิลิตร ของ 25% titonx100 แช่นาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หรือประมาณ 27-30°C หลังจากนั้นเท blocking buffer ออก ใส่ส่วนผสมของ IgG ของ PVS, PVX และ PLRV ที่ละลายอยู่ใน blocking buffer ใหม่ ในอัตรา 1:500 แช่แผ่น NCM นั้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หรือ ประมาณ 27-30°C แล้วจึงล้างแผ่น NCM ด้วย TBS-Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที เทส่วนผสม Goat anti-rabbit conjugated Alkaline phosphatase (SIGMA A7778) ที่เจือจางเป็น 1:3000 ในสารละลาย blocking buffer จำนวน 10 มิลลิลิตร บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง ล้างออกด้วย TBS-Tween 3 ครั้ง ๆ ละ 3 นาที แล้วเทส่วนผสม substrate (ละลาย 0.25% AS- MX จำนวน 1 มิลลิลิตร ใน 5 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Tris HCl , pH 8.2 และละลายสาร Fast red TR-salt (FR-TR) ใน 6 มิลลิลิตร ของ 0.2 M Tris HCl , pH 8.2 เทส่วนผสมทั้ง 2 รวมกัน แล้วเทลงในกล่องแช่แผ่น NCM เขย่าเบาๆ) รอดูผลของปฏิกิริยา ประมาณ 5-30 นาที เมื่อเกิดปฏิกิริยาเห็นสีชมพูชัดเจนแล้วเท substrate ออก แล้วเทน้ำกลั่นลงแทน เพื่อเป็นการล้างและหยุดปฏิกิริยา

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2551 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2553

สถานที่ ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างใบมันฝรั่ง เพื่อใช้ในการตรวจสอบและจำแนกโรคไวรัสของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ PVS, PVX และ PLRV

การสำรวจและเก็บตัวอย่างอาการใบด่างของมันฝรั่งจากแปลงปลูกของเกษตรกรใน อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง อ.พบพระและอ.แม่สอด จังหวัดตาก ในปี 2552 ได้ตัวอย่างทั้งหมด 700 ตัวอย่าง และในปี 2553 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งในพื้นที่ อ.ไชยปราการ อ.แม่อาย อ.ฝาง อ.สันทราย อ. เจดีย์แม่ครัว จ.เชียงใหม่ และ อ.พบพระ จ.ตาก ทั้งหมด 700 ตัวอย่าง ซึ่งการสำรวจและจำแนกต้องทำการรวบรวมข้อมูลแหล่งปลูกมันฝรั่งก่อนเป็นขั้นตอนแรก ก่อนทำการออกสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างมันฝรั่งในแต่ละแหล่งปลูกของเกษตรกรเพื่อนำตัวอย่างใบมันฝรั่งนั้นกลับมาตรวจในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นข้อมูลของเชื้อ PVS, PVX และ PLRV ที่ตรวจพบในแต่ละแหล่งปลูก

2. ตรวจจำแนกด้วยวิธี Nitrocellulose membrane-Enzyme-linked immuno sorbent assay (NCM-ELISA)

จากตัวอย่างทั้งหมด 700 ตัวอย่าง ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรใน อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง อ.พบพระและอ.แม่สอด จังหวัดตาก โดยได้นำตัวอย่างมาตรวจวินิจฉัยหาเชื้อไวรัส PVS PVX และ PLRV ด้วยวิธี GLIFT และ NCM-ELISA จากตัวอย่างทั้งหมดพบว่าผลการตรวจยังไม่พบเชื้อไวรัส PVS, PVX และ PLRV ระบาดในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งดังกล่าว ส่วนในปี 2553 เก็บตัวอย่างใบมันฝรั่งในพื้นที่ อ.ไชยปราการ อ.แม่อาย อ.ฝาง อ.สันทราย อ.เจดีย์แม่ครัว จ.เชียงใหม่ และ อ.พบพระ จ.ตาก ทั้งหมด 700 ตัวอย่าง (ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2552 - มีนาคม 2553) โดยได้คัดแยกเฉพาะที่เป็นโรคมาทำการตรวจสอบด้วย NCM-ELISA ในห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจหาเชื้อ PVS, PVX และ PLRV พบการเกิดโรคไวรัสของเชื้อ PVS, PVX และ PLRV โดยพบเชื้อ PVS ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอำเภอแม่สอด จ.ตาก และ อำเภอเจดีย์แม่ครัว จ.เชียงใหม่ พบเชื้อ PVX ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอำเภอฝาง จ.เชียงใหม่ และพบเชื้อ PLRV ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอำเภอชัยปราการ อำเภอแม่อายและอำเภอเจดีย์แม่ครัว จ.เชียงใหม่

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การตรวจสอบตัวอย่างทั้งหมดทำให้ทราบว่ายังมีเชื้อไวรัส PVX ระบาดในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งอ.ฝาง จ.เชียงใหม่ เชื้อไวรัส PVS ระบาดในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง อ.เจดีย์แม่ครัว จ.เชียงใหม่และ อ.แม่สอด จ.ตาก และเชื้อไวรัส PLRV ระบาดในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง อ.เจดีย์แม่ครัว อ.แม่อาย อ.ชัยปราการ จ.เชียงใหม่ ดังนั้นจากผลการทดลองทำให้ทราบข้อมูลของเชื้อไวรัส PVX, PVS และ PLRV ว่าปัจุบันยังพบเชื้อดังกล่าวมีการระบาดอยู่ในพื้นที่ปลูกมันฝรั่งของเกษตรกรในประเทศ ดังนั้นจึงทำให้ได้ข้อมูลทางวิชาการนี้ มาวางมาตรการด้านศัตรูพืชและการวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชเพื่อนำข้อมูลมาใช้ในการปรับปรุงเงื่อนไขและข้อกำหนดในการวางมาตราการการอนุญาตินำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งจากประเทศต่างๆ ให้เป็นปัจุบันและเพื่อจะได้นำข้อมูลนี้ไปวางแผนในการวางแนวทางการป้องกันกำจัดเพื่อการผลิตหัวพันธุ์ปลอดเชื้อไวรัส PVX, PVS และ PLRV และเพื่อวางแนวทางการควบคุมโรคในแปลงปลูกมันฝรั่งต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร สุรสิทธิ์ บุญทวี วิวัฒน์ ภานุอำไพ และนวลจันทร์ ดีมา. 2531. ความเสียหายของ ผลผลิตมันฝรั่งที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ PVY และ PVX. รายงานผลงานวิจัยปี 2531 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 12-16.

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

สุรภี กีรติยะอังกูร สิทธิศักดิ์ แสไพศาล วิวัฒน์ ภาณุอำไพ เยาวภา ตันติวานิช ปรียพรรณ พงศาพิชณ์. 2551. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม: โครงการตรวจหา PVY strain และการประเมินความเสียหายของผลผลิตมันฝรั่งจากเชื้อ PVY ในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร. 42 หน้า.

การป้องกันและควบคุมแมลงพาหะของเชื้อไวรัสในมันฝรั่ง

Prevention and Control Vector of Virus in Potato

สิทธิศักดิ์ แสไพศาล[1/] วิวัฒน์ ภาณุอำไพ[2/] วันเพ็ญ ศรีทองชัย[1/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์บริการวิชาการด้านพืชและปัจจัยการผลิตเชียงใหม่

บทคัดย่อ

การป้องกันและควบคุมแมลงพาหะของเชื้อไวรัสในมันฝรั่ง หลังฉีดพ่นสารและนำตัวอย่างใบมันฝรั่งในทุกกรรมวิธี มาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัส ทั้งหมด 3 ครั้ง พบว่าต้นมันฝรั่งมีการระบาดของโรคในแปลงปลูกและมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นในทุกกรรมวิธี โดยเฉพาะผลการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคครั้งที่ 3 ที่พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 70-95% และสรุปได้ในเบื้องต้นว่าสารพอสซ์และสารอะบาแม็กติน รวมทั้ง ปิโตรเลียมออยล์, ไวท์ออยล์, สารสกัดสะเดาและฟูราดาน ไม่สามารถลดการการระบาดของโรคได้ แม้จะช่วยลดปริมาณของแมลงลงได้ ซึ่งการเก็บผลผลิตและตรวจดูคุณภาพและขนาดของหัวมันฝรั่ง พร้อมทั้งวิเคราะห์ผลทางสถิติและสรุปผลการดำเนินงาน ยังอยู่ในระหว่างการดำเนินงาน

รหัสการทดลอง 01-16-49-05-01-03-08-52

คำนำ

การปลูกมันฝรั่งในประเทศไทยสามารถปลูกได้ดีในฤดูหนาวและสามารถปลูกในฤดูฝนได้ในบางแหล่งปลูก ดังนั้นความต้องการหัวพันธุ์มันฝรั่งจึงมีความต้องการเกือบตลอดปี แต่การนำหัวพันธุ์เข้ามาจากต่างประเทศมีปัญหาการติดเชื้อไวรัสหลายชนิดเข้ามาด้วย ได้แก่ เชื้อ Potato virus Y (PVY), Potato virus X (PVX), Potato virus S (PVS), Potato leafroll virus (PLRV) ฯลฯ เชื้อ PVY และ PLRV เป็นเชื้อที่ทำความเสียหายให้กับผลผลิตของมันฝรั่งมากกว่าเชื้ออื่นๆ (Gray, 2003; McDonald, 1996; Singh, 2003; สุรภีและคณะ,2551) ซึ่งเมื่อนำหัวพันธุ์ที่เป็นโรคมาปลูกจะเกิดการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสในพื้นที่ปลูก โดยแมลงพาหะทำให้เกิดการระบาดและแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเพลี้ยอ่อนสามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัส PVY ได้ภายในเวลาอันรวดเร็ว และเพลี้ยอ่อนจัดเป็นแมลงพาหะที่มีความสำคัญต่อการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสในมันฝรั่ง ส่งผลทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตรวมทั้งคุณภาพของหัวพันธุ์มันฝรั่ง ทำให้เกษตรกรต้องพ่นสารฆ่าแมลงเพื่อแก้ไขปัญหาและควบคุมการระบาดของเพลี้ยอ่อนในพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง ทำให้เพิ่มต้นทุนในการผลิต ทั้งยังเป็นอันตรายต่อเกษตรกร ศัตรูธรรมชาติและสภาพแวดล้อม ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงได้นำสารสกัดสะเดา, ปิโตรเลียมออยล์, ไวท์ออยล์, เชื้อรา Beauveria เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลง เพื่อศึกษาการป้องกันและควบคุมแมลงพาหะเชื้อไวรัสในสภาพแปลงปลูกของมันฝรั่ง เพื่อเป็นแนวทางหรือทางเลือกหนึ่งในการควบคุมแมลงพาหะเชื้อไวรัส เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดต่อเกษตรกรผู้ปลูก

การนำสารสกัดสะเดา, ปิโตรเลียมออยล์, ไวท์ออยล์ และเชื้อรา Beauveria มาควบคุมแมลงพาหะเพื่อลดการระบาดและแพร่กระจายของเชื้อไวรัส รวมทั้งลดการใช้สารเคมีเพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตทั้งยังลดอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้ ต่อสภาพแวดล้อมและแมลงที่เป็นประโยชน์ ซึ่งสารสกัดสะเดาสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของไข่ หนอนและดักแด้ ทำให้หนอนหรือตัวอ่นไม่ลอกคราบ เป็นสารไล่ตัวหนอนและตัวเต็มวัย ยับยั้งการกินอาหาร ยับยั้งการวางไข่ของตัวเต็มวัย ทำให้การผลิตไข่ลดน้อยลง ระงับการสร้างสารไคติน รบกวนผสมพันธุ์และการสื่อสารเพื่อการผสมพันธุ์ของแมลง และทำให้หนอนไม่กลืนอาหาร ส่วนปิโตรเลี่ยมออยล์และไวออยล์ เป็นน้ำมันที่นำมาใช้กำจัดแมลง ไร และไข่โดยทางสัมผัส ซึ่งใช้ได้ดีในการกำจัดเพลี้ยหอย เพลี้ยแป้ง ไข่เพลี้ยอ่อนและตัวแก่ ไข่ไรและตัวแก่ ซึ่งกลไกการป้องกันกำจัดศัตรูพืชของปิโตรเลียมออยล์จะไปเคลือบและอุดรูหายใจของแมลง ป้องกันการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนของแมลง ทำลายกระบวนการทางสรีระของแมลง ทำลายไข่และตัวอ่อนของแมลงรวมทั้งป้องกันการวางไข่และการกินอาหารของแมลงและไร และยังทำหน้าที่ไล่แมลงและยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อราด้วย และในส่วนของเชื้อรา Beauveria เป็นเชื้อราทำลายแมลงสามารถทำลายแมลงได้หลายชนิด เช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

แมลงหวี่ขาว เพลี้ยไฟ ไรแดง เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไก่แจ้ส้ม หนอนศัตรูพืช เชื้อรา Beauveria มีคุณสมบัติที่เป็นปฏิปักษ์ต่อแมลง โดยเส้นใยเชื้อราจะเจริญเติบโตแทงทะลุเปลือกแล้วเจริญเติบโตโดยผลิตเอสไซม์ที่เป็นพิษและทำลายแมลงต่อศัตรูพืช ซึ่งแมลงจะไม่ตายทันที (แต่จะตายภายใน 3-7 วัน) ทำให้เป็นพาหะนำเชื้อไปติดต่อกับแมลงตัวอื่นที่มาใกล้หรือสัมผัส เชื้อรายังอาศัยและกินเศษซากที่ผุพังของแมลงที่ตายแล้ว และสามารถแพร่เชื้อต่อไปได้อีกด้วย เพราะฉะนั้นเพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดา, ปิโตรเลียมออยล์, ไวท์ออยล์, เชื้อรา Beauveria เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลง จึงเป็นแนวทางหรือทางเลือกหนึ่งเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงพาหะของเชื้อไวรัสในแปลงปลูกมันฝรั่ง เพื่อการนำไปใช้ให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดต่อการควบคุมแมลงพาหะและเพื่อลดต้นทุนในการผลิตมันฝรั่ง เพราะสารแต่ละชนิดเมื่อเทียบกันแล้วมีราคาถูกกว่าสารเคมีและไม่เป็นอันตรายทั้งต่อเกษตรกรผู้ใช้และสภาพแวดล้อม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารสกัดสะเดา
2. ปิโตรเลียมออยล์
3. ไวท์ออยล์
4. สารฆ่าแมลง (สารพอสซ์และสารอะบาแม็กติน)
5. ฟูราดาน
6. หัวพันธุ์มันฝรั่ง (เป็นโรค 4 เปอร์เซ็นต์)

วิธีการ

1.ปลูกมันฝรั่งในแปลงปลูกสภาพปกติ โดยใช้หัวพันธุ์ปลอดโรค วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 Treatment แต่ละ Treatment มี 3 ซ้ำ ดังนี้คือ

1. ปลูกมันฝรั่งปลอดโรค + สารพอสซ์+ สารอะบาแม็กติน (T1)
2. ปลูกมันฝรั่งปลอดโรค + พ่นปิโตรเลียมออยล์ (T2)
3. ปลูกมันฝรั่งปลอดโรค + พ่นไวท์ออยล์ (T3)
4. ปลูกมันฝรั่งปลอดโรค + พ่นสารสกัดสะเดา (T4)
5. ปลูกมันฝรั่งปลอดโรค + สารพอสซ์ + ปิโตรเลี่ยมออยล์ (T5)
6. ปลูกมันฝรั่งปลอดโรค + สารพอสซ์ + ไวท์ออยล์ (T6)
7. ปลูกมันฝรั่งปลอดโรค + สารพอสซ์ + สารสกัดสะเดา (T7)

8. ปลูกมันฝรั่งปลอดโรค + สารพอสซ์ + ฟูราดาน (T8)

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 ดูแลแปลงด้วยการใส่ปุ๋ยก่อนออกดอกและฉีดพ่นสารในแต่ละ treatment ทุก 7-10 วัน

2. ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การระบาดและเกิดโรคไวรัสของทุกแปลง 3 ครั้ง ด้วยวิธี ELISA โดยเริ่มสุ่มเก็บใบมันฝรั่งมาตรวจหลังปลูก 15 วัน (มีใบจริงประมาณ 4 ใบ), มันฝรั่งอายุประมาณ 45 วัน (ก่อนออกดอกหรือช่วงออกดอก) และก่อนเก็บผลผลิตหนึ่งสัปดาห์

3. เก็บผลผลิตและตรวจดูคุณภาพและขนาดของหัวมันฝรั่ง

4. วิเคราะห์ผลทางสถิติและสรุปผลการดำเนินงาน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา เริ่มเดือนตุลาคม 2552 สิ้นสุดเดือนกันยายน 2553

สถานที่ - ศูนย์บริการด้านพืชและปัจจัยการผลิตฝาง จ.เชียงใหม่

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กทม.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัสของทุกแปลงและทุกกรรมวิธี ทั้งหมด 3 ครั้ง คือ หลังปลูก 15 วัน (มีใบจริงประมาณ 4 ใบ), มันฝรั่งอายุประมาณ 45 วัน (ก่อนออกดอกหรือช่วงออกดอก) และก่อนเก็บผลผลิตหนึ่งสัปดาห์ ด้วยวิธี ELISA กับใบมันฝรั่ง พบว่าต้นมันฝรั่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นในทุกกรรมวิธี โดยเฉพาะการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคครั้งที่ 3 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นถึง 70-95% จากการติดเชื้อไวรัสย่อมจะมีผลกระทบต่อผลผลิตของหัวมันฝรั่ง ซึ่งการเก็บผลผลิตและตรวจดูคุณภาพและขนาดของหัวมันฝรั่ง พร้อมทั้งวิเคราะห์ผลทางสถิติและสรุปผลการดำเนินงาน ยังอยู่ในระหว่างการดำเนินงาน

ตารางที่ 1 ผลการสุ่มตรวจไวรัสเชื้อ PVY 3 ครั้ง ในแปลงปลูกมันฝรั่ง (ม.ค. 53 - มี.ค. 53)

ครั้งที่	ว/ด/ป	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	19 ม.ค. 53	6.6%	11.6%	6.6%	8.3%	5.0%	8.3%	11.6%	10.0%
2	8 ก.พ. 53	50.0%	53.3%	50.0%	53.3%	55.0%	40.0%	30.0%	46.6%
3	2 มี.ค. 53	81.6%	83.3%	76.6%	95.0%	63.3%	70.0%	76.6%	66.6%

ภาพที่ 1 ติดกับดักกาวเหนียว (yellow tab) ตรวจดูแมลง

ภาพที่ 2 A: ต้นมันฝรั่งอายุ 40-45 วัน เก็บตัวอย่างใบครั้งที่ 2 ตรวจการระบาดของโรค

B: พบปัญหาการระบาดของโรคใบไหม้ (Late Blight) ในแปลงทดลอง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การป้องกันและควบคุมแมลงพาหะของเชื้อไวรัสในมันฝรั่ง หลังฉีดพ่นสารและนำตัวอย่างใบมันฝรั่งในทุกกรรมวิธี มาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไวรัส ทั้งหมด 3 ครั้ง คือ หลังปลูก 15 วัน (มีใบจริงประมาณ 4 ใบ), มันฝรั่งอายุประมาณ 30 วัน, มันฝรั่งอายุประมาณ 45 วัน (ก่อนออกดอกหรือช่วงออกดอก) และก่อนเก็บผลผลิตหนึ่งสัปดาห์ ด้วยวิธี NCM-ELISA กับใบมันฝรั่งในฤดูหนาว พบว่าต้นมันฝรั่งมีการระบาดของโรคในแปลงปลูกและมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นในทุกกรรมวิธี โดยเฉพาะผลการตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคครั้งที่ 3 ที่พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 70-95% แม้ในกรรมวิธีที่ทำการฉีดพ่นสารฆ่าแมลง (สารพอสซ์ + สารอะบาแม็กติน) ยังมีการการระบาดของโรคในเกณฑ์ ที่สูงดังนั้นจากผลดังกล่าว พอสรุปได้ในเบื้องต้นว่าสารเคมีทั้งสองชนิด รวมทั้ง ปิโตรเลียมออยล์, ไวท์ออยล์, สารสกัดสะเดาและฟูราดาน ไม่สามารถลดการการระบาดของโรคได้ แม้อาจจะช่วยลดปริมาณของแมลงลงได้ เนื่องจากไวรัสที่ติดไปกับแมลงพาหะเมื่อแมลงดูดกินต้นเป็นโรคแล้วไปดูดกินต้นปกติ ถึงแม้ในปริมาณไม่กี่ตัวก็สามารถทำให้เกิดโรคได้

และในระหว่างการทดลองต้องประสบปัญหาการระบาดของโรคใบไหม้(Late Blight) ในแปลงทดลอง ซึ่งเป็นปัญหาในงานทดลอง ในการเก็บตัวอย่างใบมันฝรั่ง เนื่องจากการระบาดของโรครุ่นแรงทำให้ต้นมันฝรั่งตาย จากปัญหาดังกล่าวอาจเนื่องมาจากในกรรมวิธีที่ไม่มีการฉีดพ่นสารเคมีทำให้เชื้อสาเหตุเข้าทำลายได้ง่าย และระบาดต่อไปในกรรมวิธีหรือแปลงอื่น จนไม่สามารถควบคุมได้

เอกสารอ้างอิง

สุรภี กีรติยะอังกูร สิทธิศักดิ์ แสไพศาล วิวัฒน์ ภาณุอำไพ เยาวภา ตันติวานิช ปรียพรรณ พงศาพิชญ์. 2551. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม: โครงการตรวจหา PVY strain และการประเมินความเสียหายของผลผลิตมันฝรั่งจากเชื้อ PVY ในประเทศไทย. กรมวิชาการเกษตร. 42 หน้า.

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

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 PVY^{n} and PVY^{o} 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 Methods of its Detection. Plant Disease Vol. 87 No.6:679-686.

การบริหารจัดการวัชพืชในขิง : ปี2551

Weed Management in Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.).

เสริมศิริ คงแสงดาว[1] จิตอาภา ชมเชย[2] ทองเพชร สานมะโน[2]

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช[1] ศูนย์วิจัยพืชสวนเพชรบูรณ์[2]

บทคัดย่อ

การบริหารจัดการวัชพืชในขิง ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ ระหว่างเมษายน 2551-สิงหาคม 2552 ทดลอง 2 ชุด 1)ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกเพื่อกำจัดกระดุมใบใหญ่ในขิง วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 9 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ควบคุมต้นอ่อนวัชพืชและวัชพืชที่ยังงอกไม่พ้นผิวดิน ก่อนที่ขิงงอกพ้นผิวดิน พบว่า oxyfluorfen, diuron, metribuzin อัตรา 47, 280, 98 กรัมai./ไร่ พ่นที่ 12 วันหลังปลูกขิง ควบคุมวัชพืชได้ดี พบว่า metribuzin, diuron ได้ผลผลิตขิงสูงสุด รองลงมาคือ oxyfluorfen

2) การบริหารจัดการวัชพืชในขิง วัชพืชเด่นคือ กระดุมใบใหญ่ (Borreria latifolia (Aubl.) K.Sch.) วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ เพื่อไม่ให้กระเทือนรากขิง ยกร่องปลูกขิงร่องละ 3 แถว พูนโคนรวม 3 แถว diuron, metribuzin อัตรา 320, 112 กรัมai./ไร่ พ่นทันทีหลังปลูก, oxyfluorfen อัตรา 47 กรัมai./ไร่ พ่นที่ 12 วันหลังปลูก, paraquat, glyphosate อัตรา 165.6, 360 กรัมai./ไร่ พ่นกำจัดวัชพืชเมื่อ 20 วันหลังปลูก คลุมดินด้วยแผ่นชีวมวล หญ้าคา เปรียบเทียบกับวิธีเกษตรกรใช้ glyphosate+alachlor อัตรา 240+240 กรัมai./ไร่ พ่นกำจัดวัชพืชเมื่อ 20 วันหลังปลูก ทุกกรรมวิธีกำจัดวัชพืช 2 ครั้งตั้งแต่ต้นวัชพืชยังเล็ก พบว่ากรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชควบคุมวัชพืชได้ดี ค่าใช้จ่ายในการกำจัดวัชพืชน้อย แตกต่างจากการใช้หญ้าคาคลุมดินมีวัชพืชขึ้นมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ข้อดีของการกำจัดวัชพืชตั้งแต่ยังเล็ก ช่วยให้การใช้หญ้าคาคลุมดินได้ผลผลิตขิงสูงสุด รายได้หลังหักค่าค่าใช้จ่ายในการจัดการวัชพืช พบว่าการใช้หญ้าคาคลุมดิน มีรายได้เหลือมากที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ metribuzin, diuron พ่นทันทีหลังปลูก, oxyfluorfen พ่นหลังปลูก 12 วัน, glyphosate, glyphosate+alachlor, paraquat พ่นหลังปลูก 20 วัน

รหัสโครงการ 2553 01165201

คำนำ

แปลงปลูกขิง (*Zingiber officinale* Rosc.) มักมีปัญหาวัชพืชขึ้นแข่งขันรุนแรง การเข้าไปกำจัดวัชพืชต้องระวังไม่ให้ขิงเกิดบาดแผล มีการไถเตรียมดินแล้วพ่นสาร glyphosate และ/หรือ paraquat ก่อนการปลูกขิง หลังจากนั้นควบคุมวัชพืชโดยการคลุมดิน การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกจึงเป็นแนวในการลดปัญหาวัชพืช โดยที่ไม่ต้องเข้าไปรบกวนแปลงขิงในช่วงแรกได้นานจนใกล้ช่วงเวลาพูนโคน (Follett, 1994) การคลุมดินเป็นการป้องกันวัชพืชแบบไม่ใช้สาร ช่วยบังแสงสว่างไม่ให้ส่องถึงพื้นผิวหน้าดิน เป็นการกีดกันไม่ให้วัชพืชได้รับแสง ลดการงอก ลดการเจริญเติบโต ลดปริมาณวัชพืช และรักษาความชื้นดิน จุดสำคัญคือต้องคลุมดินก่อนวัชพืชงอก (Anonymous, 2002) เสริมศิริ และคณะ (2550) รายงานการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย 3 ชนิด paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium ใช้พ่นกำจัดวัชพืชก่อนปลูก หรือพ่นกำจัดวัชพืชหลังปลูกขิงก่อนขิงงอกพ้นผิวดิน ระวังละอองสารสัมผัสต้นขิงที่อาจงอกเร็วโดยใช้หัวพ่นรูปพัดหน้าฉีดแคบ การหว่านถั่วเขียวหลังจากปลูกขิง และถอนต้นถั่วออกคลุมแปลงก่อนต้นถั่วโตปกคลุมต้นขิง ช่วยลดปริมาณวัชพืชได้ เสริมศิริ และคณะ (2551) ทดลองใช้วัสดุคลุมดินในแปลงปลูกขิง พบว่าพลาสติกเทา-ดำและแผ่นชีวมวลคลุมดินแปลงปลูกขิง ป้องกันวัชพืชได้ดีที่สุด รองลงมาตามลำดับคือขี้เลื่อยไม้กระถินเทพา หญ้าคา เศษหญ้า หญ้าขจรจบ แกลบดำ และวัสดุคลุมยังมีผลต่อปริมาณหอยสาริกาที่เข้ามาในแปลงขิงแตกต่างกัน เมื่อทดลองควบคุมวัชพืชในระยะแรกก่อนขิงงอกพ้นผิวดิน เพื่อป้องกันไม่ให้วัชพืชเบียดเบียนการเจริญเติบโตของขิง ตั้งแต่ระยะแรกของการเจริญเติบโตพบว่าการพ่นสารกำจัดวัชพืช glyphosate และ glufosinate-ammonium ให้ผลการควบคุมได้ดีกว่า paraquat สำหรับการทดลองใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก เพื่อลดการเข้าไปกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และลดโอกาสเกิดแผลบนต้นขิง พบว่า metribuzin และ diuron, อัตรา 112 และ 320 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ช่วยลดปัญหาวัชพืชในแปลงปลูกขิงในกรณีที่วัชพืชสำคัญคือวัชพืชใบกว้างและกกได้

กระดุมใบใหญ่ (Borreria latifolia (Aubl.) K.Sch.) จัดเป็นวัชพืชใบกว้างที่พบเป็นปัญหามากในแปลงปลูกขิง แหล่งปลูกจังหวัดเชียงราย ชื่อ หญ้าปากไถ และจังหวัดเพชรบูรณ์ ชื่อ หญ้าสะระแหน่ ซึ่งการใช้ paraquat และ glyphosate ของเกษตรกรตามปกติไม่สามารถกำจัดกระดุมใบใหญ่ได้

เพื่อให้ได้วิธีการบริหารจัดการวัชพืชที่ดี ปี 2551 จึงได้เลือกกรรมวิธีที่ได้ผลดีมาทดลองและผสมผสานเพื่อเป็นทางเลือกในการบริหารจัดการวัชพืช ก่อนการนำไปใช้แนะนำเกษตรกร

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

ประกอบด้วยท่อนพันธุ์ขิง เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง วัสดุคลุมดิน 2 ชนิดได้แก่ หญ้าคา แผ่นชีวมวล สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 5 ชนิดได้แก่ oxyfluorfen 23.5%EC, alachlor 48%EC, s-metolachlor 96 %EC, diuron 80%WP, metribuzin 70%WP สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก 3 ชนิดได้แก่ glyphosate 48%SL, glufosinate-ammonium 15%SL และ paraquat 27.6%SL ปุ๋ยเคมี สารป้องกันกำจัดโรคและแมลงตามความจำเป็น เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสูบโยกสะพายหลังพร้อมหัวพ่นรูปพัด

วิธีการ

ประกอบด้วย 2 การทดลองย่อย

<u>การทดลองที่ 1</u> <u>ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกเพื่อกำจัดกระดุมใบใหญ่ในขิง</u> วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 9 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ขนาดแปลงย่อย 1x6 เมตร ประกอบด้วยสารกำจัดวัชพืช 4 ชนิดๆละ 2 อัตรา คือ oxyfluorfen, diuron, metribuzin, s-metolachlor อัตรา 47 และ 58.75, 280 และ320, 98 และ 112, 134.4 และ144 กรัมai./ไร่ ตามลำดับ พ่นที่ 12 วันหลังปลูกขิง เปรียบเทียบกับการปลูกถั่วลิสงแซมขิง ทุกกรรมวิธีตามด้วยการกำจัดวัชพืช 2 ครั้ง ที่ 30 และ 50 วันหลังปลูก

<u>การทดลองที่ 2</u> <u>การบริหารจัดการวัชพืชในขิง</u> วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ขนาดแปลงย่อย 5x6 เมตร ประกอบด้วยกรรมวิธีที่ 1-2 diuron และ metribuzin อัตรา 320 และ 112 กรัมai./ไร่ พ่นทันทีหลังปลูก กรรมวิธีที่ 3 oxyfluorfen อัตรา 47 กรัมai./ไร่ พ่นที่ 12 วันหลังปลูก กรรมวิธีที่ 4-5 paraquat และ glyphosate อัตรา 165.6 และ 360 กรัมai./ไร่ พ่นกำจัดวัชพืชเมื่อ 20 วันหลังปลูก กรรมวิธีที่ 6 glyphosate+alachlor อัตรา 240+240 กรัมai./ไร่ กรรมวิธีที่ 7 คลุมดินด้วยแผ่นชีวมวลตั้งแต่เริ่มปลูก กรรมวิธีที่ 8 คลุมดินด้วยหญ้าคาทั้งแปลงทันทีหลังปลูก

ไถดะ ตากดิน สภาพพื้นที่ทดลองมีหญ้าคาหนาแน่น เมื่อเตรียมดินเสร็จ ตากดินไว้เก็บเศษชิ้นส่วนวัชพืช (โดยเฉพาะเหง้าหญ้าคา) ออกจากแปลง ยกร่องสูงร่องกว้าง 1 เมตร พรวน ขุดหลุมปลูกระยะปลูก 30x30 เซนติเมตร ปลูกขิงร่องละ 3 แถว คัดเลือกท่อนพันธุ์ขิงที่มีลักษณะสมบูรณ์ขนาดเท่าๆกัน สะอาดปราศจากโรค ก่อนปลูกแช่ท่อนพันธุ์ขิงในสารกำจัดแมลง คาร์โบซัลแฟน อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 15 นาที นำขึ้นมาผึ่งให้แห้ง แล้วแช่ในสารกำจัดโรคคาร์เบนดา

ซิม อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร นาน 15 นาที นำขึ้นมาผึ่งให้แห้ง วางท่อนพันธุ์ขิงในหลุมปลูก กลบดิน ทุกกรรมวิธีตามด้วยการกำจัดวัชพืช 2 ครั้งที่ 30 และ 50 วันหลังปลูก พูนโคนโดยใช้ดินจากร่องทางเดิน ระหว่างฤดูปลูกตัดต้นวัชพืชแล้วนำต้นวัชพืชมาคลุมพื้นที่ทางเดิน

การบันทึกข้อมูล บันทึกจำนวนต้นขิงแต่ละแปลงย่อย และข้อมูลวัชพืช โดยการสุ่มแปลงย่อยละ 2 จุดๆละ 0.5 x 0.5 เมตร ชั่งน้ำหนักสดวัชพืช เก็บเกี่ยวขิงเมื่ออายุ 8 เดือน บันทึกน้ำหนักผลผลิตขิงแต่ละกอ เก็บเกี่ยวทั้งแปลงย่อย

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองเมื่อเดือนเมษายน พ.ศ. 2551 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2553 ที่ แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนเพชรบูรณ์ อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

พื้นที่ทดลองมีปริมาณวัชพืช 1,076 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบกว้าง 89.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่คือกระดุมใบใหญ่ 66.4 เปอร์เซ็นต์ พบวัชพืชวงศ์หญ้าและวัชพืชวงศ์กก 6.4 และ 3.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

<u>การทดลองที่ 1 ทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกเพื่อกำจัดกระดุมใบใหญ่ในขิง</u>

การควบคุมวัชพืช (ตารางที่ 1)

เนื่องจากแปลงทดลองหลังปลูกมีวัชพืชกระดุมใบใหญ่ขึ้นหนาแน่น จึงทดลองใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก พ่นที่ 12 วันหลังปลูกขิง เพื่อกำจัดต้นอ่อนกระดุมใบใหญ่งอกขึ้นอ่อนและคุมเมล็ดของกระดุมใบใหญ่บริเวณผิวหน้าดินที่เริ่มงอกจากเมล็ดแต่ยังไม่โผล่พ้นดิน พบว่าการกำจัดวัชพืชที่ 30 วันหลังปลูก ปริมาณวัชพืชในแปลงที่ปลูกถั่วลิสงแซมขิง มีวัชพืชรวม 333 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบกว้าง 87.4 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชวงศ์กก 12.6 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบกว้างที่พบส่วนใหญ่คือกระดุมใบใหญ่ 83.9 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณวัชพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ diuron, metribuzin และ oxyfluorfen อัตรา 47 และ 58.75, 280 และ 320, 98 และ 112 กรัมai./ไร่ ตามลำดับ มีปริมาณวัชพืชน้อยที่สุดไม่แตกต่างกัน ทั้งจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช โดยเฉพาะใบกว้างคือกระดุมใบใหญ่เฉลี่ย 1.3-12.0 ต้นต่อตารางเมตรและ0.007-0.157 กรัมต่อตารางเมตร รองลงมาคือ s-metolachlor อัตรา 134.4, 144 กรัมai./ไร่ พบว่าไม่มีผลกำจัดวัชพืช

ต้นอ่อนกระดุมใบใหญ่ที่งอกขึ้นมาแล้ว ส่วนการปลูกถั่วลิสงแซมขิงควบคุมวัชพืชไม่ได้ มีจำนวนต้นวัชพืชมากที่สุดคือ 292 ต้นและน้ำหนักแห้งวัชพืช 4.054 กรัมต่อตารางเมตร

เมื่อกำจัดวัชพืชออกจากแปลง 50 วันหลังปลูก พบว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิด ยังคงมีปริมาณวัชพืชต่ำสุด รองลงมาคือการปลูกถั่วลิสงแซมขิง เนื่องจากต้นถั่วลิสงขึ้นแข่งขันกับวัชพืช ส่วนการใช้ s-metolachlor มีปริมาณวัชพืชมากที่สุด

ผลผลิตขิง (ตารางที่ 1)

เมื่อเก็บเกี่ยวที่อายุ 8 เดือน พบว่าการใช้สาร diuron, metribuzin และ oxyfluorfen มีจำนวนต้นขิงที่เก็บเกี่ยวสูงสุด เฉลี่ย 4,000-4,747 ต้นต่อไร่ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการปลูกถั่วลิสงแซมขิง ซึ่งมีจำนวนต้นขิงน้อยที่สุด 1,387 ต้นต่อไร่ การใช้ metribuzin, diuron อัตรา 98 และ 280 กรัมai./ไร่ น้ำหนักผลผลิตขิงได้ผลผลิตขิงสูงสุดไม่แตกต่างกันคือ 3,393 และ 3,365 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือการใช้ oxyfluorfen อัตรา 47 กรัมai./ไร่ ได้ผลผลิตขิง 3,314 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิดที่อัตราสูงได้ผลผลิตรองลงมาไม่แตกต่างกัน เฉลี่ย 2,623-2,935 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับการปลูกถั่วลิสงแซมขิงได้ผลผลิตขิงต่ำสุด 298 กิโลกรัมต่อไร่

<u>การทดลองที่ 2 การบริหารจัดการวัชพืชในขิง</u>

ก่อนเตรียมดินสภาพพื้นที่ทดลองมีหญ้าคาหนาแน่น หลังจากไถดะเตรียมดินเสร็จ ตากดินไว้ พรวนดิน เก็บเหง้าหญ้าคาออกจากแปลงให้หมด ยกร่องปลูกขิง รอการปลูกขิง พบว่าพื้นที่มีวัชพืชใบกว้าง ได้แก่กระดุมใบใหญ่งอกขึ้นหนาแน่น เพื่อหลีกเลี่ยงการทำให้ต้นขิงเกิดบาดแผล โดยยกร่องปลูก ร่องละ3 แถว พูนโคนโดยใช้ดินจากร่องทางเดิน ทุกกรรมวิธีกำจัดวัชพืชที่เหลือในแปลงตั้งแต่ต้นวัชพืชยังเล็ก และตัดวัชพืชรอบๆแปลงคลุมดินในร่องทางเดิน ช่วยทำให้แปลงลดการถูกรบกวนจากวัชพืชในร่องทางเดิน

การควบคุมวัชพืช

ผลจากการเก็บเหง้าหญ้าคาออกจากแปลง ตั้งแต่ตอนเตรียมแปลงก่อนปลูก ช่วยลดปัญหาหญ้าคาในแปลงปลูกได้ดีมาก ที่ 30 วันหลังปลูก วัชพืชที่พบในแปลงคลุมหญ้าคา 1,016 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบกว้าง 95.1 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชวงศ์กก, วัชพืชวงศ์หญ้า และหญ้าคา 4.0, 0.2 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยวัชพืชใบกว้างที่พบส่วนใหญ่คือกระดุมใบใหญ่ 70.3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณวัชพืชที่ 30 และที่ 50 วันหลังปลูก พบว่าปริมาณวัชพืชแสดงผลในทำนอง

เดียวกันคือ oxyfluorfen, diuron, paraquat และแผ่นชีวะมวล มีปริมาณวัชพืชเหลือน้อยที่สุดไม่แตกต่างกัน รองลงมาคือ metribuzin, glyphosate, glyphosate+alachlor การใช้หญ้าคาคลุมดินมีปริมาณวัชพืชมากที่สุด 1, 076 และ 223 ต้นต่อตารางเมตร ที่ 30 และที่ 50 วันหลังปลูก(ตารางที่ 2) โดยวัชพืชส่วนใหญ่คือกระดุมใบใหญ่

การเจริญเติบโตของขิง

ต้นขิงเกือบทุกกรรมวิธีเจริญเติบโตดีใกล้เคียงกัน ยกเว้นการใช้แผ่นชีวะมวลคลุมดิน ซึ่งเป็นผลมาจากขั้นตอนการปลูก ซึ่งปลูกขิงก่อนแล้วจึงวางแผ่นชีวะมวลที่เจาะหลุมปลูกแบบกากบาท ตามตำแหน่งระยะปลูก 30x30 เซนติเมตรตามหลัง บางตำแหน่งหน่อขิงคลาดเคลื่อนจากรูที่กำหนด หน่อขิงต้องใช้เวลานานกว่าจะยืดตัวพ้นแผ่นชีวะมวล และบางหน่อไม่สามารถหาหลุมปลูก บนแผ่นชีวะมวลพบ จึงทำให้การใช้แผ่นชีวะมวลคลุมดินมีจำนวนต้นขิงน้อยที่สุด (ตารางที่ 3)

ผลผลิตขิง (ตารางที่ 3)

เก็บเกี่ยวขิงเมื่ออายุ 8 เดือน พบว่าการใช้หญ้าคาคลุมดินได้ผลผลิตขิงสูงสุด 4,463 กิโลกรัมต่อไร่ เนื่องจากเป็นการกำจัดวัชพืช 2 ครั้ง ที่ 30 และที่ 50 วันหลังปลูก ซึ่งกำจัดตั้งแต่ต้นวัชพืชยังเล็กจึงไม่กระเทือนระบบรากขิง ทำให้ต้นขิงปลอดจากการแข่งขันกับวัชพืช ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชได้ผลผลิตขิงรองลงมาไม่แตกต่างกัน มีแนวโน้มว่าการใช้ metribuzin อัตรา 112 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่นทันทีหลังปลูกได้ผลขิงสูงสุด 3,705 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาตามลำดับคือการใช้ diuron พ่นทันทีหลังปลูก, oxyfluorfen พ่นหลังปลูก 12 วันอัตรา 320, 47 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลผลิตขิง 3,486, 3,223 กิโลกรัมต่อไร่ และ glyphosate+alachlor, glyphosate, paraquat พ่นหลังปลูก 20 วัน อัตรา 240+240, 360, 165.6 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลผลิตขิง 3,166, 3,148, 2,789 กิโลกรัมต่อไร่ การใช้แผ่นชีวะมวล ได้ผลผลิตขิงต่ำสุด 2,468 กิโลกรัมต่อไร่

เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการจัดการวัชพืชต่อไร่ ตลอดฤดูปลูก (ตารางที่ 4)

ราคาสารกำจัดวัชพืชคิดตามปริมาณที่ใช้ พบว่า ราคาเฉลี่ย 86.4-168 บาทต่อไร่ ต่ำกว่าการใช้หญ้าคาคลุมดิน ซึ่งหาได้ง่ายแต่ต้องมีค่าแรงตัดและขนส่ง ส่วนแผ่นชีวะมวลต้นทุนสูงที่สุด ทุกกรรมวิธีกำจัดวัชพืช 2 ครั้งตั้งแต่ต้นวัชพืชยังเล็ก พบว่ากรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชควบคุมวัชพืชได้ดี ค่าใช้จ่ายในการกำจัดวัชพืชน้อย เฉลี่ย 713-2,835 บาทต่อไร่ แตกต่างจากการใช้หญ้าคาคลุมดินซึ่งมีวัชพืชขึ้นมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ จึงมีค่าใช้จ่ายในการกำจัดวัชพืช 6,830 บาทต่อไร่ รายได้หลังหักค่าค่าใช้จ่ายในการจัดการวัชพืช พบว่าการใช้หญ้าคาคลุมดิน มีรายได้เหลือมาก

ที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ metribuzin, diuron พ่นทันทีหลังปลูก, oxyfluorfen พ่นหลังปลูก 12 วัน, glyphosate, glyphosate+alachlor, paraquat พ่นหลังปลูก 20 วัน ส่วนการใช้แผ่นชีวะมวลมีรายได้ไม่คุ้มทุน จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้กับการปลูกขิง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การบริหารจัดการวัชพืชในขิง ต้องเริ่มตั้งแต่ตอนเตรียมดินก่อนปลูก เก็บชิ้นส่วนขยายพันธุ์ของวัชพืชข้ามปีออกให้หมด ปลูก 2-3 แถวต่อร่อง ใช้หญ้าคาคลุมดิน พูนโคนรวม กำจัดวัชพืชตั้งแต่ต้นยังเล็ก 2 ครั้ง หากมีปัญหาวัชพืชมากและขาดแคลนแรงงาน ควรใช้สารกำจัดวัชพืช metribuzin, diuron อัตรา 112, 320 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่พ่นทันทีหลังปลูก เพื่อกำจัดวัชพืชก่อนวัชพืชงอก หรือปลูกขิงไปแล้ว 12 วัน จึงพ่น metribuzin, diuron ,oxyfluorfen อัตรา 98, 280, 47 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เพื่อควบคุมต้นอ่อนวัชพืชและวัชพืชที่ยังงอกไม่พ้นผิวดิน, หรือปลูกขิงไปแล้ว 20 วัน จึงพ่น glyphosate, glyphosate+alachlor, paraquat อัตรา 362, 240+240, 165.6 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ เพื่อกำจัดต้นวัชพืชที่งอกขึ้นมา ก่อนที่ขิงจะงอกพ้นผิวดิน

เอกสารอ้างอิง

เสริมศิริ คงแสงดาว วินัย เจริญกูล และ เกลียวพันธ์ สุวรรณรักษ์. 2550. การควบคุมวัชพืชวิธีการต่างๆในขิง. หน้า 109-122. *ใน* : การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 8. 20-22 พฤศจิกายน 2550 ณ โรงแรมอัมรินทร์ลากูน อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก.

เสริมศิริ คงแสงดาว จิตอาภา ชมเชย กัมพล เมืองโคมพัส และ ลัดดาวัลย์ อินทร์สังข์. 2551. การบริหารจัดการวัชพืชในขิง: ปี 2550. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551: เล่ม 3. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 1788-1807.

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.

ตารางที่ 1 ปริมาณวัชพืช (ต่อตารางเมตร) ในการทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกเพื่อกำจัดกระดุมใบใหญ่ในขิง

กรรมวิธี : พ่นสารกำจัดวัชพืช (อัตรา กรัม ai./ไร่) ที่ 12 วันหลังปลูก	กำจัดวัชพืชที่ 30 วันหลังปลูก				กำจัดวัชพืชที่ 50 วันหลังปลูก				จำนวนต้นขิงเมื่อเก็บเกี่ยว (ต้น/ไร่)		น้ำหนักหัวขิง (กิโลกรัม/ไร่)	
	จำนวนต้น (ต้น)		น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม)		จำนวนต้น (ต้น)		น้ำหนักแห้ง (กรัม)					
	รวม	กระดุมใบ	รวม	กระดุมใบ								
1.oxyfluorfen (47)	12 a	12 a	0.075 a	0.075 a	40	a	2.878	a	4053	a	3314	ab
2.oxyfluorfen (58.8)	17 a	9 a	0.313 a	0.061 a	58	a	1.79	a	4320	a	2623	abc
3.diuron (280)	19 a	19 a	0.090 a	0.090 a	34	a	3.006	a	4747	a	3365	a
4.diuron (320)	39 a	37 ab	0.223 a	0.157 a	34	a	4.28	a	3893	ab	2935	abc
5.metribuzin (98)	3 a	1 a	0.013 a	0.007 a	17	a	0.942	a	4480	a	3393	a
6. metribuzin (112)	11 a	8 a	0.084 a	0.084 a	22	a	1.792	a	4000	a	2646	abc
7. s-metolachlor (134)	341 b	335 c	3.241 ab	2.841 ab	479	c	100.158	c	3787	ab	2063	bc
8.s-metolachlor (144)	183 ab	176 abc	2.203 ab	1.761 ab	299	bc	59.928	bc	3627	ab	1900	c
9.peanut	333 b	279 bc	4.411 b	4.054 b	274	b	29.394	ab	1387	b	298	d
C.V. (%)	105.8	104.4	128.16	136.32	56.18		79.0		26.5		19.5	
F-test	**	**	**	**	**		**		**		**	

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1904

ตารางที่ 2 ปริมาณวัชพืช ต่อตารางเมตร ในการทดลองการบริหารจัดการวัชพืชในขิง ปี 2551

กรรมวิธี : สารกำจัดวัชพืช (อัตรากรัมai./ไร่) /พ่น ที่ ... วันหลังปลูก	เมื่อกำจัดวัชพืชครั้งแรก ที่ 30 วันหลังปลูก						เมื่อกำจัดวัชพืชครั้งที่สอง ที่ 50 วันหลังปลูก			
	จำนวนต้น			น้ำหนักแห้งวัชพืช			จำนวนต้น		น้ำหนักแห้งวัชพืช	
	หญ้าคา	กระดุมใบ	รวม	หญ้าคา	กระดุมใบ	รวม	กระดุมใบ	รวม	กระดุมใบ	รวม
1. diuron (320)/0	2	46 a	49 a	0.146	0.407 a	0.654 a	14 a	23 ab	0.618 ab	0.99 a
2.metribuzin (112)/0	3	197 a	214 ab	0.263	1.323 bc	1.689 a	115 abc	175 bc	3.484 abc	4.476 ab
3. oxyfluorfen (47)/12	9	32 a	43 a	0.368	0.122 a	0.514 a	55 abc	67 ab	0.984 abc	1.85 a
4.paraquat (165.6)/20	7	84 a	92 ab	0.471	0.419 a	0.890 a	31 ab	72 ab	1.016 abc	2.254 a
5.glyphosate (360)/20	3	132 a	135 ab	0.153	0.615 bc	0.869 a	159 c	182 bc	4.686 c	5.712 ab
6.glyphosate+alachlor (240+240)/20	3	217 a	223 ab	0.082	1.210 bc	1.336 a	140 bc	182 bc	3.366 abc	5.453 ab
7.แผ่นชีวมวล	3	61 a	63 ab	0.131	0.208 a	0.340 a	23 a	43 ab	0.428 a	1.02 a
8.หญ้าคา	7	714 b	1016 c	0.207	7.429 c	10.72 b	148 c	223 c	3.194 abc	8.558 bc
C.V. (%)	86	75.4	48.7	167.7	46.24	64.59	67.3	42.1	79.1	40.9
F-test	ns	**	**	ns	**	**	*	**	*	**

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1905

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบจำนวนต้นต่อไร่และน้ำหนักหัวขิงที่ขนาดน้ำหนักหัวแตกต่างกัน คิดเป็น กิโลกรัมต่อไร่ ในการทดลองการบริหารจัดการวัชพืชในขิง ปี 2551

กรรมวิธี : สารกำจัดวัชพืช (อัตรากรัมai./ไร่) /พ่น ที่ ... วันหลังปลูก	จำนวนต้นต่อไร่ เมื่อเก็บเกี่ยว	ผลผลิตขิง (กิโลกรัมต่อไร่)	ผลผลิตขิงแยกตามขนาดน้ำหนักแง่งขิง (กิโลกรัมต่อไร่)			
			ตั้งแต่ 1-099 กรัมต่อต้น	ตั้งแต่ 100-499 กรัมต่อต้น	ตั้งแต่ 500-999 กรัมต่อต้น	ตั้งแต่ 1000 กรัมต่อต้นขึ้นไป
1. diuron (320)/0	5,760	3,486 ab	4 ab	711	2,262 ab	509
2.metribuzin (112)/0	6,293	3,705 ab	3 b	884	1,981 ab	837
3. oxyfluorfen (47)/12	5,013	3,223 ab	18 ab	613	1,419 ab	1,173
4.paraquat (165.6)/20	5,440	2,789 ab	32 a	882	1,394 ab	481
5.glyphosate (360)/20	5,760	3,148 ab	20 ab	929	1,595 ab	604
6.glyphosate+alachlor (240+240)/20	4,960	3,166 ab	1 b	531	1,930 ab	704
7. แผ่นชีวมวล	4,747	2,468 b	5 ab	840	1,212 b	411
8.หญ้าคา	5,813	4,463 a	4 ab	342	2,520 a	1,597
C.V. (%)	21.5	25.93	133.4	45.1	34.1	94.5
F-test	ns	*	*	ns	*	ns

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

1906

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการจัดการวัชพืชต่อไร่ ตลอดฤดูปลูก ในการทดลองการบริหารจัดการวัชพืชในขิง ปี 2551

กรรมวิธี : สารกำจัดวัชพืช (อัตรากรัมai./ไร่) (พ่น ที่ ... วันหลังปลูก	ค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับสารกำจัดวัชพืช				กำจัดวัชพืชที่ 30 วัน		กำจัดวัชพืชที่ 50 วัน		รวมค่าใช้จ่ายในการจัดการวัชพืช (บาท/ไร่)	ราคาผลผลิตขิง (บาท/ไร่)	รายได้หลังหักค่าใช้จ่ายในการจัดการวัชพืช (บาท/ไร่)
	อัตรา (กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่)	ราคา (บาท/ลิตรหรือกิโลกรัม)	ราคาสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ (บาท/ไร่)	ค่าแรงงานพ่นสารกำจัดวัชพืช (บาท/ไร่)	จำนวนแรงงาน (/คน/ไร่)	ค่าแรงงาน (บาท/ไร่)	จำนวนแรงงาน (คน/ไร่)	ค่าแรงงาน (บาท/ไร่)			
1. diuron 80%WP	320	240	96.0	57.95	1.045	177.7	1.393	236.8	713.5	34,860	34,147
2.metribuzin 70%WP	112	540	86.4	57.95	4.549	773.3	10.426	1772.4	2,835.1	37,050	34,215
3. oxyfluorfen23.5%EC	47	840	168.0	57.95	0.904	153.7	4.019	683.2	1,207.9	32,220	31,022
4.paraquat27.6%SL	165.6	165	99.0	57.95	1.935	329.0	4.298	730.6	1,361.6	27,890	26,528
5.glyphosate48%SL	360	160	120.0	57.95	2.854	485.1	10.863	1846.8	2,654.9	31,480	28,825
6.glyphosate+alachlor	240+288	160+130	158.0	57.95	4.718	802.1	10.863	1846.8	3,009.9	31,660	28,650
7.แผ่นชีวมวล ราคา 190บาท /1.5 ตรม. พื้นที่ 1 ไร่ ใช้ 960 แผ่น = 121,600[1/2/]					1.342	228.1	2.587	439.7	122,267.8	24,680	-97,588
8. หญ้าคา			400[3/]	170[1/2/]	22.8	3876.0	13.331	2266.2	6,830.2	44,640	37,780

ค่าจ้างแรงงาน 170 บาท/คน/วัน ค่าจ้างพ่นสารคิด 2 เท่าของค่าแรงงานปกติ ราคาขิงกิโลกรัมละ 10 บาท

[1/] คลุมเฉพาะร่องปลูกขิง [2/] /ค่าแรงงานตัดและคลุม[3/] ค่ารถขนส่งหญ้าคามาที่แปลง

1907

ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศ

Efficacy of Pre emergence Herbicides for Control Weeds in Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.).

เสริมศิริ คงแสงดาว[1] กัมพล เมืองโคมพัส[2] วิทยา ทองริน[2] ทองเพชร สานมะโน[2]

กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช[1] ศูนย์วิจัยพืชสวนเพชรบูรณ์[2]

บทคัดย่อ

ได้ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเพชรบูรณ์ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนพฤศจิกายน 2552 ประกอบด้วย 3 การทดลอง 1) ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศพันธุ์ต่างๆพ่นก่อนปลูก 3 วัน ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 4 ชนิด มันเทศจำนวน 14 พันธุ์ พบว่า acetochlor ควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุด รองลงมาคือ clomazone ส่น pendimethalin และ dimethenamid ได้ผลรองลงมาไม่ต่างกัน acetochlor ได้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาตามลำดับคือ pendimethalin, clomazone, dimethenamid มันเทศพันธุ์ พจ227-6 ได้ผลผลิตเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือพันธุ์ T101 และพันธุ์ procno65-16 2)ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศใช้พ่นก่อนปลูก 1 วัน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ สารกำจัดวัชพืช 6 ชนิดคือ metribuzin, pendimethalin, clomazone, dimethenamid, oxyfluorfen และ acetochlor อัตรา 96, 231, 192, 225, 47 และ 250 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ที่ 20 วันหลังพ่น พบว่าเกือบทุกกรรมวิธีปลอดภัยต่อต้นมันเทศ ยกเว้น oxyfluorfen มีอาการเป็นพิษเกิดกับใบที่แตะผิวดิน พื้นที่ทดลองมีวัชพืชใบกว้างมากประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชของสาร metribuzin ได้ผลดีที่สุด กรรมวิธีที่ใช้ metribuzin และ clomazone มันเทศมีการเจริญเติบดีที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ oxyfluorfen pendimethalin, dimethenamid และ acetochlor 3)ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศเมื่อใช้พ่นทันทีหลังปลูก มันเทศแสดงอาการเป็นพิษแตกต่างกัน oxyfluorfen เป็นพิษรุนแรง ใบแตกใหม่ปกติ ทุกกรรมวิธีได้ผลผลิตมันเทศต่ำกว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นก่อนปลูก 1 วัน

รหัสโครงการ 0116520101020352

คำนำ

มันเทศ (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) จัดอยู่ในวงศ์ Convolvulaceae มีชื่อสามัญว่า sweet potato เป็นพืชที่ปลูกง่าย จัดเป็นพืชอายุยาว การควบคุมวัชพืชในช่วงที่ปลูกแล้วทำได้ยาก ควรกำจัดวัชพืชตั้งแต่เริ่มปลูกเพื่อลดการแข่งขันกับวัชพืช ทำให้ได้ผลผลิตสูง หัวมีคุณภาพดี และควรมีการดูแลรักษาที่ดี เช่นปลูกซ่อม ให้น้ำในระยะปลูกใหม่ หรือเมื่อแล้งควรให้น้ำเดือนละ 2-3 ครั้ง ใส่ปุ๋ย กำจัดวัชพืชเดือนละ 1-2 ครั้ง ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก และใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก เพื่อให้แปลงปลูกสะอาดจากวัชพืช มีการตลบเถาทุกเดือน ป้องกันกำจัดโรคและแมลงตามความจำเป็น (คำแนะนำกรมส่งเสริมการเกษตร) แต่กรมวิชาการเกษตรยังไม่เคยมีคำแนะนำเกี่ยวกับการใช้สารกำจัดวัชพืชในมันเทศ Stall (2006) รายงานว่าการควบคุมวัชพืชมีความสำคัญมากในช่วงตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงมันเทศเจริญเติบโตปกคลุมร่องปลูก การกำจัดวัชพืชหรือพรวนควรทำตื้นๆ เพื่อไม่ให้รากมันเทศเกิดแผล สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกที่แนะนำใช้ในมันเทศ ซึ่งมีเพียง 3 ชนิด ได้แก่ carfentrazone, clomazone, pelarganic acid ใช้พ่นก่อนปลูก หรือพ่นระหว่างแถวมีที่กำบังละอองสาร Dr. Corey Ransom จากมหาวิทยาลัยแห่งรัฐ Oregon ได้แนะนำให้ใช้ pendimethalin, metolachlor, trifluralin พ่นหลังปลูกมันเทศ สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก ควบคุมวัชพืชที่งอกจากเมล็ดเข้าสู่พืชทางยอดและรากพืชที่เพิ่งงอก

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อคัดเลือกหาสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกที่มีในท้องตลาด มีประสิทธิภาพควบคุมวัชพืชได้ดี และปลอดภัยที่ใช้ในมันเทศ เพื่อเพิ่มทางเลือกให้เกษตรกรในการควบคุมวัชพืชในมันเทศ สามารถนำไปใช้แนะนำเกษตรกรต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.ท่อนพันธุ์มันเทศ ปุ๋ยเคมี

2.สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก dimethenamid 90%EC, pendimethalin 33%EC, acetochlor 50%EC, oxyfluorfen 23.5%EC, clomazone 48%EC, , metribuzin 70%WP

4.เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืช แบบสูบโยกสะพายหลังพร้อมหัวพ่นรูปพัด สารป้องกันกำจัดโรคและแมลงตามความจำเป็นพร้อมเครื่องพ่น

วิธีการ ประกอบด้วย 3 การทดลอง

1.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศพันธุ์ต่างๆพ่นก่อนปลูก 3 วัน ไม่มีแผนการทดลอง ใช้มันเทศ 14 พันธุ์ และใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 4 ชนิด ได้แก่ pendimethalin, dimethenamid, clomazone, acetochlor อัตรา 264, 270, 240, 250 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่นก่อนย้ายปลูก 3 วัน โดยสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิดทดลองกับมันเทศทุกพันธุ์ แปลงย่อยขนาด 4.0x5.0 เมตร แต่ละแปลงย่อยประกอบด้วยร่องมันเทศ 4 ร่อง (สารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิดxมันเทศแต่ละพันธุ์ = 4x14 = 56 กรรมวิธีๆ ละ 1 แปลงย่อย) ใช้น้ำโดยใช้ระบบพ่นฝอย

2.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศใช้พ่นก่อนปลูก 1 วัน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 6 ชนิด ได้แก่ metribuzin, pendimethalin, clomazone, dimethenamid, oxyfluorfen, acetochlor, อัตรา 96, 231, 192, 225, 47, 250 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ตามลำดับ พ่นก่อนย้ายปลูก 1 วัน เปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และการไม่กำจัดวัชพืช ขนาดแปลงย่อย 3x4 เมตร

3. ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศใช้พ่นทันทีหลังปลูก ไม่มีแผนการทดลอง ใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 6 ชนิด ชนิดและอัตราการใช้เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2 พ่นทันทีหลังย้ายปลูก ขนาดแปลงย่อย 1.5x2 เมตร (พ่นสารกำจัดวัชพืชชนิดละ 1 แปลงย่อย)

การทดลองที่ 2 และ 3 ปลูกโดยอาศัยน้ำฝน และใช้พันธุ์มันเทศของเกษตรกรอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

วิธีดำเนินการ ไถดะ ตากดิน 7-10 วัน ไถแปร พรวน ยกแปลงปลูก ขึ้นรูปสามเหลี่ยมสูง 45-60 เซนติเมตร แต่ละร่องห่างกัน 100 เซนติเมตร ใช้ท่อนพันธุ์มันเทศเถาช่วงยอดยาว 30 เซนติเมตร ปลูกท่อนพันธุ์มันเทศ ระยะระหว่างร่อง 30 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถว 100 เซนติเมตร หลังจากเตรียมแปลงเสร็จ รดน้ำเพื่อกระตุ้นให้วัชพืชงอก แล้วพ่นสารกำจัดวัชพืช การทดลองที่ 1 พ่นทิ้งไว้ 3 วันก่อนปลูก การทดลองที่ 2 พ่นทิ้งไว้ 1 วันก่อนปลูก การทดลองที่ 3 พ่นทันทีหลังปลูก ปลูกท่อนพันธุ์มันเทศ หลุมละ 2 ท่อน ดูแลกำจัดโรคและแมลง และใส่ปุ๋ย ตามความจำเป็น ตลบเถามันเทศที่ 40 วันหลังปลูก

บันทึกอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นมันเทศ และประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช บันทึกชนิดและปริมาณวัชพืช สุ่มแปลงย่อยละ 2 จุด ๆละ 0.5x0.5 เมตร แยกชนิดนับ

จำนวนต้นแล้ว โดยการทดลองที่ 1 บันทึกข้อมูลวัชพืชที่ 90 วันหลังปลูก ชั่งน้ำหนักสด ส่วนการทดลองที่ 2 บันทึกข้อมูลวัชพืชที่ 40 วันหลังปลูก นำต้นวัชพืชไปอบหาน้ำหนักแห้ง การทดลองที่ 2 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของมันเทศ วัดความยาวเถาและทรงพุ่ม โดยสุ่มจากตัวแทน 10 ต้นในแต่ละแปลงย่อย การบันทึกผลผลิต การทดลองที่ 1 เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 130 วัน การทดลองที่ 2 และ 3 เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 94 วัน

เวลาและสถานที่ การทดลองที่ 1 เมื่อเดือนธันวาคม 2551 ถึง เดือนเมษายน 2552 การทดลองที่ 2 และ 3 เมื่อเดือนกรกฎาคม – เดือนตุลาคม 2552 ที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนเพชรบูรณ์ อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.<u>ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศพันธุ์ต่างๆใช้พ่นก่อนปลูก 3 วัน</u> พื้นที่ทดลองมีวัชพืชจำนวน 678 ต้นต่อตารางเมตร คิดเป็นวัชพืชใบกว้าง 57.3 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบแคบ 42.7 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบกว้างที่พบได้แก่ สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* Linn.) ผักโขม (*Amaranthus viridis* Linn.) หญ้าเกล็ดหอย (*Desmodium triflorum* (L.) DC.) ผักเผ็ด (*Spilanthes paniculata* Wall.ex DC.) ผักเผ็ดแม้ว (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore) และจ้อล่อ (Conyza sumatrensis (Retz.) Walker) วัชพืชใบแคบที่พบ ได้แก่ หญ้าตีนกา(*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum* (L.) Link.) และ *Chloris pycnothrix* Trin. เนื่องจากเป็นการปลูกมันเทศในช่วงฤดูแล้ง (ธันวาคม 2551-เมษายน 2552) ให้น้ำด้วยระบบพ่นฝอย ที่ 35 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช ต้นวัชพืชที่รอดจากการควบคุมของสารกำจัดวัชพืชจึงมีต้นขนาดเล็ก ไม่รบกวนการเจริญเติบโตของมันเทศ จึงทำการเก็บข้อมูลวัชพืชที่ 90 วันหลังใช้สาร พบว่า acetochlor อัตรา 250 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุด รองลงมาคือ clomazone อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ส่วน pendimethalin และ dimethenamid อัตรา 264 และ 270 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ได้ผลรองลงมาไม่ต่างกัน เมื่อเก็บเกี่ยวพบว่า acetochlor ได้น้ำหนักหัวรวมเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาตามลำดับคือ pendimethalin, clomazone และ dimethenamid มันเทศพันธุ์ พจ227-6 ได้น้ำหนักหัวรวมเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือพันธุ์ T101 และพันธุ์ procno65-16

ตารางที่ 1 การศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศใช้พ่นก่อนปลูก 3 วัน

พันธุ์มันเทศ	สารกำจัดวัชพืช อัตรา(กรัมai./ไร่)							
	น้ำหนักสดวัชพืชที่ 90 วัน (กรัม/ตารางเมตร)				น้ำหนักผลผลิตมันเทศอายุ 130 วัน (กก./ไร่)			
	acetochlor (250)	pendimethalin (264)	dimethenamid (270)	clomazone (240)	acetochlor (250)	pendimethalin (264)	dimethenamid (270)	clomazone (240)
1.พจ265-1	312	664	961	188	4,928	2,864	1,504	2,912
2.พจ226-31	498	1,196	512	534	3,722	1,168	1,152	1,152
3.พจ166-6	756	341	488	668	4,608	3,888	3,760	3,152
4.พจ166-5	385	971	380	268	3,155	1,920	2,576	3,328
5.procno65-16	586	906	468	463	5,448	2,112	2,176	2,976
6.FM37LININDOK-3	665	1,131	330	460	3,147	3,488	3,392	2,848
7.T101	949	550	212	378	5,488	5,680	2,832	4,320
8.พจ283-31	1,257	1,070	72	95	3,382	3,376	2,608	3,168
9.พจ227-6	476	1,484	169	139	6,979	4,528	1,344	4,288
10.พจ189-257	1,471	1,488	190	348	1,242	560	544	832
11.พจ290-9	1,985	714	202	244	4,509	1,920	1,936	1,888
12.292-15	959	1,676	424	188	5,213	2,608	2,368	2,880
13.แม่โจ้	561	1,072	362	231	1,917	704	752	704
14.โอกุด	495	459	322	274	1,955	2,880	352	960
เฉลี่ย	811	980	364	320	3,978	2,693	1,950	2,529

2.ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศใช้พ่นก่อนปลูก 1 วัน

พื้นที่ทดลองมีวัชพืชจำนวน 120 ต้นต่อตารางเมตร วัชพืชใบกว้าง 60.8 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบแคบ 39.2 เปอร์เซ็นต์ วัชพืชใบกว้างที่พบได้แก่ กระดุมใบใหญ่ (*Borreria latifolia* (Aubl.) Schum.) สาบแร้งสาบกา ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus amarus* Schumach &Thonn.) ผักเผ็ด และผักเผ็ดแม้ว วัชพืชใบแคบที่พบ ได้แก่ หญ้าตีนนก (*Digitaria adcendens* (H.B.H.) Henr.) ผักปลาบ (*Commelina diffusa* Burm.f.) เป็นการปลูกมันเทศในฤดูฝน อาศัยน้ำจากน้ำฝน (กรกฎาคม-ตุลาคม 2552) ผลการควบคุมวัชพืชที่ 40 วันหลังปลูก พบว่าปริมาณวัชพืชแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวนต้นวัชพืชของกรรมวิธีที่ใช้ oxyfluorfen, metribuzin, acetochlor ต่ำสุด น้ำหนักแห้งวัชพืชของกรรมวิธีที่ใช้ oxyfluorfen ต่ำสุด รองลงมาคือ metribuzin ส่วนสาเหตุที่ไม่ได้เก็บข้อมูลวัชพืชในกรรมวิธีที่ไม่กำจัดวัชพืช เนื่องจากต้องการให้วัชพืชแข่งขันกับมันเทศเต็มที่ตลอดฤดูปลูก (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณวัชพืชที่ 40 วันหลังปลูกในศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศใช้พ่นก่อนปลูก 1 วัน

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	จำนวนต้นวัชพืช (ต้น/ตารางเมตร)			น้ำหนักแห้งวัชพืช (กรัม/ตารางเมตร)		
		ใบกว้าง	ใบแคบ	รวม	ใบกว้าง	ใบแคบ	รวม
1.metribuzin	96	30.3 a	2.3 a	37.7 a	1.66 ab	0.07	2.46 ab
2.pendimethalin	231	171.3 b	3.3 a	185.0 b	6.17 c	0.58	8.88 ab
3.clomazone	192	47.7 ab	2.3 a	74.2 ab	2.19 ab	0.03	11.51 b
4.dimethenamid	225	72.0 ab	0.5 a	80.5 ab	1.80 ab	0.08	6.30 ab
5.oxyfluorfen	47	36.0 a	1.2 a	37.8 a	1.01 a	0.43	1.58 a
6.acetochlor	250	31.1 a	1.8 a	39.3 a	0.95 a	0.54	7.84 ab
7.handweeding		130.0 ab	14.7 b	152.0 ab	5.00 bc	1.38	6.43 ab
8.weedy		-	-	-	-	-	-
% C.V. / F-Test		65.1 **	141.4 *	57.1 **	72.1 *	206.1ns	77.8 *

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

การเจริญเติบโตของมันเทศ ดูจากข้อมูลน้ำหนักต้น ความยาวต้น จำนวนกิ่งและจำนวนหัวเฉลี่ย เมื่อ 40 วันหลังปลูก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในการใช้สารพ่นก่อนปลูก 1 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ metribuzin และ clomazone มันเทศมีการเจริญเติบดีที่สุด รองลงมาตามลำดับ คือ oxyfluorfen pendimethalin, dimethenamid และ acetochlor (ตารางที่ 3) ซึ่งหน่วยส่งเสริมของมหาวิทยาลัย Massachusetts ใช้ clomazone พ่นก่อนปลูกมันเทศ พบอาการเป็นพิษชั่วคราว หลังจากนั้นมันเทศจะฟื้นเป็นปกติ ไม่มีผลกระทบต่อผลผลิต

จากการเก็บเกี่ยวที่ 94 วัน พบว่าผลผลิตมันเทศแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ สอดคล้องกับผลการเจริญเติบโตของมันเทศ คือกรรมวิธีที่ใช้ metribuzin และ clomazone ได้ผลผลิตมันเทศสูงสุด รองลงมาตามลำดับคือ oxyfluorfen pendimethalin, dimethenamid และ

acetochlor พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืช ได้ผลผลิตมันเทศสูงกว่าการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน ส่วนการไม่กำจัดวัชพืชได้ผลผลิตต่ำสุด (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโตของมันเทศ 40 วันหลังปลูกและผลผลิตมันเทศอายุ 94 วันหลังปลูกในศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศใช้พ่นหลังย้ายปลูก 1 วัน

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	การเจริญเติบโตของมันเทศที่อายุ 40 วัน				น้ำหนักผลผลิตมันเทศ (กก./ไร่)
		น้ำหนักต้นเฉลี่ย (กรัม/ต้น)	ความยาวต้นเฉลี่ย (ซม./ต้น)	จำนวนกิ่งเฉลี่ย (กิ่ง/ต้น)	จำนวนหัวเฉลี่ย (หัว/ต้น)	
1.metribuzin	96	140 a	101	2.5 a	1.7 a	1,129 a
2.pendimethalin	231	96 ab	84	1.8 ab	0.4 bcd	609 bc
3.clomazone	192	130 a	99	2.1 a	1.0 b	1,001 a
4.dimethenamid	225	90 ab	80	1.9 ab	0.4 bcd	554 bc
5.oxyfluorfen	47	108 ab	91	2.1 a	0.7 bcd	780 ab
6.acetochlor	250	88 ab	90	1.8 ab	0.3 cd	507 bc
7.handweeding		71 b	78	1.2 b	0.9 bc	486 bc
8.weedy		75 b	78	1.3 b	0.2 d	290 c
% C.V. / F-Test		30.8 *	16.4 ns	17.1 *	39.3 *	25.1 **

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยวิธี DMRT

3. ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศใช้พ่นทันทีหลังปลูก

จากการทดลองพ่นสารกำจัดวัชพืชทันทีหลังปลูก เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชต้นพันธุ์มันเทศโดยตรง จึงพบว่ามันเทศแสดงอาการเป็นพิษแตกต่างกันไป ที่เห็นเด่นชัดคือ oxyfluorfen ทำให้ใบและยอดขณะพ่นแห้งดำและหลุดร่วง หลังจากนั้นจะมีการแตกใบใหม่ปกติ ส่วนสารกำจัดวัชพืชชนิดอื่นทำให้มันเทศแสดงอาการเป็นพิษเล็กน้อยแตกต่างกันไป (ตารางที่ 4) ส่งผลกระทบถึงผลผลิตมันเทศ ซึ่งการใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นทันทีหลังปลูก ทุกกรรมวิธีได้ผลผลิตมันเทศต่ำกว่าการใช้สารกำจัดวัชพืชพ่นก่อนปลูก 1 วัน ส่วนสาเหตุที่การใช้ oxyfluorfen ซึ่งแสดงอาการเป็นพิษรุนแรงแต่ยังได้ผลผลิตมันเทศสูงกว่าสารชนิดอื่น เนื่องจากเป็นอาการเป็นพิษแบบสัมผัสและใบที่สัมผัสสารหลุดร่วงไปอย่างรวดเร็ว จึงทำให้มันเทศฟื้นปกติได้เร็วกว่ากรรมวิธีที่เป็นพิษเล็กน้อยแต่ยังใบยังติดอยู่

ตารางที่ 4ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศพ่นทันทีหลังย้ายปลูก

กรรมวิธี	อัตรา (กรัมai./ไร่)	อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อมันเทศ	น้ำหนักผลผลิตมันเทศ (กิโลกรัม/ไร่)
1.metribuzin	96	ใบเก่าปลายใบไหม้	160
2.pendimethalin	231	ใบเป็นคลื่นเส้นกลางใบหด	160
3.clomazone	192	ใบเป็นคลื่นชีดเล็กน้อย	267
4.dimethenamid	225	ใบยอดมีอาการเล็กน้อย	267
5.oxyfluorfen	47	ยอด ใบ ลำต้นดำ ใบใหม่ปกติ	368
6.acetochlor	250	ใบยอดมีอาการเล็กน้อย	128

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกในมันเทศ เบื้องต้นทดลองพ่นสารที่ 3 วันก่อนปลูกพบว่าปลอดภัยต่อมันเทศ ขั้นต่อมาจึงทดลองพ่นสารที่ 1 วันก่อนปลูกมันเทศ พบว่า ในพื้นที่ที่มีวัชพืชใบกว้างมากกว่าวัชพืชใบแคบ oxyfluorfen ควบคุมวัชพืชได้ดีที่สุด รองลงมาตามลำดับคือ metribuzin, acetochlor, clomazone และ dimethenamid เมื่อเก็บเกี่ยวพบว่า metribuzin และ clomazone ได้ผลผลิตมันเทศสูงสุด รองลงมาตามลำดับคือ oxyfluorfen pendimethalin, dimethenamid, acetochlor และ การกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน ได้ทดลองเบื้องต้นควบคู่กันไป โดยพ่นสารทันทีหลังปลูกมันเทศ อาการเป็นพิษต่อมันเทศแตกต่างกันตั้งแต่ระดับปกติจนถึงระดับรุนแรง ซึ่งจะได้มีการพัฒนาการทดลองในปีต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม, ------, การปลูกมันเทศ. คำแนะนำของกรมส่งเสริมการเกษตร. 21/11/2551.

Ransom, C.---, Weed control in potatoes. The Pacific Northwest Weed Control Handbook. Malheur Experiment Station. Weed Control Program. Ontario, Oregon. 9/11/2551

Stall, W.M., 2006. Weed control in sweet potato. Horticultural Sciences Department , Cooperative Extension Service, University of Florida. IFAS Extension. HS198. http://edis.ifas.ufl.edu. 26/08/2551

Anonymous, ------. Sweet Poteto – Weed Control. New England Vegetable Management Guide. University of Massachusetts Extension Bookstore. 25/01/2553

การจัดการโรคเกสรดำในกล้วยไม้สกุลหวายโดยสารเคมี

Chemical Control of Black Anther Disease on Dendrobium Orchids

ทัศนาพร ทัศคร[1] ธารทิพย ภาสบุตร[1] วัชรี วิทยวรรณกุล[2]
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช[1]
สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร[2/]

บทคัดย่อ

ในปี 2552 ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช 6 ชนิด ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลังการทดลอง 7 วัน พบว่า สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่ทุกระดับความเข้มข้น มี 4 ชนิด คือ สาร carbendazim 50 % W/V/SC, prochloraz 50 % W.P.และ propiconazole + procholraz 40% W/V/EC ซึ่งเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค ไม่สามารถเจริญได้ และมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีรองลงมา คือ สาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งตั้งแต่ 64.11 - 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำสารทั้ง 4 ชนิด ไปทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำในกล้วยไม้สกุลหวาย 2 พันธุ์ ในสภาพแปลงทดลอง พบว่า สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคได้ดีคือ สาร prochloraz 50 % W.P. รองลงมาได้แก่ สาร carbendazim 50 % W/V/SC และ azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC

รหัสโครงการวิจัย 01-15-49-01-01-01-03-50

คำนำ

โรคเกสรดำ (Black anther) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นโรคที่พบในกล้วยไม้สกุลหวาย อาการของโรคจะเกิดที่บริเวณส่วนกลางดอกที่เรียกว่า เส้าเกสร มีลักษณะจุดแผลสีดำ ยุบตัวจากเนื้อเยื่อปกติ การแพร่ระบาดของโรคจะเกิดได้ตลอดทั้งปี เพื่อลดปริมาณเชื้อและตัดวงจรของโรคในช่วงที่มีการระบาด ซึ่งการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคจึงเป็นสิ่งที่เกษตรกรนิยมใช้ เนื่องจากสะดวกและรวดเร็ว สำหรับสารเคมีที่แนะนำให้ใช้คือ prochloraz อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรือ thiabendazole อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (นิยมรัฐ, 2544) และจากการศึกษาของทัศนาพร (2546) พบว่าสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุดทุกระดับความเข้มข้น คือ สาร prochloraz 50 %W.P. มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 100 รองลงมา คือ สาร azoxystrobin 25 %W/V/SC ซึ่งเส้นใยเชื้อราเจริญได้เพียงเล็กน้อยที่ทุกระดับความเข้มข้น มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งร้อยละ 70.44 - 75.55

การจัดการโรคเกสรดำเป็นสิ่งที่สำคัญในการผลิตกล้วยไม้เพื่อการส่งออก เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคนี้สามารถแฝง (latent infection) หรือไม่แสดงอาการของโรคได้เมื่ออยู่ในสภาพแปลงปลูก แต่เมื่อมีการเก็บเกี่ยวตัดดอกและส่งออกไปยังต่างประเทศแล้วพบว่า ดอกกล้วยไม้มีปัญหาเส้าเกสรเน่าดำและมีเส้นใยเชื้อราเจริญอยู่ที่บริเวณเส้าเกสรทำให้ดอกกล้วยไม้เสียคุณภาพและไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ดังนั้น การป้องกันกำจัดโรคนี้จึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างหนึ่งในการปฏิบัติดูแลรักษาพืช เพื่อให้ได้คุณภาพและผลผลิตตามที่ต้องการ ซึ่งวิธีการป้องกันกำจัดโรคพืชนั้นมีหลายวิธีขึ้นอยู่กับปริมาณและสถานการณ์การระบาดของสาเหตุโรคพืช ที่ผ่านมาเกษตรกรนิยมและคุ้นเคยกับการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช โดยเฉพาะในระบบการปลูกพืชเศรษฐกิจที่มีผลตอบแทนสูง จากนโยบายเร่งด่วนที่จะลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช รัฐบาลจึงประกาศให้ปี พ.ศ. 2547 เป็นปีแห่งความปลอดภัยทางด้านอาหาร (Food Safety) การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคก่อนและหลังการตัดดอกกล้วยไม้นั้น จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นและจะต้องมีการศึกษาเพื่อที่จะหาสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรค ส่วนการใช้สารสกัดจากพืชเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีของเกษตรกร ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสนับสนุนนโยบายดังกล่าว ซึ่งประเทศไทยมีพืชหลายชนิดที่มีศักยภาพเป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืชได้ และมีการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรในการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสในพืชหลายชนิด และจาการศึกษาของทัศนาพร (2547) พบว่า สารสกัดจากตะไคร้หอม มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคเกสรดำได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคร้อยละ 13.33 รองลงมา ได้แก่ น้ำหมักหางไหล และ น้ำหมักสาบเสือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคร้อยละ 15 และ 16.67 ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะใช้ในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำเพื่อลดการใช้

สารเคมีของเกษตรกร ลดต้นทุนการผลิต และเกษตรกรยอมรับรวมทั้งสามารถนำไปใช้ร่วมกับวิธีการอื่น ๆได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.แปลงทดลองกล้วยไม้สกุลหวาย จำนวน 2 แปลง

2.สารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดต่างๆ

3.เครื่องสูบโยกสะพายหลัง

4.เครื่องชั่ง ตวง วัด

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

6. กล้องจุลทรรศน์

7. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1. การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์

เก็บตัวอย่างดอกกล้วยไม้สกุลหวายที่แสดงอาการของโรคเกสรดำ จากแหล่งปลูกกล้วยไม้ จ. นครปฐม และ จ. กาญจนบุรี มาแยกหาเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting นำชิ้นส่วนบริเวณเส้าเกสรของกล้วยไม้ที่เป็นโรคมาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จำนวน 5 ชิ้นต่อจาน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เมื่อเห็นเส้นใยเชื้อราเจริญออกจากชิ้นส่วนพืช จึงตัดชิ้นวุ้นบริเวณขอบของโคโลนีเชื้อรามาแยกเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อีกครั้ง เพื่อศึกษาดูลักษณะเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราสาเหตุ จากนั้นจึงย้ายลงในหลอดอาหารเอียง เพื่อเก็บเป็น Stock culture ใช้ในการศึกษาต่อไป

2. ความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับดอกกล้วยไม้สกุลหวาย

เตรียม spore suspension โดยเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้จากข้อ 1 บนอาหาร PDA เมื่อเชื้อราเจริญอายุได้ 10 วัน เทน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ท่วมผิวหน้าอาหารที่มีโคโลนีเชื้อราเจริญ ใช้แผ่นกระจกสไลด์ขูดเฉพาะเส้นใยเชื้อราใส่ลงใน flask ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ 100 มล. เขย่าให้เข้ากัน กรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วปรับค่าความเข้มข้นของสปอร์ให้ได้ 10^6 สปอร์/มล. จากนั้นจึงนำไปพ่นลงบนดอกกล้วยไม้สกุลหวาย บ่มเชื้อไว้ในกล่องพลาสติกชื้นที่อุณหภูมิห้อง หลังการทดลอง 3 วัน สังเกตุลักษณะอาการของโรคที่เกิดขึ้น

3. การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ทดลองโดยวิธีการ poisoned food technique จำนวน 5 ซ้ำ 7 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมีดังนี้

1. azoxystrobin 25 % W/V/SC

2. azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC

3. carbendazim 50 % W/V/SC

4.prochloraz 50 % W.P.

5. procymidone 50 % WP

6. propiconazole + procholraz 40% W/V/EC

7. Control น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

3.1 การเตรียมสารป้องกันกำจัดโรคพืช

เตรียมสารป้องกันกำจัดโรคพืชแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้น 10, 100, และ 1,000 ppm. โดยเตรียมที่ความเข้มข้นระดับสูงสุดก่อนและให้มีความเข้มข้นสูงกว่าระดับที่ต้องการใช้ 10 เท่า ดังนั้นจึงต้องเตรียม Stock ของสารป้องกันกำจัดโรคพืชให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 100,1,000 และ 10,000 ppm

3.2 การเตรียมอาหารทดสอบ

นำอาหาร PDA ใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 9 ม.ล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อนำออกจากหม้อนึ่งความดันแล้ว นำหลอดอาหารแช่ไว้ในน้ำอุ่นอุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส เพื่อไม่ให้อาหารแข็งตัว ใช้ปิเปตดูดสารละลายจาก stock สารเคมีในแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ใน ข้อ 3.1 ปริมาตร 1 ม.ล. ใส่ลงในหลอดอาหาร PDA เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง electric mixer แล้วจึงเทอาหารพิษลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำความเข้มข้นละ 9 ซ้ำ ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่มีสารป้องกันกำจัดโรคพืชใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 1 ม.ล. ผสมกับอาหารแทน

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA อายุ 5 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ม.ม. เจาะชิ้นวุ้นบริเวณขอบโคโลนีเชื้อรา ใช้เข็มเขี่ยนำชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญไปวางตรงจุดกึ่งกลางของจานอาหารทดสอบที่เตรียมไว้ในข้อ 3.2 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเชื้อราในกรรมวิธีเปรียบเทียบเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในทุกกรรมวิธี นำค่าที่วัดได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใย = (A - B) / A x 100

เมื่อ A = ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารเปรียบเทียบ

B = ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา

4. การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวายในสภาพแปลงทดลอง

ทำการทดลองในแปลงกล้วยไม้สกุลหวาย จำนวน 2 แปลง แปลงที่ 1 ทดลองในกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ขาวกิตติ ที่ อ. ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี แปลงที่ 2 ทดลองในกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ บอม โจ 17 ที่ อ. นครชัยศรี จ. นครปฐม วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ในแต่ละกรรมวิธีคือสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพดีที่คัดเลือกได้จากห้องปฏิบัติการ จำนวน 4 ชนิด โดยมีกรรมวิธีไม่พ่นสารเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ซึ่งมีกรรมวิธีดังนี้

1. azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC อัตรา 10 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร
2. carbendazim 50 % W/V/SC อัตรา 10 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร
3.prochloraz 50 % W.P. อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
4. propiconazole + procholraz 40% W/V/EC อัตรา 10 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร
5. Control น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ

เตรียมแปลงทดลองที่พบเคยมีการระบาดของโรคเกสรดำ และพืชมีการเจริญเติบโตให้ดอกที่สม่ำเสมอ เตรียมแปลงทดลองย่อยให้มีขนาด 2 x10 เมตร ในแปลงทดลองที่ 1 เริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือนมิถุนายน - กรกฎาคม 2552 และเริ่มพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชตามกรรมวิธีที่วางไว้ เมื่อพบโรคในแปลงและพ่นซ้ำทุก 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง ทำการประเมินความรุนแรงของโรคหลังการพ่นสารทุก 7 วัน วิธีการประเมินโรคได้สุ่มตัดดอกกล้วยไม้ จำนวน 20 ช่อ/ซ้ำ และนับจำนวนดอกที่แสดงอาการเกสรดำและไม่แสดงอาการโรคต่อ 1 ช่อ แล้วนำค่าที่ได้คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธี

ในแปลงทดลองที่ 2 เริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือนมิถุนายน - ตุลาคม 2552 และเริ่มพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชตามกรรมวิธีที่วางไว้ เมื่อพบโรคในแปลงและพ่นซ้ำทุก 7 วัน จำนวน 10 ครั้ง ทำการประเมินความรุนแรงของโรค หลังการพ่นสารทุก 7 วัน วิธีการประเมินโรคได้สุ่มตัดดอกกล้วยไม้ จำนวน 20 ช่อ/ซ้ำ และนับจำนวนดอกที่แสดงอาการเกสรดำและไม่แสดงอาการโรคต่อ 1 ช่อ แล้วนำค่าที่ได้คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธี

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

เริ่มต้น ตุลาคม 2551
สิ้นสุด กันยายน 2553
สถานที่ทดลอง ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
แปลงเกษตรกรกล้วยไม้ อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี
แปลงเกษตรกรกล้วยไม้ อ.นครชัยศรี จ. นครปฐม

ผลการทดลอง

1. การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืช 6 ชนิด พบว่า สารป้องกันกำจัดโรคพืชแต่ละชนิดมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้แตกต่างกัน สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่ทุกระดับความเข้มข้น คือ สาร carbendazim 50 % W/V/SC, prochloraz 50 % W.P. และ propiconazole + procholraz 40% W/V/EC พบว่า เส้นใยเชื้อราไม่สามารถเจริญได้ และมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีรองลงมา คือ สาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC ส่วนสาร azoxystrobin 25 % W/V/SC นั้น สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้เพียงเล็กน้อยที่ทุกระดับความเข้มข้น มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเพียง 21.11 – 33.55 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสาร procymidone 50 % WP จากผลการทดลองพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 100 ppm. มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 85.11 และ 73.66 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดกลับพบว่าค่าเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งลดลงเหลือ 53.66 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

ซึ่งจากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการสามารถคัดเลือกได้สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราที่ดีเพื่อไปใช้ในการทดลองต่อไป จำนวน 4 ชนิด คือ azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC, carbendazim 50 % W/V/SC, prochloraz 50 % W.P. และ propiconazole + procholraz 40% W/V/EC ซึ่งสารทั้งหมดมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ทุกระดับความเข้มข้น

2. การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวายในสภาพแปลงทดลอง ที่ อ.ท่ามะกา จ. กาญจนบุรี

ผลการทดสอบพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิดในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ขาวกิตติ ในแปลงทดลองที่ 1 ตามกรรมวิธีที่วางไว้ โดยพ่นสารจำนวน 4 ครั้ง ระหว่างเดือนมิถุนายน – กรกฎาคม 2552 พบว่า ในการประเมินการเกิดโรคครั้งที่ 1 นั้น ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในกรรมวิธีพ่นสาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC ต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 47.95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีอื่นพบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่มีความแตกต่างกัน มีค่าระหว่าง 62.64 – 68.03 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร มีค่าเท่ากับ 69.35 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1)

การประเมินการเกิดโรค ครั้งที่ 2 พบว่า ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในกรรมวิธีพ่นสาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC ต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 45.87 เปอร์เซ็นต์

รองลงมาได้แก่กรรมวิธีพ่นสาร carbendazim 50 % W/V/SC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 68.81 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นสาร prochloraz 50 % W.P. และ propiconazole + procholraz 40% W/V/EC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกัน มีค่าเท่ากับ 70.10 และ 73.72 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 77.47 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

การประเมินการเกิดโรค ครั้งที่ 3 พบว่า ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในกรรมวิธีพ่นสาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC ต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 24.82 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีพ่นสาร carbendazim 50 % W/V/SC และ propiconazole + procholraz 40% W/V/EC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 33.28 และ 36.42 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นสาร. prochloraz 50 % W.P. มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 43.77 และ 44.60 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

การประเมินการเกิดโรค ครั้งที่ 4 พบว่า ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในกรรมวิธีพ่นสาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC ต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 39.52 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีพ่นสาร prochloraz 50 % W.P. มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 40.51 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสาร carbendazim 50 % W/V/SC และ propiconazole + procholraz 40% W/V/EC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 52.98, 53.10 และ 53.63 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

3. การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวายในสภาพแปลงทดลอง ที่ อ. นครชัยศรี จ. นครปฐม

ผลการทดสอบพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิดในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ บอม โจ 17 ในแปลงทดลองที่ 2 ตามกรรมวิธีที่วางไว้ โดยพ่นสารจำนวน 10 ครั้ง ระหว่างเดือนมิถุนายน – ตุลาคม 2552 พบว่า ในการประเมินการเกิดโรคครั้งที่ 1 นั้น ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในกรรมวิธีพ่นสาร propiconazole + procholraz 40% W/V/EC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 23.91 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีพ่นสาร carbendazim 50 % W/V/SC และ prochloraz 50 % W.P. มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 24.01 และ 24.22 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีพ่นสาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร มี มีค่าเท่ากับ 31.36 และ 38.45 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

การประเมินการเกิดโรค ครั้งที่ 5 พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร prochloraz 50 % W.P. มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 23.27 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีพ่นสาร carbendazim 50 % W/V/SC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 30.70 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นสาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC, และ propiconazole + procholraz 40% W/V/EC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกัน มีค่าเท่ากับ 36.74 และ 39.19 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 43.63 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

การประเมินการเกิดโรค ครั้งที่ 10 พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร prochloraz 50 % W.P. มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 16.42 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีพ่นสาร carbendazim 50 % W/V/SC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 19.60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีพ่นสาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC และ propiconazole + procholraz 40% W/V/EC มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกัน มีค่าเท่ากับ 32.13 และ 34.79 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 45.72 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3)

สรุปผลการทดลอง

ในปี 2552 ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในห้องปฏิบัติการ จำนวน 6 ชนิด พบว่า สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่ทุกระดับความเข้มข้น มี 4 ชนิด คือ สาร carbendazim 50 % W/V/SC, prochloraz 50 % W.P.และ propiconazole + procholraz 40% W/V/EC ซึ่งเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค ไม่สามารถเจริญได้ และมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีรองลงมา คือ สาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งตั้งแต่ 64.11 - 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงได้นำสารที่คัดเลือกได้ทั้งหมด 4 ชนิด ไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำในสภาพแปลงทดลอง

จากการทดสอบพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิดในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ขาวกิตติ ในแปลงทดลองที่ 1 โดยพ่นสารจำนวน 4 ครั้ง ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีที่ระดับการเกิดโรคลดลงและมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นสาร azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC ซึ่งมีค่าเท่ากับ 39.52 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีพ่นสาร prochloraz 50 % W.P. มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 40.51 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารพบว่า มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 53.63 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดสอบพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 4 ชนิดในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวาย พันธุ์ บอม โจ 17 ในแปลงทดลองที่ 2 โดยพ่นสารจำนวน 10 ครั้ง ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีที่ระดับการเกิดโรคลดลงและมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำที่สุด คือ กรรมวิธีพ่นสาร prochloraz 50 % W.P. มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 16.42 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีพ่นสาร carbendazim 50 % W/V/SC ซึ่งมีค่าเท่ากับ 19.60 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารพบว่ามีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 45.72 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นในการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคเกสรดำในกล้วยไม้สกุลหวาย 2 พันธุ์ ในปี 2552 พบว่า สารที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคได้ดีที่สุดคือ สาร prochloraz 50 % W.P. รองลงมาได้แก่ สาร carbendazim 50 % W/V/SC และ azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC

เอกสารอ้างอิง

ทัศนาพร ทัศคร และ นิยมรัฐ ไตรศรี .2546. การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิดต่อการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคเกสรดำในกล้วยไม้สกุลหวาย. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2546. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.กรุงเทพฯ.

ทัศนาพร ทัศคร, รังษี เจริญสถาพร,อภิรัชต์ สมฤทธิ และธารทิพย ภาสบุตร.2547. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวาย. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2547. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.กรุงเทพฯ.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอก ไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรสหกรณ์. 90 หน้า

ตารางที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการยับยั้งเจริญของเส้นใยเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนอาหารเลี้ยงเชื้อพิษที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการทดลอง 7 วัน

สารเคมี	ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา [1/]			เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา (%)[2/]		
	10 ppm.	100 ppm.	1000 ppm.	10 ppm.	100 ppm.	1000 ppm.
1. azoxystrobin 25 % W/V/SC	7.10	6.99	5.98	21.11	22.33	33.55
2. azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC	3.23	1.03	0	64.11	88.55	100
3. carbendazim 50 % W/V/SC	0	0	0	100	100	100
4.prochloraz 50 % W.P.	0	0	0	100	100	100
5. procymidone 50 % WP	1.27	2.37	4.17	85.11	73.66	53.66
6. propiconazole + procholraz 40% W/V/EC	0	0	0	100	100	100
7. Control (น้ำเปล่านึ่งฆ่าเชื้อ)	9.00	9.00	9.00	-	-	-

หมายเหตุ 1/ = ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา *C. gloeosporioides* จำนวน 9 ซ้ำ หลังการทดสอบ 7 วัน

2/ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา จำนวน 5 ซ้ำ หลังการทดสอบ 7 วัน โดยคิดจากสูตร

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเส้นใย = (A-B) / A x 100

A = ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารเปรียบเทียบ

B = ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรา

1925

ตารางที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ ขาวกิตติ ที่ อ. ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี

กรรมวิธี	อัตราที่ใช้ (ซีซี/กรัม) ต่อน้ำ 20 ลิตร	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเกสรดำ [1/]			
		การประเมินโรค ครั้งที่ 1	การประเมินโรค ครั้งที่ 2	การประเมินโรค ครั้งที่ 3	การประเมินโรค ครั้งที่ 4
1. azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC	10	47.95	45.87	24.82	39.52
2. carbendazim 50 % W/V/SC	10	65.86	68.81	33.28	52.98
3.prochloraz 50 % W.P.	20	68.03	70.10	43.77	40.51
4. propiconazole + procholraz 40% W/V/EC	10	62.64	73.72	36.42	53.10
5.Control (กรรมวิธีพ่นน้ำเปล่า)	-	69.35	77.47	44.60	53.63

หมายเหตุ 1/ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเกสรดำ จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 20 ช่อ

1926

ตารางที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคเกสรดำของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ บอม โจ 17 ที่ อ. นครชัยศรี จ. นครปฐม

กรรมวิธี	อัตราที่ใช้ (ซีซี/กรัม) ต่อน้ำ 20 ลิตร	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเกสรดำ [1/]									
		หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 1	หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 2	หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 3	หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 4	หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 5	หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 6	หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 7	หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 8	หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 9	หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 10
1. azoxystrobin + difenoconazole 32.5 % W/V/SC	10	31.36	35.29	24.56	17.28	36.74	49.63	23.56	26.69	30.11	32.13
2. carbendazim 50 % W/V/SC	10	24.01	18.15	19.43	12.62	30.70	34.50	22.12	22.46	29.20	19.60
3.prochloraz 50 % W.P.	20	24.22	15.54	12.67	15.40	23.27	41.79	21.79	18.31	34.17	16.42
4. propiconazole + procholraz 40% W/V/EC	10	23.91	18.33	20.72	19.91	39.13	35.78	23.76	16.44	34.13	34.76
5.Control	-	38.45	25.75	22.01	21.44	43.63	51.27	35.47	29.02	35.00	45.72

หมายเหตุ 1/ = ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเกสรดำ จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 20 ช่อ

1927

การทดสอบปฏิกิริยากล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าพันธุ์การค้าต่อโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Phytophthora palmivora* (Butl.)

The Reaction testing of commercial hybrid Vanda to Black rot disease caused by *Phytophthora palmivora* (Butl.)

ทัศนาพร ทัศคร ธารทิพย ภาสบุตร พีระวรรณ พัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ในปี 2552 ได้ทดสอบปลูกเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำ บนใบกล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าทั้งหมด 8 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ *Vanda* Pakchong Delight , *V.* Christine Low, *V.* Charles Good fellow, *V.* Ascada Princess Mikasa Pink, *V.*พัชระ บลู, *V.* พด 1, *V.* Pink light blue และ *V.* นกกระทา โดยวัดขนาดของแผลหลังการทดลอง 9 วัน พบว่า กล้วยไม้แวนด้าพันธุ์ที่มีความทนทานต่อโรคเน่าดำในระดับที่ดี คือพันธุ์ *V.* Christine Low มีขนาดแผลเท่ากับ 4.47 ซ.ม. และพันธุ์ที่ทนทานโรคเน่าดำได้ดีในระดับรองลงมาได้แก่ *V.* Charles Good fellow, *V.* Pink light blue, *V.* พ.ด. 1 และ *V.* พัชระ บลู มีขนาดแผลเท่ากับ 7.58, 7.93, 9.53 และ 9.75 ซ.ม. ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ที่มีความทนทานต่อโรคเน่าดำน้อย ได้แก่ พันธุ์ *V.* นกกระทา, *V.* Pakchong Delight และ *V.* Ascada Princess Mikasa Pink ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 14.78, 15.74 และ 15.63 ซ.ม. ตามลำดับ

รหัสการทดลอง 01 15 49 01 01 02 03 49

คำนำ

กล้วยไม้สกุลแวนด้าเป็นกล้วยไม้อีกสกุลหนึ่งที่เกษตรกรของประเทศไทยนิยมปลูกเลี้ยง และมีศักยภาพในการส่งออก เนื่องจากเป็นกล้วยไม้สกุลที่มีลักษณะดอกใหญ่ ดอกดก สีสวย และต้นแข็งแรง ดังนั้น เกษตรกรและนักปรับปรุงพันธุ์จึงให้ความสนใจในการนำลักษณะที่ดีของกล้วยไม้นี้มาใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้กล้วยไม้สายพันธุ์ใหม่ๆ ที่มีลักษณะดี แปลกใหม่ สวยงามและเป็นที่ต้องการของตลาด

พันธุ์กล้วยไม้ลูกผสมใบแบนในปัจจุบันเป็นผลมาจากการการผสมเกสร 8-12 ชั่วอายุ ซึ่ง 98 % ของลูกผสมมี แซนเดอเรียน่า (*V. sanderaina*) เป็นพ่อแม่พันธุ์ รองลงมาที่สำคัญคือ ฟ้ามุ่ย (*V. coerulea*) นอกจากนั้นก็จะได้มาจาก *V. tricolor, V. luzonica, V. dearei, V. insignis* เป็นต้น (ครรชิต, 2551) ซึ่งการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้สกุลแวนด้าที่ได้จากการผสมพันธุ์ใหม่เพื่อการค้า จึงทำให้เกิดความหลากหลายของพันธุ์เพิ่มมากขึ้น และโรคพืชสำคัญที่พบว่าเป็นปัญหาในการปลูกกล้วยไม้สกุลนี้ คือ โรคเน่าดำ ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Phytophthora palmivora* (Butl.) อาการของโรคที่พบคือ จะเกิดจุดกลม ฉ่ำน้ำ สีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีดำ จากนั้นแผลจะลุกลามขยายทำให้ใบเน่า ถ้าอาการรุนแรงจะเข้าทำลาย ส่วนยอดและลำต้นทำให้เกิดอาการยอดเน่าดำ (นิยมรัฐ, 2544)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการทดสอบกล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าพันธุ์การค้าต่าง ๆ ต่อโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Phytophthora palmivora* (Butl.) เพื่อให้ทราบถึงลักษณะความทนทานของกล้วยไม้ต่อโรคนี้ และนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการตัดสินใจในการปรับปรุงพันธุ์และการปลูกเลี้ยงขยายต่อไป

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ RNV, Potato Dextrose Agar (PDA), Carrot Agar (CA)
2. ต้นกล้วยไม้สกุลแวนด้าลูกผสมทางการค้าพันธุ์ต่าง ๆ
3. ถุงพลาสติก
4. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็นในการทดลอง

วิธีการ

1. การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์

เก็บตัวอย่างกล้วยไม้สกุลแวนด้า มอคคาร่า ที่แสดงอาการของโรคเน่าดำ จากแหล่งปลูกกล้วยไม้ จ. นครปฐม นนทบุรี และ จ. กาญจนบุรี มาแยกหาเชื้อราโดยวิธี tissue transplanting

นำชิ้นส่วนบริเวณที่เป็นโรคมาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RNV จำนวน 5 ชิ้นต่อจาน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เมื่อเห็นเส้นใยเชื้อราเจริญออกจากชิ้นส่วนพืช จึงตัดชิ้นวุ้นบริเวณขอบของโคโลนีเชื้อรามาแยกเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ และนำเชื้อที่ได้ไปขยายเพิ่มปริมาณเชื้อบนอาหาร CA เพื่อใช้ในการปลูกเชื้อต่อไป

2. การทดสอบปฏิกิริยากล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าพันธุ์การค้าต่อโรคเน่าดำในสภาพโรงเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD 8 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆละ 5 ต้น กรรมวิธีคือ กล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าพันธุ์การค้า จำนวน 8 พันธุ์ โดยทำการทดลอง 2 ครั้งๆละ 4 พันธุ์ ในการทดลองครั้งที่ 1 ได้ทดลองในพันธุ์ *Vanda* Pakchong Delight , *V*. Christine Low, *V*. Charles Good fellow และ *V*. Ascada Princess Mikasa Pink, ส่วนในการทดลองครั้งที่ 2 ได้ทดลองในพันธุ์ *V*. Pink light blue, *V*. พัชระ บลู, *V*. พ.ด. 1, และ *V*. นกกระทา

นำเชื้อราสาเหตุ *P. palmivora* อายุ 5 วัน ที่เลี้ยงขยายบนอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ 1 มาปลูกเชื้อสาเหตุโรคลงบนใบกล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าพันธุ์ต่างๆ โดยวิธี mycerial disc โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรเจาะลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อสาเหตุโรคที่เตรียมไว้ จากนั้นนำชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญวางลงบนใบกล้วยไม้ที่ได้มีการทำแผลไว้ จำนวน 5 ใบต่อต้น ทั้งหมด 5 ต้นต่อซ้ำ เปรียบเทียบกับวิธีการวางชิ้นวุ้น PDA ลงบนแผลอย่างเดียว และวิธีไม่ปลูกเชื้อ นำต้นกล้วยไม้ที่ปลูกเชื้อแล้วใส่ในถุงพลาสติก ชื้นเพื่อบ่มเชื้อ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วเปิดถุงพลาสติก และนำชิ้นวุ้นออกจากแผล

บันทึกการเกิดโรคโดยวัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นบนใบ หลังการทดลอง 3, 5, 7 และ 9 วัน แล้วนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ และเปรียบเทียบระดับความทนทานของโรคจากขนาดของแผล ดังนี้

ระดับ +++++ = ขนาดแผล 0 – 2 ซ.ม.
ระดับ ++++ = ขนาดแผล 2.1 – 5 ซ.ม.
ระดับ +++ = ขนาดแผล 5.1 – 10 ซ.ม.
ระดับ ++ = ขนาดแผล 10.1 – 15 ซ.ม.
ระดับ + = ขนาดแผล 15.1 – 20 ซ.ม.

ระยะเวลา

เริ่มต้น ตุลาคม 2549 สิ้นสุด กันยายน 2553

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
แปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดสอบปฏิกิริยากล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าต่อโรคเน่าดำในสภาพโรงเรือนทดลอง ครั้งที่ 1

จากการทดสอบปลูกเชื้อรา *P. palmivora* เชื้อสาเหตุโรคเน่าดำบนกล้วยไม้ลูกผสมสกุลแวนด้าครั้งที่ 1 จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ *Vanda* Pakchong Delight , *V.* Christine Low, *V.* Charles Good fellow, *V.* Ascada Princess Mikasa Pink นั้น หลังการปลูกเชื้อ 3 วัน พบว่ากล้วยไม้พันธุ์ *V.* Charles Good fellow มีขนาดแผลเล็กที่สุดเท่ากับ 1.52 ซ.ม. และมีความแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์อื่น ส่วนในพันธุ์ *V.* Christine Low, *V.* Ascada Princess Mikasa Pink และ *V.* Pakchong Delight นั้น พบว่ามีขนาดแผลเท่ากับ 2.36, 2.57 และ 2.46 ซ.ม. ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติในแต่ละพันธุ์ (ตารางที่ 1)

หลังการปลูกเชื้อ 5 วัน พบว่า กล้วยไม้พันธุ์ *V.* Charles Good fellow ยังมีขนาดแผลเล็กที่สุดเท่ากับ 3.23 ซ.ม. รองลงมาได้แก่พันธุ์ *V.* Christine Low ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 4.28 ซ.ม. พันธุ์ *V.* Ascada Princess Mikasa Pink มีขนาดแผลเท่ากับ 7.01 ซ.ม. และ พันธุ์ *V.* Pakchong Delight พบว่ามีขนาดแผล 8.08 ซ.ม. ซึ่งขนาดของแผลมีความแตกต่างทางสถิติในแต่ละพันธุ์ (ตารางที่ 1)

หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน พบว่า กล้วยไม้พันธุ์ *V.* Christine Low มีขนาดแผลเล็กที่สุดเท่ากับ 4.36 ซ.ม. รองลงมาได้แก่พันธุ์ *V.* Charles Good fellow ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 6.05 ซ.ม. ส่วนพันธุ์ *V.* Ascada Princess Mikasa Pink มีขนาดแผลเท่ากับ 12.65 ซ.ม. และ พันธุ์ *V.* Pakchong Delight พบว่ามีขนาดแผล 13.98 ซ.ม. ซึ่งขนาดของแผลมีความแตกต่างทางสถิติในแต่ละพันธุ์ (ตารางที่ 1)

หลังการปลูกเชื้อ 9 วัน พบว่า กล้วยไม้พันธุ์ *V.* Christine Low มีขนาดแผลเล็กที่สุดเท่ากับ 4.47 ซ.ม. รองลงมาได้แก่พันธุ์ *V.* Charles Good fellow ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 7.58 ซ.ม. ส่วนพันธุ์ *V.* Ascada Princess Mikasa Pink และ พันธุ์ *V.* Pakchong Delight พบว่ามีขนาดแผล 15.63 และ 15.74 ซ.ม. ซึ่งขนาดของแผลมีความแตกต่างทางสถิติในแต่ละพันธุ์ (ตารางที่ 1)

จากผลการทดลองครั้งที่ 1 ที่ได้ทำการทดลองกล้วยไม้ลูกผสมสกุลแวนด้า จำนวน 4 พันธุ์ ในช่วงเดือน พฤษภาคม – มิถุนายน 2552 พบว่า ในกล้วยไม้พันธุ์ *V.* Charles Good fellow สามารถทนทานโรคได้ดีในช่วง5 วันหลังการปลูกเชื้อ ซึ่งมีขนาดของแผลเล็กที่สุด 3.23 ซ.ม. แต่เมื่อ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ พบว่าขนาดของแผลมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นเป็น 6.05 ซ.ม. และเมื่อ 9 วันหลังการปลูกเชื้อ พบว่าขนาดของแผลมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นอีกเป็น 7.58 ซ.ม. ซึ่งการพัฒนาระดับความรุนแรงของโรคค่อยๆเพิ่มขึ้น แสดงว่าในช่วงแรกในการเข้าทำลายพืชนั้นสภาพเซลล์ภายนอกของพันธุ์นี้มีความแข็งแรง ทำให้ช่วงแรกเชื้อสาเหตุโรคมีการเจริญเข้าไปได้ช้า แต่เมื่อเชื้อสาเหตุสามารถเจริญเข้าไปภายในเซลล์พืชได้แล้วก็พบว่า ขนาดแผลมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะแตกต่างกับพันธุ์ *V.* Christine Low ซึ่งหลังการปลูกเชื้อ 5 วัน พบว่าการพัฒนาความรุนแรงของโรคค่อยๆเพิ่มขึ้น มีขนาดของแผล 4.28 ซ.ม. แต่เมื่อ 9 วันหลังการปลูกเชื้อ พบว่าขนาดของแผลมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเพียง 4.47 ซ.ม. แสดงว่าในพันธุ์ *V.* Christine Low มีความทนทานโรคได้ดี เมื่อเชื้อสามารถเข้าทำลายเซลล์พืชได้แต่เซลล์พืชมีความแข็งแรงมากกว่า เชื้อจึงไม่สามารถที่จะเข้าทำลายภายในเซลล์พืชได้ง่าย จึงทำให้ขนาดแผลเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับทั้ง 3 พันธุ์ ส่วนในพันธุ์ *V.* Ascada Princess Mikasa Pink และ พันธุ์ *V.* Pakchong Delight พบว่า 3 หลังการทดลองปลูกเชื้อขนาดของแผลที่เกิดไม่แตกต่างจากพันธุ์อื่น แต่ที่ 5 , 7 และ 9 วันหลังการทดลอง พบว่าขนาดแผลมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและอาการของโรคมีความรุนแรง ที่หลังการทดลอง 9 วัน ขนาดของแผลเท่ากับ 15.63 และ 15.74 ซ.ม. ซึ่งทั้ง 2 พันธุ์นี้มีความทนทานโรคน้อยกว่าพันธุ์อื่น

2. การทดสอบปฏิกิริยากล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าต่อโรคเน่าดำในสภาพโรงเรือนทดลอง ครั้งที่ 2

จากการทดสอบปลูกเชื้อรา *P. palmivora* เชื้อสาเหตุโรคเน่าดำบนกล้วยไม้ลูกผสมสกุลแวนด้าครั้งที่ 2จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ *V.* Pink light blue , *V.* พัชระ บลู, *V.* พ.ด. 1 และ *V.* นกกระทา ในช่วงเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม 2552 หลังการปลูกเชื้อ 3 วัน พบว่า กล้วยไม้พันธุ์ *V.* พ.ด. 1 มีขนาดแผลเล็กที่สุดเท่ากับ 1.50 ซ.ม. รองลงมาได้แก่พันธุ์ *V.* Pink light blue มีขนาดแผลเท่ากับ 1.76 ซ.ม. และในพันธุ์ *V.* พัชระ บลู และ *V.* นกกระทา นั้น พบว่ามีขนาดแผลเท่ากับ 2.04 และ 1.99 ซ.ม. ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทั้ง 2 พันธุ์ (ตารางที่ 2)

หลังการปลูกเชื้อ 5 วัน พบว่า กล้วยไม้พันธุ์ มีขนาดแผล เท่ากับ 4.73 ซ.ม. และไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ *V.* พ.ด.1 และ *V.* นกกระทา ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 5.45 และ 6.03 ซ.ม. แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ *V.* พัชระ บลู ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 6.51 ซ.ม. (ตารางที่ 2)

หลังการปลูกเชื้อ 7 วัน พบว่า กล้วยไม้พันธุ์ *V.* Pink light blue มีขนาดแผลเล็กที่สุด เท่ากับ 6.55 ซ.ม. และมีความแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ *V.* พ.ด.1, *V.* พัชระ บลู และ *V.* นกกระทา ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 7.81, 8.21 และ 11.73 ซ.ม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

หลังการปลูกเชื้อ 9 วัน พบว่า กล้วยไม้พันธุ์ *V.* Pink light blue มีขนาดแผลเล็กที่สุด เท่ากับ 7.93 ซ.ม. และมีความแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์ *V.* พ.ด.1, *V.* พัชระ บลู และ *V.* นกกระทา ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 9.53, 9.75 และ 14.78 ซ.ม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

จากผลการทดลองครั้งที่ 2 ในกล้วยไม้ลูกผสมสกุลแวนด้า จำนวน 4 พันธุ์ พบว่ากล้วยไม้พันธุ์ *V.* Pink light blue สามารถทนทานโรคได้ดี หลังการปลูกเชื้อ 9 วัน มีขนาดของแผลเล็กที่สุด 7.93 ซ.ม. รองลงมาได้แก่พันธุ์ *V.* พ.ด.1 และ *V.* พัชระ บลู ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 9.53 และ 9.75 ซ.ม. ส่วนพันธุ์ *V.* นกกระทา พบว่า มีความทนทานโรคได้น้อยสุด เพราะเมื่อหลังการปลูกเชื้อ 5 วัน พบว่า ขนาดของแผลไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับพันธุ์อื่นๆ แต่เมื่อ 7 วันหลังการปลูกเชื้อแล้ว ก็พบว่าขนาดของแผลมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น 14.78 ซ.ม. ซึ่งการพัฒนาระดับความรุนแรงของโรคค่อย ๆ เพิ่มขึ้น และอาการของโรคมีความรุนแรง และด้วยลักษณะของพันธุ์นี้ที่มีใบค่อนข้างเล็ก เรียว และ ลักษณะใบจะบางกว่าพันธุ์อื่น จึงทำให้การเกิดโรคมีความรุนแรง

สรุปผลการทดลอง

ในปี 2552 ได้ทดสอบปลูกเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำ บนใบกล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าจำนวน 2 ครั้งๆ ละ 4 พันธุ์ ผลการทดสอบครั้งที่ 1 ในพันธุ์ *Vanda* Pakchong Delight , *V.* Christine Low, *V.* Charles Good fellow และ *V.* Ascada Princess Mikasa Pink ที่หลังการปลูกเชื้อ 9 วัน พบว่า พันธุ์ที่มีความทนทานต่อโรคเน่าดำในระดับที่ดี คือพันธุ์ *V.* Christine Low มีขนาดแผลเท่ากับ 4.47 ซ.ม. และพันธุ์ที่ทนทานโรคเน่าดำได้ดีในระดับรองลงมาได้แก่ *V.* Charles Good fellow มีขนาดแผลเท่ากับ 7.58 ซ.ม ส่วนพันธุ์ที่มีความทนทานต่อโรคเน่าดำน้อย ได้แก่ พันธุ์ *V.* Pakchong Delight และ *V.* Ascada Princess Mikasa Pink ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 15.74 และ 15.63 ซ.ม.

ผลการทดสอบครั้งที่ 2 ในพันธุ์ *V.*พัชระ บลู, *V.* พด 1, *V.* Pink light blue และ *V.* นกกระทา ที่หลังการปลูกเชื้อ 9 วัน พบว่า พันธุ์ที่มีความทนทานต่อโรคเน่าดำในระดับที่ดี คือพันธุ์ *V.* Pink light blue มีขนาดแผลเท่ากับ 7.93 ซ.ม. และพันธุ์ที่ทนทานโรคเน่าดำได้ดีในระดับรองลงมาได้แก่ *V.* พด 1 และ *V.* พัชระ บลู มีขนาดแผลเท่ากับ 9.53 และ 9.75 ซ.ม. ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ที่มีความทนทานต่อโรคเน่าดำน้อย ได้แก่ พันธุ์ *V.* นกกระทา ซึ่งมีขนาดแผลเท่ากับ 14.78 ซ.ม

เอกสารอ้างอิง

ครรชิต ธรรมศิริ. 2551. การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้. หน้า -10 *ใน* เอกสารการสัมมนาวิชาการ “ การผลิตและการตลาดกล้วยไม้” 5 สิงหาคม 2551 โรงแรมมารายการ์เด้น กรุงเทพฯ.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอก ไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรสหกรณ์. 90 หน้า

<u>ตารางที่ 1</u> การทดสอบปฏิกิริยาของกล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าพันธุ์การค้าต่อโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *P. palmivora* ครั้งที่ 1

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลหลังการปลูกเชื้อ (cm.)[1/]			
	3 วัน	7 วัน	9 วัน	ระดับความทนทานโรคที่ 9 วัน หลังการทดลอง[2/]
Vanda Pakchong Delight	2.46b[3/]	13.98d	15.74d	+
Vanda Christine Low	2.36b	4.36a	4.47a	++++
Vanda Charles Good fellow	1.52a	6.05b	7.58b	+++
Vanda Ascda Princess Mikasa Pink	2.57b	12.65c	15.63c	+
ไม่ปลูกเชื้อ	-	-	-	-
CV %	10.4	5.0	6.4	

<u>หมายเหตุ</u> 1/ = ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลหลังการทดลอง 3, 7 และ 9 วัน ทั้งหมด 4 ซ้ำ ๆละ 5 ต้น

2/ = ระดับความทนทานของโรคจากขนาดของแผล ดังนี้

ระดับ +++++ = ขนาดแผล 0 – 2 ซ.ม.

ระดับ ++++ = ขนาดแผล 2.1 – 5 ซ.ม.

ระดับ +++ = ขนาดแผล 5.1 – 10 ซ.ม.

ระดับ ++ = ขนาดแผล 10.1 – 15 ซ.ม.

ระดับ + = ขนาดแผล 15.1 – 20 ซ.ม.

3/ = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ Duncan's multiple range test

1935

ตารางที่ 2 การทดสอบปฏิกิริยาของกล้วยไม้ลูกผสมแวนด้าพันธุ์การค้าต่อโรคเน่าดำที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *P. palmivora* ครั้งที่ 2

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลหลังการปลูกเชื้อ (cm.)[1/]			
	3 วัน	7 วัน	9 วัน	ระดับความทนทานโรคที่ 9 วัน หลังการทดลอง[2/]
Vanda Pink light blue	1.76ab[3/]	6.55a	7.93a	+++
Vanda พัชระ บลู	2.04b	8.21b	9.75b	+++
Vanda พ.ด. 1	1.50a	7.81b	9.53b	+++
Vanda นกกระทา	1.99b	11.73c	14.78c	++
ไม่ปลูกเชื้อ	-	-	-	-
CV %	13.1	7.8	7.1	

หมายเหตุ 1/ = ค่าเฉลี่ยขนาดของแผลหลังการทดลอง 3 ,7 และ 9 วัน ทั้งหมด 4 ซ้ำๆละ 5 ต้น

2/ = ระดับความทนทานของโรคจากขนาดของแผล ดังนี้

ระดับ +++++ = ขนาดแผล 0 – 2 ซ.ม.

ระดับ ++++ = ขนาดแผล 2.1 – 5 ซ.ม.

ระดับ +++ = ขนาดแผล 5.1 – 10 ซ.ม.

ระดับ ++ = ขนาดแผล 10.1 – 15 ซ.ม.

ระดับ + = ขนาดแผล 15.1 – 20 ซ.ม.

3/ = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ Duncan's multiple range test

1936

การควบคุมโรคใบจุดเหลืองของกล้วยไม้สกุลแวนดาโดยชีววิธี

Biological control for bacterial leaf spot of *Vanda* sp.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ อัจฉรา พยัพพานนท์ เพลินพิศ สงสังข์
ดวงพร อมัตรัตนะ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน

บทคัดย่อ

โรคใบจุดเหลือง หรือใบจุดแบคทีเรีย บนกล้วยไม้สกุลแวนดา อาการแผลจุดเริ่มแรกเป็นสีเขียวถึงเหลืองอ่อน ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้นเป็นสีน้ำตาลถึงดำ แผลมีลักษณะเป็นแอ่งยุบตัวตรงกลาง มีวงสีเหลืองล้อมรอบ จำแนกแบคทีเรียสาเหตุโรค เป็น *Acidovorax avenae* subsp.*cattleyae* พบการระบาดของโรคในกล้วยไม้สกุลแวนดา ในระยะกล้า และระยะต้นที่อายุประมาณ 2-3 ปี ระบาดรวดเร็วและค่อนข้างรุนแรง โดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อนและฝน

เก็บรวมรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เจริญบริเวณผิวใบ ผิวราก และแบคทีเรียที่เจริญลำต้นของกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ และหน้าวัว จำนวน 26 ไอโซเลท คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวนรวม 39 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* (Aacat.) จำนวน 3 ไอโซเลท จากต่างแหล่งปลูก ได้แก่ PA206 จากอ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี PA236 จาก อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี และไอโซเลท PA285 จาก อ.พนมทวน จ.กาญจนบุรี ทดสอบบนอาหาร Nutrient glucose agar ด้วยเทคนิค paper disc diffusion หลังการบ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่สร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคเกิดเป็นบริเวณใสกว้างที่สุด ต่อแบคทีเรีย Aacat. ไอโซเลท PA 206 PA 236 และ PA 285 คือ KO20, KO20 และ 20W16 มีรัศมีส่วนใส 0.43, 0.41 และ 0.25 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์สร้างบริเวณใสยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้นานถึง 5 วัน พบความผันแปรของปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อไอโซเลทต่าง ๆ ของแบคทีเรียสาเหตุโรค

รหัสการทดลอง 01-15-49-01-01-02-03-49

คำนำ

กล้วยไม้สกุลแวนดา เป็นกล้วยไม้ที่มีศักยภาพในการเป็นไม้ประดับ ทั้งในรูปของไม้ตัดดอก และส่งขายทั้งต้น โดยประเทศไทยนับเป็นผู้นำในการปรับปรุงพันธุ์แวนดาต่อจากประเทศฮาวาย และสิงคโปร์ เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยมีลูกผสมที่มีชื่อเสียงมากมาย ปิยรัตน์ และจงวัฒนา (2552) จำแนกสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้สกุลแวนดา อาการแผลจุด มีขอบสีเหลือง รอบแผลมีลักษณะช้ำฉ่ำน้ำ โรคเข้าทำลายทำความเสียหายต่อกล้วยไม้สกุลแวนดาได้ในทุกระยะการเจริญ เกิดจากแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* รายงานการเกิดโรค bacterial brown spot จากแบคทีเรีย *Pseudomonas cattleyae* ในกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซิส แคทลียา Cypripedium สกุลหวาย ออนซิเดียม และแวนดา โดยมีอาการเนื้อเยื่อนุ่ม ช้ำฉ่ำน้ำ ต่อมาเนื้อเยื่อยุบตัวเป็นแผลสีน้ำตาลถึงดำ อาการโรคดังกล่าวสามารถทำให้ต้นกล้าฟาแลนอปซิสตายได้ เชื้อสาเหตุสามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกส่วนบนใบ และสามารถติดไปกับการกระเด็นของน้ำ (Miller, 1990) ปัจจุบันยังไม่มีสารเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคพืชจากแบคทีเรีย จากความหลากหลายทางชีวภาพของแบคทีเรียในประเทศไทย การควบคุมโรคโดยชีววิธี โดยคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธภาพ เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยควบคุมการเกิดโรคได้ อีกทั้งสภาพการปลูกกล้วยไม้ในโรงเรือนและมีความชื้น จะช่วยให้แบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถเจริญอยู่ได้ และช่วยควบคุมโรคได้อย่างยั่งยืน ในการการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรวมรวมและคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรค เพื่อพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์สำหรับควบคุมโรค

อุปกรณ์และวิธีการ

1. แบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้

เก็บตัวอย่างอาการแผลจุดบนกล้วยไม้สกุลแวนดา และลูกผสมแวนดา ตัดชิ้นส่วนใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการแผลจุดเหลืองขอบแผลช้ำ เลือกตัดเนื้อเยื่อพืชบริเวณที่มีอาการโรคเชื่อมต่อกับส่วนที่ไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5 x 0.5 มิลลิเมตร แช่ชิ้นส่วนพืชในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อนาน 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบชิ้นส่วนพืชดังกล่าว วางบนหยดน้ำ 50 ไมโครลิตร ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วใช้ลูปที่ลนไฟฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำบดตัวอย่าง นำมาลาก (streak) บนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) เก็บจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก บ่มเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 2 วัน เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหารจนได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บเชื้อบนอาหารเอียงเททับด้วยพาราฟินเหลวเพื่อการศึกษาต่อไป

2. **การแยกเก็บเชื้อแบคทีเรีย** *Bacillus* spp.

แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียจากบริเวณผิวใบ ผิวราก และแบคทีเรียที่เจริญในลำต้นหรือใบกล้วยไม้ และหน้าวัว โดยเลือกตัวอย่างต้นกล้วยไม้และหน้าวัวที่เจริญเติบโตดี แข็งแรง และปลอดโรค ตัดชิ้นส่วนของบริเวณที่จะแยกเชื้อ (ราก หรือใบ) แช่ในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อทิ้งไว้ เป็นเวลา 30 นาที และสำหรับการแยกเชื้อที่เจริญในลำต้นและใบ ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวโดยการพ่นแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ซับให้แห้ง นำมาสับหรือบดในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ แช่ทิ้งไว้ เป็นเวลา 3-5 นาที ใช้ลูปจุ่มแอลกอฮอล์บนไฟฆ่าเชื้อแตะไปลากบนอาหารสังเคราะห์ Nutrient glucose agar (NGA) เก็บจานเลี้ยงเชื้อ ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เลือกโคโลนีสีขาวขุ่นขอบไม่เรียบ แกรมบวก นำไปเลี้ยงให้ได้แบคทีเรียบริสุทธิ์ บนอาหาร NGA ตรวจดูความบริสุทธิ์ของเชื้อโดยมีลักษณะโคโลนีเหมือนกัน ให้รหัส และเก็บเชื้อลงน้ำ และหลอดอาหารเอียงเททับด้วยพาราฟินเหลว เพื่อใช้ในการคัดเลือกเชื้อต่อไป

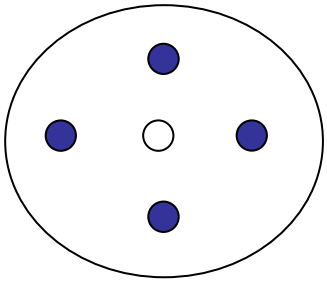
3. **คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย** *Bacillus* spp. **ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย** *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ด้วยวิธี paper disc diffusion โดยใช้แบคทีเรียที่แยกเก็บได้ในข้อที่ 1 จำนวน 26 ไอโซเลท และแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากศูนย์เก็บเชื้อ Culture collections กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 13 ไอโซเลท รวมทั้งสิ้น 39 ไอโซเลท

การเตรียมเชื้อ เลี้ยงแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดกล้วยไม้ *A. avenae* subsp. *cattleyae* จำนวน 3 ไอโซเลท ที่แยกได้จากแหล่งปลูกกล้วยไม้ต่างกัน และเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เก็บรวมรวมไว้ทดสอบ บนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การเตรียมอาหารผสมเชื้อสาเหตุโรค

โดยผสมเซลล์แขวนลอยเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* ในอาหาร NGA โดยใช้เซลล์แขวนลอยเชื้อ 5 มล. (เตรียมเชื้อ 9 ลูปละลายในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ) เติมลงในอาหาร 200 มล. ผสมให้เข้ากัน แล้วเททับบนจานอาหาร NGA ที่เทรองพื้นไว้บาง ๆ ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง (ประมาณ 2-3 ชั่วโมง) วางกระดาษตาปลาที่หยดเซลล์แขวนลอยเชื้อ *Bacillus* spp. 5 ไมโครลิตร 4 จุดต่อจานเลี้ยงเชื้อ ตรงกลางวางกระดาษตาปลาที่หยดน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อเป็นการทดลองควบคุม (ภาพแสดงการวางกระดาษตาปลา)



บ่มจานเลี้ยงเชื้อโดยคว่ำจานเลี้ยงเชื้อลงเก็บในถุงพลาสติก ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตรวจผลหลังการทดสอบ 24, 48, 72 และ หลังการทดสอบ 5-7 วัน โดยวัดความกว้างรัศมีบริเวณส่วนใส และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางหลังการทดสอบ 5-7 วัน

ระยะเวลาดำเนินการ 1ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2551 – กันยายน 2552

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. แบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้

เก็บเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดเหลืองกล้วยไม้สกุลแวนดา และลูกผสมแวนดา (ภาพที่ 1) เพื่อใช้ในการทดสอบคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยเลือกไอโซเลทที่แยกเก็บเชื้อจากแหล่งปลูกกล้วยไม้สกุลแวนดาในพื้นที่ 3 จังหวัด ที่พบปัญหาการระบาดของโรค ได้แก่ ไอโซเลท PA206 จาก อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี ไอโซเลท PA236 จาก อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี และไอโซเลท PA285 จาก อ.พนมทวน จ. กาญจนบุรี ลักษณะแบคทีเรียบนอาหาร NGA โคโลนีกลมใสขนาดเล็ก เมื่อบ่มเชื้อไว้นาน 3-5 วันเกิดการสร้างฝ้าขาวขุ่นรอบโคโลนีในอาหาร และบนอาหาร YDC ได้แบคทีเรียสีน้ำตาลอมส้ม (ภาพที่ 1) โดยผลการทดสอบแบคทีเรียสาเหตุโรคทั้งสามไอโซเลทสามารถก่อให้เกิดโรคบนกล้วยไม้สกุลแวนดา

2. การเก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp.

แยกเก็บเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากบริเวณผิวใบ ผิวรากกล้วยไม้ และหน้าวัว และแบคทีเรียเอ็นโดไฟท์ ที่อาศัยอยู่ในท่อลำเลียงพืช จำนวนรวม 26 ไอโซเลท (ตารางที่ 1) ในการทดลองได้มีการแยกเก็บเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากหน้าวัวด้วย เนื่องจากหน้าวัวเป็นไม้ดอกที่มีสภาพการปลูกเลี้ยงในโรงเรือนที่คล้ายกับการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ และเมื่อทำการแยกเก็บเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์พบว่าแบคทีเรียที่ได้มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันมีความหลากหลายมากกว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกเก็บจากกล้วยไม้ สันนิษฐานว่าอาจเป็นเพราะตัวอย่างกล้วยไม้ที่เก็บมาจากสวนเกษตรกร ซึ่งมี

การใช้สารเคมีค่อนข้างมากในแปลงปลูก ในการทดลองนี้จึงแยกเก็บแบคทีเรียปฏิปักษ์จากทั้งหน้าวัว และกล้วยไม้ เพื่อทำการคัดเลือกไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์หรือมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้หลายไอโซเลท หรือมีฤทธิ์ในการควบคุมกว้างจากการทดลองรวบรวมแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก culture collections กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช 13 ไอโซเลท ได้แก่ 2 G 4, 2 G 22, 2 G 24, 17 G 5, 17 G 18, 19 W 2, 19 W 42, 20 W 5, 20 W 16, 20 W 17, 20 W 18, 20 W 21 และ20 W 24

3. **คัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย** *Bacillus* spp. **ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย** *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

เก็บรวมรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เจริญบริเวณผิวใบ ผิวราก และแบคทีเรียที่เจริญลำต้นของกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ และหน้าวัว จำนวน 26 ไอโซเลท (ภาพที่ 2) และแบคทีเรียปฏิปักษ์จาก culture collection กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ผลการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวนรวม 39 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* (Aacat.) หลังการบ่มเชื้อไว้ 48 ชั่วโมง (ภาพที่2) แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท KA17, KA18 และ A7 ยับยั้งการเจริญของเชื้อ Aacat. ไอโซเลท PA206 รัศมีส่วนใส เฉลี่ย 0.43-0.25 ซม. แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท KO 20, CAH22 และ 20W5 ยับยั้งการเจริญของเชื้อ Aacat. ไอโซเลท PA236 รัศมีส่วนใส เฉลี่ย 0.41-0.2 ซม. และ แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท 20W16, KO20, KA31 และ 19W14 ยับยั้งการเจริญของเชื้อ Aacat. ไอโซเลท PA285 รัศมีส่วนใส เฉลี่ย 0.25-0.2 ซม. (ตารางที่ 2) โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท KO20 แยกจากกล้วยไม้สามารถยับยั้งการเจริญแบคทีเรียสาเหตุโรคทั้ง PA236 และ PA285 และพบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้สามารถสร้างบริเวณใสยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้นาน 5-7 วัน แต่มีความผันแปรของปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อไอโซเลทต่าง ๆ ของแบคทีเรียสาเหตุโรค ในการทดลองต่อไปจะคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารปฏิชีวนะ ที่มีฤทธิ์กว้าง ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้หลายไอโซเลท เพื่อทดสอบการควบคุมโรคในโรงเรือนต่อไป

สรุปผลการทดลอง

1. เก็บรวมรวมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เจริญบริเวณผิวใบ ผิวราก และแบคทีเรียที่เจริญลำต้นของกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ และหน้าวัว จำนวน 26 ไอโซเลท

2. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวนรวม 39 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* จำนวน 3 ไอโซเลท แบคทีเรียปฏิปักษ์สร้างสาร

ปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคเกิดเป็นบริเวณใสกว้างที่สุด ต่อแบคทีเรีย *A. avenae* subsp. *cattleyae* ไอโซเลท PA 206 PA 236 และ PA 285 คือ KO20, KO20, และ 20W16 มีรัศมีส่วนใส 0.43, 0.41 และ 0.25 ตามลำดับ โดยแบคทีเรียสามารถสร้างบริเวณใสยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้นานถึง 5 วัน และพบความผันแปรของปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อไอโซเลทต่าง ๆ ของแบคทีเรียสาเหตุโรค

เอกสารอ้างอิง

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2551. เตือนภัย! โรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้. วารสารข่าว No. สมาคมผู้ประกอบการสวนกล้วยไม้ไทย ร่วมกับศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร จังหวัดสมุทรสาคร (พืชสวน).

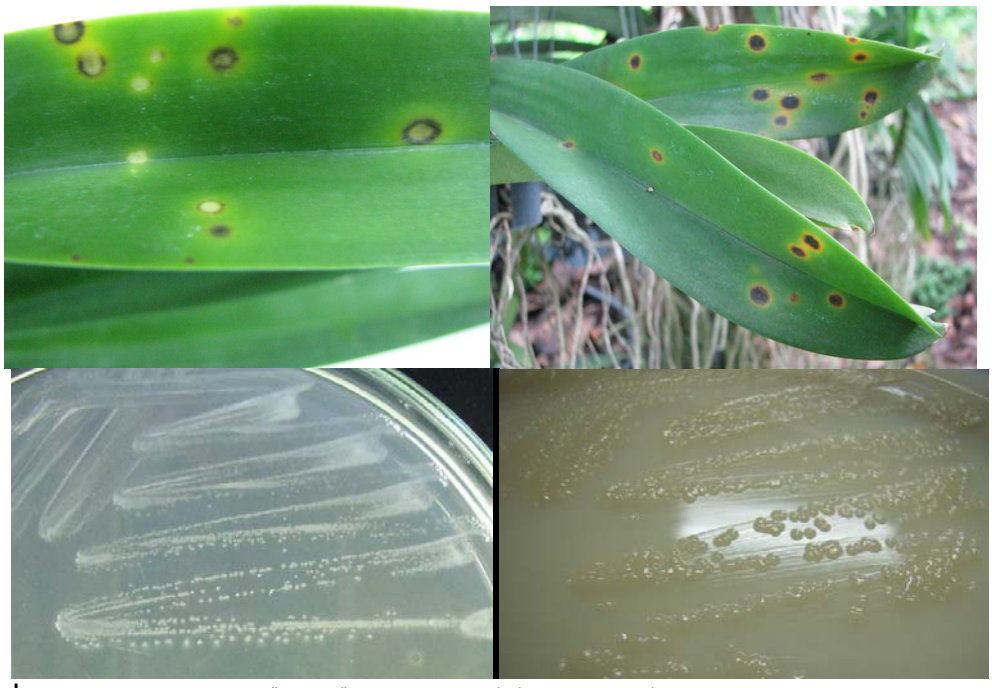
ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และ จงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2552. การศึกษาสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้สกุลแวนดา. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 วันที่ 17-20 มีนาคม 2552.

Miller, J. W. 1990. Bacterial Brown spot of orchid caused by *Pseudomonas cattleyae*. Plant Pathology Circular no. 330.

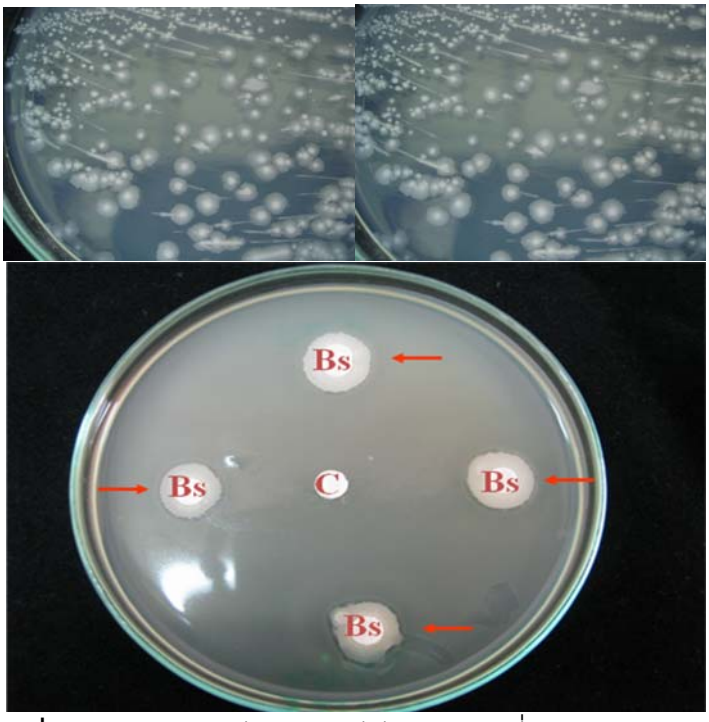
Divinagracia, G.G., Candole., B.L., Cadapan, E.T. 1984. Some studies on bacterial brown spot of orchids caused by *Pseudomonas cattleyae* (Pavarino) Saverlesco. Summary in Philippine Phytopathology V20(1-2) p. 3-4.

http://www.fao.org/agris/search/display.do;jsessionid-OAFA16C68D30999F6D009CO searched date: 24-08-2550

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



ภาพที่ 1 อาการโรคใบจุดเหลือง หรือใบจุดแบคทีเรีย บนกล้วยไม้สกุลแวนดา และลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* บนอาหาร NGA และ YDC



ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ที่แยกเก็บจากกล้วยไม้และหน้าวัว และการเกิดบริเวณใส (clear zone) ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

ตารางที่ 1 ไอโซเลทและแหล่งที่มาของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการทดลองนี้

แบคทีเรียปฏิปักษ์	**แหล่งที่มาของเชื้อ**
KA1, KA2, KA3, KA5, KA7, KA8, KA 13, KA14, KA15, KA16, KA31	หน้าวัว บางเขน กทม.
SA 4, SA 5, SA 6, SA 7, SA 8, SA 9, SA21	หน้าวัว อ.บางคณฑี จ.สมุทรสงคราม
CHA 10, CHA 11	หน้าวัว อ.เมือง จ.เชียงราย
PO 12	กล้วยไม้ อ.หัวหิน จ.เพชรบุรี
NO 17, NO 18	กล้วยไม้ อ.นครชัยศรี จ.นครปฐม
KO 20, KO 21	กล้วยไม้ บางเขน กทม.
CHA 22	หน้าวัว กทม.

ตารางที่ 2 ผลการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ ต่อเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (Aacat.) สาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้

ลำดับที่	แบคทีเรียปฏิปักษ์	รัศมีบริเวณส่วนใส (เซนติเมตร) ยับยั้งเชื้อ Aacat.		
		PA 206	PA 236	PA 285
1	KA1	0.10	ND	ND
2	KA2	0.00	ND	ND
3	KA3	0.18	ND	ND
4	KA5	0.20	ND	ND
5	KA7	**0.42**	ND	ND
6	KA8	0.00	ND	ND
7	KA 13	0.13	ND	ND
8	SA 4	0.00	ND	ND
9	SA 5	0.00	ND	ND
10	SA 6	0.00	ND	ND
11	SA 7	0.00	ND	ND
12	SA 8	0.00	ND	ND
13	SA 9	0.00	ND	ND
14	CHA 10	0.11	ND	ND
15	CHA 11	0.00	ND	ND
16	PO 12	0.00	ND	ND
17	KA 14	0.00	ND	ND
18	KA 15	0.15	ND	ND
19	KA16	0.18	ND	ND
20	NO 17	**0.25**	ND	ND
21	NO 18	**0.43**	ND	ND
22	KO 20	ND	**0.47**	**0.2**
23	CHA 22	ND	**0.23**	0.1
24	KO 21	ND	0.2	ND
25	KA 31	ND	0.1	**0.2**
26	SA 21	ND	ND	0
27	20 W 24	0.18	ND	ND
28	2 G 24	0	ND	ND
29	20 W 17	0	ND	ND

ลำดับที่	แบคทีเรียปฏิปักษ์	รัศมีบริเวณส่วนใส (เซนติเมตร) ยับยั้งเชื้อ Aacat.		
		PA 206	PA 236	PA 285
30	20 W 16	0.23	0.1	0.25
31	20 W 18	0	ND	ND
32	17 G 5	0	ND	ND
33	20 W 21	0	ND	ND
34	2 G 4	0	ND	ND
35	20 W 5	ND	0.2	0
36	19 W 2	ND	0.16	ND
37	2 G 22	ND	0	0
38	17 G 18	ND	0	0.15
39	19 W 42	ND	ND	0.2

หมายเหตุ : ND=not determine

การศึกษาโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

Study on Bacterial Diseases of Orchids

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ ศรีสุข พูนผลกุล จงวัฒนา พุ่มหิรัญ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน

บทคัดย่อ

สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้สกุลการค้า ระหว่างเดือนตุลาคม 2550 ถึงเดือน กันยายน 2552 ในแหล่งปลูกกล้วยไม้ 18 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี อยุธยา สระบุรี นครปฐม สมุทรสาคร นครราชสีมา นครสวรรค์ กำแพงเพชร เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี ชลบุรี ปราจีนบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี ผลการสำรวจโรค เก็บตัวอย่าง แยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค เก็บรวบรวมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ได้ รวม 175 ไอโซเลี ศึกษาลักษณะโคโลนีบนอาหาร ปลูกเชื้อทดสอบการเกิดโรค ทดสอบคุณสมบัติชีวเคมีและการใช้คาร์บอน (Biolog® test) จำแนกตามอาการโรคของกล้วยไม้ได้ 3 โรค จำแนกได้เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค 4 ชนิด คือ 1. โรคเน่า เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* พบการเกิดโรคลักษณะอาการใบเน่าสีน้ำตาลเข้มลามจากปลายใบและปลายยอด บนกล้วยไม้สกุลแวนดา สกุลฟาแลนอปซิส สกุลหวาย สกุลม็อคคาร่า และสกุลช้าง (เขาแกะ) 2. โรคเน่าเละ อาการลำต้นเน่าเละ เนื้อเยื่อเปื่อยยุ่ย มีกลิ่นเหม็นฉุน บนกล้วยไม้สกุลออนซิเดียม จำแนกแบคทีเรีย เป็น *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และลักษณะอาการเข้าทำลายกล้วยไม้ที่ใบ ทำให้ใบเน่าช้ำเนื้อเยื่อใบเน่าเละสีเขียวหรือสีน้ำตาลอ่อน บางครั้งพบอาการใบโป่งพอง เนื้อใบเน่าเละแยกจากผิวใบ อาการที่ลำต้นเน่าช้ำ หักพับได้ง่าย พบการเกิดโรคบนกล้วยไม้หลายสกุล ได้แก่ สกุลหวาย ฟาแลนอปซิส แวนดาลูกผสม สกุลช้าง และสกุลแคทลียา จำแนกแบคทีเรียสาเหตุโรคเป็น *E. chrysanthemi* 3. โรคใบจุดแบคทีเรีย อาการแผลจุดเริ่มแรกเป็นสีเขียวถึงเหลืองอ่อน ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้นเป็นสีน้ำตาลถึงดำ แผลมีลักษณะเป็นแอ่งบุ๋มตรงกลาง มีวงสีเหลือง (halo) ล้อมรอบ บนกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซิส อาการแผลจุดแตกต่างจากบนกล้วยไม้สกุลอื่น เนื่องจากใบค่อนข้างอวบน้ำและนิ่ม แผลจุดค่อนข้างดำไม่กลม ส่วนใหญ่แผลยุบตัวรูปหลายลักษณะ อาจพบเส้นสีขาวบริเวณกลางแผลที่เป็นสีดำ มีวงสีเหลืองล้อมรอบ พบการเกิดโรคบนกล้วยไม้สกุลแวนดา แอสโคเซนดา ฟาแลนอปซิส อะแรนเธอร่า และช้าง จำแนกเชื้อสาเหตุเป็น *Acidovorax avenae* subsp.*cattleyae* โดยโรคใบจุดแบคทีเรีย จากเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae* และโรคเน่าเละจากเชื้อ *E. chrysanthemi* พบการระบาดรวดเร็วและค่อนข้างรุนแรง

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 โดยมีการจำหน่ายในรูปไม้ตัดดอกและไม้กระถางทั้งในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ในแต่ละปีมีมูลค่าการส่งออกกล้วยไม้รวมกว่าสามพันล้านบาท

โรคพืชนับเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในการผลิตกล้วยไม้ แบคทีเรียเป็นสาเหตุโรคที่สำคัญ เนื่องจากไม่มีสารเคมีในการควบคุมโรคที่มีประสิทธิภาพดี จากการตรวจเอกสารรายงานการเกิดโรคกล้วยไม้ในประเทศไทยจากเชื้อแบคทีเรีย ประกอบด้วย โรคเน่าเละ 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 โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกส่วนบนใบ และสามารถติดไปกับการกระเด็นของน้ำ และ Stovold et al. (2001) รายงานการเกิดโรคใบจุดในกล้วยไม้ฟาแลนอปซิส จากเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (syn. *Pseudomonas cattleyae*) ทั้งนี้การศึกษาโรคแบคทีเรียบนกล้วยไม้ในประเทศไทยมีน้อยมาก จากการตรวจเอกสารล่าสุด เป็นการศึกษาสาเหตุโรคเน่าของกล้วยไม้สกุลหวาย เกิดจากแบคทีเรีย *Pseudomonas gladioli* ชื่อใหม่ *Burkholderia gladioli* (สุเนตรา และคณะ, 2532)

ในเดือนกรกฎาคม 2550 ได้รับตัวอย่างโรคกล้วยไม้ลูกผสมแวนดา อาการที่ใบเป็นแผลจุดกลมมีขอบสีเหลือง รอบแผลมีลักษณะช้ำฉ่ำน้ำ บางแผลขยายลุกลามติดกัน ทำให้เกิดอาการไหม้เป็นปื้น พบเข้าทำลายทำความเสียหายมากในระยะกล้าและทุกระยะการเจริญของกล้วยไม้แวนดา ลูกผสมแวนดา และแอสโคเซนดา จากลักษณะอาการโรค สันนิษฐานว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากขอบแผลมีลักษณะอาการขอบแผลช้ำฉ่ำ จึงทำการศึกษาสาเหตุโรค และจำแนกเชื้อสาเหตุ ปัจจุบันภาวะโลกร้อนมีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ทำให้แบคทีเรียเจริญรวดเร็ว เข้าทำลายพืช และสร้างความเสียหายได้รวดเร็วและรุนแรง โดยเฉพาะแบคทีเรีย

สาเหตุโรคกล้วยไม้จัดอยู่ในกลุ่มทนร้อน การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจโรคกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในกล้วยไม้สกุลการค้า และสกุลอื่น ๆ ศึกษาลักษณะอาการ จำแนกชนิดแบคทีเรียสาเหตุโรค ติดตามการเกิดโรค ศึกษาการเข้าทำลายในกล้วยไม้ข้ามสกุล เป็นข้อมูลแนะนำเกษตรกรในการป้องกันกำจัด และเพื่อเป็นแนวทางศึกษาการจัดการโรค รวมถึงเป็นข้อมูลสำหรับการกักกันพืช

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่าง ศึกษาลักษณะอาการของโรค

วางแผนการสำรวจโรคในแหล่งปลูกกล้วยไม้สกุลการค้า ติดต่อสวนเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้ สำรวจโรค และเก็บตัวอย่างอาการโรคที่สันนิษฐานว่าเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่อาการใบเน่า ใบและลำต้นเน่าเละ ใบจุดแผลจุดขอบแผลช้ำ แผลจุดมีวง สีเหลืองล้อมรอบ (halo) จากกล้วยไม้สกุลการค้าต่าง ๆ บันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิตอล เก็บข้อมูลพันธุ์พืช ชื่อเกษตรกร ชื่อสวน สถานที่ปลูก นำตัวอย่างโรค มาทำการศึกษาลักษณะอาการโดยละเอียด จำแนกลักษณะอาการต่าง ๆ ก่อนนำไปแยกเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

1. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

จำแนกตัวอย่าง โดยแยกสกุลกล้วยไม้ และแยกลักษณะอาการโรค และแยกตัวอย่างจากส่วน ลำต้น ใบ ก้านดอก หรือดอก นำตัวอย่างมาทำการการแยกเชื้อ โดยเลือกตัดชิ้นส่วนใบกล้วยไม้ที่แสดงอาการแผลใหม่ ๆ ตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณที่มีอาการโรคเชื่อมต่อกับส่วนที่ไม่เป็นโรค ขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 0.5x 0.5 มิลลิเมตร ล้างโดยจุ่มแช่เนื้อเยื่อพืชในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นาน 1-2 นาที ใช้ปากคีบฆ่าเชื้อหยิบชิ้นส่วนพืชดังกล่าว วางบนหยดน้ำ 50 ไมโครลิตร ใช้ใบมีดฆ่าเชื้อสับหรือบดชิ้นส่วนพืชให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทิ้งไว้ 2-3 นาที ให้เชื้อหลุดออกจากเนื้อเยื่อพืช แล้วใช้ลูปที่ฆ่าเชื้อ จุ่มในหยดน้ำตัวอย่าง นำมาลาก (streak) บนอาหารสังเคราะห์ Wakimoto agar (PSA) Nutrient glucose agar (NGA) หรือ Yeast-extract dextrose $CaCo_3$ agar (YDC) แยกเชื้อตัวอย่างละ 2 ซ้ำ เก็บจานเลี้ยงเชื้อใส่ในถุงพลาสติก คว่ำจานลง บ่มเชื้อไว้ที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน จากนั้นตรวจดูโคโลนีของเชื้อที่เจริญ เลือกแตะโคโลนีเดี่ยวนำมาเลี้ยงบนอาหารจนได้เชื้อบริสุทธิ์

เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อ 1 ลูปเต็มละลายในน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 1

มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง เก็บเชื้อบนอาหารเอียงเททับด้วยพาราฟินเหลว และเก็บเชื้อในกลีเซอรอล 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ –20 องศาเซลเซียส จัดส่งเชื้อแต่ละไอโซเลทเข้า culture collection ของกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2. **พิสูจน์การเป็นเชื้อสาเหตุโรค**

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทที่แยกได้จากตัวอย่างโรคกล้วยไม้ บนอาหาร NGA บ่มเชื้อไว้ที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ความเข้มข้นประมาณ 0.2 O.D. ที่ความเข้มแสง 600 นาโนเมตร ซึ่งมีความเข้มข้นเชื้อประมาณ 2×10^8 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อบนใบกล้วยไม้ โดยกล้วยไม้ที่ใช้สำหรับเป็นพืชทดสอบ ได้แก่ กล้วยไม้สกุลหวาย แวนดา ม็อคคาร่า แคทลียา และฟาแลนอปซิส โดยใช้กระบอกฉีดยาทูเบอร์คูลิน นิโปร ขนาด 1 มิลลิลิตร พร้อมเข็มฉีดยาขนาด 26 Gx 1/2” ทำแผลด้วยปลายเข็มแล้วหยดเซลล์แขวนลอยเชื้อปริมาตร 5 ไมโครลิตร ทำการปลูกเชื้อ 4 ซ้ำ ต่อใบ ใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเป็นการทดลองควบคุม เก็บต้นกล้วยไม้ที่ปลูกเชื้อ ในถุงพลาสติกพ่นน้ำฝอยให้ความชื้น เก็บไว้ในโรงเรือนกล้วยไม้พรางแสง บันทึกลักษณะอาการ ระยะเวลาการเกิดโรค จากนั้นนำตัวอย่างที่แสดงอาการโรค นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันการเป็นเชื้อสาเหตุโรค ตามวิธี Koch’s postulation

3. **จำแนกเชื้อโดยลักษณะสัณฐานวิทยา คุณสมบัติชีวเคมี และการใช้แหล่งคาร์บอน**

<u>ศึกษาลักษณะโคโลนี</u> เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ ที่แยกได้จากอาการโรคเน่า โรคเน่าเละ และโรคใบจุดแบคทีเรีย บนอาหาร NGA อายุ 24-48 ชั่วโมง ใช้ลูปฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยวใส่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไป streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์

ศึกษาลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย 9 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ 9 ชนิด แบ่งเป็นประเภท อาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป อาการกึ่งเลือกจำเพาะ และอาหารเลือกจำเพาะ บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-168 ชั่วโมง (1-7 วัน) บันทึกลักษณะโคโลนี การเจริญของเชื้อบนอาหารแต่ละชนิด วัดขนาดเฉลี่ยของโคโลนี

เปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของเชื้อสาเหตุโรคชนิดต่าง ๆ อาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย Potato Synthetic Agar (PSA), Nutrient glucose Agar (NGA), Nutrient Agar (NA), Tween Agar (TW), PG medium, CPS medium, Sorbital Neutral Red, Yeast Extract Dextrose $CaCO_3$ agar และ King’s medium B

<u>ศึกษาคุณสมบัติชีวเคมีบางประการ</u> ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยใช้เชื้อแบคทีเรียที่เป็นไอโซเลทตัวแทนของเชื้อแต่ละชนิด ทดสอบปฏิกิริยา Catalase test, Oxidase test,

Fermentation of glucose, tissue maceration (การสร้าง pectolytic enzyme) (De Boer and Kelman, 2001)

ทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอน เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ โดยใช้เชื้อแบคทีเรียที่เป็นไอโซเลทตัวแทนของเชื้อแต่ละชนิด ใช้ลูปฆ่าเชื้อแตะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแต่ละไอโซเลท เลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร 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 GN2 ที่ทดสอบในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-24 ชั่วโมง อ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microlog™ System ที่ค่าดูดกลืนแสง ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร วิเคราะห์รูปแบบการใช้แหล่งคาร์บอนเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลจำแนกชนิดของเชื้อ จากการนำค่าการใช้แหล่งคาร์บอนที่ให้ผลเป็นบวกหรือลบมาวิเคราะห์ด้วย Simple matching หาความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด ด้วยวิธีทางสถิติแบบ Principal Component Analysis

4. ศึกษาพืชอาศัย ลักษณะอาการ ความรุนแรงของโรคบนกล้วยไม้สกุลการค้า

เตรียมเชื้อแบคทีเรีย เลี้ยงแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ที่เก็บรวบรวมไว้ จำนวน 25 ไอโซเลท บนอาหาร NGA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อด้วยน้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับให้มีความเข้มข้นของเชื้อแต่ละไอโซเลทประมาณ 10^8 cfu/ml

เตรียมต้นกล้วยไม้ ใช้กล้วยไม้พันธุ์การค้า 4 สกุล ได้แก่ สกุลแวนดาลูกผสม สกุลฟาแลนอปซิส สกุลแคทลียา และสกุลหวาย

การปลูกเชื้อบนใบกล้วยไม้ ใช้วิธีเดียวกับการปลูกเชื้อพิสูจน์การเกิดโรค โดยใช้กระบอกฉีดยาทูเบอร์คูลิน นิโปร ขนาด 1 มิลลิลิตร พร้อมเข็มฉีดยาขนาด 26 Gx 1/2” ทำแผลด้วยปลายเข็มแล้วหยดเซลล์แขวนลอยเชื้อปริมาตรประมาณ 5 ไมโครลิตร ปลูกเชื้อ 4 ซ้ำ ต่อใบ และใช้น้ำกรองนึ่งฆ่าเชื้อเป็นการทดลองควบคุม จากนั้นเก็บต้นกล้วยไม้ที่ปลูกเชื้อ ในถุงพลาสติกพ่นน้ำให้ความชื้น บันทึกลักษณะอาการ ระยะเวลาการเกิดโรค การพัฒนาอาการโดยวัดขนาดแผล

ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2550 – กันยายน 2552

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนปลูกพืชทดลอง
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง ศึกษาลักษณะอาการของโรค

จากการสำรวจโรคในแหล่งปลูกกล้วยไม้ 18 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี อยุธยา สระบุรี นครปฐม สมุทรสาคร นครราชสีมา นครสวรรค์ กำแพงเพชร เชียงใหม่ เชียงราย จันทบุรี ชลบุรี ปราจีนบุรี ราชบุรี กาญจนบุรี เพชรบุรี เก็บตัวอย่างลักษณะอาการโรคบนกล้วยไม้สกุลหวาย แวนดา แอสโคเซนดา ฟาแลนอปซิส ช้าง ม้าวิ่ง แคทลียา จากการสำรวจได้เก็บตัวอย่างโรคกล้วยไม้ จำนวนมากกว่า 300 ตัวอย่าง นำมาจำแนกตัวอย่างบันทึกข้อมูล จำแนกลักษณะอาการ แหล่งปลูก สกุลกล้วยไม้ ส่วนของพืชที่เกิดโรค นำตัวอย่างมาแยกเชื้อบนอาหารสังเคราะห์

จากการสำรวจรวบรวมตัวอย่าง จำแนกลักษณะอาการที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) ได้ดังนี้

1. โรคใบจุดแบคทีเรีย อาการแผลจุดกลมถึงกลมรี สีเหลือง หรือเหลืองอมน้ำตาล บริเวณกลางแผลยุบตัวเป็นแอ่ง ขอบแผลเป็นวงสีเหลืองถึงน้ำตาลเข้ม อาการที่พบบนกล้วยไม้บางสายพันธุ์เกิดแผลค่อนข้างกลม สีน้ำตาลเข้ม ขอบแผลสีน้ำตาล ในสภาพแวดล้อมที่อากาศร้อนฝนชุก พบขอบแผลช้ำฉ่ำน้ำ โรคใบจุดแบคทีเรียพบการเข้าทำลายมากบริเวณใบอ่อน ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงต้นโตกำลังให้ดอก อาการแผลจุดส่วนมากเกิดกระจัดกระจายบนใบ หรืออาจเกิดบริเวณเส้นกลางใบ เนื่องจากแบคทีเรียไหลหรือกระเด็นติดไปกับน้ำ อาการแผลจุดอาจมีลักษณะแผลที่แตกต่างกันเล็กน้อย พบอาการโรคใบจุดแบคทีเรีย บนกล้วยไม้หลายสกุล ได้แก่ แวนดา แอสโคเซนดา ช้าง (ช้างเผือก ช้างแดง ช้างกระ) ฟาแลนอปซิส แคทลียา และอะแรนเธอร่า (ลูกผสมรีแนนเธอรากับอะแรคนิส) จำแนกลักษณะอาการ ได้ดังนี้ (ภาพที่ 1) พื้นที่สำรวจโรคที่พบโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้ ได้แก่ อ.ท่าม่วง อ.ท่ามะกา อ. พนมทวน จ.กาญจนบุรี อ.เมือง จ.ปราจีนบุรี อ.เมือง อ.บ้านโป่ง อ.สวนผึ้ง จ. ราชบุรี อ.หัวหิน อ.ท่ายาง จ. เพชรบุรี อ.หนองแค จ. สระบุรี อ.นครชัยศรี จ. นครปฐม อ.วังน้ำเขียว จ. นครราชสีมา อ.เมือง จ.เชียงราย และ อ.นายายอาม จ. จันทบุรี

-อาการแผลจุดเล็กสีครีมอมเหลืองหรือแผลจุดสีเขียวอ่อน กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่แห้งยุบตัวเป็นแอ่ง ขอบแผลสีเข้ม และวงนอกสุดล้อมรอบด้วยวงสีเหลืองอ่อนหรือเขียวอ่อน ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร โดยมากพบบริเวณใบยอด หรือใบอ่อน จัดเป็นอาการในระยะเริ่มแรก

-อาการแผลค่อนข้างกลม กลางแผลสีน้ำตาลอ่อน ขอบแผลลักษณะเป็นวงสีน้ำตาลเข้ม กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่แห้งยุบตัวเป็นแอ่ง ล้อมรอบด้วยวงสีเหลือง ขนาดแผลเฉลี่ย 3-5 มิลลิเมตร

-อาการแผลค่อนข้างกลม กลางแผลสีน้ำตาลเข้ม กลางแผลมีลักษณะเนื้อเยื่อที่แห้งยุบตัวเป็นแอ่ง ล้อมรอบด้วยวงสีเหลือง ขนาดแผลเฉลี่ย 3-5 มิลลิเมตร

2. โรคเน่าเละ อาการใบเน่าเป็นสีเหลืองอมน้ำตาล หรือเขียวอมเหลือง เนื้อเยื่อเปื่อยยุ่ย เมื่อเน่าทั้งใบจะหลุดร่วงจากต้น และพบอาการเน่าที่ลำต้นทำให้เนื้อเยื่อบริเวณผิวโป่งพอง พบตัวอย่างที่มีกลิ่นเหม็นฉุนและไม่เหม็นฉุน เก็บตัวอย่างจากกล้วยไม้สกุลหวาย แวนดา (และแวนดาลูกผสม) ฟาแลนอปซิส ช้าง (ช้างเผือก ช้างกระ และช้างแดง) ออนซิเดียม และแคทลียา ลักษณะอาการบนกล้วยไม้สกุลต่าง ๆ จำแนกได้ดังนี้

สกุลหวาย อาการใบยอดเน่าช้ำสีน้ำตาลอมเหลือง เนื้อใบเปื่อยยุ่ยเละ ผิวใบโป่งพองจากก๊าซที่แบคทีเรียสร้างขึ้น อาการลามสู่ลำต้นและใบด้านล่าง ลำต้นเน่าช้ำ ใบเหลืองช้ำหลุดร่วง บางตัวอย่างมีกลิ่นเหม็นฉุน โดยตัวอย่างกล้วยไม้ที่แสดงอาการเน่าเละใหม่ ๆ ส่วนใหญ่ไม่มีกลิ่นเหม็นฉุน (ภาพที่ 2A)

สกุลแวนดาและช้าง อาการบนกล้วยไม้สองสกุลคล้ายกัน คือพบมากในระยะกล้า และบนต้นกล้วยไม้อายุ 2-4 ปี ใบเน่าช้ำเป็นสีเขียวอมน้ำตาล เนื้อใบเปื่อยยุ่ยเละ บางตัวอย่างพบอาการใบพอง โดยเฉพาะกล้วยไม้ช้างซึ่งใบอวบน้ำกว่าแวนดา ไม่มีกลิ่นเหม็นฉุน (ภาพที่ 2B, 2C)

สกุลฟาแลนอปซิส อาการใบเน่าช้ำเป็นสีเขียวอมน้ำตาลหรือสีเหลืองอมน้ำตาล เนื้อใบเปื่อยยุ่ย หากเป็นในต้นเล็ก ที่มีใบ 2 ใบ มักลามถึงโคนต้น ทำให้ต้นเน่าตาย ไม่มีกลิ่นเหม็นฉุน (ภาพที่ 2D)

แคทลียา พบโรคเน่าเละในกล้วยไม้ระยะกล้า ใบเน่าช้ำเป็นสีเขียวเข้มอมน้ำตาล เนื้อใบยุ่ย ใบโป่งพองเล็กน้อย อาการลุกลามจากยอดถึงโคน และทำให้ต้นตาย ไม่มีกลิ่นเหม็นฉุน (ภาพที่ 2E)

ออนซิเดียม อาการที่ลำลูกกล้วยเน่าช้ำเป็นสีน้ำตาลอมเหลือง ลามไปสู่ใบทำให้ใบเน่าช้ำหักพับ ส่วนใหญ่มีกลิ่นเหม็นฉุน (ภาพที่ 2F)

3. โรคเน่า อาการใบเน่าจากปลายใบหรือยอดสีน้ำตาลเข้ม ขอบแผลมีแถบสีเหลือง เก็บตัวอย่างโรคจากกล้วยไม้สกุลแวนดา สกุลช้าง (เขาแกะ) และสกุลม็อคคาร่า บนกล้วยไม้สกุลหวายและฟาแลนอปซิส พบอาการใบเน่าช้ำสีน้ำตาล ใบกล้วยไม้ที่เน่าสีน้ำตาลไม่นิ่มเละหรือเปื่อยยุ่ย อาการเน่าจากยอด ไม่ทำให้เกิดอาการเน่าเข้าไส้ หรือถอดยอด (ภาพที่ 3)

2. การแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจากตัวอย่างที่มีอาการต่างกัน หรืออาการเดียวกันบนกล้วยไม้ต่างสกุล เก็บเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ทั้งสิ้น 175 ไอโซเลท โดยนำไอโซเลทที่เป็นตัวแทนของลักษณะอาการ และลักษณะโคโลนีที่ต่างกัน สำหรับการจำแนกเชื้อ 4 ชนิด (ตารางที่ 2) จากการศึกษาลักษณะโคโลนี จำแนกลักษณะเบื้องต้น ได้ดังนี้

1. แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่า P198 บนอาหาร NGA เจริญหลังการบ่มเชื้อ 24-36 ชั่วโมง โคโลนีสีเขียวอ่อนใส (ภาพที่ 4ก)

2. แบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละแยกได้เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค 2 ลักษณะ ดังนี้

2.1 ไอโซเลท P169 บนอาหาร NGA เจริญหลังการบ่มเชื้อ 24- 36 ชั่วโมง โคโลนีสีขาวขุ่น รูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดประมาณ 2-3 มม. กลางโคโลนีนูน ขอบโคโลนีราบไม่เรียบ (ภาพที่ 4ข)

2.2 ไอโซเลท P 248 บนอาหาร NGA เจริญหลังการบ่มเชื้อ 24-36 ชั่วโมง โคโลนีสีเขียวถึงเขียวขี้ม้า ส่วนใหญ่เป็นรูปกระสวย กลางโคโลนีกลมนูนเล็กน้อย ขอบโคโลนีราบไม่เรียบ (ภาพที่ 4ค)

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 4ง)

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 3 ข)

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. จำแนกเชื้อโดยลักษณะสัณฐานวิทยา คุณสมบัติชีวเคมี และการใช้แหล่งคาร์บอน

ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ให้ผลการทดสอบ ดังนี้ (ตารางที่ 3)

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 ให้ผลบวกในการใช้คาร์บอน จำนวน 28 ชนิด จำแนกเชื้อเป็น *Pectobacterium chrysanthemi* (*Erwinia chrysanthemi*) ด้วยค่า probability 100% และ similarity 0.63

4. แบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุด ไอโซเลท P207 แยกจากกล้วยไม้สกุลแวนดา เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ให้ผลออกซิเดส และแคตตาเลสเป็นบวก สามารถย่อยเปปโตน สร้างกรดจากน้ำตาล

กลูโคส ทดสอบการใช้คาร์บอนที่แตกต่างกันจำนวน 95 ชนิด บนอาหารทดสอบ Biolog® GN2 แบคทีเรียให้ผลบวกในการใช้คาร์บอน จำนวน 38 ชนิด จำแนกเชื้อเป็น *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ด้วยค่า probability 98% และ similarity 0.78

ทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิ35, 38 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ ทั้ง 4 ชนิด คือ Aacat. PA206, Bg. PA 198, Ecc. PA166 , Ech. PA 248 สามารถเจริญมีชีวิตรอดได้ หลังการเลี้ยงเชื้อไว้ เป็นเวลา 7 วัน ในทุกช่วงอุณหภูมิ

วิจารณ์ผลการทดลอง

โรคใบจุดแบคทีเรีย แสดงอาการบนกล้วยไม้สกุลต่างๆ ข้อสังเกตพบว่าอาการแผลจุดมีลักษณะที่คล้ายกัน แต่ลักษณะของสีของบริเวณแผลอาจแตกต่างกัน เนื่องจากการตอบสนอง (Defense mechanism) ของสายพันธุ์ของกล้วยไม้ลูกผสม ซึ่งมีการผสมข้ามกับกล้วยไม้ต่างสกุลกันหลายสายพันธุ์ ทั้งนี้สภาพอุณหภูมิและความชื้นอาจเป็นปัจจัยรองในการพัฒนาอาการ และขนาดของแผล เมื่อเปรียบเทียบอาการกับรายงานของ Miller (1990) พบมีลักษณะที่ต่างกันเล็กน้อย เนื่องจากเป็นการรายงานอาการบนกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซิส ซึ่งพบแผลที่มีรูปร่างการทำลายไม่แน่นอน กลางแผลมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ แผลเป็นจุดช้ำฉ่ำน้ำ ทั้งนี้ไม่มีการกลาวถึงขอบแผล halo เหลือง แต่มีลักษณะที่เหมือนกันคือ แผลมีลักษณะเป็นแอ่ง ตรงกลางยุบตัว

โรคเน่าเละในกล้วยไม้สกุลหวาย แวนดา ฟาแลนอปซิส แคทลียา ช้าง และออนซิเดียม จำแนกได้แบคทีเรียสกุล *Erwinia* 2 ชนิด ซึ่งจำแนกเบื้องต้นได้จากลักษณะโคโลนีบนอาหารสังเคราะห์ NGA โดยแบคทีเรีย *E. carotovora* subsp. *carotovora* โคโลนีขาวขุ่น ค่อนข้างกลม ขอบไม่เรียบ และ*E. chrysanthemi* โคโลนีรูปกระสวย หัวท้ายแหลม ขอบไม่เรียบ สีเขียวอ่อนถึงเขียวเข้ม และบางโคโลนีสีชมพูอ่อน บนอาหาร NGM ที่พัฒนาขึ้นโดย Lee and Yu (2006) แบคทีเรีย *E. chrysanthemi* สร้างเม็ดสีน้ำเงินอมม่วง และบนอาหาร PDA โคโลนีรูปร่างคล้ายไข่ดาว ตรงกลางนูนเล็กน้อย ขอบไม่เรียบ (OEPP/EPPO, 1982) เช่นเดียวกับรายงานของ พัฒนาอาหาร NGM ชนิดแรกคือ *E. carotovora* subsp. *carotovora* พบบนกล้วยไม้สกุลออนซิเดียม เช่นเดียวกับที่เคยมีรายงานโรคเน่าเละบนกล้วยไม้ แพร่ระบาดมานานกว่า 25 ปี ในกล้วยไม้ลูกผสมแวนดา เข็ม แคทลียา หวาย ฟาแลนอปซิส ม็อคคาร่า และออนซิเดียม (นิยมรัฐ, 2544; ทัศนาพรและสุรภี, 2548) แต่จากการจำแนกสาเหตุโรค 38 ไอโซเลท พบว่าเป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคเน่าเละชนิดใหม่ คือ *E. chrysanthemi* ทำให้เกิดอาการเน่าเละบนกล้วยไม้สกุลหวาย แวนดา ฟาแลนอปซิส แคทลียา ช้าง และออนซิเดียม โดยแบคทีเรียสกุล *Erwinia* จะสร้างเอ็นไซม์เพคโตไลติก (pectolytic enzyme) ย่อยสลายเนื้อเยื่อพืชทำให้เนื้อเยื่อเปื่อยยุ่ย (De Boer and Kelman, 2001) และผิวใบโป่งพองเกิดจากการสร้างก๊าซระหว่างที่แบคทีเรียเข้าทำลายให้พืชเน่า

เละ ซึ่งพบอาการใบพองมากในว่านหางจระเข้ (Mandal and Satyabrata, 2005) เช่นเดียวกับรายงานสาเหตุโรคเน่าเละของกล้วยไม้ในต่างประเทศ Abdullah and Kadzimin (1993) จำแนกเชื้อสาเหตุโรคเน่าเละกล้วยไม้สกุลหวายและสกุลฟาแลนอปซิส ที่พบในรัฐสลันงอ ประเทศมาเลเซีย เป็น *E. chrysanthemi* เช่นเดียวกับ Uchida (2006) ที่รายงานสาเหตุโรคแบคทีเรียในกล้วยไม้สกุลหวาย เกิดจาก *E. chrysanthemi* และ *P.* gladioli pv. *gladioli* และ Cating and Hong (2008) รายงานการเกิดโรคเน่าเละของกล้วยไม้สกุลแวนดาจากแบคทีเรีย *Dickeya chrysanthemi* (*E. chrysanthemi*) ในมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการเกิดโรคลำต้นเน่าข้าวโพด จากแบคทีเรีย *E. chrysanthemi* (พรภิมล จันทร์อ่อน และคณะ, 2550) ทั้งนี้แบคทีเรีย *E. chrysanthemi* จัดเป็นศัตรูพืชกักกัน A2 list No. 53 ของ Europion Plant Protection Organization (OEPP/EPPO, 1982) ซึ่งมีพืชอาศัยมากกว่า 50 ชนิด รวมถึงกล้วยไม้สกุลฟาแลนอปซิส และไม้ดอกไม้ประดับอีกหลายชนิด จัดเป็นแบคทีเรียทนร้อน ที่สามารถเจริญและเข้าทำลายพืชที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นในสภาวะโลกร้อน ที่มีผลทำให้อุณหภูมิเฉลี่ยสูงขึ้น ส่งผลให้แบคทีเรียเจริญได้รวดเร็ว และเข้าทำลายพืชได้มากขึ้น จำเป็นต้องมีการวิจัยเพื่อการป้องกัน และการจัดการโรคในอนาคต

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจโรคในแหล่งปลูกกล้วยไม้ 18 จังหวัด พบโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย 3 โรค เก็บรวมรวมแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ 175 ไอโซเลท จำแนกแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ 4 ชนิด

1. โรคเน่า ลักษณะอาการเน่าช้ำเป็นสีน้ำตาลถึงดำเข้ม ส่วนใหญ่พบอาการจากขอบใบเน่าเข้ามาถึงกลางลำต้น จำแนกเชื้อเป็น *Burkholderia gladioli* พบอาการโรคบนกล้วยไม้สกุลหวาย ม็อคคาร่า 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 ซึ่งอาหารทั้ง

สองชนิดเหมาะสำหรับการแยกเชื้อจากตัวอย่างกล้วยไม้ พบการเกิดโรคในแหล่งปลูกกล้วยไม้สกุลแวนดา และลูกผสม สกุลแอสโคเซนดา (Ascocenda) สกุลฟาแลนอปซิส (Phalaenopsis) สกุลอะแรนเธอร่า (ลูกผสมอะแรคนิสและรีแนนเธอร่า) และสกุลช้าง (Rhynchostylis)

เอกสารอ้างอิง

ทัศนาพร ทัศคร และสุรภี กีรติยะอังกูร. โรคกล้วยไม้ หน้า 3-31. *ใน* โรคไม้ดอก. เอกสารวิชาการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. คู่มือโรคไม้ดอกไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. กลุ่มวิจัยโรคพืชผัก ไม้ดอกและไม้ประดับ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร. 50 หน้า

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2551. เตือนภัย! โรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้. วารสารข่าว No. สมาคมผู้ประกอบการสวนกล้วยไม้ไทย ร่วมกับศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร จังหวัดสมุทรสาคร (พืชสวน).

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และจงวัฒนา พุ่มหิรัญ. 2552. การศึกษาสาเหตุโรคใบจุดแบคทีเรียกล้วยไม้สกุลแวนดา. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 วันที่ 17-20 มีนาคม 2552.

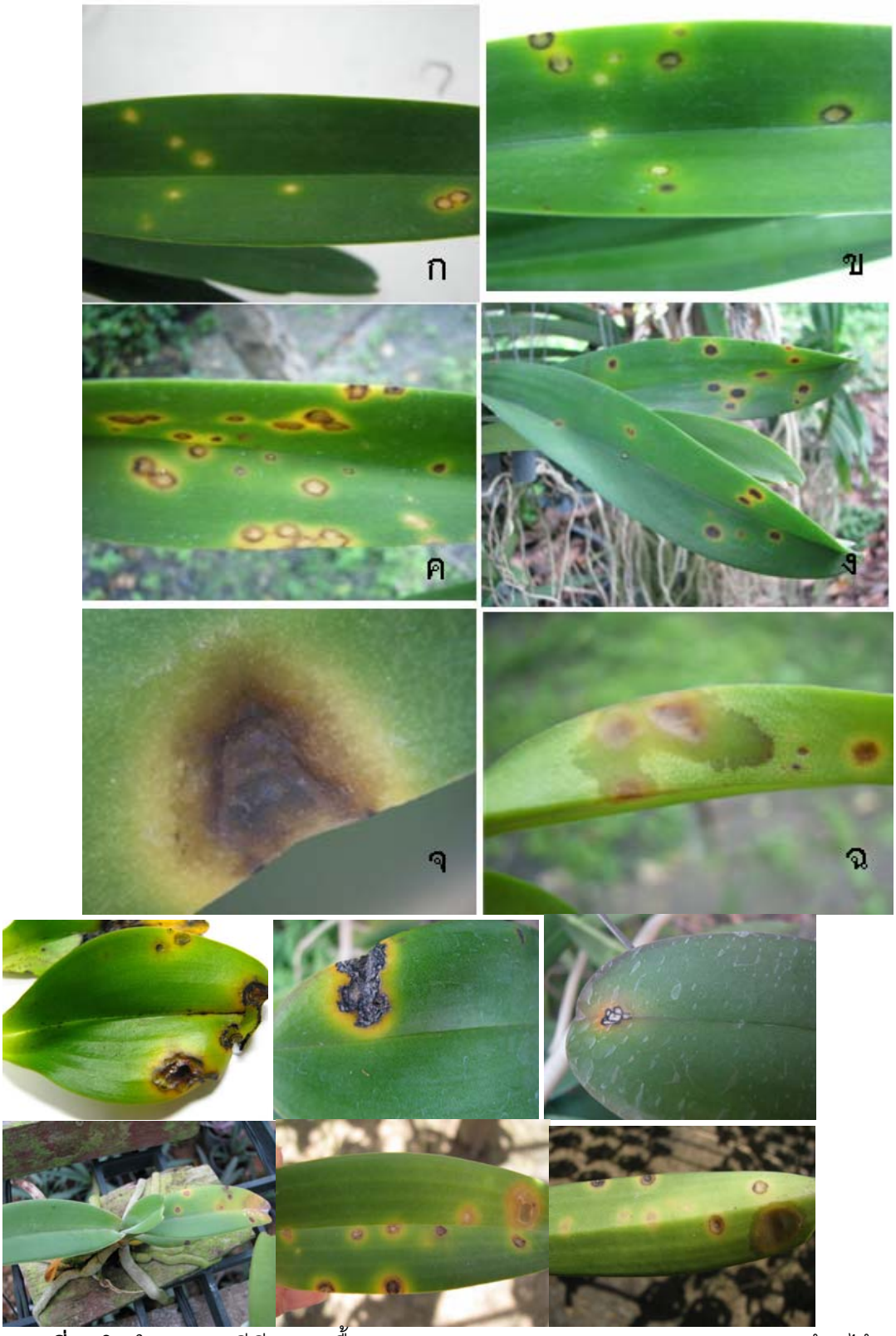
Chuenchitt, S., Dhirabhava, W., Karnjanarat, S., Buangsuwon, D., and Uematsu, T. 1983. A new bacterial disease on orchids Dendrobium sp. Caused by *Pseudomonas gladioli*. Kasetsart J. 17: 26-36. Keith, L. M. Sewake, K.T. and Zee. F.T. 2005. Isolation and characterization of *Burkholderia gladioli* from 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.

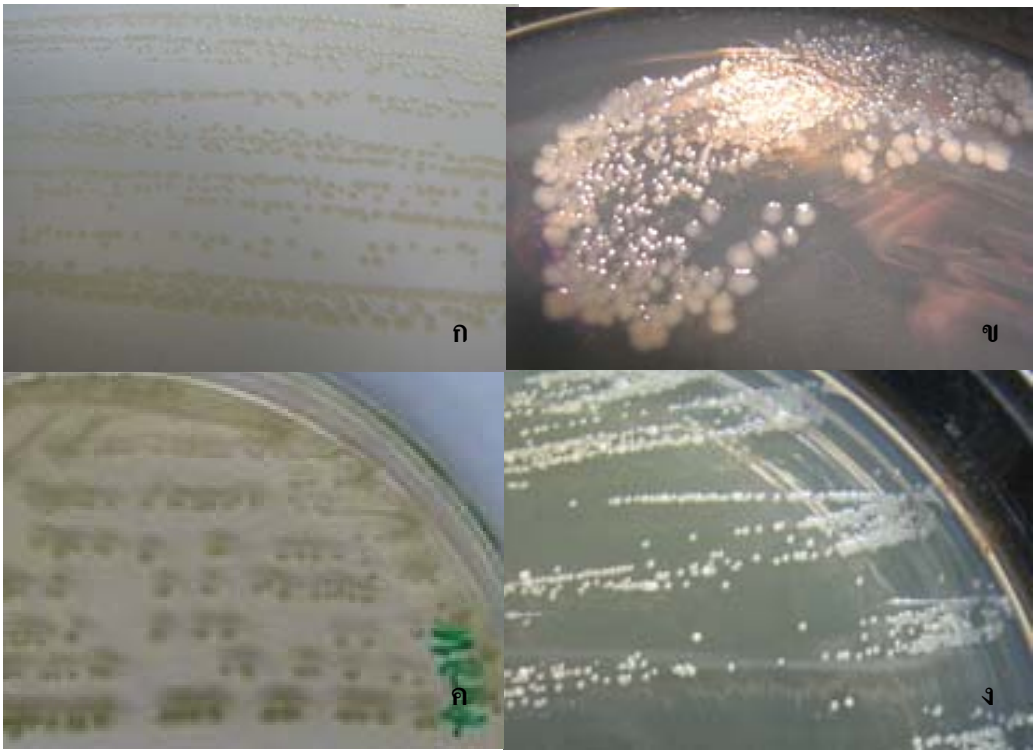
http://www.fao.org/agris/search/display.do;jsessionid-OAFA16C68D30999F6D009COsearched date: 24-08-2550



ภาพที่ 1 โรคใบจุดแบคทีเรีย จากเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* บนกล้วยไม้สกุลการค้าต่าง ๆ ได้แก่ สกุลแวนดา สกุลฟาแลนอปซิส และสกุลช้าง

ภาพที่ 2 โรคเน่าเละ จากแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* และ *E. chrysanthemi* บนกล้วยไม้สกุลการค้าต่าง ๆ ได้แก่ สกุลหวาย สกุลแวนดา สกุลช้าง สกุลฟาแลนอปซิสและสกุลออนซิเดียม

ภาพที่ 3 โรคเน่าจากแบคทีเรีย *Burkholderia gladioli* บนกล้วยไม้สกุลแวนดา



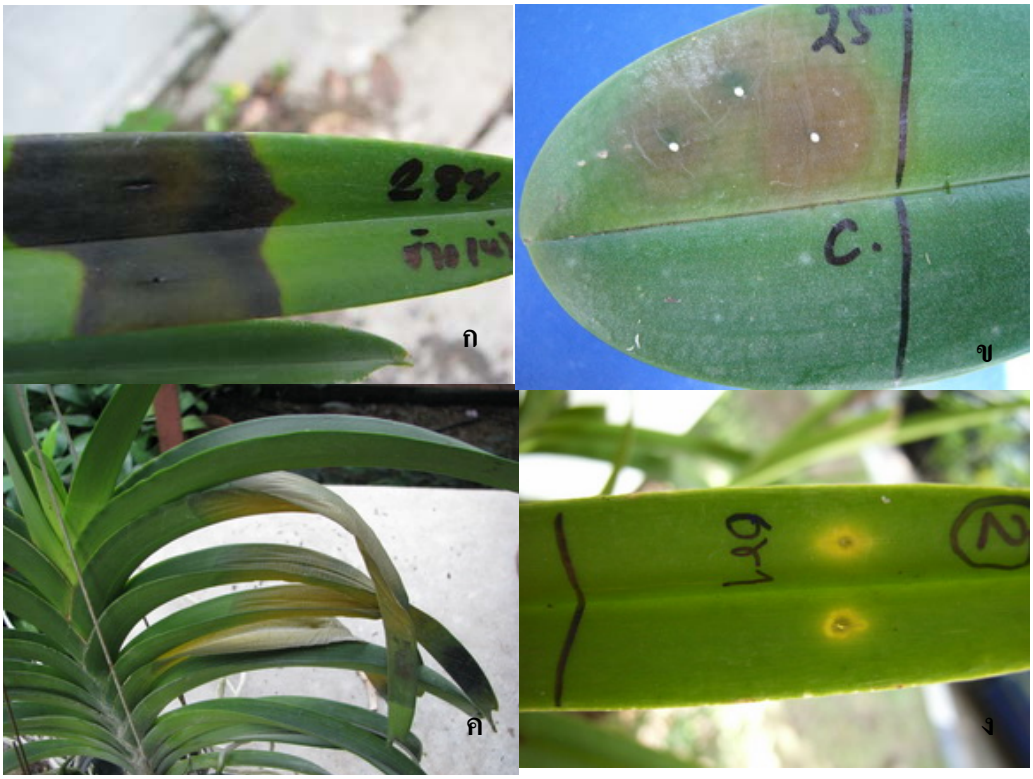
ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคกล้วยไม้ บนอาหาร NGA อายุ 48 ชั่วโมง

ก *Burkholderia gladioli* สาเหตุโรคเน่า

ข *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* สาเหตุโรคเน่าเละ

ค *Erwinia chrysanthemi* สาเหตุโรคเน่าเละ

ง *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* สาเหตุโรคใบจุด



ภาพที่ 5 อาการโรคจากการปลูกเชื้อไอโซเลทต่าง ๆ

ก อาการแผลเน่าจากการปลูกเชื้อ *B. gladioli*

ข อาการเน่าเละ จากการปลูกเชื้อ *E. carotovora* subsp. *carotovora*

ค อาการเน่าเละจากการปลูกเชื้อ *E. chrysanthemi*

ง อาการแผลจุดจากการปลูกเชื้อ *A. avenae* subsp. *cattleyae*

ตารางที่ 1 สรุปผลการเกิดโรคแบคทีเรียของกล้วยไม้สกุลการค้า จากการสำรวจโรค ปี 2550-2552

สกุลกล้วยไม้\ โรค	โรคใบจุด (Aacat.)	โรคเน่า (Bg.)	โรคเน่าเละ (Ecc.)	โรคเน่าเละ (Ech.)
1. หวาย	-	+	-	+++
2. แวนดา	+++	++	-	++
3. แอสโคเซนดา	++	++	-	++
4. ม็อคคาร่า	-	++	-	-
5. แคทลียา	+	-	-	+
6. ออนซิเดียม	-	-	+	+
7. ช้าง	+++	-	-	+
8. ม้าวิ่ง	+	-	-	+
9. อะแรนเธอร่า	+	-	-	-

หมายเหตุ; +++ พบโรคมาก, + พบโรคน้อย และ – ไม่พบการเกิดโรค

ตารางที่ 2 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 3 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	-	-	+	+

ตารางที่ 3 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**			
	P 207	P 198	P 169	P 248
D-psicose	-	-	+	+
D-raffinose	-	-	+	+
L-rhamnose	-	-	+	-
D-sorbitol	+	+	-	-
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	+	+	-	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**			
	P 207	P 198	P 169	P 248
D,L-lactic acid	+	+	-	-
Malonic acid	-	+	-	-
Propionic acid	+	+	-	-
Quinic acid	+	+	-	-
D-saccharic acid	-	+	-	-
Sebacic acid	+	+	-	-
Succinic acid	+	+	-	+
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	+	+	-	-

ตารางที่ 3 **(ต่อ)**

แหล่งคาร์บอน	**สายพันธุ์แบคทีเรีย**			
	P 207	P 198	P 169	P 248
L-threoine	+	+	-	-
D-L-carnitine	-	+	-	-
ɣ-amino-butyric acid	+	+	-	-
Urocanic acid	-	+	-	-
Inosine	-	-	-	-
Uridine	-	-	-	-
Thymidine	-	-	-	-
Phenyethyl-amine	-	+	-	-
Putrescine	-	-	-	-
2-aminocethanol	+	+	-	-
2-3-butanediol	-	-	-	-
Glycerol	+	+	+	+
D-L-α-glycerol-phosphate	-	+	-	+
α-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*

การจัดการดาดตะกั่ว (*Hemigraphis reptans*)ในกล้วยไม้สกุลหวาย

Red lily (*Hemigraphis reptans*) Weed Management in Orchid (*Dendrobium* spp.).

เสริมศิริ คงแสงดาว สิริชัย สาธุวิจารณ์ จรัญญา ปิ่นสุภา
กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การจัดการดาดตะกั่วชนิดที่เป็นวัชพืชขึ้นบนวัสดุปลูกกล้วยไม้สกุลหวาย ที่อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม เมื่อตุลาคม 2551 ถึงกันยายน 2552 ประกอบด้วย 2 กิจกรรม 1) กำจัดดาดตะกั่วโดยใช้สารกำจัดวัชพืช 1.1)สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก เพื่อควบคุมการงอกของดาดตะกั่ว กำจัดต้นดาดตะกั่วออกจากกระถางกล้วยไม้ก่อนเริ่มทดลอง วิธีใช้สาร 4 ชุดการทดลอง คือการพ่นทับต้นกล้วยไม้แล้วรดน้ำตาม การทาวัสดุปลูกอัตราเดียวกับการพ่นทับ การพ่นวัสดุปลูกด้วยอัตราลดลง 10 เท่าของการพ่นทับ การจุ่มวัสดุปลูกด้วยอัตราลดลง 15 เท่าของพ่นทับ พบสารที่มีแนวโน้มควบคุมได้ดีตามลำดับ คือ flumioxazin, oxyfluorfen, oxadiazon, pendimethalin, acetochlor, metribuzin, imazapic, trifluralin และ s-metolachlor วิธีการพ่นทับและวิธีการทาต้นกล้วยไม้มีอาการเป็นพิษชัดเจน ส่วนวิธีการพ่นรอบโคนและวิธีการจุ่ม ต้นกล้วยไม้มีอาการเป็นพิษเล็กน้อยจนถึงปกติ ที่ 250 วันหลังใช้สาร พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ใช้ diuron, flumioxazin, acetochlor, dimethenamid, oxyfluorfen, oxadiazon, s-metolachlor และ metribuzin มีการเจริญเติบโตและลักษณะช่อดอกปกติ 1.2) สารกำจัดวัชพืชกำจัดต้นดาดตะกั่ว เพื่อกำจัดดาดตะกั่วแบบหลังงอก โดยใช้กล้วยไม้ที่มีต้นดาดตะกั่วขึ้นอยู่ วิธีใช้สาร 2 ชุดการทดลอง ใช้วิธีการทาต้นดาดตะกั่ว และวิธีการพ่นต้นดาดตะกั่วโดยลดอัตราลง 10 เท่าของอัตราที่ทาต้น พบว่าวิธีการทาต้นดาดตะกั่วตายดีกว่าวิธีการพ่น glufosinate และ paraquat และ 2,4-D amine กำจัดต้นดาดตะกั่วได้ดี แต่เป็นพิษรุนแรงต่อต้นกล้วยไม้ glyphosate เป็นพิษปานกลาง การทา flumioxazin ควบคุมได้ปานกลาง และค่อนข้างปลอดภัยต่อต้นกล้วยไม้ 2) ศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดดาดตะกั่วในกระถางกล้วยไม้สกุลหวาย ตอของดาดตะกั่วที่ขึ้นอยู่ในกาบมะพร้าวกำจัดออกให้หมดได้ยาก ต้องกำจัดไม่ให้เหลือตอ ระยะเวลากำจัดที่เหมาะสมคือต้องกำจัดตั้งแต่ระยะต้นอ่อน

รหัสการทดลอง 01-15-49-01-01-03-04-52

คำนำ

กล้วยไม้สกุลหวาย *Dendrobium* spp. อยู่ในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) มีระบบรากกึ่งอากาศ เจริญเติบโตประเภทแตกหน่อ เมื่อสุดลำจะออกดอกจากตาที่ปลายลำ การจัดการวัชพืชต้องเริ่มตั้งแต่ทำความสะอาดวัสดุปลูกเพื่อป้องกันไม่ให้เมล็ดวัชพืชติดเข้ามาในแปลง น้ำที่ใช้รดกล้วยไม้ต้องปราศจากเมล็ดวัชพืช และกำจัดวัชพืชตั้งแต่ยังเล็กและกำจัดอย่างต่อเนื่อง หากยังมีปัญหาวัชพืชหรือขาดแคลนแรงงาน การใช้สารกำจัดวัชพืชเป็นทางเลือกสุดท้าย แต่รากอากาศของกล้วยไม้เกาะบนวัสดุปลูก โอกาสที่รากจะสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชจึงมีมาก สารกำจัดวัชพืชจึงเป็นพิษกับกล้วยไม้ได้ง่าย ณรงค์ และคณะ (2525) ทดลองพบว่าการใช้ diuron อัตรา 640 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ พ่นต้นกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์ 4 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 3 เดือน ควบคุมวัชพืชได้ดีและนานถึง 12 เดือน ส่วนอัตรา 320 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ได้ผลรองลงมา ควบคุมวัชพืชได้นาน 6-8 เดือน การใช้ simazine อัตรา 320 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ควบคุมวัชพืชได้นาน 3-4 เดือน และมีผลทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตลดลง สำหรับ bromacil และ atrazine พบว่าเป็นพิษต่อกล้วยไม้ DeFrank (2000) ทดลองพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกรอบโคนต้น ระวังละอองสารสัมผัสใบและดอกกล้วยไม้ พบว่า sulfentrazone ไม่แสดงอาการเป็นพิษกับกล้วยไม้ แต่ทำให้กล้วยไม้ชงักและลดการเจริญเติบโต เมื่อใช้ isoxaben และ oryzalinทำให้น้ำหนักแห้งของรากกล้วยไม้ลดลง และสรุปว่า diuron เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อกล้วยไม้ที่สุด รองลงมาคือ oryzalin สำหรับการทดลองพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก โดยพ่นทับกล้วยไม้ พบว่า carfentrazone เป็นพิษต่อกล้วยไม้รุนแรง สาร clopryralid ทำให้กล้วยไม้ Dendrobium ต้นใหญ่ลำต้นบิด และ diuron เป็นพิษเล็กน้อย พัชรินทร์ (2547) แนะนำสารกำจัดวัชพืชที่ปลอดภัยต่อกล้วยไม้คือ diuron80%WP อัตรา 5 กรัมผลิตภัณฑ์ต่อน้ำ 20 ลิตร (16 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่) เป็นการพ่นกำจัดวัชพืชแบบก่อนวัชพืชงอกและวัชพืชที่เริ่มงอกมีใบ 2-3 ใบ ซึ่งเป็นอัตราที่ต่ำมากเมื่อเทียบจากรายงานของณรงค์และคณะ และจากการสอบถามเกษตรกร ทำให้ได้ข้อมูลว่า การใช้ diuron หากใช้มากกว่าอัตราที่แนะนำ จะทำให้ต้นกล้วยไม้ชะงักการเจริญเติบโต ดังนั้นการใช้ diuron ต่อเนื่องเป็นเวลานาน จึงเป็นสาเหตุให้วัชพืชบางชนิดและวัชพืชต้นโตเหลือรอด เพิ่มปริมาณขึ้นมาเป็นวัชพืชสำคัญ เช่น ดาดตะกั่ว

ดาดตะกั่ว ชนิดที่พบตามสวนไม้ประดับและสวนกล้วยไม้ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hemigraphis reptans* (G. Forst.) T. Anderson ex Hemsl. (พนารัตน์, 2552) ชื่อสามัญอังกฤษ

red lily, waffle plant มีถิ่นกำเนิดในอินโดนีเซียพบเป็นวัชพืชในสนามหญ้าของฮาวาย จัดอยู่ในวงศ์ Acanthaceae เป็นวัชพืชข้ามปี ลำต้นอ่อน ข้อสั้น แผ่กิ่งก้านสาขาหรือทอดนอน ใบรูปไข่ค่อนข้างเรียว ปลายใบโค้งมน ด้านใต้ใบมีสีม่วง มีขนบนใบ ดอกสีขาวเล็ก ตรงกลางมีสีม่วง ฐานกลีบดอกเชื่อมกันรูปร่างคล้ายแตร ผลเป็นกระเปาะเรียวยาว เปลือกฝักแยก 2 ซีก ขอบมีลักษณะเป็นหนามซึ่งเป็นที่ยึดของเมล็ด เมล็ดรูปร่างกลมมีส่วนคล้ายตะขอ ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด แต่ส่วนใหญ่มักขยายพันธุ์จากการตัด (Wagner etal., 1999) ฝักแก่จะดีดเมล็ดออกไปได้ไกล แมลงที่พบเป็นปัญหากับดาดตะกั่วคือ scale และ whiteflies (Anonymous, 2001-2008)

ในปี 2551 จากการทดลองเบื้องต้นของพัชรินทร์ วณิชอนันต์กุล และคณะ ได้ทดลองใช้แปรงป้ายสารละลายสารกำจัดวัชพืช บนต้นและใบดาดตะกั่วในกระถางกล้วยไม้ พบสารกำจัดวัชพืช 2 ชนิด คือ glufosinate-ammonium และ paraquat กำจัดต้นดาดตะกั่วได้ดี แต่มีโอกาสเป็นอันตรายกับกล้วยไม้ได้สูง และต่อมาเสริมศิริ คงแสงดาว ได้ทดลองให้คนงาน 14 คน ใช้แปรงป้ายสารละลายสารกำจัดวัชพืช glufosinate-ammonium พบว่าผลการกำจัดดาดตะกั่วจะแตกต่างกันขึ้นขนาดต้นดาดตะกั่วและวิธีการป้ายของแต่ละบุคคล มีทั้งกำจัดได้ดีจนถึงกำจัดไม่ได้ แสดงว่าวิธีการปฏิบัติเพื่อใช้สารกำจัดวัชพืชวิธีนี้ยังมีข้อจำกัดอยู่มาก

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้เพื่อคัดเลือกหา ชนิด อัตรา และวิธีการใช้ สารกำจัดวัชพืชที่มีแนวโน้มสามารถกำจัดดาดตะกั่วได้ ไม่มีผลกระทบต่อกล้วยไม้สกุลหวาย และหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดดาดตะกั่วที่ขึ้นในกระถางกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้ผลดีที่สุด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.แปลงเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้สกุลหวายที่มีปัญหาวัชพืชดาดตะกั่ว

2.สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก 15 ชนิด ได้แก่ diuron80%WP, flumioxazin50%WP, oxyfluorfen 23.5%EC, oxadiazon25%EC, pendimethalin 33%EC, dimethenamid 90%EC, acetochlor50%EC, metribuzin70%WP, clomazone48%EC, imazapic24%AS, hexazinone75%DF, imzapyr5.3%SL, tebuthiuron50%SL, trifluralin50%EC, s-metolachlor96%EC

3. สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอก 7 ชนิด ได้แก่ 2,4-Damine82.1%SL, glyphosate48%SL, glufosinate-ammonium15%SL, paraquat27.6%SL, fluazifop-p-butyl15%EC, propaquizafop10%EC, quizalofop6%EC

4.เครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืช แบบสูบโยกสะพายหลังพร้อมหัวพ่นรูปพัด กระบอกพ่นน้ำที่ปรับหัวพ่น (ปกติใช้สำหรับให้น้ำและปุ๋ยกล้วยไม้) แปรงทาสีขนาด 3/4 นิ้ว ถังน้ำพลาสติก สารป้องกันกำจัดโรคและแมลงตามความจำเป็นพร้อมเครื่องพ่น

5. มีดเล็กปลายแหลม กรรไกรเล็กปลายแหลม ปากคีบปลายแหลมเล็ก

วิธีการ ประกอบด้วย 2 กิจกรรมย่อย

1.<u>กำจัดวัชพืชดาดตะกั่วโดยใช้สารกำจัดวัชพืชในกล้วยไม้สกุลหวาย</u>

1. 1 <u>การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกกำจัดดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย</u> วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 17 กรรมวิธี ใช้สารกำจัดวัชพืช 16 ชนิด เปรียบเทียบกับกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน ทำการทดลอง 4 ชุด

การทดลองชุดที่ 1.1. 1 พ่นสารกำจัดวัชพืชทับต้นกล้วยไม้ด้วยถังโยกสะพายหลังแล้วรดน้ำตาม ใช้สารกำจัดวัชพืช diuron80%WP, flumioxazin50%WP, oxyfluorfen 23.5%EC, oxadiazon25%EC, pendimethalin 33%EC, dimethenamid 90%EC, acetochlor50%EC, metribuzin70%WP, clomazone48%EC, imazapic24%AS, hexazinone75%DF, imzapyr5.3%SL, tebuthiuron50%SL, trifluralin50%EC, s-metolachlor96%EC และ diuron80%WP อัตรา 120, 10, 35.25, 100, 165, 225, 200, 105, 144, 12, 90, 15.9, 400, 288, 115.2 และ 16 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ตามลำดับ ผสมน้ำอัตรา 80 ลิตรต่อไร่ พ่นด้วยถังโยกสะพายหลัง พ่นกล้วยไม้ 3 กระถางใช้สารละลาย 5 มิลลิลิตร

การทดลองชุดที่ 1.1.2. ใช้แปรงทาสีทาวัสดุปลูกรอบโคนต้นกล้วยไม้ โดยใช้สารสารละลายกำจัดวัชพืชชนิดและอัตราเดียวกับวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทับต้นกล้วยไม้การทดลองชุดที่ 1.1 ทากล้วยไม้ 3 กระถางใช้สารละลาย 25 มิลลิลิตร

การทดลองชุดที่ 1.1.3. พ่นรอบโคนต้นกล้วยไม้โดยใช้กระบอกพ่นน้ำที่ปรับหัวพ่นได้ โดยใช้สารสารละลายกำจัดวัชพืชชนิดกับวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทับต้นกล้วยไม้การทดลองชุดที่ 1.1 โดยอัตราลดลง 10 เท่า พ่นกล้วยไม้ 3 กระถางใช้สารละลาย 50 มิลลิลิตร

การทดลองชุดที่ 1.1.4.การจุ่มเฉพาะส่วนของวัสดุปลูกในสารกำจัดวัชพืช โดยใช้สารสารละลายกำจัดวัชพืชชนิดกับวิธีการพ่นสารกำจัดวัชพืชทับต้นกล้วยไม้การทดลองชุดที่ 1.1 โดยด้วยอัตราลดลง 15 เท่าของพ่นทับ จุ่ม พ่นกล้วยไม้ 3 กระถางใช้สารละลาย 225 มิลลิลิตร

1.2. <u>การใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดต้นดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย</u> วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 12 กรรมวิธี ใช้สารกำจัดวัชพืช 8 ชนิด และสารคู่ผสม 3 คู่ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน และกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการทดลอง 2 ชุด

การทดลองชุดที่ 1.2.1 ใช้แปรงทาสีทากำจัดต้นและใบดาดตะกั่วรอบโคนต้นกล้วยไม้ โดยใช้สารสารละลายกำจัดวัชพืช 2,4-Damine82.1%SL, glyphosate48%SL, glufosinate-ammonium15%SL, paraquat27.6%SL, flumioxazin50%WP, oxyfluorfen 23.5%EC, oxadiazon25%EC, diuron80%WP, diuron+ paraquat, diuron+ oxyfluorfen, diuron+ oxadiazon อัตรา 164.2, 240, 180, 138, 10, 35.25, 100, 60+82.8, 60+23.5, 60+75 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ตามลำดับ ผสมน้ำอัตรา 80 ลิตรต่อไร่ ทา 1 ต้นใช้สารละลาย 10 มิลลิลิตร

การทดลองชุดที่ 1.2.2. พ่นกำจัดต้นดาดตะกั่วรอบโคนต้นกล้วยไม้ โดยใช้กระบอกพ่นน้ำที่ปรับหัวพ่นได้ โดยใช้สารสารละลายกำจัดวัชพืชชนิดและอัตราเดียวกับวิธีการทาต้นดาดตะกั่วการทดลองชุดที่ 2.1. โดยอัตราลดลง 10 เท่า พ่น 1 ต้นใช้สารละลาย 20 มิลลิลิตร

คัดเลือกต้นกล้วยไม้สกุลหวายที่ปลูกในกาบมะพร้าว และมีต้นดาดตะกั่วขึ้นรบกวน ขนาดต้นใกล้เคียงกันกระถางละ 1 ต้น การทดลองที่ 1 จำนวน 3 ต้นต่อกรรมวิธี กำจัดต้นดาดตะกั่วออกก่อนเริ่มการทดลอง และการทดลองที่ 2 จำนวน 6 ต้นต่อกรรมวิธี ไม่ต้องกำจัดต้นดาดตะกั่วออก แต่ละการทดลองใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดดาดตะกั่วตามวิธีการใช้ และกรรมวิธีที่กำหนด ดูแลรดน้ำ กำจัดโรคและแมลง และใส่ปุ๋ย ตามปกติที่เกษตรกรปฏิบัติอยู่

บันทึกอาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นและดอก กล้วยไม้ บันทึกประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืชดาดตะกั่ว บันทึกจำนวนต้น และน้ำหนักแห้งวัชพืชดาดตะกั่ว ในกระถางกล้วยไม้แต่ละกระถาง การทดลองที่ 1 ที่ 40 วันหลังใช้สาร และการทดลองที่ 2 ที่ 30 วันหลังใช้สาร นับจำนวนต้นแล้วนำต้นวัชพืชไปอบหาน้ำหนักแห้ง บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นและดอกกล้วยไม้

2.<u>ศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดดาดตะกั่วในกระถางกล้วยไม้สกุลหวาย</u> เพื่อให้ได้ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณดาดตะกั่ว และระยะเวลาที่จะทำให้ดาดตะกั่วหมดไปจากพื้นที่

2.1 ไม่มีแผนการทดลอง มี 3 กรรมวิธี 3 ซ้ำ กรรมวิธีละ 6 กระถาง ประกอบด้วยกรรมวิธีที่กำจัดต้นดาดตะกั่วในช่วงระยะเวลา 10, 20 และ 30 วัน หลังการกำจัดดาดตะกั่วออกจากกระถางทั้งหมด ทำการกำจัดต่อเนื่องนาน 60 วัน

2.2 ไม่มีแผนการทดลอง มี 2 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆ ละ 40 กระถาง ทำการกำจัดดาดตะกั่วออกให้หมด แล้วจึงเริ่มกำจัด ที่ 30, และเริ่มกำจัดที่ 40 วัน และกำจัดต่อเนื่องโดยทิ้งช่วงเวลาห่างกันประมาณ 30 วัน กำจัด 5 -6 ครั้ง

2.3 ไม่มีแผนการทดลอง มี 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ๆ ละ 40 กระถาง ทำการกำจัดดาดตะกั่วออกให้หมด แล้วปล่อยให้ดาดตะกั่วงอกใหม่นาน 30 วัน, นาน 40 วัน, นาน 50 วัน และนาน 60 วัน แล้วจึงกำจัดดาดตะกั่วออก และทุกกรรมวิธีกำจัดอีก 1 ครั้งที่ 30 วัน

คัดเลือกต้นกล้วยไม้สกุลหวายที่ปลูกในกาบมะพร้าว และมีต้นดาดตะกั่วขึ้นรบกวน ขนาดต้นดาดตะกั่วใกล้เคียงกัน ทำการกำจัดออกให้หมดก่อนเริ่มการทดลอง วิธีการกำจัดดาดตะกั่วต้นโตใช้มีดปลายแหลม หรือใช้กรรไกรปลายแหลมเล็ก ตัดบริเวณโคนต้นชิดวัสดุปลูก ต้นเล็กขนาดที่มือจับได้ใช้มือถอนออก ต้นที่อยู่ตามซอกต้นกล้วยไม้คีบออกโดยใช้ปากคีบปลายแหลมเล็ก

ทุกครั้งที่กำจัดดาดตะกั่ว บันทึกจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งดาดตะกั่วแต่ละกระถาง แยกต้นดาดตะกั่วที่งอกจากเมล็ด และต้นที่งอกจากตอ นับจำนวนต้นแล้วนำไปอบหาน้ำหนักแห้ง

เวลาและสถานที่

ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2552 ที่แปลงปลูกกล้วยไม้ อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1.<u>การกำจัดวัชพืชดาดตะกั่วโดยใช้สารกำจัดวัชพืชในกล้วยไม้สกุลหวาย</u>

1.1 <u>การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกกำจัดดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย</u>

วิธีใช้สารกำจัดวัชพืชที่นิยมปฏิบัติในแปลงกล้วยไม้ คือการพ่นทับ การทดลองนี้คัดเลือกอัตราต่ำสุดของคำแนะนำสารแต่ละชนิดพ่นทับ และใช้น้ำละลายสารกำจัดวัชพืชในอัตรา 80 ลิตรต่อไร่ การทดลองพ่นรอบโคนต้น ซึ่งต้องใช้น้ำมากกว่าการพ่นทับจึงลดอัตราลง 10 เท่าของพ่นทับ ส่วนการทดลองจุ่ม พื้นที่สัมผัสสารจะมากกว่าการพ่นรอบโคนและต้องมีสารบางส่วนซึมซับเข้าไปในกาบมะพร้าว จึงลดอัตราลง 15 เท่าของพ่นทับ และการทดลองทาโคนต้นสารกำจัดวัชพืชน่าจะสัมผัสผิวหน้าวัสดุปลูกเท่ากับพ่นทับ จึงใช้สารอัตราเท่ากับการพ่นทับ แต่หลังจากปฏิบัติการตามวิธีการใช้สารแบบต่างๆกับต้นกล้วยไม้แล้ว วัดปริมาณสารละลายที่ใช้ไป พบว่าปริมาณสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ไม่สอดคล้องกับความเข้มข้นที่เริ่มทดลอง พบว่าวิธีการพ่นทับใช้ปริมาณสารกำจัดวัชพืช

น้อยที่สุด และปริมาณสารกำจัดวัชพืชที่สูงขึ้นตามลำดับคือการพ่นโคนต้น การจุ่ม และการทาเป็นวิธีการที่ใช้สารกำจัดวัชพืชมากที่สุด ทำให้ผลการกำจัดดาดตะกั่วได้ผลดีที่สุด (ภาพที่ 1)

ประสิทธิภาพการควบคุมดาดตะกั่ว

หลังใช้สารกำจัดวัชพืช 10 วัน พบว่าวิธีการพ่นทับมีต้นดาดตะกั่วที่งอกจากตอมากกว่าวิธีการใช้แบบอื่นๆ รองลงมาคือวิธีการทา ต้นดาดตะกั่วที่งอกจากตอมีลักษณะแตกต่างกันไปตามชนิดสารกำจัดวัชพืช เช่น ปกติ ด่าง แคระแกรน ขอบใบแดง แตกหน่อจำนวนมาก ใบขอดขาว โดยวิธีการทาต้นจะควบคุมต้นดาดตะกั่วมากที่สุด การควบคุมการงอกของเมล็ดดาดตะกั่ว พบว่าวิธีการจุ่มควบคุมการงอกของเมล็ดดาดตะกั่วได้มากกว่า และต้นดาดตะกั่วที่งอกขึ้นมาแสดงอาการแคระแกรนมากกว่าวิธีการใช้แบบอื่นๆ

จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งต้นดาดตะกั่ว

ที่ 40 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช พบว่าวิธีการทาวัสดุปลูกรอบโคนต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งต้นดาดตะกั่วงอกน้อยที่สุด ทั้งจากตอเดิมและเมล็ดที่ฝังตัวอยู่ในวัสดุปลูก โดยวิธีการทามีจำนวนต้นดาดที่งอกจากเมล็ดน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับวิธีการใช้แบบอื่นๆ วิธีการจุ่มมีจำนวนต้นที่งอกจากตอมากที่สุด สารกำจัดวัชพืชที่มีแนวโน้มควบคุมดาดตะกั่วแบบก่อนงอกได้ดีตามลำดับคือ flumioxazin, oxyfluorfen, oxadiazon, pendimethalin, acetochlor, metribuzin, imazapic, trifluralin และ s-metolachlor (ภาพที่ 2 และ 3) น้ำหนักแห้งของต้นดาดตะกั่วที่งอกจากตอแสดงให้เห็นว่าต้นที่งอกจากตอมีขนาดต้นที่โตมากกว่าต้นที่งอกจากเมล็ดอย่างมาก กรรมวิธีที่ทาต้น ต้นดาดตะกั่วที่งอกขึ้นมาจากตอจะแสดงอาการแคระแกรน และมีสีที่ผิดปกติมากกว่าวิธีการใช้แบบอื่นๆ

อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อกล้วยไม้

หลังใช้สารกำจัดวัชพืช 10 วัน ต้นกล้วยไม้ที่ใช้วิธีการพ่นทับและวิธีการทาวัสดุรอบโคนต้นแสดงอาการเป็นพิษชัดเจน ต้นกล้วยไม้แสดงอาการเป็นพิษตั้งแต่ปานกลาง จนถึงรุนแรง ตะเกียงมีรูปร่างผิดปกติ จำนวนมาก ส่วนวิธีการพ่นวัสดุปลูกรอบโคนต้นและวิธีการจุ่ม ต้นกล้วยไม้ไม่เป็นพิษหรือมีอาการเป็นพิษเพียงเล็กน้อย พบว่า clomazone ทำให้ต้นกล้วยไม้และ ช่อดอกด่าง, flumioxazin เป็นพิษปานกลางต่อกล้วยไม้ ส่วน acetochlor, dimethenamid, oxyfluorfen, oxadiazon, s-metolachlor, metribuzin, tebuthiuron, hexzinone, , imazapyr และ imazapic เป็นพิษเล็กน้อยต่อกล้วยไม้แสดง ภายใน 30 วันหลังใช้สาร กรรมวิธีที่ใช้ flumioxazin,

acetochlor, dimethenamid, oxyfluorfen, oxadiazon, s-metolachlor และ metribuzin ใบกล้วยไม้ที่แตกใหม่เจริญเติบโตเป็นปกติ ส่วน clomazone, tebuthiuron, hexzinone, , imazapyr และ imazapic อาการเป็นพิษยังคงแสดงต่อเนื่อง และรุนแรงเพิ่มขึ้น หน่อที่งอกใหม่มีลักษณะอวบอ้วนผิดปกติ หรือหน่อคด ซึ่งเมื่อหน่อนั้นโตมากขึ้นเจริญเป็นตะเกียงที่มีโคนใหญ่ และในที่สุด hexazinone ทำให้ต้นกล้วยไม้ตาย สารกำจัดวัชพืชบางชนิดมีผลทำให้ก้านช่อดอกสั้น หรืออวบอ้วน หรือดอกมีรูปร่างผิดปกติ จากการสังเกตอาการของช่อดอกกล้วยไม้ต่อเนื่องจนถึง 250 วันหลังใช้สาร พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ใช้ diuron, flumioxazin, acetochlor, dimethenamid, oxyfluorfen, oxadiazon, s-metolachlor และ metribuzin ฟื้น มีการเจริญเติบโตและลักษณะช่อดอกปกติ

<u>ผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้</u>

การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ที่ 120 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช ต้นกล้วยไม้ส่วนใหญ่มีความสูงใกล้เคียงกับการที่ไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช โดยวิธีการที่จุ่มมีความสูงต้นน้อยที่สุด โดยเฉพาะต้นกล้วยไม้ในกรรมวิธีที่ใช้ imazapic และ hexazinone ซึ่งมีน้ำหนักต้นสดน้อยที่สุด รองลงมาคือวิธีการทาพบว่า tebuthiuron, clomazone, imazapyr, imazapic และ hexazinone มีความสูงน้อยกว่าการใช้สารชนิดอื่น ค่าเฉลี่ยจำนวนช่อดอกกล้วยไม้รวมที่ 250 วันพบว่า การใช้ diuron มีจำนวนช่อดอกกล้วยไม้รวมมากที่สุด รองลงมาคือ pendimethalin และ metribuzin ผลโดยรวมช่อดอกกล้วยไม้มีลักษณะปกติ สำหรับ clomazone แม้ว่าจะมีจำนวนช่อดอกรวมมาก แต่ช่อดอกไม่ปกติ (ตารางที่ 1) เมื่อแยกองค์ประกอบของช่อดอกกล้วยไม้ โดยเฉลี่ย (ตารางที่ 2) พบว่าความยาวก้านช่อดอก ความยาวช่อดอกและจำนวนดอกมีความแปรปรวนมาก

1.2 <u>การใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดต้นดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย</u>

<u>ประสิทธิภาพการควบคุมดาดตะกั่ว</u>

หลังใช้สาร พบว่าวิธีการทาด้วย glufosinate-ammonium, paraquat, diuron+paraquat ทำให้ต้นดาดตะกั่วตายเร็วภายใน 10 วัน ส่วน 2,4-D amine ต้นเล็กตายเร็ว ต้นโตตายภายใน 16 วัน สำหรับ glyphosate ต้นดาดตะกั่วตายภายใน 26 วัน การใช้ diuron, flumioxazin, oxyfluorfen และ oxadiazon ทาต้นไม่สามารกำจัดต้นดาดตะกั่วได้ แต่ flumioxazin ทำให้ดาดตะกั่วต้นเล็กตายดี และทำให้ต้นดาดตะกั่วต้นโตแห้งตายลงมาเกือบสุดโคนต้น รองลงมาตามลำดับ คือ oxyfluorfen และ oxadiazon ต้นดาดตะกั่วมีอาการขอบใบและปลายใบแห้ง

ใบแดงไม่ตาย ส่วน วิธีการพ่นกำจัดดาดตะกั่วรอบโคนต้น พบว่าทุกกรรมวิธีไม่สามารถกำจัดต้นดาดตะกั่วได้ สารกำจัดวัชพืชทำให้ใบดาดตะกั่ว แห้ง ดำ ร่วง แล้วแตกใบใหม่

การทดลองนี้คัดเลือกอัตราต่ำสุดของคำแนะนำสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิด และใช้น้ำละลายสารกำจัดวัชพืชในอัตรา 80 ลิตรต่อไร่ ใช้สำหรับวิธีการทาต้นดาดตะกั่วรอบโคนต้น และลดอัตราลง 10 เท่าเมื่อทดลองใช้วิธีการพ่นต้นดาดตะกั่วรอบโคนต้น ซึ่งปริมาณสารละลายที่ใช้ไปสอดคล้องกับความเข้มข้นของสารละลายที่เริ่มการทดลอง (ภาพที่ 4) ดังนั้นผลการทดลองจึงพบว่าวิธีการพ่นทุกกรรมวิธีไม่สามารถกำจัดต้นดาดตะกั่วได้ แสดงว่าความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชที่ทดลองต่ำเกินไป

<u>จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งต้นดาดตะกั่ว</u>

ที่ 30 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช (ตารางที่ 3) พบว่าวิธีการทาต้นดาดตะกั่วรอบโคนต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งต้นดาดตะกั่วงอกน้อยกว่าวิธีพ่นต้น สาเหตุที่วิธีการทามีดาดตะกั่วต้นใหญ่ตายไปแล้วยังมีต้นงอกใหม่จากตอ เนื่องจากสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกที่ใช้กำจัดส่วนลำต้นเหนือวัสดุปลูกได้ดี แต่ดาดตะกั่วมีโคนต้นและรากใหญ่ ลึกและ แข็งแรง ทำให้ตายไม่สมบูรณ์ พบว่า 2,4-D amine, glyphosate, glufosinate-ammonium มีปริมาณต้นดาดตะกั่วที่งอกจากตอน้อยกว่า paraquat

วิธีการทาด้วยสารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก มีจำนวนต้นดาดที่งอกใหม่จากตอน้อยเมื่อเทียบกับวิธีการพ่น ทั้งนี้เนื่องมาจากความเข้มข้นของสารที่สูงกว่า 10 เท่า โดย flumioxazin ความเข้มข้น 20 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อน้ำ 80 ลิตร ได้ผลดีที่สุดเป็นอัตราที่ใช้ควบคุมวัชพืชแบบก่อนวัชพืชงอก รองลงมาคือ oxyfluorfen, oxadiazon ความเข้มข้น 150, 400 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อน้ำ 80 ลิตร เป็นอัตราที่แนะนำใช้พ่นกำจัดต้นอ่อนของวัชพืชใบกว้างเช่นผักเบี้ยใหญ่และผักเบี้ยหินได้ดี แต่เมื่อนำมาใช้ทาดาดตะกั่วพบว่ากำจัดดาดตะกั่วไม่ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากใบดาดตะกั่วมีขน ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดลดลง ซึ่งอัตราที่แนะนำสำหรับควบคุมวัชพืชแบบก่อนงอกคือ ความเข้มข้น 200, 500 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อน้ำ 80 ลิตร ดังนั้นคาดว่าหากมีการทดลองซ้ำ โดยใช้อัตราที่ควบคุมวัชพืชแบบก่อนงอกน่าจะกำจัดดาดตะกั่วได้ดีขึ้น Freitas *et al* (2007) รายงานการทดลองใช้สาร oxyfluorfen ในกล้วยไม้ *Dendrobium* sp.พ่นโดยตรงที่วัชพืชเพื่อควบคุม ขมหินใบน้อย (*Pilea microphyylla*) และ DeFrank (2002) ได้เน้นงานวิจัยในกล้วยไม้ที่ใช้สาร oxadiazon พ่นโดยตรงไปบนวัสดุปลูกที่ปลอดวัชพืชเพื่อควบคุมวัชพืชแบบก่อนวัชพืชงอก

อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อกล้วยไม้

อาการเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชที่มีต่อต้นกล้วยไม้ วิธีการทามีบางส่วนของต้นกล้วยไม้สัมผัสสารกำจัดวัชพืช พบว่าสารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกกรรมวิธีที่ใช้ paraquat เป็นพิษรุนแรง ตะเกียงอ่อนและใบกล้วยไม้แห้งดำ รองลงมาคือ glufosinate-ammonium ทำให้กล้วยไม้ใบแห้งซีด, 2,4-D amine ทำให้กล้วยไม้ใบเหลือง มีการแตกรากจำนวนมาก ต้นคด ค่อยๆยุบตัว glyphosate ใบล่างเหลือง ใบที่เกิดใหม่มีอาการผิดปกติ เมื่อระยะเวลานานขึ้นกรรมวิธีที่ใช้ paraquat และ 2,4-D amine ทำให้ต้นกล้วยไม้โทรม ส่วนวิธีการพ่น กรรมวิธีที่พบอาการรุนแรงคือ paraquat ส่วนสารกำจัดวัชพืชชนิดอื่นพบอาการเล็กน้อย ต้นกล้วยไม้เจริญเติบโตปกติ เช่นเดียวกับการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอก เช่น flumioxazin , oxyfluorfen, oxadiazon และ diuron ทั้งวิธีการทาและวิธีการพ่น

ผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้

ที่ 120 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช วิธีการทาสาร paraquat, glufosinate-ammonium และ 2,4-D amine มีผลลดการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ โดย paraquat ทำให้มีความสูงต้นและน้ำหนักต้นกล้วยไม้ต่ำสุด ส่วนวิธีการพ่นโคน paraquat และ diuron+paraquat แสดงผลในทำนองเดียวกัน(ตารางที่ 4) และพบว่าวิธีการทาผลกระทบต่อการออกดอกของกล้วยไม้ ทำให้มีช่อดอกรวมในช่วง 250 วันหลังใช้สารน้อยกว่าวิธีการพ่น องค์ประกอบของช่อดอกแตกต่างกันไปโดยภาพรวมปกติหรืออาจแตกต่างกันเล็กน้อย แสดงในตารางที่ 5 ที่แตกต่างเด่นชัดคือช่อดอกของกรรมวิธีที่ใช้ paraquat ทา มีลักษณะก้านช่อดอกสั้นและช่อดอกยืดยาวผิดปกติ

2.ศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดดาดตะกั่วในกระถางกล้วยไม้สกุลหวาย

2.1 การกำจัดต้นดาดตะกั่วทุก 10, 20 และ 30 วัน หลังการกำจัดครั้งแรก ในช่วง 60 วัน พบว่ามีต้นดาดตะกั่วงอกจากตออย่างต่อเนื่อง แตกต่างกันที่เมื่อปล่อยทิ้งไว้นาน ต้นดาดตะกั่วจะยิ่งเจริญเติบโตติดดอกออกเมล็ดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 5)

2.2 การกำจัดดาดตะกั่วออกให้หมด แล้วปล่อยไว้นาน 30 และ 40 วัน แล้วจึงเริ่มกำจัดต่อเนื่องโดยทิ้งช่วงเวลาห่างกัน ประมาณ 30 วัน กำจัด 5 -6 ครั้ง พบว่า จากการสังเกตต้นที่งอกจากตอ การกำจัดครั้งแรกแล้วทิ้งไว้ 30 วันแรก ต้นดาดตะกั่วที่งอกจากตอเริ่มออกดอกและติดเมล็ด แต่เมล็ดยังอ่อน จึงยังมีโอกาสขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดน้อย แต่หากกำจัดครั้งแรกแล้วทิ้งไว้ 40 วันจึงเริ่มกำจัด พบว่าเป็นช่วงเวลาที่ต้นดาดตะกั่วงอกจากตอออกดอกติดเมล็ดจนมีเมล็ดแก่ มี

โอกาสในการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดเพิ่มจำนวนได้ การกำจัดทุกช่วง 30 วัน ติดต่อกัน 5-6 ครั้ง พบว่ายังคงมีต้นดาดตะกั่วที่งอกจากตออย่างต่อเนื่อง แม้ว่าจำนวนต้นที่งอกจะลดลงแต่ไม่สามารถกำจัดให้หมดสิ้นได้ ต้นที่งอกใหม่จากตอมีขนาดเล็กลง ความแข็งแรงลดลง ทำให้การออกดอกน้อยลงจนถึงไม่ออก และหากหยุดกำจัดดาดตะกั่วก็จะเจริญเติบโตต่อเนื่องจนเป็นปัญหาอยู่ตลอดไป การกำจัดต้นดาดตะกั่วที่งอกจากตอจึงยากที่จะทำให้หมดไป (ภาพที่ 6-1, 6-2 และ 6-3) และต้นที่งอกจากตอบางส่วนก็พัฒนามาจากต้นที่งอกจากเมล็ด ที่กำจัดแล้วกำจัดไม่หมดยังเหลือตออยู่

2.3 กำจัดดาดตะกั่วออกให้หมด แล้วปล่อยให้ดาดตะกั่วงอกใหม่ทิ้งไว้นาน 30 วัน, นาน 40 วัน, นาน 50 วัน และนาน 60 วัน แล้วจึงกำจัดดาดตะกั่วออก และทุกกรรมวิธีกำจัดอีก ครั้งที่ 30 วัน พบว่าจากการสังเกตต้นที่งอกจากเมล็ด เมื่อกำจัดครั้งแรกแล้วทิ้งไว้ 30, 40, 50 และ 60 วันแรก มีจำนวนต้นดาดตะกั่วที่งอกจากเมล็ดใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 6-3) แตกต่างกันที่เมื่อปล่อยเวลายิ่งนาน ดาดตะกั่วจะติดดอกออกฝักและเมล็ดเพิ่มมากขึ้น

ข้อสังเกต จากการทดลองกำจัดดาดตะกั่วด้วยแรงงาน ซึ่งพบเห็นต้นดาดตะกั่วมีระยะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน พบว่าโอกาสที่จะกำจัดดาดตะกั่วให้หมดไปทำได้ยาก แม้แต่ต้นดาดตะกั่วที่งอกจากเมล็ด มีใบจริง 1-2 คู่ การกำจัดอย่างถอนรากถอนโคนก็ยังทำได้ยาก เนื่องจากดาดตะกั่วมีรากขนาดใหญ่และแข็งแรง เกาะกับกาบมะพร้าวแน่น จึงไม่หลุดออกมาได้ง่ายเหมือนต้นที่งอกขึ้นจากดิน ตอดาดตะกั่วที่ยังติดอยู่มีข้อโคนต้นสั้นและถี่ จึงสามารถขยายพันธุ์ได้ต่อเนื่องและเมื่อกำจัดหลายๆครั้งตอจะมีขนาดใหญ่ขึ้นตามไปด้วย ระยะที่ถอนกำจัดได้ดีที่สุด คือระยะต้นอ่อน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. กำจัดวัชพืชดาดตะกั่วโดยใช้สารกำจัดวัชพืชในกล้วยไม้สกุลหวาย

1.1 สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกกำจัดดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย ชนิดที่มีแนวโน้มควบคุมได้ดีตามลำดับ คือ flumioxazin, oxyfluorfen, oxadiazon, pendimethalin, acetochlor, metribuzin, trifluralin และ s-metolachlor วิธีการพ่นทับและวิธีการทาวัสดุรอบโคนต้น ต้นกล้วยไม้แสดงอาการเป็นพิษชัดเจน ส่วนวิธีการพ่นวัสดุปลูกรอบโคนต้นและวิธีการจุ่ม ต้นกล้วยไม้ปกติจนถึงมีอาการเป็นพิษเล็กน้อย ถึงแม้ว่าวิธีการพ่นทับใช้ปริมาณสารกำจัดวัชพืชน้อยที่สุด แต่สารกำจัดวัชพืชสัมผัสกล้วยไม้มาก โอกาสเป็นพิษจึงมีมากกว่าการพ่นโคนต้น การจุ่มและการทา

เป็นวิธีที่ใช้สารกำจัดวัชพืชมากที่สุด จึงให้ผลการกำจัดดาดตะกั่วได้ดีที่สุด เวลาหลังใช้สารนานขึ้นต้นกล้วยไม้จะค่อยๆพัฒนาการเจริญเติบโตเป็นปกติ

1.2 การใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดต้นดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย

วิธีการทาด้วย glufosinate-ammonium, paraquat, diuron+paraquat ทำให้ต้นดาดตะกั่วตายเร็ว แต่ต้องระวังหากสารสัมผัสตะเกียงอ่อนและใบกล้วยไม้จะทำให้เกิดอาการเป็นพิษรุนแรง รองลงมาคือ glyphosate และ 2,4-D amine ส่วน flumioxazin ทำให้ดาดตะกั่วต้นเล็กตายดี ดาดตะกั่วต้นโตตายไม่สมบูรณ์ ไม่มีผลกระทบต่อกล้วยไม้ วิธีการพ่นที่ลดอัตราสารกำจัดวัชพืชลง 10 เท่ากำจัดต้นดาดตะกั่วไม่ได้

การทดลองนี้เป็นการทดลองเบื้องต้นยังไม่ใช่คำแนะนำ ต้องมีการพัฒนาต่อไป

2.ศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดดาดตะกั่วในกระถางกล้วยไม้สกุลหวาย ตอของดาดตะกั่วที่ขึ้นอยู่ในกาบมะพร้าวกำจัดออกให้หมดได้ยาก ต้องกำจัดไม่ให้เหลือตอ ระยะเวลากำจัดที่เหมาะสมคือต้องกำจัดตั้งแต่ระยะต้นอ่อน

<u>ข้อเสนอแนะ</u> ในการปลูกกล้วยไม้ควรกำจัดดาดตะกั่ว(และวัชพืชทุกชนิด)ตั้งแต่เริ่มพบ ทั้งบริเวณบนโต๊ะ ใต้โต๊ะ และทางเดิน ใช้วัสดุปลูกสะอาดใหม่ ต้นกล้วยไม้ใหม่ที่นำเข้ามาในโรงเรือนควรตรวจไม่ให้มีวัชพืชติดเข้ามา หมั่นตรวจหาและกำจัดวัชพืชตั้งแต่ยังเป็นต้นอ่อน หากมีดาดตะกั่วขึ้นรบกวนอยู่แล้ว ขณะที่ยังไม่มีคำแนะนำสารกำจัดวัชพืช ควรระดมกำจัดบนโต๊ะด้วยแรงงานให้หมด และตามกำจัดทุกช่วง 20 วัน (ก่อนออกดอก) จนกว่าไม่พบเห็นอีก ใต้โต๊ะพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืชตั้งแต่ต้นยังเล็ก เพราะหากปล่อยใต้โต๊ะไว้ ดาดตะกั่วจะดีดเมล็ดขึ้นมาเป็นปัญหาต่อไปได้

เอกสารอ้างอิง

ณรงค์ อัศกุลโกวิท, อัมพร สุวรรณเมฆ และ จิตราพรรณ พิลึก. 2525. การเปรียบเทียบผลของยากำจัดวัชพืชบางชนิดในกล้วยไม้หวายปอมปาดัวร์. วิทยาสารวัชพืช สมาคมวิทยาการวัชพืชแห่งประเทศไทย ปีที่ 1 ฉบับที่ 3 หน้า 5-19.

พัชรินทร์ วณิชย์อนันตกุล. 2547. วัชพืชและการป้องกันกำจัด. หน้า 93-98. *ใน :* เอกสารวิชาการกล้วยไม้ . กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

พนารัตน์ เจริญไชย, 2552 . การศึกษาพืชวงศ์เหงือกปลาหมอ (Family Acanthaceae) ในประเทศไทย (1). *ใน* : เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาพิพิธภัณฑ์พืชสิรินทรกับการพัฒนาการเกษตรและสิ่งแวดล้อมของประเทศไทย ประจำปี 2552. เรื่อง การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชของกรมวิชาการเกษตรและสถานการณ์การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ทรัพยากรพันธุกรรมพืชในประเทศไทย. 11 มิถุนายน 2552, ห้องประชุมกสิน ชั้น 3 อาคารพิพิธภัณฑ์พืชสิรินทร กองคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 3-11.

Anonymous, 2001-2008. *Hemigraphis alternate*. Kemper Center for Home Garden, Missouri Botanical Garden. 2p. 15/8/2551. Http://www.mobot.org/GARDENINGHELP/PLANTFINDEWR/plant.asp?code=A514

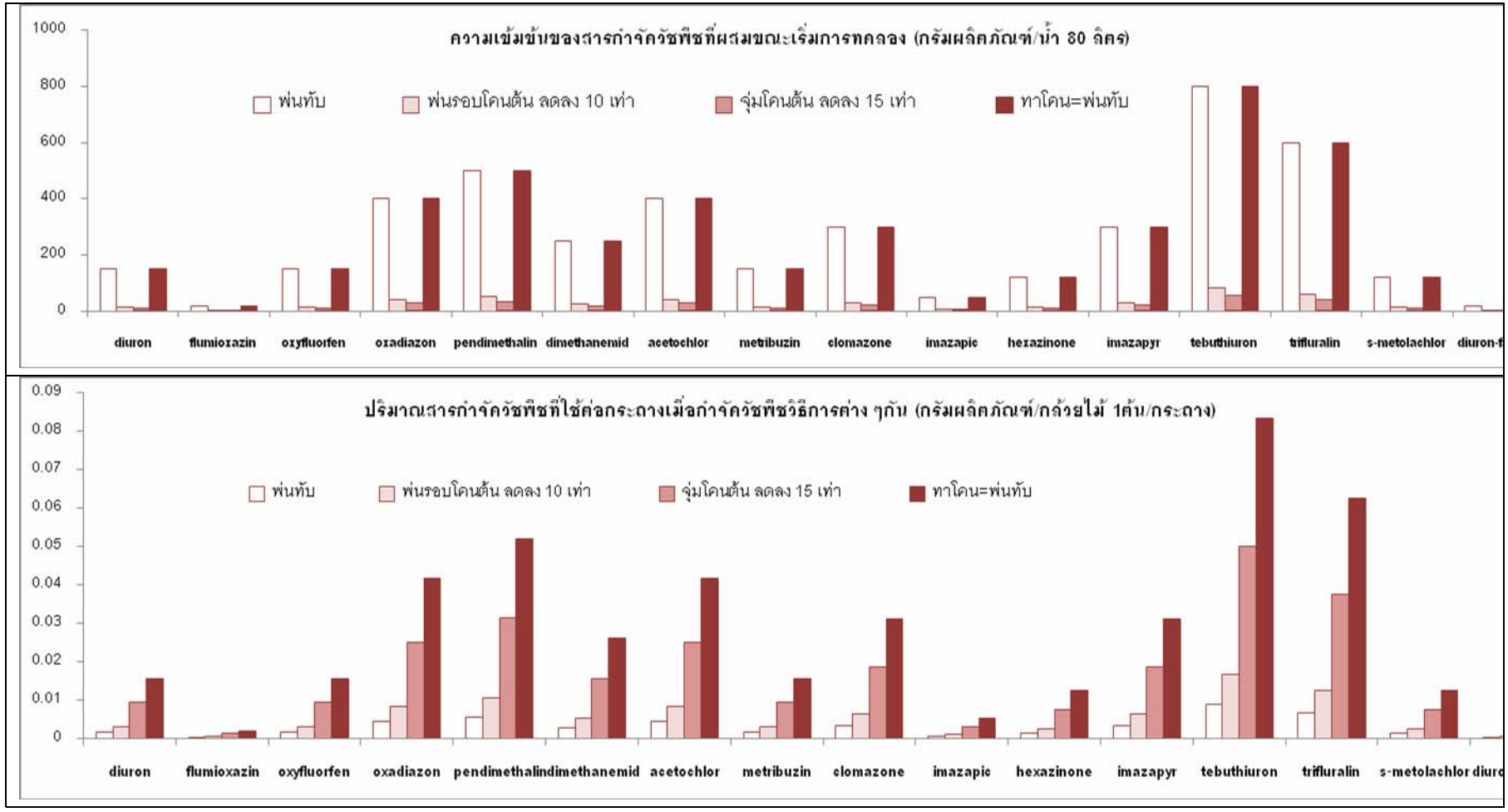
DeFrank, J. 2000. Progress report for chemical weed control for export graded potted orchids and anthuriums. Period 01/01/00-12/31/00. Dept. of Tropical Plant and Soil Science, UH-Manoa. 11 p.

DeFrank, J. 2002. Progress report for chemical weed control in potted orchids. Period 01/01/02-12/31/02. Dept. of Tropical Plant and Soil Science, UH-Manoa. 13 p.

Freitas, F.C.L., J.A.S. Grossi, A.F. Barros. 2007. Chemical control of *Pilea microphylla* in orchid cultivation. Planta Daninha, vol.25, no.3, p.589-593 ISSN 0100-8358.

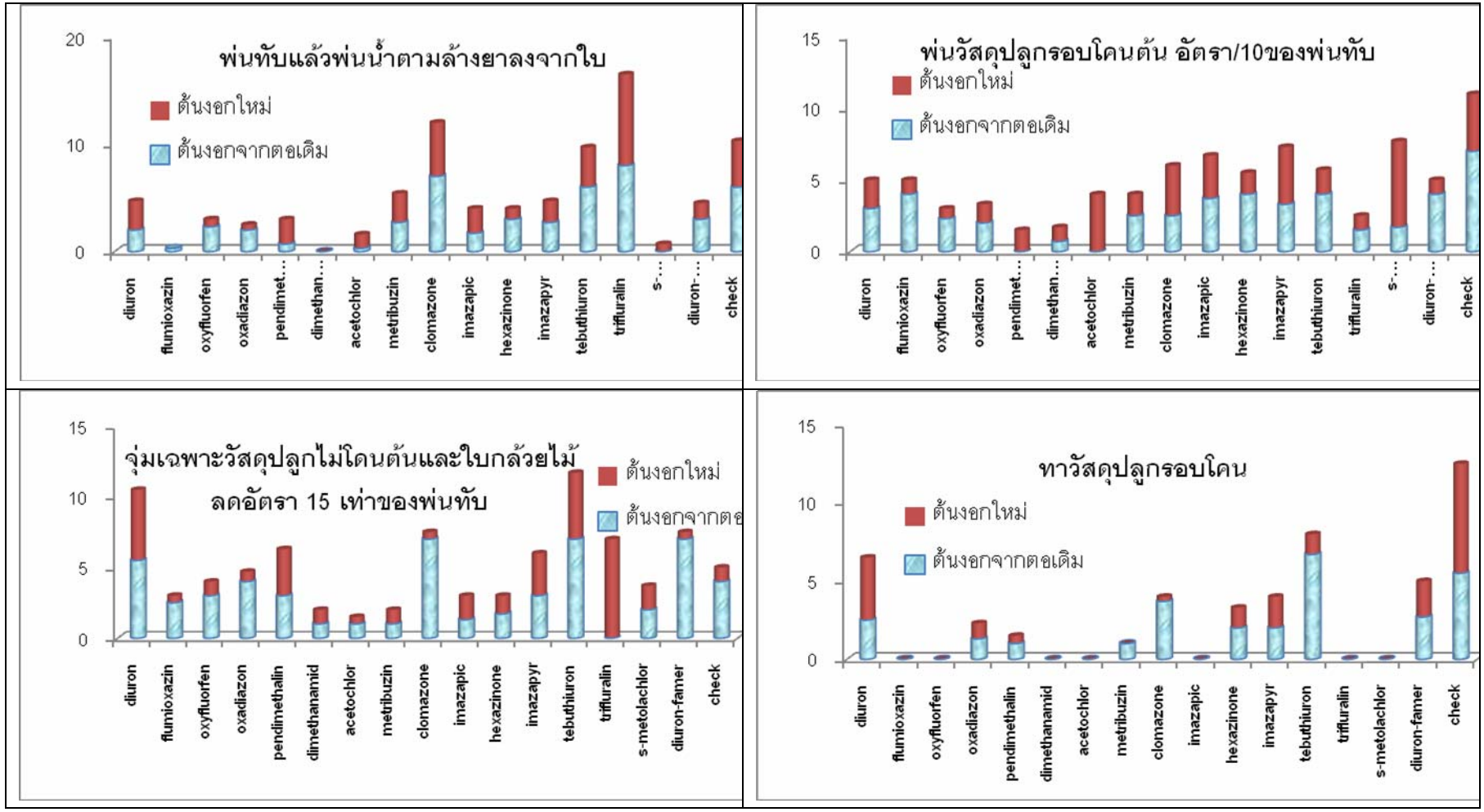
Wagner, W.L., D.R. Herbst and S.H. Sohmer. 1999. Manual of the flowering plants of Hawaii. Revised edition. Bernice P. Bishop Museum special publication. University of Hawaii' I Press/BISHOP Museum Press, Honolulu. 171-172 p.

ภาพที่ 1 เปรียบเทียบความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืชขณะเริ่มการทดลองและหลังการใช้สารทดลอง_ในการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกกำจัดดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย



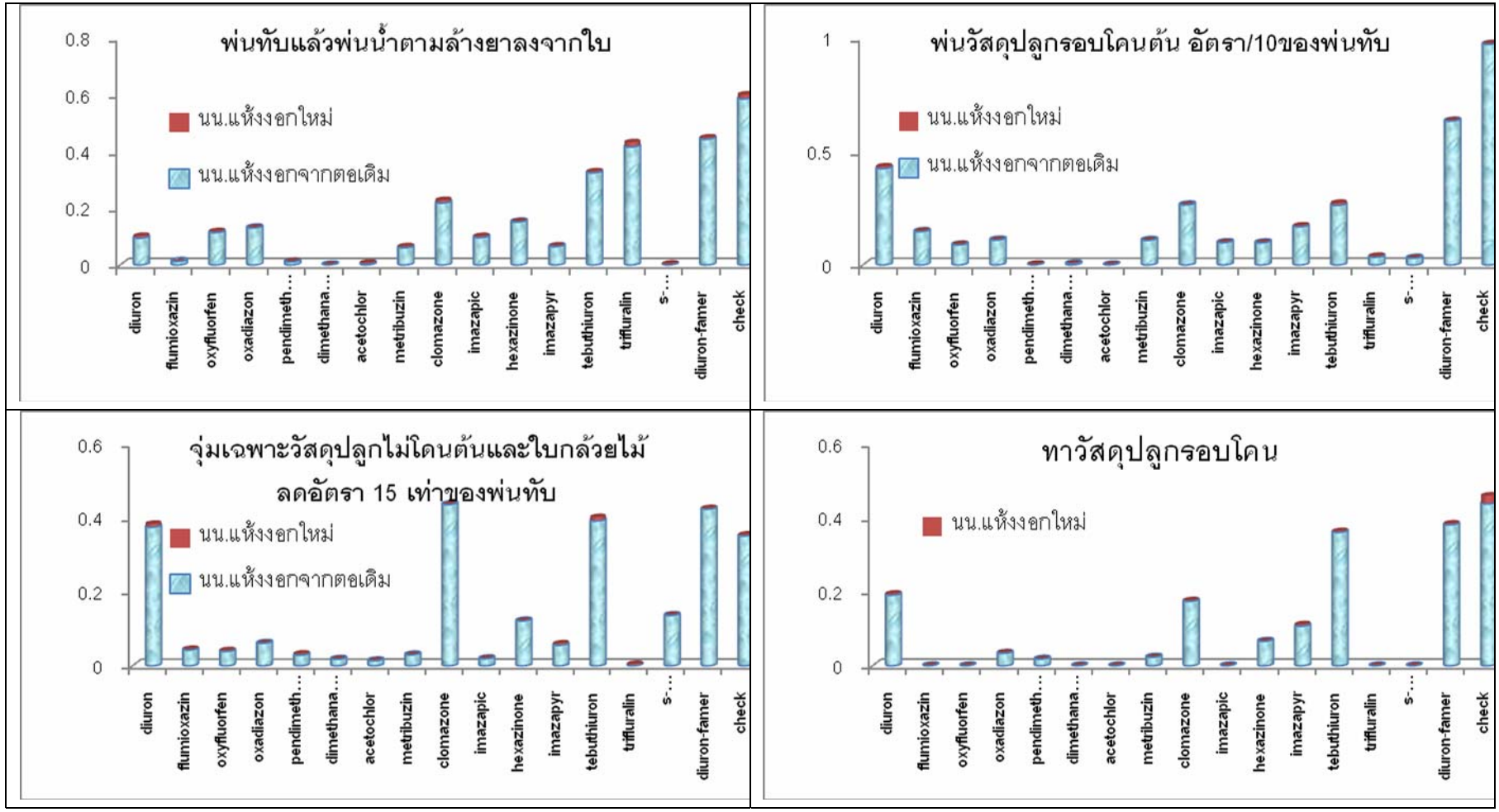
1981

ภาพที่ 2 จำนวนต้นและน้ำหนักแห้งต้นดาดตะกั่วที่ 40 วันหลังใช้สาร ในการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกกำจัดดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย



1982

ภาพที่ 3 น้ำหนักแห้งต้นดาดตะกั่วที่ 40 วันหลังใช้สาร ในการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกกำจัดดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย



1983

ตารางที่ 1 ค่า การเจริญเติบโตกล้วยไม้ที่ 120 วัน และช่อดอกกล้วยไม้รวมที่ 250 วันหลังใช้สารในการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกกำจัดดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย

ความเข้มข้น สารกำจัดวัชพืช (กรัมผลิตภัณฑ์/น้ำ 80 ลิตร)		ความสูงต้นกล้วยไม้ (เซนติเมตร)				น้ำหนักสดต้นกล้วยไม้ (กรัม/ต้น)				จำนวนช่อดอกกล้วยไม้รวม (ช่อ/ต้น)			
		พ่นทับ	พ่นโคน/10	จุ่ม/15	ทาโคน	พ่นทับ	พ่นโคน/10	จุ่ม/15	ทาโคน	พ่นทับ	พ่นโคน/10	จุ่ม/15	ทาโคน
diuron	150	39.0	31.7	25.0	33.0	209	156	192	129	6.5	3.5	4.0	2.0
flumioxazin	20	32.8	37.5	20.9	38.0	167	200	150	169	3.3	2.5	3.0	1.8
oxyfluorfen	150	32.7	25.0	21.3	33.5	161	120	132	125	3.5	2.8	4.5	1.5
oxadiazon	400	32.8	34.5	28.2	30.5	147	188	172	118	2.3	3.0	2.0	2.0
pendimethalin	500	35.0	26.8	32.8	31.5	172	160	159	111	3.3	4.0	5.0	2.0
dimethenamid	250	31.5	32.0	28.7	28.0	181	133	147	136	2.3	2.0	1.5	1.5
acetochlor	400	35.5	32.0	32.7	27.7	162	202	201	202	3.6	2.0	6.6	2.9
metribuzin	150	34.7	29.0	23.3	31.3	166	190	165	135	9.0	4.0	1.0	3.0
clomazone	300	31.0	29.8	24.9	27.7	151	191	127	109	4.5	5.0	0	1.0
imazapic	50	25.5	27.2	19.5	27.0	132	175	91	91	3.3	3.8	0	0.3
hexazinone	120	12.7	24.0	14.0	28.0	66	88	61	59	0	0	0	0
imazapyr	300	29.2	29.0	24.1	29.2	111	204	205	145	2.6	4.0	3.0	0.6
tebuthiuron	800	17.8	32.2	37.5	35.7	61	159	154	205	0	2.5	1.0	0
trifluralin	600	27.2	25.5	35.5	25.5	105	195	159	136	2.0	3.0	3.5	4.5
s-metolachlor	120	31.8	32.0	27.6	32.5	133	181	195	181	2.0	4.5	1.0	5.0
diuron-farmer	20	33.3	35.0	24.3	42.3	161	145	118	173	1.5	3.9	1.5	5.0
check		29.0	34.0	35.8	31.7	162	141	150	136	4.5	4.0	1.3	3.5

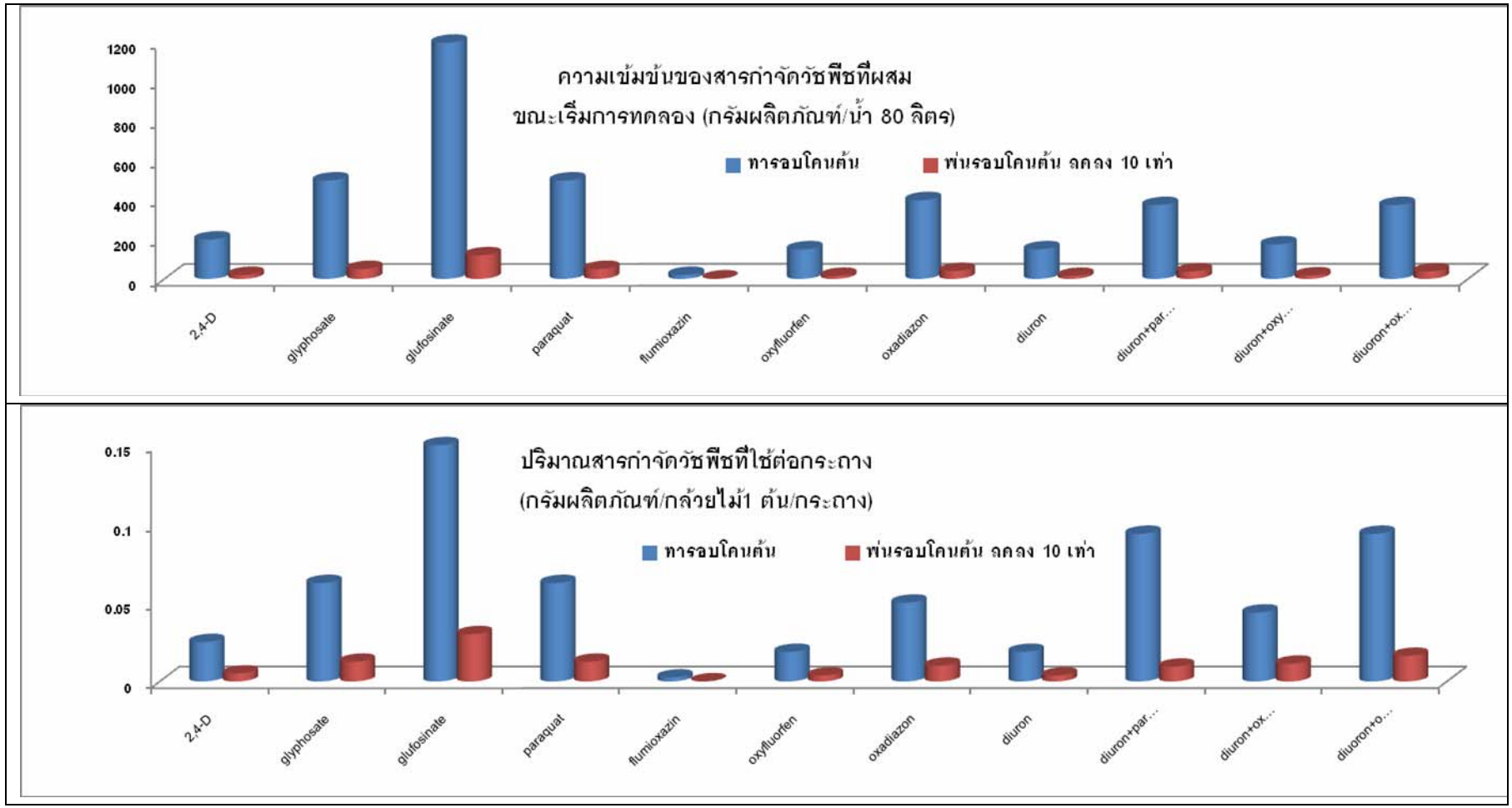
1984

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบช่อดอกเฉลี่ยในช่วง 250 วันหลังใช้สาร ในการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกกำจัดดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย

ความเข้มข้น สารกำจัดวัชพืช (กรัมผลิตภัณฑ์/น้ำ 80 ลิตร)		ความยาวก้านช่อ (เซนติเมตร)				ความยาวช่อ(เซนติเมตร)				จำนวนดอก (ดอก/ช่อ)			
		พ่นทับ	พ่นโคน/10	จุ่ม/15	ทาโคน	พ่นทับ	พ่นโคน/10	จุ่ม/15	ทาโคน	พ่นทับ	พ่นโคน/10	จุ่ม/15	ทาโคน
diuron	150	20.5	11.6	10.3	20.5	14.0	14.5	12.4	19.9	8.0	7.8	7.3	9.0
flumioxazin	20	6.3	12.0	9.7	11.0	16.0	19.0	18.0	15.5	7.0	7.0	11.0	7.0
oxyfluorfen	150	8.8	13.0	14.4	9.8	10.7	21.0	13.	7.5	6.9	11.0	8.0	3.0
oxadiazon	400	9.3	11.0	9.3	20.0	19.3	15.0	6.3	25.5	8.5	6.0	4.5	13.0
pendimethalin	500	8.0	-	16.5	11.7	12.5	-	21.5	22.3	6.0	-	11.5	12.5
dimethenamid	250	-	9.2	13.0	-	-	13.1	14.0	-	-	4.9	-	-
acetochlor	400	13.1	19.0	14.0	9.4	15.2	29.0	-	11.5	9.4	16.0	-	7.5
metribuzin	150	16.5	12.7	16.0	-	10.8	22.3	18.0	-	4.5	9.0	12.0	-
clomazone	300	13.8	3.0	7.3	-	19.0	-	11.8	-	11.0	-	7.5	-
imazapic	50	9.9	6.8	-	-	24.0	16.7	-	-	10.	9.7	-	-
hexazinone	120	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
imazapyr	300	14.7	9.4	4.8	-	12.0	13.5	4.5	-	6.0	8.3	4.0	-
tebuthiuron	800	-	13.5	11.5	9.0	-	15.5	11.0	28.0	-	8.0	6.0	15.0
trifluralin	600	16.5	17.0	15.5	15.0	19.5	16.0	24.3	20.0	11.5	-	14.5	8.0
s-metolachlor	120	14.0	14.2	15.9	-	5.0	22.8	30.0	-	5.0	8.8	15.9	-
diuron-farmer	20	6.0	12.1	15.4	-	5.5	16.7	16.5	-	3.0	8.7	7.0	-
check		11.5	23.0	9.5	14.0	17.2	25.0	21.3	9.0	10.9	13.0	8.0	4.0

1985

ภาพที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดต้นดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย



1986

ตารางที่ 3 วัชพืชดาดตะกั่วที่ 30 วันหลังใช้สารกำจัดวัชพืช ในการใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดต้นดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย

ความเข้มข้น (กรัมผลิตภัณฑ์/น้ำ 80 ลิตร)			ต้นงอกใหม่จากตอ		ต้นเดิมขณะพ่นสาร		น้ำหนักแห้งต้นงอกใหม่		น้ำหนักแห้งต้นเดิม		เมล็ดดาดตะกั่ว	
สารกำจัดวัชพืช	วิธีทา	วิธีพ่น	วิธีทา	วิธีพ่น	วิธีทา	วิธีพ่น	วิธีทา	วิธีพ่น	วิธีทา	วิธีพ่น	วิธีทา	วิธีพ่น
1.2,4-D amine	200	20	2.0 ab	9.0 a	2.0 a	8.7 ab	0.007 a	0.075 ab	0.177 ab	1.546 bc	0	1.7 a
2.glyphosate	500	50	2.0 ab	3.3 a	1.7 a	7.7 ab	0.009 a	0.006 a	0.168 ab	1.331 abc	0	1.7 a
3.glufosinate	1200	120	0	3.3 a	2.0 a	5.3 ab	0	0.007 a	0.077 a	0.453 ab	0	0.7 a
4.paraquat	500	50	1.0 ab	8.0 a	5.7 ab	8.3 ab	0.002 a	0.035 a	0.261 ab	1.155 abc	2.7 a	10.7 a
5.flumioxazin	20	2	0.7 a	2.7 a	4.7 ab	6.3 ab	0.002 a	0.006 a	0.401 abc	0.843 abc	2.7 a	0
6.oxyfluorfen	150	15	3.0 ab	6.3 a	15.7 c	9.0 ab	0.012 a	0.034 a	1.767 f	1.029 abc	11.7 a	6.0 a
7.oxadiazon	400	40	3.3 ab	28.7 b	9.3 b	12.3 b	0.010 a	0.155 b	1.149 de	1.904 c	7.0 a	44.7 b
8.diuron	150	15	2.7 ab	4.3 a	5.7 ab	4.7 ab	0.014 a	0.024 a	0.908 cd	1.823 c	0	7.7 a
9.diuron+paraquat	75+300	7.5+30	8.0 bc	7.3 a	6.7 ab	8.7 ab	0.027 a	0.059 ab	0.299 abc	0.063 abc	0.3 a	2.3 a
10. diuron+oxyfluorfen	75+100	7.5+10	0	3.3 a	7.7 b	6.7 ab	0	0.011 a	0.684 abcd	0.891 abc	0.3 a	7.3 a
11. diuron +oxadiazon	75+300	7.5+30	0.3 a	12.7 a	5.0 ab	8.3 ab	0.002 a	0.093 ab	0.777 bcd	1.115 abc	0	19.0 a
12.handweeding			5.7 ab	7.0 a	6.3 ab	4.0 a	0.002 a	0.013 a	0.259 ab	0.172 ab	0.3 a	0
13.weedy			13.0 c	17.0 ab	8.7 b	10.0 ab	0.125 b	0.112 ab	1.508 ef	2.001 c	67.7 b	90.7 c
C.V. (%) / F-test			87.2/ **	64.3/ **	30.9/ **	37.9/ **	106.9/ **	93.6/ **	38.3/ **	40.8/ **	147.7/ **	75.8/ **

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

1987

ตารางที่ 4การเจริญเติบโตกล้วยไม้ที่ 120 วันหลังใช้สาร และจำนวนช่อดอกกล้วยไม้รวมที่ 250 วันหลังใช้สาร ในการใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดต้นดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย

ความเข้มข้นสารกำจัดวัชพืช (กรัมผลิตภัณฑ์/น้ำ 80 ลิตร)			ความสูง (เซนติเมตร)		น้ำหนักสดต้นกล้วยไม้ (กรัม/ต้น)		ช่อดอกกล้วยไม้รวม (ช่อ/ต้น)	
	วิธีทา	วิธีพ่น	วิธีทา	วิธีพ่น	วิธีทา	วิธีพ่น	วิธีทา	วิธีพ่น
1.2,4-D amine	200	20	29.5 ab	36.0 ab	99.8 ab	169.8	0.75	0.80
2.glyphosate	500	50	34.4 a	38.2 ab	163.2 ab	160.0	1.20	1.50
3.glufosinate	1200	120	29.9 ab	37.9 ab	125.5 ab	181.7	0.50	1.30
4.paraquat	500	50	19.5 b	33.3 ab	75.2 b	137.5	0.83	1.17
5.flumioxazin	20	2	38.5 a	40.0 a	195.7 a	195.5	1.80	1.00
6.oxyfluorfen	150	15	37.8 a	33.8 ab	175.7 a	188.8	1.00	1.50
7.oxadiazon	400	40	37.5 a	32.9 ab	195.8 a	169.8	1.20	1.30
8.diuron	150	15	37.8 a	33.7 ab	163.7 ab	161.5	1.75	2.30
9.diuron+paraquat	75+300	7.5+30	31.4 a	30.6 b	117.5 ab	156.8	1.17	1.17
10. diuron+ oxyfluorfen	75+100	7.5+10	33.8 a	41.1 a	178.0 a	195.7	0.70	1.50
11. diuron+ oxadiazon	75+300	7.5+30	38.4 a	37.6 ab	175.5 a	188.2	1.25	1.70
12.handweeding			32.9 a	41.9 a	165.0 ab	209.3	2.70	3.30
13.weedy			35.6 a	33.8 ab	169.0 ab	190.0	2.50	2.50
C.V. (%) / F-test			20.9/ **	14.7/ **	35.4/ **	29.9/ ns	-	-

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันตามด้วยอักษรที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

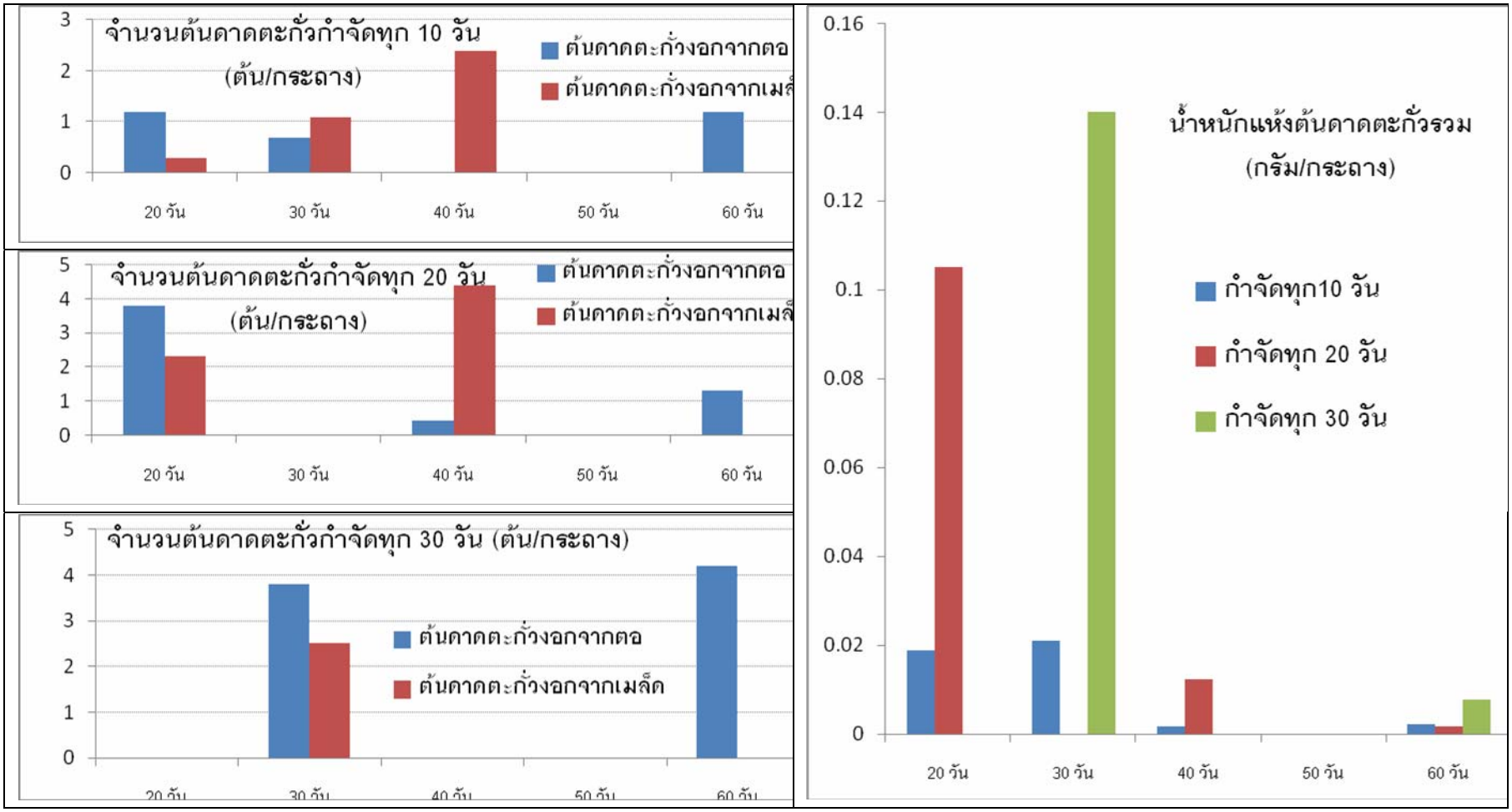
1988

ตารางที่ 5 การองค์ประกอบช่อดอกเฉลี่ยในช่วง 250 วันหลังใช้สาร ในการใช้สารกำจัดวัชพืชกำจัดต้นดาดตะกั่วในกล้วยไม้สกุลหวาย

ความเข้มข้นสารกำจัดวัชพืช		วิธีทา (ความยาวทั้งช่อ (เซนติเมตร))				วิธีพ่น/10 (ความยาวทั้งช่อ (เซนติเมตร))				ยาวก้าน (เซนติเมตร)		ยาวช่อ (เซนติเมตร)		จำนวนดอก/ช่อ	
(กรัมผลิตภัณฑ์/น้ำ 80 ลิตร)		90 วัน	120 วัน	160 วัน	250 วัน	90 วัน	120 วัน	160 วัน	250 วัน	วิธีทา	วิธีพ่น/10	วิธีทา	วิธีพ่น/10	วิธีทา	วิธีพ่น/10
1.2,4-D amine	200	-	40.3	-	27.0	-	30.0	29.0	33.5	15.3	10.7	18.4	20.2	9.0	8.7
2.glyphosate	500	6.7	18.3	-	26.5	27.0	-	27.0	32.5	12.3	13.8	10.1	16.0	4.0	7.5
3.glufosinate	1200	29.5	-	-	30.8	24.1	24.9	39.0	36.0	12.3	11.8	18.5	21.5	8.0	7.5
4.paraquat	500	-	21.3	42.0	31.9	16.6	16.3	34.7	35.5	6.0	10.7	25.7	18.2	9.5	7.8
5.flumioxazin	20	-	30.1	23.7	39.0	22.5	25.8	35.5	28.0	11.6	9.7	19.4	20.1	7.1	8.3
6.oxyfluorfen	150	17.0	29.0	24.0	24.0	-	22.8	23.1	28.8	10.3	10.9	16.3	14.0	7.5	10.5
7.oxadiazon	400	31.0	21.5	34.0	25.5	12.8	19.5	-	40.2	10.3	11.9	16.7	18.0	8.0	8.6
8.diuron	150	-	29.2	41.0	41.0	25.8	29.2	-	37.4	12.6	11.1	22.6	22.2	8.5	8.9
9.diuron+paraquat	75+300	34.5	32.5	31.0	23.5	15.0	33.1	-	33.0	11.3	12.5	17.7	20.6	8.3	7.0
10. diuron+oxyfluorfen	75+100	-	12.5	19.0	34.5	-	24.8	48.5	-	9.5	15.7	12.5	21.0	3.7	8.5
11. diuron +oxadiazon	75+300	-	26.9	14.5	34.5	16.8	18.0	-	42.0	12.1	10.1	19.8	20.0	11.4	9.2
12.handweeding		11.8	23.9	34.0	14.0	-	28.2	36.5	36.5	13.4	13.6	21.4	20.1	9.5	12.3
13.weedy		14.9	23.3	41.0	40.0	25.6	23.4	0	30.0	8.9	13.0	15.0	13.8	8.7	8.4

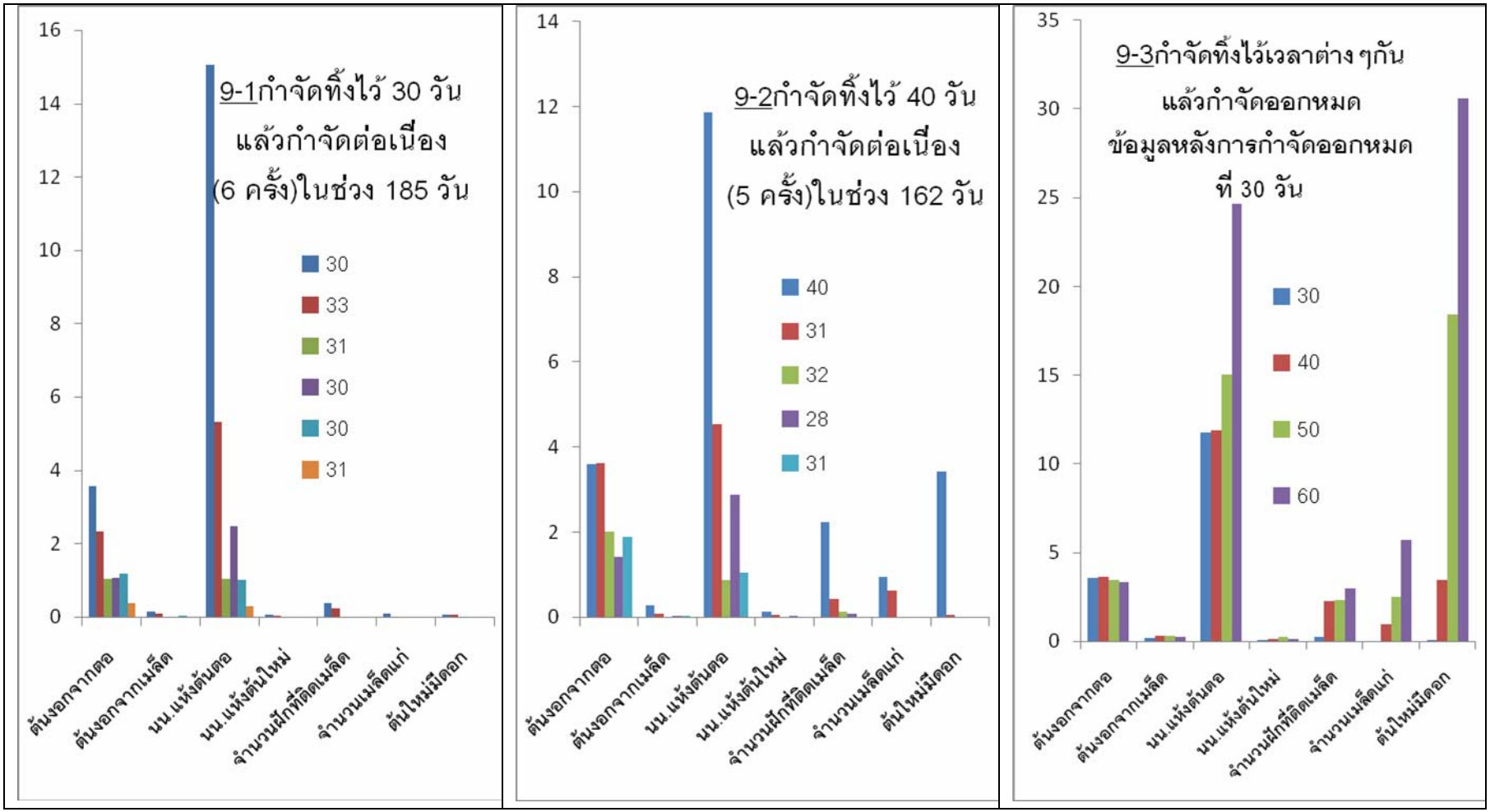
1989

ภาพที่ 5 ปริมาณดาดตะกั่วที่เปลี่ยนแปลงหลังการกำจัดที่ช่วงเวลาต่างๆกัน ในการศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดดาดตะกั่วในกระถางกล้วยไม้สกุลหวาย



1990

ภาพที่ 6 ปริมาณดาดตะกั่วที่เปลี่ยนแปลงหลังการกำจัดที่ช่วงเวลาต่างๆกัน ในการศึกษาหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดดาดตะกั่วในกระถางกล้วยไม้สกุลหวาย



1991

ศึกษาโรคและการจัดการโรคกล้วยไม้สกุลสแปโตกลอททิสและสกุลแกมมะโตฟิลลัม

Diagnosis and Disease Management of Orchids Genus Spathoglostis and Gramatophyllum

สุพัตรา อินทวิมลศรี
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

กล้วยไม้สกุล Spathoglostis (เอื้องดินใบหมากและลูกผสมต่างๆ) และ สกุล Gramatophyllum (เพชรหึงหรือหางช้าง) อยู่ในกลุ่มของกล้วยไม้ดินซึ่งปลูกเป็นไม้กระถาง หรือปลูกลงดิน เพื่อประดับตกแต่งอาคาร สถานที่ ตามแต่ต้องการ การที่เป็นไม้กระถางวางอยู่บนพื้นดิน หรือปลูลงดินทำให้มีโอกาสสัมผัสกับเชื้อโรคที่อยู่ในดินอยู่ตลอดเวลา จากการศึกษาโรคจากแหล่งปลูกของเกษตรกรจังหวัด นนทบุรี นครปฐม สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ราชบุรี เพชรบุรี พบว่า ต้นกล้วยไม้ทั้ง 2 สกุลมีเชื้อรา จากดินเข้าทำลาย โดยการเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการพบเชื้อราเมล็ดผักกาด (*Sclerotium* sp.) เข้าทำลายหัวและลำต้น ทำให้หัวเน่า รากเน่า อาการยอดเน่าพบเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่งพบระบาดในกล้วยไม้ทั่วไป และโรคใบจุดที่ใบ พบเชื้อรา *Colletotrichum* sp ที่ จ. เพชรบุรี และนครปฐม

รหัสการทดลอง 01 15 49 01 02 03 03 49

คำนำ

กล้วยไม้สกุล Spathoglostis (เอื้องดินใบหมากและลูกผสมต่างๆ) และ สกุล Gramatophyllum (เพชรหึงหรือหางช้างและลูกผสมฟิลิปปินส์) จัดเป็นกล้วยไม้ดินที่มีผู้นิยมปลูกเป็นไม้กระถางหรือปลูกลงดินเพื่อประดับตกแต่ง อาคาร สถานที่ โดยต้องมีวัสดุปลูกที่มีการระบายน้ำดี ประเทศที่มีการนิยมปลูกเลี้ยงกล้วยไม้สกุล Spathoglostis (เอื้องดินใบหมากและลูกผสมต่างๆ) ได้แก่ อินเดีย มาเลเซีย สหภาพพม่า ฟิลิปปินส์ และไทย จึงมีการนำกล้วยไม้สกุลนี้ มาจากต่างประเทศและเกิดลูกผสมใหม่ๆอยู่เสมอ และเป็นที่นิยมสำหรับคนไทยได้มีการส่งออกไปต่างประเทศด้วย การตรวจเอกสารไม่มีการกล่าวถึงกล้วยไม้ทั้ง 2 สกุลนี้มากนัก ทั้งเรื่องการปลูกเลี้ยง การดูแลอื่นๆ และศัตรูพืช โรค แมลง สำหรับโรคกล้วยไม้สกุลหวาย แคทารียา มักมีการกล่าวถึงมากกว่า การศึกษาเรื่องโรคครั้งนี้จึงเหมือนกับกล้วยไม้ชนิอื่นๆ ซึ่งมีเชื้อโรคหลัก เช่น เชื้อ *Phytophthora* ซึ่งเป็นเชื้อราในดิน เข้าทำลายกล้วยไม้ได้หลายสกุล ดังนั้นการศึกษาโรคของกล้วยไม้ดิน ปัญหาจึงต้องเกิดจากเชื้อโรคในดินเป็นหลักและโรคอื่นๆอาจมีบ้าง เนื่องจากข้อมูลมีไม่มากนัก จึงต้องศึกษาและหาแนวทางการจัดการโรคของกล้วยไม้ทั้ง 2 สกุลนี้

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคของกล้วยไม้สกุล Spathoglostis (เอื้องดินใบหมากและลูกผสมต่างๆ) และสกุล Gramatophyllum (เพชรหึงหรือหางช้างและลูกผสมฟิลิปปินส์) จากแหล่งปลูกต่างๆ เช่น จังหวัด นนทบุรี นครปฐม สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ราชบุรี เพชรบุรี
2. อาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ
3. ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ต่างๆ
4. เรือนทดลอง
5. ต้นกล้วยไม้ทั้ง 2 สกุล

วิธีการ

1. สำรวจและศึกษาโรคของกล้วยไม้ทั้ง 2 สกุล จากแหล่งปลูกต่างๆ เช่น จังหวัด นนทบุรี นครปฐม สมุทรสาคร สมุทรสงคราม ราชบุรี เพชรบุรี
2. นำตัวอย่างโรคที่พบมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ เลี้ยงเชื้อในอาหารและเก็บเชื้อบริสุทธิ์เพื่อนำมาศึกษาต่อไป
3. พิสูจน์โรคโดยการนำเชื้อโรคที่ได้ทดสอบกับกล้วยไม้ ทั้ง 2 สกุล

4. ทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราหรือสารชีวภัณฑ์ เพื่อหาแนวทางการจัดการโรค ของต้นกล้วยไม้ทั้ง 2 สกุล

เวลาและสถานที่ ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนกันยายน 2551 – กันยายน 2552 ที่สวนกล้วยไม้เกษตรกรจังหวัดต่างๆ และห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เนื่องจากกล้วยไม้ทั้ง 2 สกุล มีผู้เพาะเลี้ยงไม่มากนัก ส่วนใหญ่ร้านค้าต้นไม้จะรับจากแหล่งผลิตมขายและไม่ค่อยจะบอกแหล่งที่มาของต้นไม้ จึงทำให้การหาข้อมูลค่อนข้างลำบาก แต่ในที่สุดก็พบผู้ผลิตรายใหญ่ และได้ศึกษา พบเชื้อราเมล็ดผักกาด (*Sclerotium* sp.) เข้าทำลายกล้วยไม้สกุล Spathoglostis (เอื้องดินใบหมากและลูกผสมต่างๆ) และ สกุล Gramatophyllum (เพชรหึงหรือหางช้างและลูกผสมฟิลิปปินส์) ทำให้หัวและลำต้น ทำให้หัวเน่า รากเน่า ที่อ.กระทุ่มแบน จ.สมุทรสาคร รวม 2 ไอโซเลท โรคหัวเน่า ของกล้วยไม้สกุล Spathoglostis (เอื้องดินใบหมากและลูกผสมต่างๆ) โดยเชื้อรา *Sclerotium* sp. เช่นเดียวกัน ที่ จ. นครปฐม อีก 2 ไอโซเลท สำหรับโรคยอดเน่า ของกล้วยไม้สกุล Spathoglostis (เอื้องดินใบหมากและลูกผสมต่างๆ) โดยเชื้อรา *Phytophthora* อีก 1 ไอโซเลท

โรคใบจุดของทั้ง 2 สกุล คือ กล้วยไม้สกุล Spathoglostis (เอื้องดินใบหมากและลูกผสมต่างๆ) และ สกุล Gramatophyllum (เพชรหึงหรือหางช้างและลูกผสมฟิลิปปินส์) โดยเชื้อ *Colletotrichum* sp 2 ไอโซเลท

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

โรคกล้วยไม้ดินทั้ง 2 สกุล พบเชื้อราเมล็ดผักกาด (*Sclerotium* sp.) เป็นจำนวนมาก เข้าทำลายหัวและลำต้น ทำให้หัวเน่า รากเน่า เชื้อรา *Phytophthora* ทำให้ยอดเน่าดำ ทำให้หัวเน่า รากเน่า เช่นเดียวกันสำหรับใบจุด ทำให้ต้นและใบไม่สวย แต่ไม่ทำให้ต้นตาย

คำแนะนำในการจัดการโรค ให้ระวังเชื้อโรคที่อาจติดมากับ วัสดุปลูก และแน่นอนมีเชื้อโรคอยู่ในโรงเรือน ในดินตรงที่วางกระถางต้นไม้นั่นเอง ให้นำต้นที่เป็นโรคออกจากโรงเรือนและต้องมีการจัดการเชื้อโรค ซึ่งวิธีการต้องศึกษาต่อไป

เอกสารอ้างอิง

สิริลักษณ์ โล่ห์สวัสดิ์ . 2530 .คู่มือการป้องกันกำจัดโรคของกล้วยไม้และไม้ดอกบางชนิด . กลุ่มงานวิจัย โรคพืชผักและไม้ประดับ . กองโรคพืชและจุลชีววิทยา . กรมวิชาการเกษตร . กรุงเทพมหานคร

นิยมรัฐ ไตรศรี . 2542 . โรคของกล้วยไม้และการป้องกันกำจัด . กองโรคพืชและจุลชีววิทยา . กรม

วิชาการเกษตรครรชิต ธรรมศิริ . 2550 . เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ ปรับปรุงครั้งที่ 2 . กรุงเทพ. อัมรินพริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง,283 หน้า

ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ[1]

Varietal Reaction of Anthurium to Phytophthora Blight

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์ พีระวรรณ วัฒนวิภาส
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 ถึงเดือนกันยายน 2552 โดยสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคเน่าดำหน้าวัวจากแหล่งปลูก นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ เมื่อรวมกับเชื้อที่มีอยู่ใน culture collection ได้เชื้อราสาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว จำนวน 6 ไอโซเลท จาก จังหวัดลำปาง 2 ไอโซเลท จาก ภูเก็ต กรุงเทพ ปราจีนบุรี และนครปฐม จังหวัดละ 1 ไอโซเลท ได้จำแนกชนิดของ รา *Phytophthora* สาเหตุโรคเน่าดำ หรือ *Phytophthora* rot ของหน้าวัว คือ รา *P. parasitica* ราสาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัวไอโซเลทที่รุนแรงที่สุด คือไอโซเลท 46-An-Ba K 1 L จาก อ.มีนบุรี กรุงเทพฯ เมื่อนำมาศึกษาปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำปลูกเชื้อแก่ใบหน้าวัวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยวิธี detached leaf พบพืชต้านทานโรคปานกลาง จำนวน 7 พันธุ์ / สายพันธุ์ ได้แก่ เปลวเทียน, ผกามาศ, Hc – 034, cot Lady Beth, Montana, นาไก และแสงเทียน

---

[1] รหัสโครงการ 01-15-49-02-01-06-01-49

การทดลอง 1.6.1 ปฏิกิริยาของพันธุ์หน้าวัวลูกผสมต่อโรคเน่าดำ

คำนำ

หน้าวัว (Anthurium, *Anthurium andraeanum*) เป็นไม้ดอกไม้ประดับอยู่ในสกุล Anthurium วงศ์ Araceae มีชื่อสามัญว่า Farmingo Flower มีความทนทานต่อสภาพอากาศที่ร้อนชื้นในประเทศไทยเป็นอย่างดี มีความสำคัญไม่น้อยไปกว่าไม้ตัดดอกชนิดอื่น ๆ มีดอกที่สีสันสดใส สวยงาม สะดุดตา ก้านดอกยาวและแข็งแรงมีอายุการใช้งานที่ยาวนานกว่า 10 วัน จึงนิยมนำมาใช้ประโยชน์ในการตัดดอก จัดสวน และใช้เป็นไม้กระถาง ปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกประมาณ 190 ไร่ ให้ผลผลิตประมาณ 5,000,000 ดอกต่อปี มีการขยายพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เนื่องจากสามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศ และเป็นพืชที่ใช้พื้นที่ปลูกน้อย ให้ผลผลิตเร็ว และต่อเนื่องอย่างน้อย 6 ปี ให้ผลตอบแทนสูง (อรวรรณ และคณะ, 2552) ทำรายได้สูงกว่าดอกไม้ชนิดอื่น ๆ ที่ปลูกในพื้นที่ที่เท่ากันแม้ปลูกเพียงเพื่อตัดดอกจำหน่ายในตลาดท้องถิ่น จัดเป็นไม้ตัดดอกเศรษฐกิจที่ทำรายได้ต่อไร่สูงสุดของประเทศไทย คือ 140,000.-บาท/ไร่/ปี (สุรวิช, 2534)

โรคสำคัญของหน้าวัวที่เกิดจาก รา *P. parasitica* คือ โรคเน่าดำ หรือโรคใบแห้ง (Black rot, Leaf blight) ซึ่งมีผลต่อการผลิตหน้าวัวของเกษตรกร ทั้งปริมาณและคุณภาพของดอก โดยเฉพาะพันธุ์หน้าวัวที่เกษตรกรนำเข้ามาจากต่างประเทศส่วนใหญ่อ่อนแอต่อโรค โดยเฉพาะในฤดูฝนซึ่งโรคสามารถระบาดได้รวดเร็ว ทำให้ดอก ก้านดอก ใบ ต้น และรากเน่า ตาย โรคเน่าดำหรือโรคใบแห้งพบมาตั้งแต่ปี 2520 จากแหล่งปลูกหน้าวัวในจังหวัดนนทบุรี เชื้อเข้าทำลายได้ง่าย เกิดอาการเน่าที่ยอด โคนต้น ราก อาการเน่าเช่นเดียวกับที่เกิดบนส่วนของใบ โดยเฉพาะฤดูฝนเชื้อจะเข้าทำลายทุกส่วนของต้นหน้าวัว ทำให้เน่าตายในที่สุด (นิยมรัฐ, 2544)

การจะพัฒนาการปลูกเลี้ยงหน้าวัวสำหรับเกษตรกรโดยทั่วไปนั้น จำเป็นต้องมีการวิจัยและพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้หน้าวัวพันธุ์ใหม่ เป็นการแก้ปัญหาต้นพันธุ์แพง และมีสายพันธุ์ของไทยเองใช้ทดแทนพันธุ์ดั้งเดิมที่มีข้อจำกัดหลายประการ ตลอดจนมีคุณสมบัติที่เหมาะสมทางด้านการต้านทานโรค และทนต่อสภาพแวดล้อมของประเทศไทยได้ การทดสอบปฏิกิริยาของสายพันธุ์ดังกล่าวจึงเป็นส่วนสำคัญในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์หน้าวัวให้ต้านทาน หรือทนทานต่อโรคเน่าดำ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การสำรวจ รวบรวมและศึกษาลักษณะอาการของโรคและการเกิดโรค

ได้สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคเน่าดำหน้าวัว จากแหล่งปลูกทั่วประเทศ บันทึกและศึกษารายละเอียดลักษณะอาการของโรค สภาพแวดล้อมของการเกิดโรค และการปฏิบัติดูแลของเกษตรกร

2. การแยกเชื้อบริสุทธิ์สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว

ได้นำตัวอย่างโรคเน่าดำหน้าวัวที่พบมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยวิธี tissue transplanting เลี้ยงบนอาหาร PDA + BRNAP ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ (selective media) (Masago *et al*., 1972) แล้วเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร carrot agar (CA) (Kaosiri *et al*., 1978) และแยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทไว้ในหลอดทดลอง เพื่อศึกษาวิจัยรายละเอียดของเชื้อสาเหตุ ที่ห้องปฏิบัติการโรคพืช กลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพ ฯ

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของราที่แยกได้

ได้เลี้ยงราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อนำไปปลูกเชื้อ โดยวิธี detached leaf ใช้ใบหน้าวัวกลุ่มพันธุ์ไทย คือ พันธุ์ผกามาศ และพันธุ์ขาวนายหวาน ระยะใบเพสลาด ที่ปลายของก้านใบพันด้วยสำลีชุบน้ำกลั่น เพื่อให้ใบสดอยู่เสมอ ปลูกเชื้อที่แยกได้ ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มม. ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว เจาะทำแผลบนบริเวณสองข้างใบหน้าวัว วางเส้นใยบนอาหารวุ้นคว่ำลงบนใบที่ทำแผล จากนั้นใช้สำลีชุบน้ำวางบนชิ้นอาหารวุ้นดังกล่าวเพื่อให้ความชื้น วางใบหน้าวัวในกล่องพลาสติกปิดฝา เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 3 วัน นำใบหน้าวัวที่แสดงอาการเป็นโรค ตัดบริเวณรอยต่อเนื้อเยื่อที่เป็นโรคกับเนื้อเยื่อปกติไปแยกเชื้อบริสุทธิ์อีกครั้งหนึ่ง แยกเก็บเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง

4. การทดสอบความรุนแรงของ ราสาเหตุโรคเน่าดำไอโซเลทต่าง ๆ ในการเข้าทำลายหน้าวัว

ได้เลี้ยงราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CA ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อนำไปปลูกเชื้อ โดยวิธี detached leaf บนใบหน้าวัวพันธุ์ขาวนายหวานระยะเพสลาด ทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 3 เพื่อคัดเลือกหาไอโซเลทที่รุนแรง วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวนเชื้อ คือ จำนวนกรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ โดยมีกรรมวิธีที่วางชิ้นอาหาร CA ที่ไม่มีเชื้อบนแผลใบหน้าวัวเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

5. การศึกษาความรุนแรงของราสาเหตุโรคเน่าดำบนใบหน้าวัวพันธุ์ / สายพันธุ์ต่าง ๆ

ได้ปลูกราสาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัวไอโซเลทรุนแรงที่คัดเลือกได้จากข้อ 6 แก่ใบหน้าวัวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยวิธี detached leaf ทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 3 เพื่อคัดเลือกหาพันธุ์ต้านทานหรือทนทานต่อโรคเน่าดำ

ปฏิกิริยาใบหน้าวัวพันธุ์ / สายพันธุ์ต่าง ๆ ต่อโรค แบ่งเป็น 3 ระดับ ดังนี้

พืชต้านทาน (R - Resistant)	พืชไม่แสดงอาการเป็นโรค
พืชต้านทานปานกลาง (MR - Moderate Resistant)	พืชเป็นโรค ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลเฉลี่ยขยายไม่เกิน 16 มิลลิเมตร
พืชอ่อนแอ ไม่ต้านทาน (S - Susceptible)	พืชเป็นโรค ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลเฉลี่ยขยายเกิน 16 มิลลิเมตร

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสำรวจ รวบรวมและศึกษาลักษณะอาการของโรคและการเกิดโรค

ผลการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคเน่าดำหน้าวัว ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2546 – 2551 ได้ตัวอย่างโรคเน่าดำหน้าวัว จำนวน 6 ตัวอย่าง จาก จังหวัดลำปาง 2 ตัวอย่าง ภูเก็ต กรุงเทพ ปราจีนบุรี และนครปฐม จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง พบว่าหน้าวัวระยะต้นโตแสดงลักษณะอาการใบไหม้ แรกเริ่มจะปรากฏเป็นแผลฉ่ำน้ำเล็ก ๆ ต่อมาแผลจะลุกลามขยายจนกลาย เป็นแผลเน่าสีน้ำตาล หรือ น้ำตาลดำ แผลเน่าแห้งขยายลุกลามอย่างรวดเร็ว บางครั้งพบการเข้าทำลายบริเวณลำต้น ต้นที่มีอาการลำต้นเน่านี้ สามารถดึงก้านใบให้หลุดจากต้นได้ง่าย ก้านใบแสดงอาการเน่าจากโคนต้น แผลขยายลุกลามอย่างรวดเร็ว ทำให้เน่าหมดทั้งก้านใบ ลามเข้าสู่เนื้อใบ ทำให้ใบเน่า เชื้อสามารถเข้าทำลายบริเวณรากและโคนต้น ใบมีลักษณะฉ่ำน้ำ มักอาการปลายใบไหม้ จากการเข้าทำลายของเชื้อที่กระเด็นโดยการให้น้ำ

ผลการสำรวจ รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคเน่าดำหน้าวัว พบลักษณะอาการใบไหม้ ลำต้นเน่า ซึ่งลักษณะอาการเหล่านี้ตรงกับการรายงานของ นิยมรัฐ (2544) และปิยรัตน์และสุรภี (2548) ที่รายงานการเกิดโรคเน่าดำ (Black rot) หรือโรคใบแห้ง (Leaf blight) ของหน้าวัว อาการที่ใบแรกเริ่มจะปรากฏเป็นแผลฉ่ำน้ำเล็กๆ ต่อมาแผลจะลุกลามขยายได้อย่างรวดเร็วจนกลายเป็นแผลเน่าสีน้ำตาลหรือแผลเน่าแห้ง ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศ ในฤดูฝน เครื่องปลูกที่ค่อนข้างแฉะ แผลที่เกิดจะเน่าและลุกลามรวดเร็ว ในสภาพแวดล้อมค่อนข้างแห้งในฤดูหนาว-ร้อน แผลจะแห้งและกรอบยุบตัวบุ๋มลึกลงไปจากผิวใบ แผลขยายช้ากว่า ขอบแผลรูปร่างไม่แน่นอน ส่วนของก้านใบ จานรองดอก ปลี ก้านดอก หน่ออ่อน หรือต้นกล้า และส่วนของต้นที่ย้ายปลูกใหม่ หรือต้นแก่ เชื้อเข้าทำลายได้ง่าย เกิดอาการเน่าที่ยอด โคนต้น ราก อาการเน่าเช่นเดียวกับที่เกิดบนส่วนของใบ โดยเฉพาะฤดูฝนเชื้อจะเข้าทำลายทุกส่วนของต้นหน้าวัว ทำให้เน่าตายในที่สุด ซึ่งแตกต่างจาก โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ที่มีสาเหตุจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. เชื้อเข้าทำลายที่ใบ จานรองดอก และปลี ลักษณะแผลที่ใบและจานรองดอกเป็นแผลจุดสี

น้ำตาล ค่อนข้างกลม เมื่อสภาพอากาศร้อนชื้น แผลขยายใหญ่ขึ้น ขอบแผลเป็นสีน้ำตาล มีกลุ่มราขึ้นเห็นเป็นจุดสีดำเล็ก ๆ เป็นวงเรียงซ้อนกันหลาย ๆ ชั้น ออกไปจากบริเวณกลางแผล โดยมีกลุ่มของราสีดำเกิดขึ้นเป็นวงซ้อนกัน และแตกต่างจาก โรคใบไหม้ (Bacterial leaf blight) ที่มีสาเหตุจากแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae* ที่แสดงอาการเริ่มแรก เป็นจุดฉ่ำน้ำเล็ก ๆ บริเวณขอบใบ หรือกลางใบ ด้านหลังใบแผลเป็นจุดฉ่ำน้ำ ขอบแผลเป็นสีเหลืองและน้ำตาล แล้วลุกลามเป็นแผลขนาดใหญ่ ใบไหม้แห้งเป็นสีน้ำตาล ขอบแผลซ้ำมีวงสีเหลืองล้อมรอบ (halo) หากแบคทีเรียเข้าทางรากจะแพร่กระจายไปตามท่อลำเลียง อุดตันท่อน้ำท่ออาหาร ทำให้ใบแก่ด้านล่างมีอาการใบเหลือง ขณะที่เส้นใบยังเขียวอยู่ ต่อมาโคนต้นไหม้เป็นสีน้ำตาลท่อลำเลียงถูกทำลายไหม้เป็นสีน้ำตาล และแตกต่างจาก โรคใบด่าง (Mosaic) สาเหตุจากไวรัส ต้นที่เป็นโรคแสดงอาการแคระแกร็น ไม่แตกกอ ใบด่าง ลายเขียวสลับเหลือง บางพันธุ์ใบผิดรูปร่าง ผิวใบเป็นคลื่นขรุขระ โค้งงอ บางครั้งมีอาการใบด่างซีกเดียว หรือด่างไม่ชัดเจน ดอกมีขนาดเล็ก ดอกด่าง สีผิดไปจากปกติ และแหว่งผิดรูปร่าง ดอกไม่มีคุณภาพและไม่ได้มาตรฐาน ต้นทรุดโทรม นอกจากนี้ยังแตกต่างจากโรคลำต้นและรากเน่า (Stem and Root rot) ที่เกิดจากเห็ด อาการที่เห็นเริ่มต้น ใบล่างหน้าวัวแสดงอาการเหลือง และลามขึ้นสู่ใบด้านบน ใบหลุดจากต้นง่าย บริเวณโคนต้น หรือรากเปื่อยผุเป็นสีน้ำตาล เชื้อเห็ดเจริญแย่งน้ำและอาหาร ที่โคนต้นหน้าวัวมีเส้นใยสีขาวลักษณะหยาบขึ้นปกคลุม กระถางและวัสดุปลูกมีเส้นใยขึ้นคลุม เส้นใยเห็ดทำให้วัสดุปลูกผุ เปื่อยยุ่ย เมื่อสภาพความชื้นเหมาะสม เส้นใยจะเจริญขึ้นเป็นดอกเห็ด (นิยมรัฐ, 2544 ; ปิยรัตน์และสุรภี, 2548)

2. การแยกเชื้อบริสุทธิ์สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว

ผลการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างใบหน้าวัวที่เป็นโรคเน่าดำ จำนวน 6 ตัวอย่างได้เชื้อสาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว จำนวน 6 ไอโซเลท (ตารางที่ 1.) พบเส้นใยรา *Phytophthora* spp. เจริญออกจากตัวอย่างทุกชิ้น ทั้ง 6 ตัวอย่าง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว ทั้ง 6 ไอโซเลท คือ รา *Phytophthora* spp. ซึ่งตรงกับการรายงานของนิยมรัฐ (2544) และปิยรัตน์ และสุรภี (2548) ที่รายงานการเกิดโรคเน่าดำหน้าวัว แสดงอาการเหมือนตัวอย่างโรคเน่าดำหน้าวัวในการศึกษาครั้งนี้ ว่ามีสาเหตุจาก รา *P. parasitica* หลังจากเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ PDA + BRNAP ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตัดขอบโคโลนีของเส้นใยดังกล่าวเลี้ยงบนอาหาร CA แยกเก็บราบริสุทธิ์ แต่ละไอโซเลทในหลอดทดลอง เพื่อศึกษารายละเอียดต่อไป

ตารางที่ 1 เชื้อ *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรคใบไหม้หน้าวัวจากแหล่งปลูกต่าง ๆ

ที่	ไอโซเลท	ปีที่แยกเชื้อ (พ.ศ.)	แหล่งปลูกที่เก็บตัวอย่าง
1.	46-An-Ba K 1 L	2546	อ.มีนบุรี กรุงเทพฯ
2.	46-An- NaP 1 L	2546	อ.พุทธมณฑล นครปฐม
3.	48-An- PhK 2 L	2548	อ.เมือง ภูเก็ต
4.	49 An Lpa 1 L	2549	ต้นทดสอบพันธุ์ สถานีทดลองพืชสวนห้างฉัตร อ.ห้างฉัตร ลำปาง
5.	49 An Lpa 2 L	2549	ต้นทดสอบพันธุ์ สถานีทดลองพืชสวนห้างฉัตร อ.ห้างฉัตร ลำปาง
6.	51 An PB 1 L	2551	หน้าวัวพันธุ์สีขาว รังกล้วยไม้บริษัท PSP อ.เมือง ปราจีนบุรี

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของราที่แยกได้

ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของราที่แยกได้ พบว่าราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบหน้าวัว พันธุ์ผกามาศ และพันธุ์ขาวนายหวาน ระยะเพสลาดเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ หลังจากนั้นแผลจะลุกลามไปตามเส้นใบ ขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคโดยใช้ใบหน้าวัวครั้งนี้ ได้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของอมรรัตน์และคณะ (2546) ที่ได้ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ปลูก ทดสอบโดยวิธี detached leaf ภายหลังการปลูกเชื้อโดยการทำแผลเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทองระยะเพสลาดเป็นโรค และได้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของ อมรรัตน์และคณะ (2550) ที่ได้ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ รา *P. mirabilis* สาเหตุของโรคกิ่งไหม้และใบไหม้ของลำไย นำไปปลูกเชื้อ โดยวิธี detached leaf เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 3 วัน ทำให้ใบลำไยทดสอบเป็นโรค

ดังนั้นการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค ควรทำการทดสอบโดยการใช้ detached leaf ซึ่งเป็นวิธีการที่สะดวกและประหยัดเวลาในการศึกษาได้มาก

4. การทดสอบความรุนแรงของ ราสาเหตุโรคเน่าดำไอโซเลทต่าง ๆ ในการเข้าทำลายหน้าวัว

ผลการทดสอบความรุนแรงของราสาเหตุโรคเน่าดำไอโซเลทต่าง ๆ ในการเข้าทำลายหน้าวัว พบว่า ราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแต่ละพื้นที่ ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบหน้าวัวพันธุ์ขาวนายหวาน ระยะเพสลาดเป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ (ตารางที่ 4.) ไอโซเลท 46-An-Ba K 1 L, 49 An Lpa 2 L, 51 An PB 1 L และ 46-An- NaP 1 มีความรุนแรงในการเข้าทำลายใบหน้าวัว ทำให้ใบหน้าวัวเกิดแผลขนาด 36.9, 36.1, 33.6 และ 30.1 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนไอโซเลท 49 An Lpa 1 L และ 48-An- PhK 2 L ทำให้ใบหน้าวัวเกิดแผลขนาด 21.9 และ 19.9 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 4 ไอโซเลทแรก และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ (ไม่ปลูกเชื้อ โดยวางชิ้นอาหาร CA ที่ไม่มีเชื้อบนแผลใบหน้าวัว) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2. ความรุนแรงของรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัวจากแหล่งปลูกต่าง ๆ บนใบหน้าวัว ที่เกิดจากการปลูกเชื้อโดยวิธี detached leaf

ที่	**ไอโซเลท รา *Phytophthora parasitica***	**ขนาดแผลที่เกิดจากการปลูกเชื้อ (มิลลิเมตร)**
1.	46-An-Ba K 1 L	36.9 A
2.	49 An Lpa 2 L	36.1 A
3.	51 An PB 1 L	33.6 A
4.	46-An- NaP 1 L	30.1 A
5.	49 An Lpa 1 L	21.9 B
6.	48-An- PhK 2 L	19.9 B
7.	control (ไม่ปลูกเชื้อ)	6.0 C
	CV (%)	25.45

[1] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า รา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัวที่มีขนาด sporangia เล็กที่สุด คือ ไอโซเลท 48-An-PhK 2 L มีขนาด sporangia 30.50 ± 5.41 x 26.33 ± 4.45 um มีความรุนแรงในการเข้าทำลายหน้าวัวน้อยที่สุด ทำให้ใบหน้าวัวเกิดแผลขนาด 19.9 มิลลิเมตร (ตารางที่ 2.) ซึ่งตรงกับการศึกษาของ อมรรัตน์และคณะ (2546) ที่ศึกษาความผันแปรของรา *P. palmivora* (Butl.) Butl. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน โดยเก็บตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน จากแหล่งปลูกต่าง ๆ ของประเทศไทย แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้รา *P. palmivora* จำนวน 25 ไอโซเลท นำมาศึกษาลักษณะรูปร่าง แบบคู่ผสม และ ความรุนแรงของรา *P. palmivora* บนพืชชนิดต่าง ๆ พบว่า รา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนไอโซเลทจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งมี sporangia ขนาดเล็ก มีความรุนแรงในการเข้าทำลายพืชทดสอบน้อยกว่า ไอโซเลทอื่น ๆ และสังเกตว่า *Phytophthora* ไอโซเลท จากทุเรียนที่มี sporangia ขนาดใหญ่ หรือมี L : B ratio สูง (>1.7) จาก ไอโซเลทจังหวัดภาคตะวันออก มีความสามารถทำให้เกิดโรคบนใบพืชทดสอบบางชนิดรุนแรงกว่า sporangia ขนาดเล็ก หรือมี L : B ratio ต่ำ (<1.7) จากไอโซเลทจังหวัดภาคใต้ เชื้อ 3 ไอโซเลทจากจังหวัดจันทบุรีมีความสามารถในการเข้าทำลายพืชต่าง ๆ รุนแรงกว่าเชื้อไอโซเลทจากจังหวัดอื่นๆ (อมรรัตน์และคณะ, 2546) ซึ่งนับว่าเป็นข้อมูลใหม่ที่น่าสนใจศึกษาค้นคว้าต่อไป

5. การศึกษาความรุนแรงของราสาเหตุโรคเน่าดำบนใบหน้าวัวพันธุ์ / สายพันธุ์ต่าง ๆ

คัดเลือกรา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัวไอโซเลทรุนแรงที่ได้จากการทดลองข้อ 4 คือ ไอโซเลท 46-An-Ba K 1 L นำมาปลูกเชื้อแก่ใบหน้าวัวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยวิธี detached leaf เพื่อคัดเลือกหาพันธุ์ต้านทาน หรือทนทานต่อโรคเน่าดำ

หน้าวัวพันธุ์ / สายพันธุ์ต่าง ๆ ได้จาก

- พันธุ์การค้านำเข้าจากต่างประเทศ จาก สวนสมิมันหน้าวัว อ.เมือง จ.สมุทรสงคราม
- พันธุ์ / สายพันธุ์ พื้นเมืองและลูกผสมกรมวิชาการเกษตร จาก ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง และจาก ศูนย์บริการวิชาการ ฯ เชียงใหม่ (ฝาง) อ.ฝาง จ. เชียงใหม่

ผลการศึกษาความรุนแรงของราสาเหตุโรคเน่าดำบนใบหน้าวัว พบว่า รา *P. parasitica* สาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว ไอโซเลท 46-An-Ba K 1 L (ตารางที่ 3.) ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบหน้าวัวพันธุ์การค้านำเข้าจากต่างประเทศทุกพันธุ์จำนวน 10 พันธุ์ เป็นโรค แสดงอาการแผลเน่าสีน้ำตาลดำ ถึงสีดำ บนเนื้อเยื่อใบทั้งด้านหลังใบและท้องใบ พันธุ์แมกซีม่า แสดงการเป็นโรครุนแรงที่สุด ทำให้ใบหน้าวัวเป็นแผล มีขนาด 41.0 มิลลิเมตร

ใบหน้าวัวพันธุ์ / สายพันธุ์ พื้นเมืองและลูกผสมกรมวิชาการเกษตร จาก ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง จำนวน 13 พันธุ์ / สายพันธุ์ ไม่พบ พันธุ์ / สายพันธุ์ ที่ต้านทานโรค พบพืชต้านทานปานกลาง พืชเป็นโรค ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลเฉลี่ยขยายไม่เกิน 16 มิลลิเมตร จำนวน 6 พันธุ์ / สายพันธุ์ ได้แก่ เปลวเทียน, ผกามาศ, Hc – 034, cot Lady Beth, Montana และนาไก ใบหน้าวัวเป็นแผลขนาด 6.5, 7.9, 8.0, 8.4, 10.2 และ 10.3 มิลลิเมตร ตามลำดับ และพันธุ์ / สายพันธุ์ ที่อ่อนแอจำนวน 7 พันธุ์ / สายพันธุ์ คือ Lady Axe, Hc – 084, Prety Ann, Hc – 038, ศรีสง่า, Hc – 132 และ มิกกี้เพรม ใบหน้าวัวเป็นแผลขนาด 17.2, 17.5, 17.9, 18.3, 20.3, 22.6 และ 25.8 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนใบหน้าวัวพันธุ์ / สายพันธุ์ พื้นเมืองและลูกผสมกรมวิชาการเกษตร จาก ศูนย์บริการวิชาการ ฯ เชียงใหม่ (ฝาง) อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ พบ พืชต้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ คือ แสงเทียน ใบหน้าวัวเป็นแผลขนาด 13.8 มิลลิเมตร และพันธุ์ / สายพันธุ์ ที่อ่อนแอจำนวน 13 พันธุ์ / สายพันธุ์ คือ ผกามาศ, แสงเทียนขาว, Na Gal, ขาวนายหวาน, ชมพูอังกฤษ, ฝาง 33, ฝาง 26, ขาวเศวต, แดงศรีสง่า, ฝาง 54, ชมพู No.2, จักรพรรดิ และ ดาวสมร ใบหน้าวัวเป็นแผลขนาด 20.7, 24.1, 24.2, 26.0, 27.0, 27.3, 28.8, 30.1, 31.0, 32.0, 32.0, 35.3, และ 36.1 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 3. **ปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์หน้าวัวต่อโรคเน่าดำที่มีสาเหตุจาก รา *Phytophthora parasitica* (ไอโซเลท** 46-An Ba K 1 L) **3 วันหลังจากปลูกเชื้อ**

ลำดับที่	สายพันธุ์/พันธุ์	ปฏิกิริยาต่อโรค
• **สมิมัน หน้าวัว อ.เมือง จ.สมุทรสงคราม**		**พันธุ์การค้า**
1.	แองเจล	S (17.7)
2.	เพียรเอท	S (21.5)
3.	โรซ่า	S (23.8)
4.	อะโคโปรลิส	S (23.9)
5.	แพทซีน	S (27.8)
6.	โซแน็ต	S (30.0)
7.	เมอแรงเก้	S (35.8)
8.	เทอร่า	S (38.2)
9.	เพรสซีเด้น	S (39.1)
10.	แมกซีม่า	S (41.0)

ลำดับที่	สายพันธุ์/พันธุ์	ปฏิกิริยาต่อโรค
• **ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง**		
1.	เปลวเทียน	MR (6.5)
2.	ผกามาศ	MR (7.9)
3.	Hc – 034	MR (8.0)
4.	cot Lady Beth	MR (8.4)
5.	Montana	MR (10.2)
6.	นาไก	MR (10.3)
7.	Lady Axe	S (17.2)
8.	Hc – 084	S (17.5)
9.	Prety Ann	S (17.9)
10.	Hc – 038	S (18.3)
11.	ศรีสง่า	S (20.3)
12.	Hc – 132	S (22.6)
13.	มิกกี้เพรม	S (25.8)
ลำดับที่	**สายพันธุ์/พันธุ์**	**ปฏิกิริยาต่อโรค**
• **ศูนย์บริการวิชาการ ฯ เชียงใหม่ (ฝาง) อ.ฝาง จ.เชียงใหม่**		
1.	แสงเทียน (แดง)	MR (13.8)
2.	พันธุ์ผกามาศ (ส้ม)	S (20.7)
3.	แสงเทียนขาว	S (24.1)
4.	Na Gal	S (24.2)
5.	ขาวนายหวาน	S (26.0)
6.	ชมพู อังกฤษ	S (27.0)
7.	ฝาง 33	S (27.3)
8.	ฝาง 26	S (28.8)
9.	ขาวเศวต	S (30.1)
10.	แดงศรีสง่า (แดง)	S (31.0)
11.	ฝาง 54	S (32.0)
12.	ชมพู No.2	S (32.0)

13.	จักรพรรดิ (แดง)	S (35.3)
14	ดาวสมร (แดง)	S (36.1)

การศึกษาความรุนแรงของราสาเหตุโรคเน่าดำบนใบหน้าวัวพันธุ์ / สายพันธุ์ต่าง ๆ ครั้งนี้ ได้แบ่งระดับการเป็นโรค โดยเทียบเคียงกับการทดลองของ อมรรัตน์และทวี (2534) ที่ได้ปรับปรุงพันธุ์ฝ้ายให้ต้านทานโรคใบไหม้ที่เกิดจาก แบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *malvacerum* ปลูกเชื้อโดยวิธี clipping ใช้กรรไกรจุ่มลงในน้ำผสมเชื้อตัดใบฝ้ายทดสอบ บันทึกการเป็นโรคใบไหม้โดยแบ่งระดับการเกิดโรคเป็น 3 ระดับ คือ พืชต้านทาน (พืชไม่เป็นโรค) พืชต้านทานปานกลาง (พืชเป็นโรคแผล ขยายจากรอยตัดไม่เกินข้างละ 5 มิลลิเมตร) พืชอ่อนแอ (พืชเป็นโรค แผลขยายจากรอยตัด ข้างละมากกว่า5 มิลลิเมตร)

วัชรินทร์ และคณะ (2551) อ้างโดย Marky (2552) ปรับปรุงพันธุ์หน้าวัวเพื่อการตัดดอกให้มีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ (Anthurium blight) ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xantomonas campestris* pv. *dieffenbachiae* โดยการปลูกเชื้อบนต้นพืช พันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกว่าต้านทานต่อโรค ได้แก่ Amingo, Rabido, สุลต่าน, President และเปลวเทียนภูเก็ต ได้พันธุ์พ่อแม่พันธุ์ที่เป็น Rabido Calipso และเปลวเทียนภูเก็ต ลูกผสมที่ได้จึงมีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ โดยการศึกษานี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนา และปรับปรุงพันธุ์หน้าวัวเพื่อการผลิตเป็นไม้ตัดดอกต่อไป โดยเฉพาะการใช้พันธุ์พื้นเมืองของไทยที่มีลักษณะความต้านทานโรคเป็นตัวถ่ายทอดยีน เช่น พันธุ์เปลวเทียนภูเก็ต

ในการทดลองครั้งนี้ พบ หน้าวัวพันธุ์ / สายพันธุ์ พื้นเมืองและลูกผสมกรมวิชาการเกษตรต้านทานต่อโรคปานกลาง จำนวน 7 พันธุ์ / สายพันธุ์ ได้แก่ เปลวเทียน, ผกามาศ, Hc – 034, cot Lady Beth, Montana และ นาไก และ แสงเทียน เป็นพันธุ์ / สายพันธุ์ ที่น่าสนใจใช้เป็นพ่อพันธุ์หรือแม่พันธุ์ สำหรับปรับปรุงพันธุ์หน้าวัวให้มีความต้านทานต่อโรคเน่าดำ ต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ผลการสำรวจ รวบรวมตัวอย่างโรคเน่าดำหน้าวัว ได้ตัวอย่างโรคเน่าดำหน้าวัว จำนวน 6 ตัวอย่าง จาก จังหวัดลำปาง 2 ตัวอย่าง ภูเก็ต กรุงเทพ ปราจีนบุรี และนครปฐม จังหวัดละ 1 ตัวอย่าง หน้าวัวระยะต้นโตแสดงลักษณะอาการใบไหม้ แรกเริ่มจะปรากฏเป็นแผลฉ่ำน้ำเล็ก ๆ ต่อมาแผลจะลุกลามขยายจนกลาย เป็นแผลเน่าสีน้ำตาล หรือ น้ำตาลดำ แผลเน่าแห้งขยายลุกลามอย่างรวดเร็ว บางครั้งพบการเข้าทำลายบริเวณลำต้น ต้นที่มีอาการลำต้นเน่านี้ สามารถดึงก้านใบให้หลุดจากต้นได้ง่าย ก้านใบแสดงอาการเน่าจากโคนต้น แผลขยายลุกลามอย่างรวดเร็ว

ทำให้เน่าหมดทั้งก้านใบ ลามเข้าสู่เนื้อใบ ทำให้ใบเน่า เชื้อเข้าทำลายบริเวณรากและโคนต้น ใบมีลักษณะฉ่ำน้ำ มักมีอาการปลายใบไหม้ จากการเข้าทำลายของเชื้อที่กระเด็นโดยการให้น้ำ เมื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้เชื้อสาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัว 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 46-An-Ba K 1 L จาก อ.มีนบุรี กรุงเทพ ฯ 49 An Lpa 1 L และ 49 An Lpa 2 L จาก อ.ห้างฉัตร จ.ลำปาง 51 An PB 1 L จาก บริษัท PSP อ.เมือง ปราจีนบุรี 46-An- NaP 1 L จาก อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม และ 48-An-PhK 2 L จาก อ.เมือง จ.ภูเก็ต และราบริสุทธิ์ที่แยกได้นี้ ภายหลังการปลูกเชื้อโดยวิธีการ detached leaf เป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบหน้าวัว พันธุ์ผกามาศ และพันธุ์ขาวนายหวาน ระยะเพสลาดเป็นโรค

ได้จำแนกชนิดของ **รา *Phytophthora* สาเหตุโรคใบไหม้และต้นเน่า หรือ โรคเน่าดำ หรือ *Phytophthora* rot ของหน้าวัว คือ รา *P. parasitica***

เมื่อทดสอบความรุนแรงของราสาเหตุโรคเน่าดำไอโซเลทต่าง ๆ ในการเข้าทำลายหน้าวัว พบว่า ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ทำให้ใบหน้าวัวพันธุ์ขาวนายหวาน ระยะเพสลาดเป็นโรค ไอโซเลท 46-An-Ba K 1 L, 49 An Lpa 2 L, 51 An PB 1 L และ 46-An- NaP 1 มีความรุนแรงในการเข้าทำลายใบหน้าวัว ได้คัดเลือกราสาเหตุโรคเน่าดำหน้าวัวไอโซเลทรุนแรง ได้แก่ ไอโซเลท 46-An-Ba K 1 L นำมาปลูกเชื้อแก่ใบหน้าวัวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยวิธี detached leaf เพื่อคัดเลือกหาพันธุ์ต้านทาน หรือทนทานต่อโรคเน่าดำ ภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 3 วัน เชื้อสาเหตุทำให้ใบหน้าวัวพันธุ์การค้า ซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 10 พันธุ์ เป็นโรคทั้งหมด ส่วนหน้าวัวพันธุ์ / สายพันธุ์ พื้นเมืองและลูกผสมกรมวิชาการเกษตร จาก ศูนย์วิจัยพืชสวนลำปาง อ. ห้างฉัตร จ.ลำปาง พบ พืชต้านทานโรคปานกลาง จำนวน 6 พันธุ์ / สายพันธุ์ ได้แก่ เปลวเทียน, ผกามาศ, Hc – 034, cot Lady Beth, Montana และ นาไก และจาก ศูนย์บริการวิชาการ ฯ เชียงใหม่ (ฝาง) อ.ฝาง จ.เชียงใหม่ พบ พืชต้านทานปานกลาง จำนวน 1 พันธุ์ คือ แสงเทียน

เอกสารอ้างอิง

นิยมรัฐ ไตรศรี. 2544. โรคของหน้าวัว. หน้า 71-85. *ใน* คู่มือโรคไม้ดอกและไม้ประดับและการป้องกันกำจัด. เอกสารวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และสุรภี กีรติยะอังกูร. 2548. โรคหน้าวัว. หน้า 62-73. *ใน* โรคไม้ดอก. เอกสารวิชาการ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. 2534. เทคโนโลยีการผลิตไม้ตัดดอกสกุลหน้าวัว. เทคโนโลยีการผลิตไม้ดอก - ไม้ประดับ สมาคมไม้ประดับแห่งประเทศไทย. หน้า 59-63.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ และทวี เก่าศิริ. 2534. การปรับปรุงพันธุ์ฝ้ายให้ต้านทานโรคใบไหม้โดยใช้รังสีแกมม่า : การคัดเลือกในชั่วที่ 5. หน้า 14-16. *ใน* รายงานผลงานวิจัย พ.ศ. 2534. กลุ่มงานวิจัยโรคพืชเส้นใย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ พจนา ตระกูลสุขรัตน์และทวี เก่าศิริ. 2546. ความผันแปรใน *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. ทุเรียน : ลักษณะรูปร่างและแบบคู่ผสม. วารสารวิชาการเกษตร (21) 1 : 72-89.

อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์ ทวี เก่าศิริ พัชราภรณ์ ลีลาภิรมย์กุล พจนา ตระกูลสุขรัตน์ และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2550. การศึกษาวิจัยโรคราน้ำฝนลำไย : สาเหตุ นิเวศวิทยาและการควบคุมโรค. หน้า 522-542. *ใน* เอกสารวิชาการประกอบการประชุมสัมมนาวิชาการ การเพิ่มประสิทธิภาพการบริหารการจัดการงานวิจัยและพัฒนาด้านอารักขาพืช ผลงานวิจัย : FULL PAPER อารักขาพืชเพื่อการผลิต สู้วิกฤตโลกร้อน สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ วันที่ 21-23 สิงหาคม 2550 ณ โรงแรม โนโวเทล ริมเพ รีสอร์ท จังหวัดระยอง.

อรวรรณ วิชัยลักษณ์ ชัญญา ทิพานุกะ และภูริพันธุ์ สุวรรณเมฆ. C:\My Documents\Work 47-48\ คู่มือการถ่ายทอดเทคโนโลยี48\แบบย่อ\หน้าวัว1.doc. www.anthura.nl สืบค้น วันที่ 5 มิถุนายน พ.ศ. 2552.

Marky. 2552. หน้าวัว: การปรับปรุงพันธุ์เพื่อการตัดดอก วิจัยสู่วิชาการ share.psu.ac.th/blog/marky 12/ 12924 สืบค้น วันที่ 24 กันยายน 2552

Kaosiri, T., G. A. Zentmyer and D. C. Erwin. 1978. Stalk length as a taxonomic criterion for *Phytopthora palmivora* isolates from cacao. Canadia Journal of Botany 56:1730-1738.

การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียของปทุมมา โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

Control of Phatumma bacterial wilt disease by antagonist bacteria

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1/] วิภาดา ทองทักษิณ[2/] สุธามาศ ณ น่าน[3/]

1/ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2/ กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน

3/ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

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 นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลทไปทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคในสภาพแปลงเกษตรกรพบว่ากรรมวิธี เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์4415 ร่วมกับ รากอ้อย no 6 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีที่สุดโดยสามารถควบคุมโรคได้ 46.67 %ในขณะที่กรรมวิธี 4415 และ รากอ้อย no 6 สามารถควบคุมโรคได้ 39.17 % และ 34.17 % ตามลำดับ

รหัสโครงการ 0 1 1 5 4 9 0 3

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. เพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง 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 มาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงทดลองปทุมมา ในสถานีทดลองของกรมวิชาการเกษตร 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 2 เชื้อปฏิปักษ์ ดินเลน no.1
กรรมวิธีที่ 3 เชื้อปฏิปักษ์ อ้อย no 6
กรรมวิธีที่ 4 เชื้อปฏิปักษ์ 4415
กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

โดยแช่หัวพันธุ์ปทุมมา ด้วยสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ข้างต้นเป็นเวลา 30

นาที ผึ่งให้แห้ง นำไปปลูกในแปลงทดลองตามแผนการทดลอง หลังปลูกปทุมมาราดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ตามกรรมวิธี ที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^9 หน่วยโคโลนี/มล. ให้ทั่วทั้งแปลง ทำการราดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกๆ 30 วัน

ตรวจผลการทดลอง ตรวจนับปริมาณของเชื้อปฏิปักษ์ ตรวจนับปริมาณของเชื้อสาเหตุโรค และตรวจนับต้นที่แสดงอาการของโรค

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงเกษตรกร

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งโรคเหี่ยวในสภาพแปลงทดลอง มาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงเกษตรกร ที่ จ.เชียงราย โดยเลือกแปลงเกษตรกรที่มีการระบาดของโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียอย่างรุนแรง

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. ตรวจเช็คการเกิดโรคเหี่ยวในแปลงปลูกทุกเดือน

2. **การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์** นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในยับการยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ในเรือนปลูกพืชทดลอง จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ 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 RCB จำนวน 4 กรรมวิธี 4 ซ้ำ กรรมวิธีละ 20 หัว ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อปฏิปักษ์ รากอ้อย no 6

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อปฏิปักษ์ 4415

กรรมวิธีที่ 3 เชื้อปฏิปักษ์ รากอ้อย no 6และ4415

กรรมวิธีที่ 4 กรรมวิธีควบคุมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

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.53 ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากดินและรากพืชต่าง ๆ

ผลจากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดิน รากพืช และปุ๋ยคอก ได้เชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆจำนวน 100 ไอโซเลท โดยการแยกจากดินและรากพืช จำนวน 70 ไอโซเลท และ ปุ๋ยคอก จำนวน 30 ไอโซเลท เก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ใน glycerol 20% ที่ –20 $^{\circ}$ C เพื่อนำไปทดสอบต่อไป

การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ 8 ไอโซเลท ได้แก่ ดินชุมพร no.1, ปุ๋ยคอก no.1, ดินรากยาสูบ no.4, ดินเลน no.1, 3A, ดินคลองหลวง no.9, รากอ้อย no.6 และ 4415 โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ต่าง ๆ โดยสามารถวัดความกว้างของบริเวณใส ได้ตั้งแต่ 0.7-5.05 มิลลิเมตร (ตาราง 1) โดยพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินชุมพร no.1, ปุ๋ยคอก no.1, ดินรากยาสูบ no.4, ดินเลน no.1, 3A และ 4415 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ทั้ง 4 สายพันธุ์ ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียดินคลองหลวง no.9 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* 3 สายพันธุ์ เชื้อแบคทีเรีย รากอ้อย no.6 ยับยั้งเฉพาะเชื้อ *R. solanacearum* 2 สายพันธุ์ จากผลการทดลองนี้ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปทดสอบในเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพเรือนทดลอง

หลังจากแช่หัวพันธุ์กับสารละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และปลูกลงในดินที่มีเชื้อ *R. solanacearum* แล้ว 45 วันพบว่า กรรมวิธีที่คลุกหัวพันธุ์ด้วยสารละลายแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดินคลองหลวง no.9 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 x 10 ^{5} และ 1.75 x 10 ^{5} CFU/ดิน 1 กรัม ตามลำดับ และ เชื้อแบคทีเรีย

ปฏิปักษ์ 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 x 10^{3} และ 5.6 x 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(ตารางที่5) ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมเกิดโรคเหี่ยว 78 % ความสามารถในการควบคุมโรคพบว่ากรรมวิธี เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์4415 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีที่สุดโดยสมารถควบคุมโรคได้ 43%ในขณะที่กรรมวิธี รากอ้อย no 6 ดินคลองหลวง no.9 และ ดินเลน no.1 สมารถควบคุมโรคได้ 40 % 38%และ 31 % ตามลำดับ (ตารางที่5)

จากผลการตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อ *R. solanacearum* ในแปลงทดลอง พบว่า 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

ทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในสภาพแปลงเกษตรกร

ผลการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงเกษตรกรพบว่า กรรมวิธี เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์4415 ร่วมกับ รากอ้อย no 6 เกิดโรคเหี่ยวน้อยที่สุด โดยพบเพียง 53.33% ส่วนกรรมวิธี 4415 และ รากอ้อย no 6 เกิดโรค 60.83 และ 65.83 % ตามลำดับ(ตารางที่ 6) ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม

เกิดโรคเหี่ยว 75 % ความสามารถในการควบคุมโรคพบว่ากรรมวิธี เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์4415 ร่วมกับรากอ้อย no 6 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีที่สุดโดยสามารถควบคุมโรคได้ 46.67 %ในขณะที่กรรมวิธี 4415 และ รากอ้อย no 6 สามารถควบคุมโรคได้ 39.17 % และ 34.17 % ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากผลการทดลองการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา พบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ 4415ร่วมกับรากอ้อย no 6 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ดีที่สุด โดยสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในในสภาพแปลงเกษตรกร ได้ 46.67 % จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่ามีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สองชนิดที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาได้ทั้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง แปลงทดลองและ ในสภาพแปลงปลูกของเกษตรกร

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล และ วนิดา ฐิตะฐาน 2541 ศึกษาเชื้อสาเหตุโรคเหียวของปทุมมา 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 (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

-2/ การควบคุมโรค (%) = $\frac{\text{จำนวนต้นรอดตาย}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือนปลูกพืชทดลองเป็นเวลา 45 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (CFU* / ดิน 1 กรัม)		
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	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	ปริมาณประชากรของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (CFU* / ดิน 1 กรัม)		
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	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 ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมา ในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค			เปอร์เซ็นต์การควบคุมโรค		
	55 วัน	85 วัน	120 วัน	55 วัน	85 วัน	120 วัน
1 4415	0.83	20.83	60.83	99.17	79.17	39.17
2 ดินอ้อย 6	4.17	38.33	65.83	95.83	61.67	34.17
3 4415+อ้อย 6	2.50	28.33	53.33	97.50	71.67	46.67
4 control	2.50	34.17	75.00	97.50	65.83	25.00

2021

ศึกษาเทคนิคการพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกล้วยไม้บางชนิด

Study on Spraying Techniques for Controlling Orchid Insect Pests

พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย
สรรชัย เพชรธรรมรส สิริวิภา พลตรี
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาเทคนิคการพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* karny) ในกล้วยไม้ ที่สวนกล้วยไม้ของเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนกรกฎาคม-กันยายน 2552 ทำการทดลอง 2 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ คือ พ่นสารแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบแผ่นกระแสวนและหัวฉีดแยกกัน (disc and core) ที่อัตราพ่น 120, 120, 160 ลิตร/ไร่ ด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 0.5, 1.0 และ 0.5 เมตร และพ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่องพ่นสาร CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted (Turbair) ที่อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ ด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 และ 1.0 เมตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ทำการพ่นสาร emamectin benzoate (Proclaim 1.92%EC) อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร พ่นสารทุก 4 วัน ตรวจนับเพลี้ยไฟจำนวน 25 ช่อ/แปลงย่อย (ช่อละดอก) ก่อนพ่นสารทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 4 วัน ผลการทดลองพบว่าทุกกรรมวิธีการพ่นสารแบบน้ำมาก มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟไม่แตกต่างกัน จึงสามารถพ่นในอัตราการพ่น 120 ลิตร/ไร่ได้สามารถประหยัดสารฆ่าแมลงได้ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบวิธีการของเกษตรกร ส่วนการพ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่อง Turbair มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการพ่นแบบน้ำมาก โดยสามารถลดการใช้สารฆ่าแมลงได้ถึง 25 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน เมื่อเทียบกับวิธีการของเกษตรกร นอกจากนี้การพ่นสารทั้งแบบน้ำมากและน้ำน้อยมาก ด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร สามารถลดเวลาการพ่นสารได้ 2-4 เท่า เมื่อเทียบกับการพ่นด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร

รหัสการทดลอง 01 15 52 01 01 02 02 51

คำนำ

กล้วยไม้ เป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ เป็นสินค้าได้รับความนิยมในต่างประเทศ และประเทศไทยครองอันดับการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกเมืองร้อนมากเป็นอันดับหนึ่งของโลกมาเป็นเวลานาน จากรายงานของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2551 และ 2552 ประเทศไทยมีการส่งออกดอกกล้วยไม้สดปริมาณ 25, 152 และ 20,076 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,411.10 และ 1,985.60 บาท ตามลำดับ ตลาดส่งออกที่สำคัญได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น สหภาพยุโรป ซึ่งในการส่งออกไปต่างประเทศ จะต้องคำนึงถึงมาตรฐานด้านสุขอนามัยให้เป็นที่ยอมรับทั้งผู้ส่งออกและนำเข้า คือต้องมีมาตรฐาน GAP ในปัจจุบันการส่งออกกล้วยไม้มีการแข่งขันกันมากขึ้น ดังนั้นจะละเลยมาตรฐานที่กำหนดไม่ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาจากแมลงศัตรูกล้วยไม้ได้แก่ เพลี้ยไฟ ซึ่งต้องทำการป้องกันกำจัดตั้งแต่อยู่ในแปลง การพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังชนิดแรงดันน้ำสูง แบบลากสาย เป็นวิธีการที่เกษตรกรสวนกล้วยไม้ใช้กันอยู่ มีการพ่นในอัตราพ่นที่สูง คือมากกว่า 160 ลิตร/ไร่ เกิดการสูญเสียปริมาณสารเนื่องจากการไหลรวมตัว และหยดลงสู่พื้น ทำให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืชค่อนข้างต่ำ และต้องใช้แรงงานอย่างน้อย 2 คน ช่วยในการผสมสารและลากสาย จึงได้ทำการศึกษาและพัฒนาวิธีการพ่นสารจากวิธีเดิมที่เกษตรกรใช้อยู่โดยปรับอัตราพ่นให้น้อยลง ลดอัตราการใช้สาร ปรับวิธีการเดินพ่นจากความกว้างแนวพ่นสารที่เกษตรกรใช้อยู่ให้กว้างมากขึ้น ทำให้ลดเวลาการพ่นสาร นอกจากนี้ยังได้ทำการทดลองเครื่องพ่นสารแบบใหม่ ได้แก่ เครื่อง Turbair ซึ่งเป็นเครื่องพ่นสารประเภท CDA (Controlled Droplet Application) แบบ Air-assisted ซึ่งเป็นเครื่องที่สามารถควบคุมขนาดละอองสารให้ค่อนข้างสม่ำเสมอ ละอองที่ได้มีขนาดเล็ก สามารถแทรกซอนสู่เป้าหมายได้ดี จึงควรนำเครื่องพ่นสารชนิดนี้มาทำการศึกษาสมรรถนะของการพ่นสารในโรงเรือนกึ่งปิด เช่น ในกล้วยไม้ เป็นต้น

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง (motorised high pressure knapsack sprayer) ประกอบหัวฉีดกรวยกลวงแบบรูฉีดและแผ่นกระแสวนแยกกัน (Disc and core) มีขนาด D_2C_{25} , D_2C_{45} และ D_4C_{45} และแบบ variable cone
2. เครื่องพ่นสารใช้หัวฉีดแบบ CDA (ULVA fan) ประกอบที่บังคับการไหล (restrictor) 2 ขนาดคือขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.9 และ 1.4 ม.ม.
3. แปลงกล้วยไม้
4. สารฆ่าแมลง emamectin benzoate (Proclaim 1.92%EC)
5. สารป้องกันกำจัดโรคพืช captan (Captan 50 WP) และ mancozeb (Manzate 80 WP)
6. สารจับใบ (Tension CS-7)
7. อุปกรณ์วัดอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ วัดความเร็วลม
8. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น อุปกรณ์ตวงและผสมสาร ชุดพ่นสารป้องกันสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

วิธีการ ทำการทดลอง 2 การทดลองที่แปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

การทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ โดยทำการพ่นสาร emamectin benzoate (Proclaim 1.92%EC) อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร บนพื้นที่แปลงย่อยขนาด 13.5 x 2 เมตร ด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้

1. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง ใช้หัวฉีดแบบกรวยกลวงขนาด D_2 C_{25} แรงดัน 15 บาร์ อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร
2. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง ใช้หัวฉีดแบบกรวยกลวงขนาด D_4 C_{25} แรงดัน 20 บาร์ อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร1.0 เมตร
3. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูงใช้หัวฉีดกรวยกลวงขนาด D_2C_{45} แรงดัน 15 บาร์ ใช้อัตราพ่น 160 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร

4. พ่นสารด้วยเครื่อง ULVA fan ใช้ที่บังคับการไหลขนาด 0.9 มม. อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร
5. พ่นสารด้วยเครื่อง ULVA fan ใช้ที่บังคับการไหลขนาด 1.4 มม. อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร
6. กรรมวิธี ไม่พ่นสาร

การทดลองที่ 2 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ทำการพ่นสาร emamectin benzoate (Proclaim 1.92% EC) อัตรา 20 มล./น้ำ 20 ลิตร บนพื้นที่แปลงย่อยขนาด 9.0 x 4.0 เมตร ด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้

1. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูงใช้หัวฉีดกรวยกลวง ขนาด D_2 C_{25} แรงดัน 15 บาร์ อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร
2. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์ พ่นสารสะพายหลังแบบแรงน้ำสูง ใช้หัวฉีดกรวยกลวง ขนาด D_4 C_{25} แรงดัน 20 บาร์ อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร
3. พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูงใช้หัวฉีดกรวยกลวง แบบ variable cone แรงดัน 15 บาร์ อัตราพ่น 160 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร
4. พ่นสารด้วยเครื่อง ULVA fan ใช้ที่บังคับการไหล ขนาด 0.9 ม.ม. อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้าง แนวพ่นสาร 0.5 เมตร
5. พ่นสารด้วยเครื่อง ULVA fan ใช้ที่บังคับการไหล ขนาด1.4 ม.ม. อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร
6. กรรมวิธี ไม่พ่นสาร

วิธีปฏิบัติ

ทำการพ่นสารทุก 4 วัน ตรวจนับเพลี้ยไฟก่อนพ่นสารทุกครั้งและหลังพ่นสารครั้งสุดท้าย 4 วัน โดยสุ่มตรวจนับ จำนวน 25 ช่อ/แปลงย่อย (ช่อละ 1 ดอก)

ทำการพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟกล้วยไม้ จำนวน 5 และ 4 ครั้ง ในการทดลองที่ 1 และ 2 ตามลำดับ สำหรับกรรมวิธีที่ 4 และ 5 ซึ่งทำการพ่นสารแบบน้ำน้อยมากที่อัตรา 6 ลิตร/ไร่ นั้น ใช้ปริมาณสารออกฤทธิ์เท่ากับการพ่นสารแบบน้ำมาก ที่อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่

พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช captan (Captan 50 WP) อัตรา 25 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ mancozeb (Manzate 80 WP) อัตรา 35 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ทุกสัปดาห์

นำข้อมูลเพลี้ยไฟวิเคราะห์ผลทางสถิติตามแผนการทดลอง

เวลาและสถานที่

การทดลองที่ 1 ทำการทดลองระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึง สิงหาคม 2552

การทดลองที่ 2 ทำการทดลองระหว่างเดือนสิงหาคม ถึง กันยายน 2552

ทำการทดลองที่แปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

ก่อนการพ่นสารครั้งที่ 1 จากการสุ่มตรวจนับเพลี้ยไฟกล้วยไม้ 25 ช่อ/แปลงย่อย (ช่อละดอก) ทุกกรรมวิธีพบเพลี้ยไฟระบาดค่อนข้างรุนแรง เฉลี่ย 0.87 – 1.10 ตัว/ดอก และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1-5

จากการพ่นสาร emamectin benzoate (Proclaim 1.92% EC) เพื่อป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในกล้วยไม้ โดยการพ่นสารแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูงประกอบหัวฉีดแบบกรวยกลวง ทำการพ่นสารด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร ซึ่งเป็นวิธีที่เกษตรกรใช้อยู่ คือ ในแต่ละโต๊ะกล้วยไม้ที่มีความกว้าง 1.0 เมตร จะเดินไปและกลับ 2 ด้าน ของโต๊ะ ทำการพ่นที่ 2 อัตราการพ่น คือ อัตรา 120 และ 160 ลิตร/ไร่ กับพ่นด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร หมายถึงการพ่นแต่ละโต๊ะจะเดินพ่นแนวเดียว จากการพ่นสารทั้ง 5 ครั้ง พบว่า ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแทบไม่แตกต่างกัน โดยกรรมวิธีต่าง ๆ พบปริมาณเพลี้ยไฟดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใช้อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร พบปริมาณเพลี้ยไฟเฉลี่ย 0.14 – 0.38 ตัว/ดอก

กรรมวิธีที่ 2 ใช้อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ ความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร พบปริมาณเพลี้ยไฟเฉลี่ย 0.10 - 0.47 ตัว/ดอก

กรรมวิธีที่ 3 ใช้อัตราพ่น 160 ลิตร/ไร่ ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร พบปริมาณเพลี้ยไฟเฉลี่ย 0.13 – 0.32 ตัว/ดอก

ทั้ง 3 กรรมวิธี หลังการการพ่นสารทุกครั้ง ปริมาณเพลี้ยไฟไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นหลังการพ่นครั้งที่ 2 กรรมวิธีที่ 2 มีปริมาณเพลี้ยไฟมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ กรรมวิธีที่ 1 และ 3 จะเห็นได้ว่ากรรมวิธีที่ 1 และ 3 ใช้เวลาพ่นมากกว่า กรรมวิธีที่ 2 ถึง 2.5 เท่าโดยประมาณ และกรรมวิธีที่ 3 ซึ่งเป็นวิธีของเกษตรกรซึ่งใช้อัตราพ่นสูงกว่าจึงใช้ปริมาณสารป้องกันกำจัดศัตรูต่อไร่มากกว่า กรรมวิธีที่ 1 และ 2 ถึง 33 เปอร์เซ็นต์ โดยทั้ง 3

กรรมวิธี ปริมาณเพลี้ยไฟเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบเพลี้ยไฟเฉลี่ย 0.38 – 0.79 ตัว/ดอก

สำหรับกรรมวิธีพ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่อง ULVA fan ที่อัตราพ่นเท่ากันคือ 6 ลิตร/ไร่ แต่ใช้ความกว้างแนวพ่นสารที่ 0.5 และ 1.0 เมตร พบว่าหลังการพ่นสารทั้ง 5 ครั้ง พบปริมาณเพลี้ยไฟเฉลี่ย 0.06 – 0.56 และ 0.09 – 0.52 ตัว/ดอก และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นหลังการพ่นครั้งที่ 1 กรรมวิธีการพ่นด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร พบปริมาณเพลี้ยไฟมากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยหลังการพ่นสารครั้งที่ 2 - 4 ทั้ง 2 กรรมวิธี พบปริมาณเพลี้ยไฟเฉลี่ยน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร จะเห็นว่าทั้ง 2 กรรมวิธี มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน แต่กรรมวิธีการพ่นด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร ใช้เวลาพ่น 57 นาที/ไร่ สามารถประหยัดเวลาได้ถึง 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีพ่นด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร ใช้เวลาพ่น 1 ชั่วโมง 58 นาที/ไร่

จากการทดลองครั้งที่ 1 พบว่าการพ่นสารแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง สามารถพ่นได้ในอัตรา 120 ลิตร/ไร่ และใช้ความกว้างแนวพ่นสาร .0 เมตร เช่นเดียวกับการพ่นแบบน้ำน้อยมาก การพ่นด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร ใช้อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ โดยใช้ปริมาณสารเท่ากับอัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมเพลี้ยไฟ ช่วยประหยัดเวลา ประหยัดสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และไม่เกิดความเป็นพิษต่อดอกกล้วยไม้

การทดลองที่ 2

ก่อนการพ่นสาร จากการสุ่มตรวจนับเพลี้ยไฟ 25 ดอก/แปลงย่อย พบเพลี้ยไฟระบาดเล็กน้อยคือ เฉลี่ย 0.26 – 0.35 ตัว/ดอก ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

หลังการพ่นสาร ครั้งที่ 1-4

จากการพ่นสารทั้ง 4 ครั้ง พบว่า การพ่นสารแบบน้ำมากด้วย เครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง ทุกกรรมวิธี มีจำนวนเพลี้ยไฟ ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยกรรมวิธี ที่ 1, 2 และ 3 หลังการพ่นครั้งที่ 1-4 พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 0.12 – 0.19, 0.09 – 0.28 และ 0.05 – 0.38 ตัว/ดอก ตามลำดับยกเว้นหลังการพ่นสารครั้งที่ 4 การพ่นสารแบบน้ำมากด้วยอัตราพ่นสูง คือ 160 ลิตร/ไร่ พบจำนวนเพลี้ยไฟน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ เฉลี่ย 0.5 ตัว/ดอก ส่วนการพ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่อง Turbair ที่ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 และ 1.0 เมตร พบจำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย 0.06 - 0.18 และ 0.06 - 0.21 ตัว/ดอก ทั้งสองกรรมวิธี จำนวนเพลี้ยไฟ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และทั้ง 2 กรรมวิธี จำนวนเพลี้ยไฟ ไม่มีความ

แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารที่หลังการพ่นสารครั้งที่ 2 และ 3 กับ ครั้งที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

การทดลองครั้งนี้พบว่า ก่อนพ่นสารครั้งแรกมีปัญหาเพลี้ยไฟค่อนข้างน้อย เนื่องจากเกษตรกรเจ้าของแปลงทำการพ่นสารฆ่าแมลงก่อนตรวจนับ 1 วัน ผลการทดลองไม่เห็นความแตกต่างชัดเจนเหมือนการทดลองครั้งที่ 1 เนื่องจากจำนวนเพลี้ยไฟค่อนข้างต่ำ ทำให้จำนวนครั้งการพ่นสารก็ลดลงด้วย เพราะหลังการพ่นครั้งที่ 4 จำนวนเพลี้ยไฟในแปลงไม่พ่นสารเฉลี่ยต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ คือ 0.25 ตัว/ดอก หรือ 10 ตัว/40 ดอก (นิรนาม, 2547) ทำให้ไม่ได้ทำการทดลองพ่นสารต่อ

จากการทดลองทั้ง 2 ครั้งพบว่าสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ emamectin benzoate (Proclaim1.92% EC) สามารถควบคุมเพลี้ยไฟ ได้ดีอยู่ในระดับต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ 0.25 ตัว/ดอก หรือ 10 ตัว/40 ดอก (นิรนาม, 2547) หลังพ่นสารไปแล้ว 2 ครั้ง สามารถนำไปใช้สลับกับสารกลุ่มอื่น เพื่อป้องกันไม่ให้ให้แมลงเกิดความต้านทานได้หรือต้านทานช้าลง นอกจากนี้ ควรมีการทดลองเพิ่มจังหวะเวลาที่เหมาะสมในการพ่นจาก 4 วัน เป็น 5 วัน หรือมากกว่านั้น ซึ่งจะช่วยประหยัดสารและประหยัดเวลาด้วย

อย่างไรก็ตามในด้านการศึกษาเทคนิคการพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ซึ่งจะพิจารณาถึงด้านประสิทธิภาพ การประหยัดแรงงาน เวลาที่ใช้พ่น อัตราการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช และด้านความปลอดภัยต่อผู้พ่น การพ่นสารแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่อง Turbair ปริมาณสารที่ผสมเท่ากับการพ่นแบบน้ำมาก ละอองสารที่กระจายจึงมีขนาดเล็ก แต่มีความเข้มข้นมาก อาจเกิดอันตรายต่อผู้พ่น จึงควรมีการสวมชุดป้องกันอันตราย แม้การพ่นแบบน้ำมากก็เช่นกันก็ควรมีการป้องกันเช่นกัน สำหรับเวลาในการพ่นสารจะเห็นว่าการพ่นด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟไม่แตกต่างกัน กับการพ่นด้วยความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร แต่ช่วยประหยัดเวลาได้ 2 – 4 เท่า (ตารางที่ 3 และ 4)

เมื่อพิจารณาในด้านความเป็นพิษต่อพืช จำเป็นต้องมีการศึกษาก่อนนำไปใช้ โดยเฉพาะสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช สูตรที่มีส่วนผสมของน้ำมันหรือสูตร EC เนื่องจากการพ่นด้วยเครื่อง Turbair ใช้น้ำผสมน้อยมากต้องระมัดระวังความเป็นพิษที่อาจเกิดกับดอกกล้วยไม้ จากรายงานของ ดำรงและคณะ (2551) พบว่า สารฆ่าแมลงกลุ่ม neonicotinoid สูตร SL (Soluble Concentrate) WG (Water Dispersible Granules) และ WP (Wettable Powder) สามารถใช้กับกล้วยไม้ โดยไม่เกิดการเป็นพิษ (ดำรงและคณะ, 2551) ซึ่งในการทดลองครั้งที่ไม่พบอาการเป็นพิษเช่นกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. การพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny)ในกล้วยไม้ แบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบแรงดันน้ำสูง อัตราการพ่น 120 ลิตร/ไร่ ให้ผลในการป้องกันกำจัดดีเทียบเท่ากับที่เกษตรกรพ่นในอัตรามากกว่า 160 ลิตร/ไร่ ทำให้สามารถลดการใช้สารฆ่าแมลงลงได้กว่า 25 %

2. การพ่นสารป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) ในกล้วยไม้แบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่อง Turbair ที่อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ ให้ผลในการป้องกันกำจัดดีเทียบเท่ากับที่อัตราการพ่น 120 ลิตร/ไร่ และที่เกษตรกรพ่นในอัตรามากกว่า 160 ลิตร/ไร่ ทำให้สามารถลดการใช้สารฆ่าแมลงลงได้กว่า 25 %นอกจากนี้สามารถพ่นโดยใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร ซึ่งช่วยให้ประหยัดเวลาได้ 2-4 เท่า และไม่มีอาการเป็นพิษกับดอกกล้วยไม้

3. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเรื่องจังหวะเวลาที่เหมาะสมในการพ่นสาร (timing) เนื่องจากปัจจุบันเกษตรกรพ่นสารฆ่าแมลงทุก 4 – 5 วัน จากข้อมูลของสารฆ่าแมลง สารฆ่าแมลงบางชนิดมีความคงทน (persistence) สูง จึงน่าจะสามารถยืดระยะเวลาในการพ่นสารได้ ทำให้ช่วยลดจำนวนการพ่นสารของเกษตรกรได้

4. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของการการจัดการการต้านทานของสารฆ่าแมลง (Insecticide resistance management) เนื่องจากปัจจุบันเพลี้ยไฟฝ้ายมีความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงบางชนิด นอกจากนี้จากพฤติกรรมการพ่นสารฆ่าแมลงของเกษตรกร ซึ่งเมื่อได้ผลดีก็จะพ่นสารชนิดเดียวกันตลอดทั้งฤดู จากกรณีดังกล่าวนี้มีผลทำให้เพลี้ยไฟสร้างความต้านทานได้อย่างรวดเร็ว จึงจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาการสลับกลุ่มของสารฆ่าแมลงตามแนวทางการจัดการสารฆ่าแมลงของ IRAC (Insecticide resistance action committee) ที่มีการจำแนกสารฆ่าแมลงตามกลไกการออกฤทธิ์ไว้ทั้งหมด 28 กลุ่ม ซึ่งจะได้นำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการให้คำแนะนำในการใช้สารฆ่าแมลงแก่เกษตรกรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2547. กล้วยไม้. กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 152 หน้า.

ดำรง เวชกิจ จีรนุช เอกอำนวย พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท สรรชัย เพชรธรรมรส สิริวิภา พลตรี. 2551. ศึกษาประสิทธิภาพของ ULEM เพื่อการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูกล้วยไม้บางชนิด. รายงานผลวิจัยเรื่องเต็ม. กรมวิชาการเกษตร. 57 หน้า.

นิรนาม. 2552. สถิติการส่งออกดอกกล้วยไม้สด. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2550-2552. www.oae.go.th/oae_report/export_import/export_result.php

Anonymous. 2009. IRAC Mode of action Classification V 6.3. July 2009. www.irac-online.org.

ตารางที่ 1 จำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย(ตัว/ดอก) จากการตรวจนับดอกกล้วยไม้ 25 ดอก/แปลงย่อย ทำการพ่นสาร emamectin benzoate (Proclaim 1.92% EC) ด้วยวิธีการพ่นแบบต่างๆ ที่สวนกล้วยไม้ของเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือน กรกฎาคม – สิงหาคม 2552

กรรมวิธี	จำนวนเพลี้ยไฟ (ตัว/ดอก)					
	ก่อนพ่นสาร	หลังการพ่นสาร (ครั้งที่) [3/]				
		1	2	3	4	5
HP 1 [1/]	0.87	0.33 a [2/]	0.38 ab	0.14 a	0.19 a	0.20 a
HP 2	0.90	0.37 ab	0.47 b	0.17 a	0.10 a	0.14 a
HP 3	1.10	0.32 a	0.31 a	0.14 a	0.13 a	0.25 a
Turbair 1	1.07	0.56 bc	0.53 b	0.13 a	0.19 a	0.06 a
Turbair 2	1.03	0.34 a	0.52 b	0.12 a	0.13 a	0.09 a
Cont.	1.02	0.72 c	0.74 c	0.79 b	0.38 b	0.74 b
CV (%)	22.56	30.74	20.45	39.48	45.06	62.17

[1/] HP 1 พ่นแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ อัตราสารออกฤทธิ์ 2.304 กรัม/ไร่

HP 2 เหมือน HP 1 แต่ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร

HP 3 เหมือน HP 1 แต่ใช้อัตราพ่น 160 ลิตร/ไร่ อัตราสารออกฤทธิ์ 3.072 กรัม/ไร่

Turbair 1 พ่นแบบน้ำน้อยมากด้วยเครื่องพ่นสาร Turbair (ที่บังคับการไหลขนาด 0.9 มม.) ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่ อัตราสารออกฤทธิ์ 2.304 กรัม/ไร่

Turbair 2 เหมือน Turbair 1 แต่ใช้ที่บังคับการไหลขนาด 1.4 มม. ความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร

Cont. ไม่พ่นสาร

[2/] ตัวเลขที่ตามด้วยอักษรเดียวกันในแต่ละสดมภ์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ P=0.05% โดยวิธี DMRT

[3/] ทำการพ่นสารทุก 4 วัน

หมายเหตุ HP 1, HP 2, Turbair 1, Turbair 2 อัตราสารออกฤทธิ์เท่ากัน

ตารางที่ 2 จำนวนเพลี้ยไฟเฉลี่ย(ตัว/ดอก) จากการตรวจนับดอกกล้วยไม้ 25 ดอก/แปลงย่อย ทำการพ่นสาร emamectin benzoate (Proclaim 1.92% EC) ด้วยวิธีการพ่นแบบต่างๆ ที่สวนกล้วยไม้ของเกษตรกร อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม ระหว่างเดือนสิงหาคม – กันยายน 2552

กรรมวิธี	จำนวนเพลี้ยไฟ (ตัว/ดอก)				
	ก่อนพ่นสาร	หลังการพ่นสาร (ครั้งที่) [3/]			
		1	2	3	4
HP 1 [1/]	0.31	0.19 ab [2/]	0.15	0.15 ab	0.12 ab
HP 2	0.35	0.28 ab	0.13	0.21 ab	0.09 ab
HP 3	0.27	0.26 ab	0.12	0.10 ab	0.05 a
Turbair 1	0.26	0.15 a	0.07	0.18 ab	0.06 a
Turbair 2	0.34	0.21 ab	0.15	0.06 a	0.07 a
Cont.	0.27	0.38 b	0.21	0.27 b	0.19 b
CV (%)	8.30	8.93	6.98	8.44	5.69

[1/] HP 1 พ่นแบบน้ำมากด้วยเครื่องยนต์พ่นสารสะพายหลังแบบแรงดันน้ำสูง ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร อัตราพ่น 120 ลิตร/ไร่ อัตราสารออกฤทธิ์ 2.304 กรัม/ไร่

HP 2 เหมือน HP 1 แต่ใช้ความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร

HP 3 เหมือน HP 1 แต่ใช้อัตราพ่น 160 ลิตร/ไร่

Turbair 1 พ่นแบบน้ำน้อยด้วยเครื่องพ่นสาร Turbair (ที่บังคับการไหลขนาด 0.9 มม.) ความกว้างแนวพ่นสาร 0.5 เมตร อัตราพ่น 6 ลิตร/ไร่

Turbair 2 เหมือน Turbair 1 แต่ใช้ที่บังคับการไหลขนาด 1.4 มม. ความกว้างแนวพ่นสาร 1.0 เมตร

Cont. ไม่พ่นสาร

[2/] และ [3/] เหมือนตารางที่ 1

ตารางที่ 3 รายละเอียดเกี่ยวกับอัตราการพ่น ความกว้างแนวพ่นสาร อัตราการใช้สารฆ่าแมลง /ไร่ เวลาที่ใช้พ่น เมื่อพ่นด้วยวิธีการต่างๆ

การทดลองที่ 1

กรรมวิธี	อัตราพ่น (ลิตร/ไร่)	ความกว้างแนวพ่นสาร (เมตร)	ปริมาณสาร (มล./ไร่)	เวลาพ่น/ไร่ (ชม.: นาที)	อัตราการเดิน (เมตร/นาที)	อัตราการไหล (ลิตร/นาที)
HP 1 – D_2C_{25}	120	0.5	120	1 : 39	32 (25)[1/]	1.2
HP 2 – D_4C_{25}	120	1.0	120	0 : 39	41 (20)	3.1
HP 3 – D_2C_{45}	160	0.5	160	1 : 47	30 (27)	1.5
ULVA 1 (0.9)	6	0.5	120	1 : 58	27 (30)	0.05
ULVA 2 (1.4)	6	1.0	120	0 : 57	42 (29)	0.105

พื้นที่ 13.5 x 2 m^2/แปลงย่อย

การทดลองที่ 2

กรรมวิธี	อัตราพ่น (ลิตร/ไร่)	ความกว้างแนวพ่นสาร (เมตร)	ปริมาณสาร (มล./ไร่)	เวลาพ่น/ไร่ (ชม.: นาที)	อัตราการเดิน (เมตร/นาที)	อัตราการไหล (ลิตร/นาที)
HP 1 – D_2C_{25}	120	0.5	120	1 : 35	32 (17)	1.2
HP 2 – D_4C_{25}	120	1.0	120	0 : 39	41 (13)	3.1
HP 3 – D_2C_{45}	160	0.5	160	1 : 23	30 (14)	1.5
Turbair 1 (0.9)	6	0.5	120	1 : 58	27 (20)	0.05
Turbair 2 (1.4)	6	1.0	120	0 : 57	42 (19)	0.105

พื้นที่ 9 x 4 m^2/แปลงย่อย

หมายเหตุ [1/] ตัวเลขในวงเล็บคืออัตราการเดินพ่นใน 1 แนวพ่นหน่วยเป็นวินาที

การใช้ไส้เดือนฝอยควบคุมหอยทากซัคซิเนีย (*Succinea chrysis*) ในสวนกล้วยไม้

Application of Entomopathogenic Nematodes for Controlling *Succinea chrysis* in Orchid Orchard

ปราสาททอง พรหมเกิด ชมพูนุท จรรยาเพศ กรแก้ว เสือสะอาด สาทิพย์ มาลี
วิไลวรรณ เวชยันต์ ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยกับหอยทากซัคซิเนียในแปลงสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี โดยใช้ *S.riobrave* และ *S.carpocapsae* วางแผนการทดลอง RCB 5 วิธีการ 4 ซ้ำ คือ ไส้เดือนฝอย *S.riobrave* และ *S.carpocapsae* ใช้อัตราเข้มข้น 2 และ 4 ล้านตัวต่อตารางเมตร ส่วน เปรียบเทียบกับวิธีการพ่นน้ำ โดยทำแปลงย่อยที่ล้อมรอบด้วยตาข่ายพื้นที่ 0.5 ตารางเมตร ปล่อยหอยจำนวน 15 ตัวต่อ แปลงย่อย หลังการพ่นทดลองทุกวิธีการเป็น เวลา 4 วัน นับจำนวนหอยตายในแปลงย่อยขนาด 0.5 ตารางเมตร พบว่าอัตราการตายของหอยที่ 4 วันคือ 38.50,.42.50,33.83 และ 47.66 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 5.00% ซึ่งยังต้องทำการทดสอบต่อไป

คำนำ

หอยซัคซิเนีย เป็นศัตรูสำคัญในสวนกล้วยไม้โดยจะกัดกินรากอ่อน หน่ออ่อน ดอกกล้วยไม้ ใบ ทำให้ชะงักการเจริญเติบโตและดอกกล้วยไม้เสียหาย ขายไม่ได้ราคาบางครั้งหอยจะติดไปกับดอก ไม้ที่ส่งออกไปขายต่างประเทศ เมื่อด่านกักกันพืชของประเทศปลายทาง เช่น ญี่ปุ่น อเมริกา กลุ่มสหภาพยุโรปตรวจพบหอยติดไปกับดอกกล้วยไม้ที่ส่งออกจะเผาดอกไม้เหล่านั้นทันที (กีฏและสัตววิทยา 2543) ทำให้เสียทั้งเงินและดอกกล้วยไม้และยังเสียชื่อเสียงประเทศอีกด้วย ส่งผลให้สินค้าที่เป็นผลิตผลทางการเกษตรอื่นๆที่ส่งมาจากประเทศไทยถูกตรวจอย่างเข้มงวด และมีมาตรการกีดกันทางการค้าที่เข้มงวดขึ้นจึงเป็นปัญหาอุปสรรคต่อการส่งออกสู่ประเทศเหล่านั้น

หอยซัคซิเนีย เป็นหอยฝาเดียวที่อาศัยอยู่บนบกจัดอยู่ในวงศ์ Succineidae ลำดับ Stylommatophora หอยทากชนิดนี้เป็นหอยขนาดเล็กมีเปลือกเรียบบางใสสีน้ำตาลอ่อน สำหรับป้องกันตัวและความชื้นภายในลำตัว มีฝาปิดและผลิตเมือกเรียกว่า Epiphragm มาปิดปากเปลือก

รหัสการทดลอง 01-15-52-01-01-02-03-52

เมื่ออยู่ในสภาวะแห้งแล้ง หอยโตเต็มวัยมีความกว้าง 5-6 มม. ความสูง 8-9 มม.โดยด้านปากเปิดของเปลือกกว้างและลดขนาดลงไปตามความสูงพร้อม ทั้งบิดเวียนไปทางขวา ส่วนหัวและเท้ายื่นออกจากเปลือกเมื่อเวลาเคลื่อนที่และออกหากิน โดยปากอยู่ปลายสุดเยื้องลงมาด้าน ล่างของส่วนหัวมีหนวด 1 คู่ข้างปากสำหรับรับรู้การกินอาหาร มีตา 1 คู่อยู่บนก้านตาที่ยืดยาวกว่าคู่แรก ซึ่งหดเข้าผิวหนังได้ มีหน้าที่รับรู้แสง แผ่นเท้าใหญ่อ่อนนุ่มเคลื่อนที่ช้า (ชมพูนุท 2546) หอยซัคซิเนียพบทั่วไปในแปลงปลูกกล้วยไม้ภาคกลาง เนื่องจากในแปลงสวนกล้วยไม้จะมีความ ชื้นสูงจึงเหมาะต่อการอาศัยเติบโตเพิ่มประชากรตลอดเวลา โดยเฉพาะช่วงฤดูฝนจะระบาดมากเกษตรกรต้องทำการป้องกันกำจัดทุกฤดูปลูกจะต้องดูแลตรวจแปลงอย่างเคร่งครัด ถ้ามีหอยมากกว่า 10 ตัว ต่อตารางเมตร จะต้องทำการป้องกันกำจัด เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมีซึ่งกรมวิชาการเกษตรจะแนะนำให้ใช้สารฆ่าเฉพาะหอย ไม่ส่งเสริมให้ใช้สารฆ่าแมลงมากำจัดหอย เพราะไม่ทำให้หอยตายแล้วยังเป็นการสิ้นเปลืองเงินและเวลาอีกด้วย ชมพูนุท(2542) ได้ทดสอบและแนะนำ เมทัลดีไฮด์ 80% ชนิดผงอัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และนิโคลซาไมด์ 70% ชนิดผงอัตรา 40 กรัมต่อน้ำ 20ลิตร พ่นบนดินให้ถูกตัวหอย การใช้เหยื่อ เมทัลดีไฮด์ 4% วางเป็นจุดๆ บนกาบมะพร้าว วัสดุปลูกหรือบนพื้นดิน เป็นจุดๆ ห่างกัน 1-2 เมตร สามารถกำจัดหอยได้ดี (Watson, 1985) สารสกัดจากพืชถูกนำมาทดสอบเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะมาทดแทนสารเคมีและหาได้ง่ายในท้องถิ่น ได้แก่ สะเดา มะคำดีควาย หางไหล เป็นต้น ปราสาททอง (2545) ได้ทดสอบใช้สารสกัดมะคำดีควาย ฆ่าหอยเชอรี่และศึกษาผลกระทบกับเซลล์และเนื้อเยื่อหอย เป็นต้น เมื่อมีการรณรงค์ลดการใช้สารเคมีเพื่อนำไปสู่เกษตรธรรมชาติที่ยั่งยืน จึงมีการหาวิธีป้องกันกำจัดโดยชีววิธี คือ ตัวเบียน ตัวห้ำ และปรสิต ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา โปรโตซัว สัตว์ผู้ล่าควบคุมหอย (Rueda.1989) ไส้เดือนฝอยได้ถูกนำมาศึกษาและได้ใช้ป้องกันกำจัดหอยทากในต่างประเทศ ได้แก่ *Phasmarhabditis hermaphrodita* (Shneider) นำมากำจัดหอยทากในแปลงปลูกพืชเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี (Glen et al,1996) และ วัชรี(2544) รายงายว่า Stinernema และ Heterorhabditis สามารถฆ่าแมลงได้ภายใน 48 ชั่วโมง โดยไส้เดือนฝอยทั้งสองวงค์มีแบคทีเรียอาศัยรวมอยู่โดย Steinernema มีแบคทีเรียสกุล Xenerhadtis อยู่โดยไส้เดือนฝอยจะเข้าภายในลำตัวของแมลงทางปาก ท่อหายใจ หรือไชผ่านผนังลำตัวของแมลงโดยตรง จะผ่านเข้าสู่ลำไส้เข้าช่องว่างภายในลำตัวแล้วปล่อยแบคทีเรียออกมาแล้วแบ่งเซลล์เพิ่มปริมาณในเลือดของแมลงอย่างรวดเร็วเป็นสาเหตุให้แมลงตายภายใน 24-72 ชั่วโมงและไส้เดือนฝอยยังสามารถผลิตสารพิษขึ้นมาทำให้แมลงตายได้ (Burman,1982)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

- ไส้เดือนฝอย 2 ชนิด ได้แก่ *Steinernema carpocapsae* ,*S.riobrave* และหอยซัคซิเนีย

2. เครื่องมือ

กล้องสเตอริโอ เครื่องพ่นสารแบบสูบชัก แปลงสวนกล้วยไม้พื้นที่ 0.5 ไร่ ทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอยกับหอยซัคซิเนียในสวนกล้วยไม้

วิธีการ

วางแผนการทดลอง แบบ RCB 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ คือ

กรรมวิธีที่ 1 ใช้ *Steinernema carpocapsae* อัตรา 2 ล้านตัวต่อตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 2 ใช้ *Steinernema carpocapsae* อัตรา 4 ล้านตัวต่อตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 3 ใช้ *Steinernema riobrave* อัตรา 2 ล้านตัวต่อตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 4 ใช้ *Steinernema riovrave* อัตรา 4 ล้านตัวต่อตารางเมตร

กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุมพ่นน้ำ

1. คัดเลือกสวนกล้วยไม้ด้วยการติดต่อกับเกษตรกรและทำการสุ่มนับประชากรหอยซัคซิเนีย ที่พื้นดิน ด้วยตารางสุ่มขนาด 0.5 ตารางเมตร จำนวน 20 จุดต่อไร่ ถ้ามีหอยเฉลี่ยมากกว่า 10 ตัวต่อตารางเมตร ตามหลัก GAP การควบคุมหอยกล้วยไม้ จะกำหนดเป็นแปลงทดลอง

2. กำหนดพื้นที่ทดสอบด้วยการทำเป็นแปลงย่อยขนาด 0.5 ตารางเมตรของแต่ละกรรมวิธี แล้วใช้ตาข่ายกั้นโดยรอบ ปล่อยหอยแปลงย่อยละ 15 ตัว พ่นไส้เดือนฝอยแต่ละอัตราลงบนพื้นดินในแต่ละแปลงย่อยตามแผนการทดลอง

3. หลังพ่นไส้เดือนฝอย 24, 48 และ 72 ชั่วโมง สุ่มนับจำนวนหอยทั้งเป็นและตายในแปลงย่อยขนาดพื้นที่ 0.5 ตารางเมตร

บันทึกข้อมูล อัตราการตายของหอยที่ 24,48 และ 72 ชั่วโมงและ4วัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มตุลาคม 2551 - กันยายน 2552

แปลงสวนกล้วยไม้ของเกษตรกร จังหวัดกาญจนบุรี

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. จากการทดสอบประสิทธิภาพไส้เดือนฝอย 2 ขนิดกับหอยทากซัคซิเนียเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ พ่นด้วยน้ำ พบว่า

ที่ 24 ชั่วโมงอัตราการตายของหอยซัคซิเนียที่พ่นด้วยไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae* อัตรา 2 และ4ล้านตัวต่อตารางเมตร *S.riobrave* อัตรา 2และ 4ล้านตัวต่อตารางเมตรหอยตาย 6.83, 4.33,.4.66, และ 8.16% ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม 0%.

ที่ 48 ชั่วโมงอัตราการตายของหอยซัคซิเนียที่พ่นด้วยไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae* อัตรา 2 และ4ล้านตัวต่อตารางเมตร *S.riobrave* อัตรา 2และ 4ล้านตัวต่อตารางเมตรหอยตาย 15.33, 10.83, 16.50 และ 21.33% ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่ม ควบคุม 1.06%.

ที่ 72 ชั่วโมงอัตราการตายของหอยซัคซิเนีย ที่ฉีดด้วยไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae* อัตรา 2 และ4ล้านตัวต่อตารางเมตร *S.riobrave* อัตรา 2และ 4ล้านตัวต่อตารางเมตรหอยตาย 18.66,.17.00,22.50 และ 31.93 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 3.33%.

ที่ 4 วัน อัตราการตายของหอยซัคซิเนีย ที่ฉีดด้วยไส้เดือนฝอย *S.carpocapsae* อัตรา 2 และ4ล้านตัวต่อตารางเมตร *S.riobrave* อัตรา 2และ 4ล้านตัวต่อตารางเมตรหอยตาย 38.50,.42.50,33.83 และ 47.66 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 5.00%

จากผลการทดลองพบไส้เดือนฝอยทั้ง 2 ชนิดมีประสิทธิภาพฆ่าหอยซัคซิเนียได้โดย พบว่า มีแนวโน้มที่จะใช้ควบคุมหอยทากซัคซิเนียได้ โดยไส้เดือนฝอยสามารถเข้าไป ในลำตัวหอยทางช่องเปิดได้แก่ท่อหายใจ ท่อสืบพันธุ์และอาจถูกหอยกินเข้าไปตามทางเดินอาหาร ซึ่ง สอดคล้องกับ Glen *et al*. (1986) ที่รายงานว่าไส้เดือนฝอยอาจจะเข้าสู่ลำตัวหอยทางปากท่อลมหายใจ หรือไชผ่านผนังลำตัวบริเวณ แมนเทิล หรือแผ่นเท้าของหอยโดยตรง ส่วนไส้เดือนฝอยที่เข้าทางปากและท่อหายใจจะชอนไชทะลุผ่านผนังลำไส้ของหอยเข้าสู้ช่องว่างภายในลำตัว เมื่ออยู่ในช่องว่างลำตัว จะปล่อยแบคทีเรียออกมา แล้วแบ่งเซลล์เพิ่มปริมาณในเลือดของหอยอย่างรวดเร็วและเป็นสาเหตุทำให้หอยตาย สอดคล้องกับ วัชรี (2544) ที่พบในแมลงหรืออาจเป็นเพราะไส้เดือนฝอยเมื่อเข้าไปภายในลำตัวแมลงแล้วผลิตสารพิษขึ้นมาส่งผลให้แมลงตาย และ Burman (1982) ที่พบว่าไส้เดือนฝอยสามารถสร้างสารพิษฆ่าแมลงให้ตายได้

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าไส้เดือนฝอยทั้ง *S.carpocapsae* และ *S.riobrave* มีประสิทธิภาพฆ่าหอย ซัคซิเนียได้ และ มีแนวโน้มที่จะใช้ควบคุมหอยทากซัคซิเนียได้ โดยไส้เดือนฝอยเหล่านี้อาจเข้าไปเจริญพัฒนาอยู่ภายในอวัยวะปอด ทางเดินอาหารและอวัยวะสืบพันธุ์ แล้วทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อของ

อวัยวะนั้นๆ ส่งผลให้หอยตายในที่สุด ซึ่งจะต้องพัฒนาประยุกต์ใช้ต่อไป ถึงชนิดและอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อการแนะนำในการควบคุมหอยทากได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ได้อัตราความเข้มข้นและวิธีการใช้ไส้เดือนฝอยกำจัดหอยทากซัคซิเนียในสวนกล้วยไม้ ซึ่งจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกรและมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม
2. ภายในสวนกล้วยไม้จะมีความชื้นตลอดเวลาและมีร่มเงาของตาข่ายที่มุมหลังคาเป็นสภาพที่ไส้เดือนฝอยสามารถอาศัยอยู่ได้ เมื่อใช้ไส้เดือนฝอยกำจัดหอยในสวนกล้วย ไม้จึงเป็นการควบคุมที่ยั่งยืน เนื่องจากไส้เดือนฝอยเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ไม้ภาย ในสวนกล้วยไม้ ดังนั้นต้องทำการศึกษาทดลองเพิ่มเติมหรือทำแปลงสาธิตในรอบ1ปีว่าไส้เดือนฝอยสามารถควบคุมหอยได้หรือไม่จะต้องพ่นไส้เดือนฝอยเพิ่มเติมอีกเมื่อไรจึงจะเป็นการควบคุมที่ยั่งยืน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณสมพงษ์ ทวีสุข เจ้าของแปลงสวนกล้วยไม้ จังหวัดกาญจนบุรีที่เอื้อเฟื้อแปลงทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กองกีฏและสัตววิทยา. 2543.แมลง-สัตว์ศัตรูกล้วยไม้.กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์,กรุงเทพมหานคร.33 หน้า.

ชมพูนุท จรรยาเพศ.2542.หอยทากศัตรูกล้วยไม้.เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ จ.ราชบุรี สำนักงานเกษตร จ. ราชบุรี 5 หน้า.

ชมพูนุท จรรยาเพศ.2546.หอยทากศัตรูกล้วยไม้.หน้า 51-66 ในเสริมศักดิ์หงส์นาค ชมพูนุท จรรยาเพศ.เอกสารประกอบการฝึกอบรมแมลง-สัตว์ศัตรูพืชและการป้องกันกำจัดครั้งที่ 12 เรื่อง สัตว์ศัตรูพืขและการป้องกันกำจัด กลุ่มกีฏและสัตววิทยากรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร

ปราสาททอง พรหมเกิด,ชมพูนุท จรรยาเพศ,ปิยาณี หนูกาฬ และ ธีระเดช เจริญรักษ์. 2545. ผลของสารสกัดมะคำดีควายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อหอยเชอรี่. การประชุมสัมมนาวิชาการแมลงและสัตว์ศัตรูพืชครั้งที่ 13 โรงแรมโกลเด้นแซนด์ อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี 185-199.

วัชรี สมสุข. 2544. ไส้เดือนฝอยศัตรูแมลงเพื่อการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน. รายงานผลการดำเนินงานการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยวิธีผสมผสาน ครั้งที่ 4 โรงแรม รีเจนท์ชะอำ ชะอำ จ. เพชรบุรี 185-199.

Burman,M.1982 *Neoaplectana carpacapsae* toxin production by axenic insect Parasitic nematodes.J.Ne matol. 28:62-70.

Glen,D.M.,M.J.Wilson,L.Hughes,P.cargeey and A.Hajijar.1996.Exploring and exploiting the potential of the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphradita* as a biocontrol snail Pests in Agriculture. Monograph No.66, British crop. Protection council,Farnham.

Rueda,A.1989 a.Biology nutritional ecology and natural enemies of the slug *Sarasinula plebeia* (Fischer,1986). MSC Thesis,University of Florida Gainesville Florida.

Wilson,B.J.1985. The giant African snail in Australia pest or nuisance. Queensland Agricultural Journ

ทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ ฝักจามจุรี กับหอยซัคซิเนียและหอยเลขหนึ่ง

ดาราพร รินทะรักษ์ [1] ชมพูนุท จรรยาเพศ [1] ปิยาณี หนูกาฬ [1] ศิริพร ซึงสนธิพร [2]

[1] กลุ่มกีฏและสัตววิทยา [2] กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ตุลาคม 2551 – มีนาคม 2553 ได้สำรวจและเก็บข้อมูลการระบาดของหอยซัคซิเนีย *Succinea* sp. และหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ในสวนกล้วยไม้ จังหวัดกาญจนบุรี และสมุทรสาคร พบว่าหอยทั้ง 2 ชนิด มีการระบาดตลอดทั้งปี โดยเฉพาะช่วงเดือนมิถุนายน – ตุลาคม พบการระบาดระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ประชากรหอยซัคซิเนียโดยเฉลี่ย 15 - 37 ตัว/ เมตร^2, หอยเลขหนึ่ง 2 – 4.6 ตัว/ เมตร^2) เก็บตัวอย่างหอยทั้ง 2 ชนิด มาปรับสภาพในห้องปฏิบัติการ 3 วัน ก่อนนำมาทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรีที่สกัดเตรียมไว้ โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารฆ่าหอย 3 ชนิด ได้แก่ niclosamide 70% WP ,สารสกัดจากเมล็ดชา 10% DP และสารสกัดมะคำดีควาย 10 % วางแผนการทดลองแบบ RCB 18 กรรมวิธี ๆละ 3 ซ้ำ และวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิด ด้วยโปรแกรมโพรบิท (Probit analysis) ตามวิธีการของ Finney, 1971

ผลการศึกษาเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการ พบว่าสารสกัดจากใบว่านหางจระเข้ ที่อัตราความ-เข้มข้น 25% มีประสิทธิภาพทำให้หอยทั้ง 2 ชนิดตาย 100% ภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมงหลังจากได้รับสาร ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับสารเปรียบเทียบทั้ง 3 ชนิด (ที่ระดับ$P \leq 0.05$) ส่วนประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบมะขามและฝักจามจุรี ที่อัตราความเข้มข้น 50% และ 100% ทำให้หอยทั้ง 2 ชนิด ตาย 100% หลังจากได้รับสาร 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ยังต้องวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของสารแต่ละชนิด เพื่อประเมินเปรียบเทียบประสิทธิภาพและหาอัตราการใช้ที่เหมาะสม พร้อมกับทดสอบในสภาพแปลงทดลองต่อไป

รหัสการทดลอง 01-15-52-01-01-02-04-52

คำนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตกล้วยไม้เมืองร้อนที่สำคัญ และจัดได้ว่าเป็นประเทศที่มีการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกอันดับ 1 ของโลก มูลค่าการส่งออกในปัจจุบันไม่ต่ำกว่า 3,000 ล้านบาท ตามสถิติการส่งออกกล้วยไม้ ปี 2549 ประเทศไทยมีการส่งออกกล้วยไม้ไปยังประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีนมากที่สุด รองลงมา ได้แก่ 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 โดยเน้นการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและเพิ่มขีดความสามารถด้านการตลาดและปรับระบบการบริหารจัดการ เพื่อให้ประเทศไทยสามารถส่งออกกล้วยไม้ให้ได้มูลค่า 10,000 ล้านบาทภายในปี 2555 และเพื่อเป็นการสนับสนุนเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้เพื่อการส่งออกให้ปลอดศัตรูพืชและเพื่อแก้ปัญหาอุปสรรคในการส่งออก กรมวิชาการเกษตรได้มีการวิจัยด้านศัตรูพืชกักกันทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว โดยสนับสนุนให้เกษตรกรรวมกลุ่ม เพื่อพัฒนาการผลิต และมีโครงการรับรองสวนเกษตรดีที่เหมาะสม (Good Agriculture Practice : GAP)

แม้ว่าประเทศไทยจะมีขีดความสามารถสูงในด้านเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ แต่การศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับการป้องกันกำจัดศัตรูพืชยังมีน้อยมาก แมลงและสัตว์ที่เป็นศัตรูกล้วยไม้ มีหลายชนิด อาทิเช่น เพลี้ยไฟ บั่ว หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หอยซัคซิเนีย หอยเลขหนึ่ง หอยเจดีย์เล็กและหอยเจดีย์ใหญ่ เป็นต้น จากการศึกษาของ Panha (1996) พบว่าปัจจุบันประเทศไทยมีหอยทากบกกลุ่มที่ไม่มีฝาปิด มากถึง 15 ครอบครัว (family) 50 สกุล (genus) และมีจำนวนมากกว่า 136 ชนิด มีทั้งชนิดที่อยู่ตามพื้นและชนิดที่อยู่บนต้นไม้ นอกจากนี้ ชมพูนุท และคณะ (2542) พบว่าหอยทากที่เป็นศัตรูพืชในประเทศไทย มีอยู่ 6 ชนิด ซึ่งมีหลายชนิดที่พบเป็นศัตรูกล้วยไม้ ได้แก่หอยทากยักษ์อาฟริกา (*Achatina fulica*) หอยดักดาน *(Cryptozona siamensis*) หอยทากสาริกา (*Sarika* sp.) นอกจากนั้นยังมีหอยทากขนาดเล็ก ได้แก่หอยเจดีย์เล็ก (*Lamellaxis gracilis*) หอยอำพันหรือหอยเล็บ, (*Succinea* sp.) และหอยเลขหนึ่ง *(Ovachlamys fulgens*)

จากที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นได้ว่าหอยทากจัดเป็นสัตว์ศัตรูพืชชนิดที่เป็นปัญหาอันดับต้นๆ ในสวนกล้วยไม้และเป็นปัญหาเกี่ยวกับการส่งออกกล้วยไม้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องเร่งศึกษาข้อมูลพื้นฐานด้านต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ข้อมูลชีววิทยา และการป้องกันกำจัด เพื่อนำไปใช้วางแผนการจัดการหอยทากศัตรูพืช ไม่ให้เกิดการระบาดรุนแรง เพื่อให้ประเทศไทยมีขีดความสามารถทั้งในด้านเทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้ และเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช ได้อย่างมี

ประสิทธิภาพควบคู่กัน และสามารถเข้าสู่ขบวนการจัดการคุณภาพ 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
- อุปกรณ์สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ กล่องพลาสติกขนาด 6.5x9.5x2 เซนติเมตร กระดาษทิชชูอเนกประสงค์ ขวดสเปรย์พ่นสาร
- อุปกรณ์สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด ในแปลงทดลอง ได้แก่ ชุดถังพร้อมกระบอกพ่นสาร ไม้ไผ่กั้นแปลงย่อย ตาข่ายกั้นแปลงย่อย พลาสติกคลุมแปลงย่อย เป็นต้น
- อาหารสำหรับหอยทดลอง เช่น อาหารปลายี่ห้อซากุระ ผักสดชนิดต่างๆ
- วัตถุดิบในการสกัดสาร พืช 3 ชนิด ได้แก่ ใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี
- สารเคมีสำหรับดองตัวอย่าง ไว้ศึกษาอวัยวะภายใน ได้แก่ 10 % buffer formalin ethyl alcohol 95% และ formaldehyde 40% เป็นต้น
- เครื่องมือและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น thermometer, forceps , beaker , flask , Petri-dish เป็นต้น
- อุปกรณ์สำหรับวัดขนาด ได้แก่ เวอร์เนียร์ ไม้บรรทัด
- เอกสารประกอบการจำแนกชนิดหอยทากและวิธีสกัดสารจากพืช

วิธีการ

<u>ขั้นตอนที่ 1</u>. สกัดสารจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช โดยเลือกส่วนใบแก่ของมะขาม ใบว่านหางจระเข้ที่ขูดเอาวุ้นออกไปแล้ว และฝักจามจุรี นำไปตากแดดและอบให้แห้ง ส่วนของพืชที่นำมาสกัดต้องไม่มีเชื้อรา ก่อนนำไปบดให้ละเอียด จึงนำมาแช่อัตรา 1 กิโลกรัม/ น้ำ 20 ลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมากรองกากออกด้วยผ้าขาวบางหลายๆชั้น จากนั้นนำของเหลวที่ได้ไปสกัดต่อโดยใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และใช้น้ำเป็นตัวสกัด หลังจากนั้นนำสารที่สกัดแล้วเก็บในตู้เย็นเพื่อรอทดลองต่อไป

ขั้นตอนที่ 2. ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี ที่มีต่อหอยซัคซิเนีย และหอยเลขหนึ่ง เพื่อกำหนดค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง และวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ด้วยโปรแกรมโพรบิท (Probit analysis) ตามวิธีการของ Finney (1971) โดยทำการทดลองในกล่องพลาสติก ขนาด 6.5x9.5x2 เซนติเมตร ดังต่อไปนี้

2.1 range – finding test

เพื่อหาช่วงความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด ที่ทำให้หอย ซัคซิเนียและหอยเลขหนึ่งตายมากกว่าและน้อยกว่า 50 % โดยกำหนดค่าความเข้มข้นที่ 5 ระดับ คือ 10, 100, 1,000, 10,000 และ100,000 ppm. รวมทั้งการทำการทดลองชุดควบคุม โดยแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 ซ้ำๆละ 10 ตัว นับจำนวนหอยที่ตายภายในเวลา 24 ชั่วโมง พร้อมบันทึกผลการทดลอง

2.2 definitive test

โดยนำผลที่ได้จากการทำ range –finding test เลือกช่วงความเข้มข้นที่ทำให้หอยตาย 0 % และ 100 % โดยกำหนดระดับความเข้มข้นให้ละเอียดยิ่งขึ้น 5 ระดับ ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1 นับจำนวนหอยที่ตายภายใน 24 ชั่วโมง จึงนำข้อมูลที่ได้มาหาค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง โดยวิธี probit analysis ต่อไป

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาผลทางพยาธิสภาพของสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี ที่มีต่อเนื้อเยื่อหอยทากซัคซิเนีย และหอยเลขหนึ่ง โดยทำการทดลอง ดังนี้

3.1 เก็บตัวอย่างหอยทากซัคซิเนีย และหอยเลขหนึ่ง ที่ทำการทดลองทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง นำมาวัดขนาดความยาว ความกว้าง เปรียบเทียบค่าแตกต่างทางสถิติระหว่างหอยกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองโดยใช้ค่า T – Test

3.2 นำเนื้อเยื่อหอยมาดองด้วย 10 % buffer formalin ก่อนนำไปผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยวิธี paraffin method

ขั้นตอนที่ 4 ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี กับหอยทากซัคซิเนีย และหอยเลขหนึ่ง ในห้องปฏิบัติการ ตามแผน RCB 18 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำ

ขั้นตอนที่ 5 ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี กับหอยทากซัคซิเนีย และหอยเลขหนึ่ง ในสภาพแปลงทดลอง ตามแผนการทดลอง RCB

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาเริ่มต้น ตุลาคม 2551 **สิ้นสุด** กันยายน 2553 **รวม** 2 ปี

สถานที่ ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิจัยสัตววิทยาการเกษตร และสวนกล้วยไม้ จังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การสกัดสารจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี

การทดลองนี้ เป็นการสกัดสารจากพืช 3 ชนิดอย่างง่ายๆ ณ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จากการตรวจเอกสาร พบว่าใบแก่ของมะขาม ใบว่านหางจระเข้ที่ขูดเอาวุ้นออกไปแล้วและฝักจามจุรีเป็นส่วนที่มีสารออกฤทธิ์หลายกลุ่ม โดยวุ้นในใบว่านหางจระเข้มีสารเคมีหลายชนิด เช่น barbaloin, aloesin, aloin, glycoprotein (ทวีศักดิ์, 2536) ส่วนยางที่อยู่ในใบว่านหางจระเข้และใบมะขาม ยังมีสารแอนทราควิโนนกลัยโคไซด์ (antraquinone glycosides) ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถละลายน้ำได้ดี (Trease and Evans,1983) ดังนั้นส่วนของใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้และฝักจามจุรี จึงน่าจะเป็นส่วนที่เหมาะแก่การนำมาใช้สกัดสารออกฤทธิ์ที่ต้องการได้มากที่สุด เนื่องจากการนำพืชมาใช้ประโยชน์ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ควรคำนึงถึงแหล่งวัตถุดิบและปริมาณตั้งต้นที่จะนำมาสกัดเพื่อให้คุ้มค่ากับการผลิตสารออกฤทธิ์ที่ต้องการได้ และนอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงพิษตกค้างอีกด้วย

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดกับหอยทากซัคซิเนียและหอยเลขหนึ่ง ในห้องปฏิบัติการ ตามแผนการทดลอง RCB ผลการศึกษาเบื้องต้น พบว่าสารสกัดจากใบว่านหางจระเข้ ที่ระดับอัตราความเข้มข้น 25% มีประสิทธิภาพทำให้หอยทั้ง 2 ชนิด ตาย 100% ภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมงหลังจากได้รับสาร ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติ (ที่ระดับ$P \leq 0.05$) กับสารเปรียบเทียบทั้ง 3 ชนิดได้แก่ niclosamide 70% WP ,สารสกัดจากเมล็ดชา 10% DP และสารสกัดมะคำดีควาย 10 % ส่วนประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบมะขามและฝักจามจุรี ที่อัตราความเข้มข้น 50% และ 100% ทำให้หอยทั้ง 2 ชนิด ตาย 100% หลังจากได้รับสาร 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ยังต้องวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของสารแต่ละชนิด เพื่อประเมินเปรียบเทียบประสิทธิภาพและหาอัตราการใช้ที่เหมาะสม พร้อมกับทดสอบในสภาพแปลงทดลอง ต่อไป

3. การศึกษาผลทางพยาธิสภาพของสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี ที่มีต่อเนื้อเยื่อหอยทากซัคซิเนีย และหอยเลขหนึ่ง

การทดลองนี้ยังไม่เสร็จสิ้น อยู่ระหว่างการเตรียมสไลด์ถาวรเนื้อเยื่อด้วย paraffin method โดยตัดแบ่งเนื้อเยื่อหอย นำมา fix ด้วย 10 % buffer formalin 24 ชั่วโมง แล้วนำไปแช่ ใน 70 % ethyl alcohol 1 ชั่วโมง ก่อนนำไป fix ต่อใน 90 % ethyl alcohol และ 95 % ethyl alcohol ตามลำดับ ตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ rotary microtome บางขนาด 5 ไมโครเมตร ก่อนนำไปย้อมสี Heamatoxylin & Eosin (H & E) เพื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี ในแปลงทดลอง

การทดลองนี้ยังไม่เสร็จสิ้น อยู่ระหว่างดำเนินการในปี 2553

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองนี้ เป็นการทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้ และฝักจามจุรี ที่สกัดอย่างง่ายๆ โดยใช้ส่วนใบแก่ของมะขาม ส่วนเปลือกของว่านหางจระเข้และฝักจามจุรี เนื่องจากเป็นส่วนที่เหมาะแก่การนำมาใช้ประโยชน์มากที่สุด เพราะมีสารออกฤทธิ์หลายกลุ่มที่สามารถละลายน้ำได้ดี ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิด ในห้องปฏิบัติการ ในเบื้องต้นพบว่าสารสกัดที่เหมาะสำหรับนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดหอยทากซัคซิเนียและหอยเลขหนึ่ง คือสารสกัดใบว่านหางจระเข้ เนื่องจากที่ระดับอัตราความเข้มข้น 25% ก็สามารถทำให้หอยทั้ง 2 ชนิด ตายทั้งหมด ภายในระยะเวลา 1 ชั่วโมงหลังจากได้รับสาร ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติ (ที่ระดับ$P \leq 0.05$) กับสารเปรียบเทียบ 3 ชนิด ได้แก่ niclosamide 70% WP, สารสกัดจากเมล็ดชา10% DP และสารสกัดมะคำดีควาย 10 % อย่างไรก็ตามยังต้องวิเคราะห์หาค่า LC_{50} ของสารแต่ละชนิด เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพและหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมพร้อมกับหาวิธีการสกัดที่เหมาะสมยิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นายสมพงษ์ ทวีสุข เจ้าของสวนกล้วยไม้ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี ที่ให้ความร่วมมือและอนุญาตให้คณะวิจัยเข้าไปสำรวจการแพร่ระบาด พร้อมทั้งอนุญาตให้ใช้สวนกล้วยไม้เป็นแปลงทดสอบประสิทธิภาพสารสกัด ทั้ง 3 ชนิด ขอขอบคุณ ดร.ศิริพร ซึงสนธิพร นักวิชาการเกษตรชำนาญการ กลุ่มวิจัยวัชพืช ที่ให้คำแนะนำและอนุเคราะห์เครื่องมือสกัด และขอขอบคุณ นายสมเกียรติ กล้าแข็ง ที่ช่วยเก็บตัวอย่างหอยทากและช่วยสกัดสารเพิ่มเติมสำหรับทดสอบในแปลงกล้วยไม้ จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

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

ชมพูนุท จรรยาเพศ ปราสาททอง พรหมเกิด ดาราพร รินทะรักษ์ กรแก้ว เสือสะอาด และปิยาณี หนูกาฬ. 2551. ทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดหอยเชอรี่ *Pomacea* sp. รายงายผลการวิจัย ปี 2551. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า 118-123.

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

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

Gude, G.K.1903c. 1900. A Classified List of the Helocoid Land Shells of Asia. J.of Malacol. 10(2): pp. 45-62.

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.

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

ก.

ข.

ภาพที่ 1 แสดงชนิดหอยทากในสวนกล้วยไม้ ที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากใบมะขาม ใบว่านหางจระเข้และฝักจามจุรี

ก. หอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ตัวเต็มวัย ขนาด 3.5 มิลลิเมตร

ข. หอยซัคซิเนีย *Succinea* sp. ตัวเต็มวัย ขนาด 4-5 มิลลิเมตร

ก. กลุ่มควบคุม (น้ำเปล่า)

ข. สารสกัดประคำดีควาย 10%

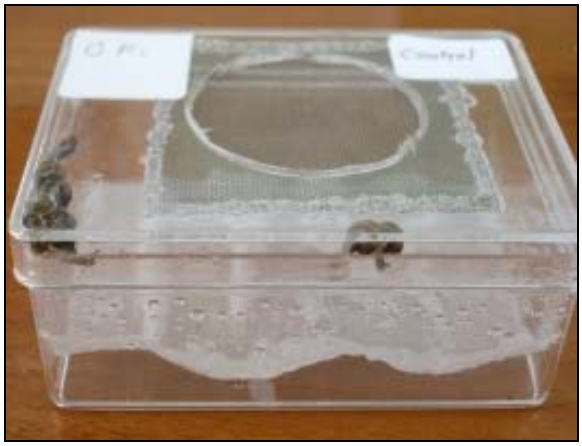
ค. กากเมล็ดชา 10% DP

ง. niclosamide 70% WP

จ. สารสกัดว่านหางจระเข้ 25%

จ. สารสกัดว่านหางจระเข้ 100%

ภาพที่ 2 แสดงหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ที่ตายหลังได้รับสารสกัดแต่ละชนิดเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ภายหลังการฉีดพ่น 1 ชั่วโมง



ก. กลุ่มควบคุม (น้ำเปล่า)

ข. สารสกัดใบมะขาม 100%

ค. สารสกัดฝักจามจุรี 100%

ภาพที่ 3 แสดงหอยเลขหนึ่ง *Ovachlamys fulgens* (Gude) ที่ตายหลังได้รับสารสกัดแต่ละชนิด เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ภายหลังการฉีดพ่น 24 ชั่วโมง

ชีววิทยาทาก *Parmarion* sp.

Biological Studies of Snail, *Parmarion setchaunensis* Heude

ปิยาณี หนูกาฬ ดาราพร รินทะรักษ์ ชมพูนุท จรรยาเพศ

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจแปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร ในจังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม และนครราชสีมา ที่มีการระบาดของทาก *Parmarion* sp. จึงเก็บตัวอย่างทาก ตัวมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาพฤติกรรมและชีววิทยาด้านต่างๆ โดยนำทาก*Parmarion sp.* มาเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติในกล่องพลาสติกใสที่รองด้วยขุยมะพร้าวผสมดินและรดน้ำให้ชุ่มอยู่เสมอ ให้ผักกาดแก้ว ผักกาดขาว ผักกาดหอมและอาหารปลาเป็นอาหาร พบว่าทากสามารถปรับตัวและกินอาหารได้ดี ทากที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการชอบหลบแสงอยู่ตามใต้เศษไม้ ใบไม้ ใบผักอาหาร ทาก *Parmarion* sp.มี 2 ในตัวเดียวกันแต่ผสมภายในไม่ได้ต้องมีการจับคู่กับตัวอื่น ทากที่โตเต็มที่จะผสมพันธุ์ในเวลากลางคืน แล้วจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวไว้รวมกันเป็นกลุ่มๆ ละ13-69 ฟอง ไว้ตามกองดิน ตามเศษไม้ ใบไม้ เปลือกไข่มีสีขาวขุ่น มีลักษณะนิ่ม ใช้เวลาฟัก 10 -15 วัน จึงเป็นตัวอ่อนและเริ่มกินมอส ตะไคร่น้ำ ใบอ่อนๆ ของผักหรือพืชอาหารได้ทันที การศึกษายังไม่สิ้นสุด

คำนำ

ทาก *Parmarion* (*Parmarion setchaunensis* Heude) จัดเป็นทาก (Slug) ที่เป็นศัตรูพืชที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง พบระบาดทำความเสียหายแก่เกษตรกรอย่างรุนแรงโดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีความชื้นสูง เช่น แปลงไม้ดอกไม้ประดับ และสวนกล้วยไม้ เป็นต้น ทาก *Parmarion* sp. จะกัดทำลายต้นพืช ทั้งราก ลำต้น ใบ และดอก โดยเฉพาะในสวนกล้วยไม้บางแปลง ทาก *Parmarion* sp จะกัดราก หน่อต้นอ่อนและช่อดอกกล้วยไม้ทำความเสียหายเกือบ100% ทำให้ต้นกล้วยไม้ไม่เจริญเติบโตหรือตายได้ หรือผลผลิตกล้วยไม้ลดลง เนื่องจากกล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญทั้งในประเทศและต่างประเทศ ในปีหนึ่งๆ สามารถทำรายได้ให้แก่ประเทศเป็นมูลค่ามหาศาล ดังนั้นการศึกษาชีววิทยาของทาก *Parmarion* sp. จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการป้องกันกำจัดทากและหอยทากศัตรูพืชต่อไป

รหัสการทดลอง 01-15-52-01-01-02-05-52

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ทาก *Parmarion* sp.
2. กล่องพลาสติกใสสำหรับเลี้ยงทาก
3. ขุยมะพร้าว
4. สเปรย์ฉีดน้ำ
5. แว่นขยาย
6. forcep
7. อาหารปลา ผักสด
8. วัสดุอื่นๆ เช่น กระดาษทิชชู

วิธีการ

1. สำรวจและค้นหาแหล่งที่มีการระบาดของทาก *Parmarion* sp.
2. เก็บรวบรวมทาก *Parmarion* sp. จากสวนกล้วยไม้ของเกษตรกรมานำมาเลี้ยงในบ่อพักที่เตรียมไว้ในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร
3. สุ่มเลือกทากที่แข็งแรงจากบ่อพักจำนวน 20 ตัว ไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกใสที่เจาะรูระบายอากาศไว้บนฝา ภายในกล่องรองด้วยขุยมะพร้าวผสมดินและรดน้ำจนชุ่ม ใส่ทากลงไปกล่องละ 2 ตัว จำนวน 10 กล่อง วางไว้ในห้องที่มีอุณภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส
4. ให้อาหารปลาและผักสดเป็นอาหาร
5. สังเกต และบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกขนาดของที่เริ่มจับคู่ผสมพันธุ์ทาก*Parmarion* sp.
2. บันทึกขนาดของไข่ทาก ระยะเวลาในการฟักออกจากไข่และขนาดของลูกทากที่ เพิ่งฟักใหม่
3. บันทึกพฤติกรรมต่างๆของทาก*Parmarion sp.*

เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2552 - กันยายน 2553 รวม 2 ปี

- ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร เกษตรกลาง บางเขน กรุงเทพฯ
- สวนกล้วยไม้ของเกษตรกร

ผลการทดลอง

จากการสำรวจแปลงกล้วยไม้ของเกษตรกร ในจังหวัดกาญจนบุรี ราชบุรี นครปฐม และนครราชสีมา ที่มีการระบาดของทาก *Parmarion* sp. จึงเก็บตัวอย่างทาก ตัวมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาพฤติกรรมและชีววิทยาด้านต่างๆ โดยนำทาก*Parmarion sp.* มาเลี้ยงในสภาพกึ่งธรรมชาติในกล่องพลาสติกใสที่รองด้วยขุยมะพร้าวผสมดินและรดน้ำให้ชุ่มอยู่เสมอ ให้ผักกาดแก้ว ผักกาดขาว ผักกาดหอมและอาหารปลาเป็นอาหาร พบว่าทากสามารถปรับตัวและกินอาหารได้ดี ทากที่นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการชอบหลบแสงอยู่ตามใต้เศษไม้ ใบไม้ ใบผักอาหารทาก *Parmarion* sp.มี 2 ในตัวเดียวกันแต่ผสมภายในไม่ได้ต้องมีการจับคู่กับตัวอื่น ทากที่โตเต็มที่จะผสมพันธุ์ในเวลากลางคืน แล้วจะวางไข่เป็นฟองเดี่ยวไว้รวมกันเป็นกลุ่มๆ ละ13-69 ฟอง ไว้ตามกองดิน ตามเศษไม้ ใบไม้ เปลือกไข่มีสีขาวขุ่น มีลักษณะนิ่ม ใช้เวลาฟัก 10 -15 วัน จึงเป็นตัวอ่อนและเริ่มกินมอส ตะไคร่น้ำ ใบอ่อนๆ ของผักหรือพืชอาหารได้ทันที การศึกษายังไม่สิ้นสุด

สรุปผลการทดลอง

-

เอกสารอ้างอิง

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.2542. หอยทากศัตรูกล้วยไม้. เอกสารประกอบการบรรยายในการประชุมกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้จังหวัดราชบุรี สำนักงานเกษตรจังหวัดราชบุรี.3 มิถุนายน 2542. 5 หน้า.

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

ฤดูกาลระบาดของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้, *Tenuipalpus pacificus* และวิธีการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม

Seasonal outbreaks of Orchid Flat Mite, *Tenuipalpus pacificus* and Its Appropriate Control

มานิตา คงชื่นสิน พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์
พลอยชมพู กรวิภาสเรือง วิมลวรรณ โชติวงศ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

-

คำนำ

ไรที่เป็นศัตรูของกล้วยไม้มีหลายชนิด ชนิดที่สำคัญที่สุด คือ ไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tenuipalpus pacificus* อยู่ในวงศ์ Tenuipalpidae อันดับย่อย Actinedida ลำตัวมีสีแดงสดลักษณะตัวแบน ความยาวของลำตัวเพศเมียเฉลี่ย 342.7 ไมครอน กว้างเฉลี่ย 198.2 ไมครอน

ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของไรจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบ ดอก ลำต้น และส่วนต่าง ๆ ของกล้วยไม้ การทำลายเกิดขึ้นได้กับทุกระยะการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ นับตั้งแต่กล้วยไม้ยังมีขนาดเล็กเป็นต้นกล้าอยู่ในกระถางหมู่ ไปจนถึงระยะออกดอกและติดฝัก ที่ใบไรมักดูดกินน้ำเลี้ยงอยู่บริเวณใต้ใบ ในระยะแรกผิวใบบริเวณที่ถูกทำลาย จะมีลักษณะเป็นจุดด่างขาวเล็ก ๆ และมีคราบสีขาวของไรกระจายอยู่ทั่วไป คล้ายมีฝุ่นจับอยู่ที่ใบ และเห็นตัวไรเกาะอยู่บนผิวใบเป็นจุดสีแดงเล็ก ๆ ขนาดเท่าปลายเข็มหมุด อยู่เป็นกลุ่ม ๆ หรือติดกันเป็นปื้น บางครั้งหากมีการระบาดรุนแรง อาการอาจลุกลามเรื่อยมาจนถึงกาบใบ ลำต้น และราก ผิวใบบริเวณที่ถูกทำลายจะยุบลงและค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบแห้งและร่วงในเวลาต่อมา ในกรณีที่การทำลายเกิดขึ้นกับกล้ากล้วยไม้ต้นเล็ก ๆ ที่ปลูกรวมอยู่ในกระถางหมู่ อาจมีผลทำให้ต้นกล้าชะงักการเจริญเติบโต หรือแห้งตายทั้งกระถาง นอกจากทำลายใบกล้วยไม้แล้ว พบไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ดูดทำลายอยู่ที่หลังกลีบดอกด้วย ทำให้ดอกกล้วยไม้มีตำหนิไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ลักษณะการทำลายเกิดเป็นจุดสีม่วงเข้ม เรียกกันว่า “หลังลาย” ไรจะเข้าทำลายตั้งแต่ระยะดอกยังตูมอยู่ เมื่อดอกบานแผล

รหัสการทดลอง 01-15-52-01-01-02-06-52

จากการดูดทำลายจึงมักปรากฏอยู่บริเวณกลีบล่าง ๆ เรื่อยลงไปจนถึงโคนกลีบ และก้านดอก มักพบการทำลายบนดอกกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* spp.) อีกลักษณะเป็นจุดนูนและปุ่มขนาดเล็กเท่าปลายเข็มหมุด มีสีขาวซีด และน้ำตาลที่หลังกลีบดอก เรียกกันว่า “หลังขี้กลาก” สีของกลีบดอกจะด่าง กลีบดอกมีขนาดเล็กลง และบิดเบี้ยว ส่วนดอกตูมขนาดเล็กที่ถูกไรดูดกิน จะฝ่อแห้งเป็นสีน้ำตาล และหลุดร่วงจากก้านช่อดอก (วัฒนาและคณะ, 2544)

สำหรับกล้วยไม้ส่งออก ไรศัตรูกล้วยไม้เป็นปัญหาที่ทำให้เกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้ต้องใส่ใจในการป้องกันกำจัด ซึ่งถ้าพบว่ามีไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ติดปะปนบนกลีบดอก ใบ หรือ ลำต้น อาจถูกทำลายทิ้งที่ประเทศปลายทาง อย่างไรก็ตาม การระบาดของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้เกิดขึ้นรุนแรงในบางสวน และบางฤดูกาลเท่านั้น ซึ่งสมมุติฐานเบื้องต้น คาดว่ามีปัจจัยบางอย่างที่ส่งเสริมการระบาดของไร เช่น สภาพอุณหภูมิ ความชื้น ศัตรูธรรมชาติ ลักษณะโครงสร้างโรงเรือน และความสะอาดของโรงเรือน ซึ่งถ้าสามารถทราบถึงปัจจัยเหล่านั้น จะเป็นการช่วยลดปัญหาการระบาดของไรแมงมุมกล้วยไม้ได้ โดยเกษตรกรอาจไม่จำเป็นต้องใช้สารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรชนิดนี้

อย่างไรก็ตาม สารเคมียังเป็นสิ่งที่จำเป็นในการใช้ป้องกันกำจัดไรในกรณีที่มีการระบาดรุนแรง แต่เนื่องจากสารฆ่าไรที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำเป็นสาร ฯ ที่มีการทดสอบมาตั้งแต่ปี 2526 (กุลฉวี, 2526) ปัจจุบันพบว่าบางชนิดใช้ไม่ได้ผล จึงจำเป็นต้องทำการทดสอบหาสารฆ่าไรและสารสกัดจากพืชชนิดใหม่ ๆ ที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ รวมทั้งวิธีการใช้ที่เหมาะสม ที่สามารถควบคุมไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ได้ มีการต้านทานช้า ดังนั้นการศึกษาเพื่อแก้ไขปัญหาการระบาดของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ โดยวิเคราะห์หาสาเหตุสำคัญที่ช่วยลดระบาดของไรในสวนกล้วยไม้ในพื้นที่ต่าง ๆ รวมทั้งการป้องกันกำจัดที่เหมาะสม จะทำให้เกษตรกรผู้ปลูกกล้วยไม้ได้ผลผลิตส่งออกที่ปราศจากไรแมงมุมกล้วยไม้ เป็นผลผลิตที่มีมูลค่าเพิ่ม

วัตถุประสงค์

เพื่อทราบฤดูกาลระบาดของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ การผันแปรประชากร ของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ และสาเหตุสำคัญที่เป็นปัจจัยทำให้เกิดการระบาด และการป้องกันกำจัดไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ที่เหมาะสม

วิธีดำเนินการ

1. การศึกษาฤดูกาลระบาดของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ ชนิดและนิเวศวิทยาของศัตรูธรรมชาติที่สำคัญ

ดำเนินการวิจัยในสวนกล้วยไม้ตระกูลหวายจำนวน 2 สวน ให้เกษตรกรเจ้าของสวนดูแลต้นกล้วยไม้ เช่น ให้ปุ๋ย รดน้ำ และควบคุมศัตรูพืช โดยวิธีการของเกษตรกรแต่ละสวน ทำการสุ่มนับ

จำนวนประชากรไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ ที่พบบนต้นและดอกกล้วยไม้ จำนวน 100 ต้นต่อแปลง ทุก 1สัปดาห์ ศึกษาการผันแปรประชากรของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ และความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนไรกับปัจจัยต่าง ๆ ในสวนกล้วยไม้ เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ความเข้มแสง ปริมาณน้ำ ทำการสำรวจและวินิจฉัยชนิดของศัตรูธรรมชาติของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ เมื่อทราบชนิดของศัตรูธรรมชาติที่พบมาก และมีแนวโน้มเป็นตัวห้ำหรือตัวเบียนของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ จึงนำมาศึกษาชีวิทยา นิเวศวิทยาและทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้น เพื่อทราบศัยภาพของศัตรูธรรมชาตินั้นๆ ในการควบคุมไรแมงมุมกล้วยไม้

การบันทึกข้อมูล

1. จำนวนประชากรไรแมงมุมเทียม และศัตรูธรรมชาติ
2. โครงสร้างโรงเรือนปลูกกล้วยไม้แต่ละสวน เช่น ขนาดโรงเรือน (กว้าง x ยาว x สูง) การจัดวางต้นกล้วยไม้บนโต๊ะปลูก ความสูงของโต๊ะปลูก การพรางแสง ทิศทางลม
3. อายุของต้นกล้วยไม้
4. ชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เวลาและปริมาณการใช้
5. ชนิดของปุ๋ย เวลาและปริมาณการใช้
6. ชนิดเครื่องพ่นสาร ฯ และวิธีการพ่น
7. วิธีการให้น้ำ
8. พืชแซมในสวนกล้วยไม้

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรและสารสกัดจากพืชบางชนิดในการป้องกันกำจัดไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรในการป้องกันกำจัดไรแมงมุมเทียมในสวนกล้วยไม้ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธีพ่นสาร ฯ ได้แก่

1. โอไมท์ (propargite 30% WP) 30 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร
2. โอเบรอน (spiromesifen 24% SC) 6 มล./น้ำ 20 ลิตร
3. แซนด์ไมท์ (pyridaben 20% WP) 5 กรัม/ น้ำ 20 ลิตร
4. ทอร์ค (fenbutatin oxide 55% SC) 20 มล./น้ำ 20 ลิตร
5. โทเทม (fenazaquin 20% SC) 5 มล./น้ำ 20 ลิตร
6. ไรดริน (tetradifon 7.52% EC) 50 มล./น้ำ 20 ลิตร
7. ไมแทค (amitraz 20% EC) 30 มล./น้ำ 20 ลิตร
8. พ่นน้ำเปล่า (control)

มีวิธีการดำเนินการ ดังนี้

1. ทดสอบในสวนกล้วยไม้ของเกษตรกรที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี

2. ขนาดแปลงย่อย 1 X 4.5 เมตร (150 ต้น) สุ่มนับจำนวนไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ในแต่ละแปลงย่อย จากกล้วยไม้20 ต้นๆ ละใบ โดยตัดใบแล้วนำไปตรวจนับใต้กล้องจุลทรรศน์ ก่อนพ่นสาร ฯ 1 วัน และหลังพ่นสาร ฯ 3, 7, 14, 21 และ 28 วันพ่นสาร ฯ แต่ละกรรมวิธี ตามอัตราที่แนะนำ ด้วยเครื่องพ่นแบบสูบโยกสพายหลัง จำนวนสารละลายน้ำ+สารจับใบ 2.5 ลิตร ต่อแปลงย่อย
3. บันทึกผลกระทบของสาร ฯ ทดลองที่มีต่อดอก ใบ และต้นกล้วยไม้ รวมทั้งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่น ศัตรูธรรมชาติ ผึ้ง สัตว์ในร่องน้ำ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาฤดูกาลระบาดของไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ ชนิดและนิเวศวิทยาของศัตรูธรรมชาติที่สำคัญ

ข้อมูลการผันแปรประชากรไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ทุก ๆ สัปดาห์ ที่ อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี 2 แปลง และในเขตทวีวัฒนา จังหวัดกรุงเทพฯ 1 สวน พบว่า ประชากรไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ที่จังหวัดกาญจนบุรี พบสูงสุดในช่วงเดือนมิถุนายน โดยพบเฉลี่ยประมาณ 988 ตัว/ใบ ในแปลงที่ไม่พ่นสารเคมี และ 366 ตัว/ใบ ในแปลงพ่นสารเคมี ฯ ส่วนประชากรไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ที่เขตทวีวัฒนา พบมีเพียง 150 ตัว/ใบ แต่พบมีไรตัวห้ำบนใบเฉลี่ย 4 ตัว/ใบ ซึ่งพอสรุปได้ว่าไรตัวห้ำมีบทบาทเป็นปัจจัยที่ช่วยลดประชากรไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ ในช่วงเดือนกรกฎาคม ถึงกันยายน พบว่า ประชากรไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ที่จังหวัดกาญจนบุรี มีประชากรเพิ่มขึ้นมากกว่าเดือนมิถุนายน โดยพบเฉลี่ยสูงถึง 1,250 ตัว/ใบ ในช่วงต้นเดือนกรกฎาคม จากนั้นประชากรลดลงเล็กน้อย และเพิ่มขึ้นอีกในเดือนกันยายน พบเฉลี่ยประมาณ 400 ตัว/ใบ ไม่พบศัตรูธรรมชาติ (เช่น ไรตัวห้ำ) ในสภาพสวนกล้วยไม้นี้ คาดว่าประชากรของไรแมงมุมกล้วยไม้จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีสภาพภูมิอากาศร้อนและมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูง

ส่วนประชากรไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ที่เขตทวีวัฒนา มีปริมาณลดกว่าช่วงเดือน เมษายน - มิถุยายน พบประชากรเฉลี่ยต่ำกว่า 50 ตัว/ใบ และยังคงพบไรตัวห้ำศัตรูธรรมชาติของไรแมงมุมเทียม เฉลี่ยประมาณ 0.5 ตัว/ใบ ต่อจากนั้นไม่พบไรแมงมุมเทียมบนใบกล้วยไม้ตลอดเดือนกรกฎาคม จึงคาดว่าไรตัวห้ำมีบทบาทช่วยควบคุมประชากรไรแมงมุมกล้วยไม้ ต่อจากนั้นพบว่าประชากรไรแมงมุมเทียม เพิ่มขึ้นอีกในเดือนกันยายน

การเก็บข้อมูลการผันแปรประชากรไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ จะดำเนินต่อไปในงบประมาณ 2553 เพื่อให้ได้ข้อมูลการผันแปรประชากรไรครบตลอดปี จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลหาความสัมพันธ์ของประชากรไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้ กับอุณหภูมิ ความชื้น แสงสว่าง จำนวนศัตรูธรรมชาติ และการใช้สารเคมี ในสวนกล้วยไม้ต่อไป

2. ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าไรและสารสกัดจากพืชบางชนิดในการป้องกันกำจัดไรแมงมุมเทียมกล้วยไม้

ผลการทดลองกำลังอยู่ในระหว่างการวิเคราะห์ข้อมูล และจะทำการทดสอบอีก 1 แห่งในปีงบประมาณ 2553

เอกสารอ้างอิง

กุลฉวี กำจายภัย. 2526. โรคและแมลงศัตรูกล้วยไม้. หจก.ฟันนี่พับบลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ. 114 หน้า.

วัฒนา จารณศรี, มานิตา คงชื่นสิน, เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และ พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์. 2544. ไรศัตรูพืชและการป้องกันกำจัด. เอกสารวิชาการ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 192 หน้า.

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 จ.สุพรรณบุรี

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 ปลูกข้าวฟ่างหวานในฤดูปลูกปี 2552 ในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552 จำนวน 6 สายพันธุ์ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio, UTIS-23585 และ Wray กำจัดวัชพืช

รหัสการทดลอง 01-17-49-06-01-02-06-50

วางแผนการทดลองแบบ RCB ปลูกข้าวฟ่างหวานจำนวน 4 ซ้ำในแปลง ดูแล รดน้ำ ให้ปุ๋ยและกำจัดวัชพืช ประเมินการเกิดโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดในต้นข้าวฟ่างหวานอายุ 2 เดือน คือเดือนสิงหาคม 2552 จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio, UTIS-23585 และ Wray พบว่า ต้นข้าวฟ่างที่ปลูกทุกสายพันธ์เจริญเติบโตได้ดี ไม่แสดงอาการของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด หลังจากนั้น ในเดือนกันยายน 2552 ประเมินการเกิดโรคครั้งที่ 2 ก็ยังมีพบต้นข้าวฟ่างทั้ง 6 สายพันธุ์แสดงอาการโรค โรคช่อดอกไหม้และยอดบิด ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *F. monoliforme*

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 สายพันธุ์ได้แก่ 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 2553

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

เตรียมแปลงปลูกข้าวฟ่างหวานในฤดูปลูกปี 2552 ในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2552 จำนวน 6 สายพันธุ์ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio, UTIS-23585 และ Wray กำจัดวัชพืช วางแผนการทดลองแบบ RCB ปลูกข้าวฟ่างหวานจำนวน 4 ซ้ำในแปลง ดูแล รดน้ำ ให้ปุ๋ยและกำจัดวัชพืช ประเมินการเกิดโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดในต้นข้าวฟ่างหวานอายุ 2 เดือน คือเดือนสิงหาคม 2552 จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio, UTIS-23585 และ Wray และตรวจสอบลักษณะการเจริญของต้นข้าวฟ่าง พบว่า ต้นข้าวฟ่างที่ปลูกทุกสายพันธ์เจริญเติบโตได้ดี ไม่แสดงอาการของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *F. monoliforme* หลังจากนั้น ในเดือนกันยายน 2552 ก็ประเมินการเกิดโรคอีกครั้งหนึ่ง ก็ยังมีพบต้นข้าวฟ่างทั้ง 6 สายพันธุ์แสดงอาการโรค โรคช่อดอกไหม้และยอดบิด ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *F. monoliforme*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบการเกิดโรคบนข้าวฟ่างพันธุ์ทดสอบ ในโรงเรือนปลูกข้าวฟ่าง โดยปลูกเชื้อรา *F. moniliforme* ที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่าง ลงในดินปลูกข้าวฟ่างสายพันธุ์ทดสอบจำนวน 6 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์ BJ 281, Cowley, Keller, Rio, UTIS 23585 และสายพันธุ์ Wray พบว่า ข้าวฟ่างทุกสายพันธุ์แสดงอาการของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิดที่เกิดจากเชื้อรา *F. moniliforme*

การประเมินการโรคในแปลงปลูกในปี 2551 ฤดูกาลเก็บเกี่ยวครั้งที่ 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 แต่ระดับการเกิดโรคต่ำและแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์

การประเมินโรคในแปลงปลูกข้าวฟ่างหวานในปี 2552 ในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อ.อู่ทอง จ.สุพรรณบุรี จำนวน 6 สายพันธุ์ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio, UTIS-23585 และ Wray เมื่อต้นข้าวฟ่างหวานอายุ 2 เดือน คือเดือนสิงหาคม 2552 พบว่า ต้นข้าวฟ่างที่ปลูกทุกสายพันธ์เจริญเติบโตได้ดี ไม่แสดงอาการของโรคช่อดอกไหม้และยอดบิด การประเมินในครั้งที่ 2 ในเดือนกันยายน 2552 ยังมีพบต้นข้าวฟ่างทั้ง 6 สายพันธุ์แสดงอาการโรค โรคช่อดอกไหม้และยอดบิด ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *F. monoliforme*

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.

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคลำต้นเน่าดำที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina*

Reaction of Sweet Sorghum Lines Resistant to Charcoal Rot Caused by Macrophomina phaseolina

พจนา ตระกูลสุขรัตน์[1/] พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1/] อภิรัชต์ สมฤทธิ์[1/]
กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์[2/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่ จ.สุพรรณบุรี

บทคัดย่อ

การประเมินความรุนแรงต่อโรคลำต้นเน่าดำที่มีเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* เป็นสาเหตุของพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน 5 พันธุ์/สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, Rio และ Wray ทำการทดลองในแปลงทดสอบพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ. สุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2552-มกราคม 2553 (ฤดูปลูกครั้งที่ 1 และ 2) ผลการประเมินโรคไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุและแพร่ระบาดของโรคลำต้นเน่าดำ

รหัสการทดลอง 01 17 49 06 01 02 03 50

คำนำ

ข้าวฟ่างหวานหรือข้าวฟ่างพันธุ์หวาน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Sorghum bicolor* L. Moench. เป็นพืชที่มีลักษณะพิเศษคือมีน้ำหวานในลำต้นคล้ายอ้อยซึ่งสามารถนำมาแปรรูปเพื่อใช้ประโยชน์ได้หลายรูปแบบ ทั้งในรูปของพืชอาหารสัตว์และอาหารมนุษย์ ทำเชื้อเพลิงหรือทำเป็นแผ่นชนวนกันความร้อน ปัจจุบันมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านเป็นพืชพลังงานเพื่อการผลิตแอลกอฮอล์ (น้อม, 2523 และ 2524) ทดแทนอ้อยและมันสำปะหลังในช่วงขาดแคลน มีรายงานว่าข้าวฟ่างหวานเจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิดที่มีการระบายน้ำดี เก็บเกี่ยวได้เมื่ออายุ 90-100 วันสามารถนำมาผลิตเป็นเอทานอลได้ 350-420 ลิตรต่อไร่ และนำกากหลังหีบน้ำหวานไปหมักเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ได้อีก (ไชยรัตน์, 2551) ข้าวฟ่างหวานจึงได้รับความสนใจมากขึ้นในลักษณะของพืชพลังงานทางเลือกและพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ ในการปรับปรุงพันธุ์จึงเน้นที่พันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ให้ผลผลิตต้นสดสูง ปริมาณน้ำหวานและความหวานสูง มีลักษณะทางการเกษตรดี 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)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานต่อโรคลำต้นเน่าดำในแปลงทดสอบ รวบรวมเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับนำไปพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานต่อโรคในสภาพไร่ และเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคเพื่อส่งเสริมให้มีการปลูกขยายพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ. สุพรรณบุรี จำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio และ Wray
2. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

ปลูกข้าวฟ่างหวานจำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO และ Wray ในแปลงทดสอบพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี โดยมีระยะปลูก 60 x 20 เซนติเมตร จำนวน 4 แถว 4 ซ้ำ ปล่อยให้เกิดโรคตามธรรมชาติ ดูแล รดน้ำ ให้ปุ๋ย และกำจัดวัชพืชตามระยะเวลาที่เหมาะสม บันทึกเปรียบเทียบปฏิกิริยาการเกิดโรคระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์ บันทึกการเกิดโรคทุกเดือนและให้คะแนนความรุนแรงของโรคดังนี้

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)

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ผลรวม(ระดับxจำนวนต้นหรือใบที่เป็นโรคในระดับนั้นๆ)x100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับคะแนนที่เป็นโรคสูงสุด}}$$

$$= \frac{(0a + 1b + \ldots) \times 100}{(a + b + \ldots) \times \text{ระดับคะแนนที่เป็นโรคสูงสุด}}$$

หมายเหตุ a, b, … คือ จำนวนต้นหรือใบในระดับคะแนน 0, 1, … ตามลำดับ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น กรกฎาคม 2552 สิ้นสุด มกราคม 2553

แปลงทดสอบพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการตรวจและบันทึกการเกิดโรคลำต้นเน่าดำของต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดสอบพันธุ์ พบว่าทั้ง 2 ฤดูปลูกคือฤดูปลูกที่ 1 (เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2552) และครั้งที่ 2 (เดือนพฤศจิกายน 2552 – มกราคม 2553) ไม่พบการเข้าทำลายของโรคลำต้นเน่าดำในธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากมีการย้ายตำแหน่งแปลงปลูกไปอีกพื้นที่ เป็นพื้นที่ที่ปลูกอ้อยเดิมและไม่มีรายงานการแพร่ระบาดของโรคลำต้นเน่าดำมาก่อน จึงไม่มีการสะสมของเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่าดำ *Macrophomina phaseolina* ที่สามารถอยู่ข้ามฤดูปลูกในรูปเม็ด sclerotia บนเศษซากพืชเป็นโรคที่ปลูกก่อนหน้า (Cook *et al*., 1973) นอกจากนี้ปัจจัยสำคัญในการแพร่ระบาดของโรคคือ มีฝนตกและอากาศร้อนอบอ้าว (สมภาค, 2530) แต่ในฤดูปลูกปี 52 ทั้ง 2 ฤดูปลูกเกิดสภาวะฝนแล้งติดต่อกันเป็นเวลานาน สภาพอากาศไม่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรค จึงเป็นสาเหตุสำคัญทำให้ไม่พบการแพร่ระบาดของโรคลำต้นเน่าดำในสภาพธรรมชาติในปี 52 ทั้ง 2 ฤดูปลูก

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบปฏิกิริยาข้าวฟ่างหวานจำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ปลูกในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ต่อการเกิดโรคลำต้นเน่าดำระหว่างเดือนกรกฎาคม 2552 - มกราคม 2553 (ฤดูปลูกครั้งที่ 1 และ 2) ผลการประเมินไม่พบการแพร่ระบาดของโรคลำต้นเน่าดำในสภาพธรรมชาติในข้าวฟ่างหวานทั้ง 5 พันธุ์/สายพันธุ์ทั้ง 2 ฤดูปลูก

เอกสารอ้างอิง

ไชยรัตน์ ส้มฉุน. 2551. ข้าวฟ่างหวาน มข.40 พลังงานบนดินที่น่าจับตามอง. หน้า 7 ใน ไทยรัฐ ฉบับวันจันทร์ที่ 23 มิถุนายน 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.

น้อม ขันติคุณ. 2523. ความสำเร็จของการปลูกข้าวฟ่างหวานครั้งแรกในเมืองไทย. วารสารน้ำตาล 16(5) กันยายน-ตุลาคม : 1-2.

_____. 2524. การผลิตแอลกอฮอล์-น้ำตาลจากข้าวฟ่างหวาน. วารสารน้ำตาล 17(2) มีนาคม-เมษายน : 1-2.

สมภาค สิทธิพงศ์. 2530 โรคพืชเส้นใยและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 84 หน้า.

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.

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum*

Reaction of Sweet Sorghum Lines Resistant to Anthracnose Caused by Colletotrichum sublineolum

พจนา ตระกูลสุขรัตน์[1/] พีระวรรณ พัฒนวิภาส[1/] อภิรัชต์ สมฤทธิ์[1/]
กนกทิพย์ เลิศประเสริฐรัตน์[2/]
[1/] กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/] ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี สถาบันวิจัยพืชไร่ จ.สุพรรณบุรี

บทคัดย่อ/รายงานความก้าวหน้า

ทำการประเมินความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสที่มีเชื้อรา *Colletotrichum sublineolum* เป็นสาเหตุในข้าวฟ่างหวานจำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, Rio และ Wray ในสภาพแปลงทดสอบพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี ระหว่างเดือนกรกฎาคม2552-มกราคม 2553 (ฤดูปลูกครั้งที่ 1 และ 2) ผลการประเมินโรคไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุและการแพร่ระบาดของโรค

คำนำ

ข้าวฟ่างหวานหรือข้าวฟ่างพันธุ์หวาน เป็นพืชที่ได้รับความสนใจเนื่องจากมีต้นทุนการปลูกต่ำกว่าอ้อยปลูกง่าย เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว ปลูกได้ในดินทุกชนิดแม้แต่ดินค่อนข้างเค็ม แต่ขึ้นได้ดีในดินที่มีลักษณะร่วนเหนียว หน้าดินลึก การระบายน้ำดี และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง หรือ pH อยู่ระหว่าง 5.5-8.7 (นิรนาม, 2547) มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้นจึงสามารถปลูกได้หลายครั้งต่อปี มีคุณค่าทางโภชนาการต่อการนำมาเป็นพืชอาหารสัตว์ และจุดเด่นที่สำคัญคือมีปริมาณน้ำตาลจากลำต้นใกล้เคียงกับอ้อยซึ่งสามารถนำมาผลิตเป็นแอลกอฮอล์ได้ (ทวีศักดิ์, 2550) มีการนำเข้าพันธุ์ Rio พันธุ์ Wray และพันธุ์ Keller จากประเทศสหรัฐอเมริกาเข้ามาปลูกในประเทศไทยตั้งแต่ปี 2523 ซึ่งทั้ง 3 พันธุ์เจริญเติบโตดีและให้เปอร์เซ็นต์น้ำตาลสูงกว่าพันธุ์ที่เคยปลูกอยู่เดิมถึง 2 เท่า (กรึก, 2524) และมีการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ที่ดีเรื่อยมาโดยตลอด ซึ่งในการ

รหัสการทดลอง 01 17 49 06 01 02 04 50

ปรับปรุงพันธุ์จะเน้นพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ให้ผลผลิตต้นสดสูง ปริมาณน้ำหวานและความหวานสูง มีลักษณะทางการเกษตรดี และปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้กว้าง ต้านทานต่อโรคแมลงได้ปานกลาง โดยเฉพาะโรคที่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำคั้น สำหรับใช้เป็นพันธุ์แนะนำต่อไป (ธำรงศิลป์และคณะ, 2551)

โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* s*ublineolum* 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)

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานต่อโรคแอนแทรคโนสในแปลงทดสอบ รวบรวมเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับนำไปพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้ต้านทานต่อโรคในสภาพไร่ และเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานโรคเพื่อส่งเสริมให้มีการปลูกขยายพันธุ์ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี จำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์ได้แก่ BJ-281, Cowley, Keller, Rio, และ Wray
2. อุปกรณ์บันทึกผลการทดลองได้แก่ กล้องถ่ายภาพ และสมุดบันทึก

วิธีการ

ปลูกข้าวฟ่างหวานจำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์คือ BJ-281, Cowley, Keller, RIO, และ Wray ในแปลงทดสอบพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี โดยมีระยะปลูก 60 x 20 เซนติเมตร จำนวน 4 แถว 4 ซ้ำ ปล่อยให้เกิดโรคตามธรรมชาติ ดูแล รดน้ำ ให้ปุ๋ย และกำจัดวัชพืชตามระยะเวลาที่เหมาะสม บันทึกการเกิดโรคทุกเดือนโดยให้คะแนนความรุนแรงของโรคดังนี้

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)

$$\text{ดัชนีความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ผลรวม(ระดับxจำนวนต้นหรือใบที่เป็นโรคในระดับนั้นๆ)x100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับคะแนนที่เป็นโรคสูงสุด}}$$

$$= \frac{(0a + 1b + \ldots)\ x100}{(a + b + \ldots)\ x\ \text{ระดับคะแนนที่เป็นโรคสูงสุด}}$$

หมายเหตุ a, b, … คือ จำนวนต้นหรือใบในระดับคะแนน 0, 1, … ตามลำดับ

บันทึกเปรียบเทียบปฏิกิริยาการเกิดโรคระหว่างพันธุ์/สายพันธุ์

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น กรกฎาคม 2552 สิ้นสุด มกราคม 2553

แปลงทดสอบพันธุ์ข้าวฟ่างหวาน ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการตรวจและบันทึกการเกิดโรคแอนแทรคโนสของต้นข้าวฟ่างหวานจำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์ในแปลงทดสอบพันธุ์ พบว่าไม่มีการแพร่ระบาดของโรคในธรรมชาติในช่วงฤดูปลูกที่ 1 (เดือนกรกฎาคม – ตุลาคม 2552) ซึ่งเป็นต้นที่งอกจากเมล็ดพันธุ์ และฤดูปลูกช่วงที่ 2 (เดือนพฤศจิกายน 2552 – มกราคม 2553) ซึ่งเป็นต้นที่งอกจากต้นตอ ทั้งนี้เนื่องจากมีการย้ายตำแหน่งแปลงปลูกไปอีกพื้นที่ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ปลูกอ้อยเดิมทำให้ไม่มีการสะสมของเชื้อสาเหตุ นอกจากนี้

เกิดสภาวะฝนแล้งติดต่อกันเป็นระยะเวลานานในช่วงฤดูปลูกที่ 1 ทำให้ดินมีความชื้นต่ำมาก เป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการงอกและเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค และช่วงฤดูปลูกที่ 2 อากาศค่อนข้างเย็นแต่แห้งเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคเช่นเดียวกัน ซึ่งสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคคืออากาศร้อน ฝนตกชุก มีปริมาณน้ำฝนมาก และดินมีความชื้นสูง (Ferriera and Warren, 1982) จึงไม่พบการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรคโนสในฤดูปลูกปี 2552 ทั้ง 2 ฤดูปลูก

สรุปผลการทดลอง

การประเมินปฏิกิริยาข้าวฟ่างหวานจำนวน 5 พันธุ์/สายพันธุ์ที่ปลูกในแปลงทดสอบพันธุ์ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรสุพรรณบุรี จ.สุพรรณบุรีต่อการเกิดโรคแอนแทรคโนส ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2552 - มกราคม 2553 (ฤดูปลูกครั้งที่ 1 และ 2) ผลการประเมินไม่พบการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรคโนสในสภาพธรรมชาติในข้าวฟ่างหวานทั้ง 5 พันธุ์/สายพันธุ์ทั้ง 2 ฤดูปลูก

เอกสารอ้างอิง

กรึก นฤทุม. 2524. ข้าวฟ่างหวาน. หน้า 96-105. *ใน* เอกสารประกอบการสัมมนาพิเศษ หัวข้อมหาวิทยาลัยกับการพัฒนาอุตสาหกรรม. 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

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.

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.

ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัทที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*

Reaction of some Sweet Sorghum Lines to Smut Caused by *Sphacelotheca cruenta*

พีระวรรณ พัฒนวิภาส ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี พจนา ตระกูลสุขรัตน์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างโรคสมัท จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาศึกษาลักษณะอาการและจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการพบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* ทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ โดยปลูกข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ ศวร.สุพรรณบุรี(Cowley), พันธุ์ Keller, พันธุ์ต้นหวาน(UTIS2585), พันธุ์ Rio, พันธุ์ Wray, พันธุ์ BJ281 วางแผนการทดลองแบบRCB มี 4 ซ้ำ เมื่อข้าวฟ่างหวานออกช่อดอกประเมินการเกิดโรคสมัท ผลการทดลองพบว่า ไม่พบลักษณะอาการโรคสมัทบนช่อดอกข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ เมื่อจัดลำดับความต้านทาน พบว่าข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ ต้านทานสูงมากต่อโรคสมัทในสภาพแปลงทดลอง ตัดต้นข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ เมื่อข้าวฟ่างหวานตอออกช่อดอกประเมินการเกิดโรคสมัท ผลการทดลองพบว่า ไม่พบลักษณะอาการโรคสมัทบนช่อดอกข้าวฟ่างหวานที่ไว้ตอทั้ง 6 พันธุ์ และเมื่อจัดลำดับความต้านทาน พบว่าข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ ต้านทานสูงมากต่อโรคสมัท

รหัสการทดลอง 01 17 49 06

คำนำ

โรคสมัทหรือโรคราเขม่าดำ (Loose Smut Disease) มีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* พบว่ามีการระบาดของโรคนี้ครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2534 ในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี ซึ่งการระบาดไม่รุนแรงมากนัก แต่ในปีต่อๆมาพบว่าโรคนี้มีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ พบว่าเชื้อ *S. cruenta* สามารถเข้าทำลายที่ดอกโดยตรง หรืออาจเข้าทำลายส่วนเนื้อเยื่อเจริญหลังจากข้าวฟ่างงอก หรืออาจเข้าทำลายต้นกล้าโดยการปนเปื้อนของสปอร์เชื้อราที่อยู่ในดินหรือน้ำ โรคราเขม่าดำเป็นโรคที่มีการระบาดมากในข้าวฟ่างตอโดยพบว่าข้าวฟ่างตอที่เป็นโรคนี้ผลผลิตจะเสียหายถึง 100 % หรือไม่ได้รับผลผลิตเลย โรคนี้ไม่สามารถสร้างความเสียหายให้กับผลผลิตของข้าวฟ่างที่ปลูกก่อนตัดไว้ตอมากนักแต่เป็นโรคที่เป็นอุปสรรคสำคัญที่สุดของการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าวฟ่างเพื่อใช้ประโยชน์ในการการตัดต้นสดและเก็บเมล็ด(ประดิษฐ์ และโกมินทร์, 2540ก;ประดิษฐ์ และโกมินทร์, 2540ข) ประดิษฐ์ และโกมินทร์(2540ค) พบว่าอุณหภูมิดินที่ระดับความลึกต่างๆตั้งแต่ระดับผิวดินถึงอุณหภูมิดินที่ระดับความลึกถึง 10 เซนติเมตร มีความสัมพันธ์กับการเป็นโรคราเขม่าดำของข้าวฟ่างคือเมื่ออุณหภูมิดินสูงขึ้นจะทำให้เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่ออุณหภูมิของอากาศ ความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝนและจำนวนวันที่ฝนตกลดลงมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเพิ่มสูงขึ้น และจากในปัจจุบันน้ำมันเชื้อเพลิงมีราคาสูงมากจึงมีการศึกษาด้านต่างๆ เพื่อนำมาทดแทนน้ำมันเชื้อเพลิง ได้แก่ พลังงานจากธรรมชาติ เช่น แสงแดด คลื่น พลังงานจากสิ่งเหลือใช้ และพลังงานจากสิ่งมีชีวิต ข้าวฟ่างหวานเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาเป็นพลังงานทดแทน แต่เนื่องจากยังมีปัญหาด้านโรค ซึ่งโรคสมัทของข้าวฟ่างหวานเป็นอีกโรคหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์และการผลิตเมล็ดพันธุ์ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาปฏิกิริยาของข้าวฟ่างต่อโรคราเขม่าดำเพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานและให้ผลผลิตสูงต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการคัดเลือกขั้นต้นว่ามีคุณสมบัติที่ดีจากศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี โดยเมล็ดพันธุ์ที่รวบรวมมาทดสอบเป็นเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์ ไม่คลุกสารป้องกันกำจัดเชื้อรา จำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ ศวร.สุพรรณบุรี(Cowley), พันธุ์ Keller, พันธุ์ต้นหวาน (UTIS2585), พันธุ์ Rio, พันธุ์ Wray, พันธุ์ BJ281

2. วัสดุและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

3. วัสดุและอุปกรณ์ในการปฏิบัติงานในแปลงทดลอง

วิธีการ

1. การศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคสมัท

1.1 เก็บช่อดอกข้าวฟ่างหวานที่แสดงอาการโรคสมัทจากแหล่งปลูกข้าวฟ่างหวาน

ออกสำรวจแหล่งปลูกข้าวฟ่างหวานในฤดูปลูกช่วงข้าวฟ่างหวานออกดอก เก็บช่อดอกข้าวฟ่างหวานที่มีลักษณะเมล็ดเกาะกันเป็นกลุ่ม เมื่อนำเมล็ดมาขยี้ด้วยมือพบผงสีดำภายใน บันทึกลักษณะอาการโรคที่พบ

1.2 ตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคสมัทบนช่อดอกข้าวฟ่างหวาน

นำผงสปอร์สีดำภายในเมล็ดข้าวฟ่างหวานมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound microscope เปรียบเทียบกับเอกสารวิชาการ เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อสาเหตุ

2. การทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัท

การเตรียมพืชทดลอง

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวฟ่างหวานจำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ ศวร.สุพรรณบุรี(Cowley), พันธุ์ Keller, พันธุ์ต้นหวาน(UTIS2585), พันธุ์ Rio, พันธุ์ Wray, พันธุ์ BJ281 มาคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีเชื้อราหรือแมลงปะปนมา จากนั้นนำไปปลูกในแปลง โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำปลูกสายพันธุ์ละ 4 แถว แถวยาว 6 เมตร ระยะปลูก 60x20 เซ็นติเมตรต่อหลุม หลุมละ 3 เมล็ด

3. การตรวจความต้านทานโรคสมัทบนข้าวฟ่างหวาน

เมื่อข้าวฟ่างหวานในข้อ 2 ออกช่อดอกประเมินการเกิดโรค คือ

การประเมินการเกิดโรคสมัทที่ช่อดอกข้าวฟ่างหวาน

โดยการนับจำนวนต้นที่แสดงอาการโรคสมัท แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสมัท จากนั้นนำมาจัดลำดับความต้านทานดังนี้ (Njuguna, 2001)

พืชต้านทานสูงมาก (Immune)	พืชไม่เป็นโรคสมัท	0%
พืชต้านทานมาก (Highly resistant)	พืชเป็นโรคสมัท	1-9%
พืชต้านทานปานกลาง (Moderately resistant)	พืชเป็นโรคสมัท	10-29%
พืชอ่อนแอ (Susceptible)	พืชเป็นโรคสมัท	30-49%
พืชอ่อนแอมาก (Very susceptible)	พืชเป็นโรคสมัท	50-100%

4. ตัดต้นข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ ที่ประเมินโรคแล้ว ให้น้ำ ใส่ปุ๋ย และกำจัดวัชพืช เมื่อข้าวฟ่างหวานออกช่อดอก ประเมินการเกิดโรคเช่นเดียวกับข้อ 3

เวลาและสถานที่

- ตุลาคม 2550 – กันยายน 2553
- กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคสมัท

1.1 เก็บช่อดอกข้าวฟ่างหวานที่แสดงอาการโรคสมัทจากแหล่งปลูกข้าวฟ่างหวาน

เก็บตัวอย่างข้าวฟ่างหวาน ที่มีลักษณะอาการโรคสมัท จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี ตรวจดูและบันทึกลักษณะอาการในแปลงปลูกพบช่อข้าวฟ่างมีสีดำ เมล็ดข้าวฟ่างรวมเป็นก้อนขนาดเล็กสีดำมีผงสีดำจำนวนมากอยู่ภายใน เมล็ดข้าวฟ่างที่เป็นเมล็ดเดี่ยวมีลักษณะอาการสีดำเมื่อแกะเยื่อหุ้มเมล็ดออกพบผงสีดำจำนวนมากอยู่ภายในพบใบบนช่อข้าวฟ่างที่แสดงอาการโรคสมัทมีขนาดเล็ก

1.2 ตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคสมัทบนช่อดอกข้าวฟ่างหวาน

นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคสมัทมาจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการพบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ *S. cruenta* โดยเชื้อสาเหตุ มีสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างกลม มีขนาด 7-8 ไมครอน

2. การทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ข้าวฟ่างหวานที่ต้านทานต่อโรคสมัท

2.1 การประเมินการเกิดโรคสมัทที่ช่อดอกข้าวฟ่างหวาน

เมื่อข้าวฟ่างหวานออกช่อดอกทำการประเมินการเกิดโรคสมัทพบว่าข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ไม่แสดงอาการโรคสมัท เมื่อจัดลำดับความต้านทาน พบว่าข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคสมัทเท่ากับศูนย์ ซึ่งมีลำดับความต้านทานสูงมากต่อโรคสมัทในสภาพแปลงทดลอง

2.2 การประเมินการเกิดโรคสมัทที่ช่อดอกของข้าวฟ่างหวานไว้ตอ

เมื่อข้าวฟ่างหวานออกช่อดอกทำการประเมินการเกิดโรคสมัทพบว่าข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ไม่แสดงอาการโรคสมัท เมื่อจัดลำดับความต้านทาน พบว่าข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคสมัทเท่ากับศูนย์ ซึ่งมีลำดับความต้านทานสูงมากต่อโรคสมัทในสภาพแปลงทดลอง

จากการประเมินโรคสมัทพบว่าข้าวฟ่างหวานที่งอกจากเมล็ดและข้าวฟ่างหวานที่ไว้ตอไม่แสดงอาการโรคสมัท ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคดังกล่าว ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญคือ สายพันธุ์/พันธุ์พืช ความสามารถในการเข้าทำลายของเชื้อ และสภาพอากาศที่

เหมาะสม ดังนั้น การประเมินความต้านทานของโรคจึงต้องทำในสภาพอากาศที่เหมาะสมหรือในสภาพที่สามารถควบคุมอุณหภูมิหรือความชื้นได้ เพื่อให้พืชทดสอบแสดงอาการของโรคสูงสุด Shurtleff (1980) และ Cardwell *et al*. (1977) กล่าวว่าในสภาพอุณหภูมิปานกลาง (65-85 F) ความชื้นสัมพัทธ์สูง และมีหมอกร่วมด้วยจะส่งเสริมให้ต้นพืชแสดงอาการของโรคสูงสุด อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้สามารถใช้ในการแนะนำพันธุ์ข้าวฟ่างหวานให้แก่เกษตรกรในพื้นที่ที่ทำการทดลองได้ เพื่อลดการสูญเสียของผลผลิตจากการเข้าทำลายของโรค

สรุปผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างโรคสมัท จาก อ. อู่ทอง จ. สุพรรณบุรี นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคมาศึกษาลักษณะอาการและจำแนกเชื้อในห้องปฏิบัติการพบว่ามีสาเหตุจากเชื้อ *Sphacelotheca cruenta* ทดสอบปฏิกิริยาพันธุ์ โดยปลูกข้าวฟ่างหวาน 6 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ ศวร.สุพรรณบุรี(Cowley), พันธุ์ Keller, พันธุ์ต้นหวาน(UTIS2585), พันธุ์ Rio, พันธุ์ Wray, พันธุ์ BJ281 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ เมื่อข้าวฟ่างออกช่อดอกประเมินการเกิดโรคสมัท ผลการทดลองพบว่า ไม่พบลักษณะอาการโรคสมัทบนช่อดอกข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ เมื่อจัดลำดับความต้านทาน พบว่าข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ ต้านทานสูงมากต่อโรคสมัทในสภาพแปลงทดลอง ตัดต้นข้าวฟ่างหวานทั้ง 6 พันธุ์ เมื่อข้าวฟ่างหวานออกช่อดอกประเมินการเกิดโรคสมัท ผลการทดลองพบว่า ไม่พบลักษณะอาการโรคสมัทบนช่อดอกข้าวฟ่างหวานที่ไว้ตอทั้ง 6 พันธุ์ และเมื่อจัดลำดับความต้านทาน พบว่าข้าวฟ่างหวานทั้ง6พันธุ์ต้านทานสูงมากต่อโรคสมัท

เอกสารอ้างอิง

ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2540ก. การศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวฟ่างที่ใช้ประโยชน์ทั้งลำต้นและเมล็ดต่อโรคราเขม่าดำ.หน้า 33-37. ใน:รายงานผลงานวิจัย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2540ข. การศึกษาระยะเวลาการปลูกข้าวฟ่างที่ใช้ประโยชน์ทั้งต้นสดและเมล็ดเพื่อหลีกเลี่ยงโรคราเขม่าดำ. หน้า 42-47. ใน : รายงานผลงานวิจัย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ประดิษฐ์ โกวิทเทวาวงศ์ และ โกมินทร์ วิโรจน์วัฒนกุล. 2540ค. การศึกษาความสัมพันธ์ของอายุเชื้อสาเหตุโรคราเขม่าดำของข้าวฟ่างเมื่ออยู่ในดินต่อการเกิดโรคราเขม่าดำของข้าวฟ่าง. หน้า 38-41. ใน : รายงานผลงานวิจัยกองโรคพืชและจุลชีววิทยา ผลงานวิจัย กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

Cardwell, K.F., F. Schulthess, R. Ndemah, and Z. Ngoko. 1977. A systems approach to assess crop health and maize yield losses due to pests and diseases in Cameroon. Agriculture, Ecosystems & Environment 65(1): 33-47.

Njuguna, J.G.M., 2001. Combating head smut of maize caused by Sphacelotheca reiliana through resistance breeding. page 110-112. in : Seventh Easthern Africa Regional Maize Conference. 11th-15 th February,2001.

Shinha, O., K. Singh, K. and Misra, R. S. (1982) . Stain technique for detection of smut hyphae in nodal buds of sugarcane. Plant Disease. 66: 932-933.

Shurtleff, M.C. 1980. Compendium of Corn Diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 105 pp.

ตารางที่ 1 ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานต่อโรคสมัทที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*

สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรค	ปฏิกิริยาของพันธุ์[1/]
พันธุ์ ศวร.สุพรรณบุรี(Cowley)	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ Keller	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ต้นหวาน(UTIS2585)	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ Rio	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ Wray	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ BJ2810	0	พืชต้านทานสูงมาก

ตารางที่ 2 ปฏิกิริยาของสายพันธุ์ข้าวฟ่างหวานตอต่อโรคสมัทที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sphacelotheca cruenta*

สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์ต้นเป็นโรค	ปฏิกิริยาของพันธุ์[1/]
พันธุ์ ศวร.สุพรรณบุรี(Cowley)	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ Keller	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ต้นหวาน(UTIS2585)	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ Rio	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ Wray	0	พืชต้านทานสูงมาก
พันธุ์ BJ2810	0	พืชต้านทานสูงมาก

[1/] Njuguna (2001)

พืชต้านทานสูงมาก (Immune)	พืชไม่เป็นโรคสมัท	0%
พืชต้านทานมาก (Highly resistant)	พืชเป็นโรคสมัท	1-9%
พืชต้านทานปานกลาง (Moderately resistant)	พืชเป็นโรคสมัท	10-29%
พืชอ่อนแอ (Susceptible)	พืชเป็นโรคสมัท	30-49%
พืชอ่อนแอมาก (Very susceptible)	พืชเป็นโรคสมัท	50-100%

การคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวให้ต้านทานโรคไวรัสใบด่างเหลืองในเรือนทดลอง

The Selection of Resistance Mung Bean Varieties to Mungbean Yellow Mosaic in Greenhouse

กาญจนา วาระวิชะนี[/1] วันเพ็ญ ศรีทองชัย[/1]
สุมนา งามผ่องใส[/2] เชาวนาถ พฤทธิเทพ[/2]
กลุ่มงานไวรัสวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช[/1]
ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท สถาบันวิจัยพืชไร่[/2]

บทคัดย่อ

โรคไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (Mumg Bean Yellow Mosaic, MYMV) สร้างความเสียหายให้กับพืชตระกูลถั่วได้ทุกระยะการเจริญเติบโตโดยเฉพาะถั่วเขียวผิวมัน เมื่อโรคเข้าทำลายในระยะต้นกล้าจะไม่สามารถเก็บผลผลิตได้เลย ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จึงพยายามปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวที่ต้านทานโรค ทั้งนี้ต้องมีวิธีการคัดเลือกพันธุ์ที่ดีและมีประสิทธิภาพควบคู่กันไปด้วย จากการทดลองได้ทำการคัดเลือกถั่วเขียวรวม 11 สายพันธุ์ของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ได้แก่ KPS2, NM94-10, VC02-3-5, VC-07-1-1, CN72, NM54 NM92, SUT1(มทส.1), Ramzan, ชน.80 และ 6601 โดยนำถั่วเขียวทุกสายพันธุ์มาปลูกเชื้อไวรัส MYMV ด้วยแมลงหวี่ขาว และสังเกตอาการรวม 45 วัน หลังจากนั้นประเมินความรุนแรงของโรคจากการสังเกตด้วยตาเปล่าและอ้างอิงตามเกณฑ์ Disease Scoring Scale (1-9) for MYMV (Sadiq *et al.,* 2006) พบถั่วเขียว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ KPS2, CN72, SUT1(มทส.1), และ ชน.80 มีการเข้าทำลายของโรคเท่ากับ 100 % คะแนนความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 9 หมายถึงพืชแสดงความอ่อนแอต่อโรคมาก ผลจากการสังเกตโรคด้วยตาเปล่าพบถั่วเขียว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 6601, NM94-10, VC-07-1-1 มีแนวโน้มนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ได้โดยคะแนนความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 4, 5, 6 ตามลำดับ และถั่วเขียวสายพันธุ์ NM94-10 VC02-3-5 , VC-07-1- , NM54 , NM92 , Ramzan และ 6601 พบบางต้นไม่แสดงอาการโรคใบด่างเหลืองให้เห็นเมื่อสังเกตโรคด้วยตาเปล่าจึงนำมาตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ specific primer พบถั่วเขียว 5 สายพันธุ์ไม่แสดงแถบดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส MYMV ที่ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ ได้แก่ ถั่วเขียวสายพันธุ์ 6601 จำนวน 4 ต้น , VC02-3-5 และ VC-07-1-1 สายพันธุ์ละ 3 ต้น และ NM94-10 และ Ramzan สายพันธุ์ละ 2 ต้นจึงทำการเก็บเมล็ดพันธุ์จากต้นดังกล่าวให้ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาทนำไปปรับพันธุ์ต่อไป

รหัสการทดลอง 01-17-49-07-01-01-05-51

คำนำ

ถั่วเขียวเป็นพืชไร่ที่ใช้น้ำน้อยกว่าพืชไร่อื่นหลายชนิด จึงสามารถใช้ร่วมกับระบบปลูกพืชได้ดี สามารถทำปุ๋ยพืชสดให้ปริมาณไนโตรเจนสูงเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน ด้านคุณค่าทางอาหารเป็นพืชที่ให้โปรตีนสูง จึงผลิตเพื่อการบริโภคโดยตรงและเป็นวัตถุดิบสำหรับการแปรรูปมากมาย เช่น วุ้นเส้น แป้งถั่วเขียว เป็นต้น ถั่วเขียวที่ปลูกมีอยู่สองชนิด ได้แก่ ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ จากประโยชน์ต่างๆ จึงทำให้ความต้องการใช้ภายในประเทศเพิ่มสูงขึ้นทุกๆ ปี แต่ผลผลิตที่ได้ยังมีคุณภาพต่ำปัญหาส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากโรค เช่น โรคไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (Mumg Bean Yellow Mosaic, MYMV) เป็นโรคหนึ่งที่สร้างความเสียหายกับผลผลิตถั่วเขียวเป็นอย่างมากในหลายประเทศ เช่น อินเดีย ปากีสถาน ศรีลังกา สำหรับในประเทศไทยพบการระบาดของโรคครั้งแรกเมื่อปี 2520 ที่ จังหวัดกำแพงเพชร คิดพื้นที่ความเสียหายประมาณ 10,000 ไร่ และต่อมาพบโรคนี้ระบาดรุนแรงขึ้นอีกครั้งในปี 2549 และ 2550 ที่จังหวัดสุโขทัย (Nene 1972) มีได้รายงานว่าถั่วเขียวที่ได้รับเชื้อไวรัส MYMV ในช่วงอายุการเจริญ 1-2 เดือน สามารถสร้างความเสียหายกับผลผลิตถึงประมาณ 35-80 เปอร์เซ็นต์ (Thongmeearkom *et al*.,1981) ประเทศอินเดียเคยรายงานไว้ว่าโรคนี้สร้างความเสียหายให้กับผลผลิตถั่วเขียวผิวดำ (black gram) ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อโรคเข้าทำลายในระยะต้นกล้า (Nene, 1973) ลักษณะอาการเริ่มแรกใบถั่วเขียวมีจุดด่างสีเหลืองเล็กๆ กระจายให้เห็นที่ใบรวม 3 ใบแรก (compound trifoliate leaves) ต่อมาจุดด่างสีเหลืองขยายใหญ่จนใบเปลี่ยนจากสีเหลืองปนสีเขียวกลายเป็นสีเหลืองจัด ใบยอดที่แตกใหม่จะด่างเหลือง ถ้าถั่วเขียวเป็นโรครุนแรงมากจะสังเกตเห็นใบรวม 3 ใบแรก มีลักษณะเป็นคลื่นม้วนงอลง ลำต้นแคระแกร็น ไม่สามารถออกดอกและติดฝักได้เลย (Chiemsombat, 1991) หากโรคนี้เกิดในระยะที่ติดฝักแล้ว ฝักจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจัด มีขนาดเล็กสั้นผิดปกติคดงอขึ้นข้างบน (บุษราคัม และคณะ, 2538) โรคนี้เกิดจากไวรัสในกลุ่มเจมินีไวรัส (Geminiviruses) Genus *Begomovirus* มีอนุภาคเป็นทรงกลมคู่หลายเหลี่ยมที่ไม่สมบูรณ์ (incomplete icosahedral) อนุภาคมีขนาดประมาณ 18x30 นาโนเมตร จีโนมของไวรัสกลุ่มนี้มี 2 ประเภท คือ แบบโมเลกุลเดี่ยวและแบบโมเลกุลคู่ ดีเอ็นเอทั้ง 2 โมเลกุลมีขนาดใกล้เคียงกันประมาณ 2,500-2,800 นิวคลีโอไทด์ ภายในจีโนมของไวรัสประกอบด้วย ดีเอ็นเอสายเดี่ยว (ssDNA) ขดเป็นวงอยู่ในอนุภาคซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ monopartite genome มีสายพันธุกรรมหนึ่งโมเลกุล และ bipartite genome มีสายพันธุกรรมสองโมเลกุลที่เรียกว่า component A และcomponent B ถ่ายทอดโรคโดยแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci*) แบบ persistent circulative (Harrison and Robinson, 2002)

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวจากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท 11 สายพันธุ์ คือ KPS2, NM94-10, VC02-3-5, VC-07-1-1, CN72, NM54 NM92, SUT1(มทส.1), Ramzan, ชน.80 และ 6601

2. อุปกรณ์ทางการเกษตร ได้แก่ โรงเรือนกันแมลง กรงกันแมลง กระถาง ตระกร้า แก้วครอบดิน ถุงปลูก ปุ๋ย ป้ายชื่อ

3. แมลงพาหะ ได้แก่ แมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci*)

4. ต้นถั่วเขียวที่แสดงอาการโรคไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (Mumg Bean Yellow Mosaic)

5. อุปกรณ์ด้านวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ตู้แช่แข็ง -20°C อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker) เครื่องชั่งละเอียด เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge) เครื่อง Thermal cycler เครื่อง Gel electrophoresis

6. สารเคมีวิทยาศาสตร์ เช่น ไนโตรเจนเหลว สารประกอบ CTAB buffer เอ็มไซด์ (Roch) Chlorofrom Ethanol

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างถั่วเขียวที่แสดงอาการใบด่างเหลือง(Mumg Bean Yellow Mosaic ,MYMV) จากแปลงปลูก จ. สุโขทัย และชัยนาท แล้วนำตัวอย่างถั่วเขียวใบด่างเหลืองมาถ่ายทอดโรคลงบนต้นถั่วเขียวปกติโดยใช้แมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ และเก็บแหล่งเชื้อไว้สำหรับทดสอบในเรือนทดลองต่อไป

2. นำแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci*) มาปล่อยให้รับเชื้อไวรัส MYMV บนต้นถั่วเขียวที่เป็นโรค นาน 48 ชั่วโมง ก่อนใช้ถ่ายทอดเชื้อไวรัส MYMV ต่อไป

3. ปลูกถั่วเขียวที่ต้องการทดสอบความต้านโรค รวม 11 สายพันธุ์ คือ KPS2, NM94-10, VC02-3-5, VC-07-1-1, CN72, NM54 NM92, SUT1(มทส.1), Ramzan, ชน.80, 6601 พันธุ์ละ 20 ต้น เมื่อต้นกล้าถั่วเขียวมีอายุได้ 5 วัน ใช้ aspirator ดูดแมลงหวี่ขาวที่มีเชื้อไวรัส MYMV จำนวน 10-15 ตัว / ต้น มาปล่อยบนต้นถั่วเขียวปกติทั้ง 11 สายพันธุ์ ทิ้งให้แมลงถ่ายทอดโรคนาน 48 ชั่วโมง แล้วฉีดยาฆ่าแมลงก่อนนำต้นถั่วเขียวดังกล่าวไปเก็บไว้ในกรงป้องกันแมลงเพื่อสังเกตอาการโรคต่อไป

4. ทำการสังเกตโรคด้วยตาเปล่าและจดบันทึกลักษณะอาการ ความรุนแรงของโรคบนต้นถั่วเขียวทั้ง 11 สายพันธุ์ หลังถ่ายทอดเชื้อไปแล้ว ทุกๆ 7 วัน รวมเป็นเวลา 45 วัน และแสดงระดับความต้านทานโรคเป็นคะแนนความรุนแรงโรค 9 ระดับ ตามวิธีของ Sadiq *et al.,* 2006 **(ตารางที่ 1)**

วิธีคิด % infected $= \frac{\text{infection rate} \times 100}{\text{total number of plant}}$

ตารางที่ 1 คะแนนความรุนแรงของโรคใบด่างเหลืองถั่วเขียว 9 ระดับ (Disease Scoring Scale (1-9) for MYMV)

% การเข้าทำลายของโรค (Percent Infected)	**คะแนนความรุนแรงโรค** (Disease Score)	**การแสดงระดับต้านทานโรค** (Disease reaction)
0	1	ไม่แสดงอาการโรค (Immune, I)
1-5	2	ต้านทานมาก(Highlyresistant,HR)
6-10	3	ต้านทาน (Resistant, R)
11-20	4	ต้านทานปานกลาง (Moderately resistant, MR)
21-30	5	ทนทาน (Tolerant, T)
31-40	6	ทนทานปานกลาง (Moderately tolerant, MT)
41-50	7	อ่อนแอปานกลาง (Moderately susceptible, MS)
51-80	8	อ่อนแอ (Susceptible, S)
81-100	9	อ่อนแอมาก (Highly susceptible, HS)

5. หลังจากถ่ายทอดโรคไปแล้ว 45 วัน ให้เก็บใบของต้นถั่วเขียวที่ไม่แสดงอาการโรคไวรัสใบด่างเหลืองมาสกัดดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส MYMV ด้วยวิธี CTAB buffer แล้วเก็บดีเอ็นเอที่ -20 องศาเซลเซียล เพื่อนำมาตรวจหาเชื้อ MYMV ในขั้นตอน Polymerase Chain Reaction (PCR) ต่อไป

6. ออกแบบไพร์เมอร์ที่จำเพาะเจาะจงกับเชื้อไวรัส MYMV ที่ส่วน coat protein gene โดยอาศัยฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ จาก GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)

7. ทำการสังเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยไพร์เมอร์ที่ได้ออกแบบให้เฉพาะเจาะจงกับเชื้อ (specific primer)

8. ตรวจสอบผล PCR ด้วยเทคนิค Gel electrophoresis หากผลการตรวจสอบไม่พบแถบดีเอ็นของไวรัส ที่ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ จะทำการเก็บเมล็ดจากต้นพันธุ์ดังกล่าวให้ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาทนำไปปรับพันธุ์ต่อไป

เวลาและสถานที่

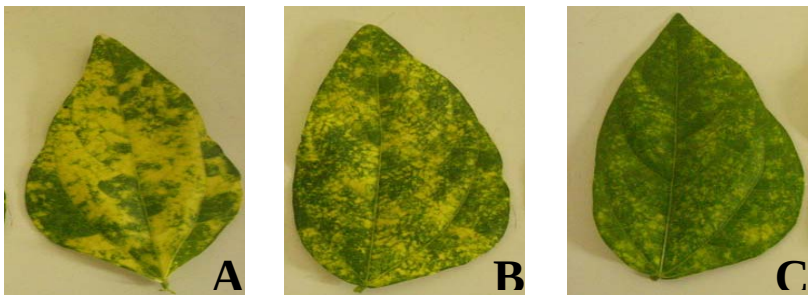
ระยะเวลา ตุลาคม 2551-กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มงานไวรัสวิทยาและโรงเรือนทดลอง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ลักษณะอาการของถั่วเขียวทั้ง 11 สายพันธุ์หลังจากการถ่ายทอดโรคด้วยแมลงหวี่ขาวแล้ว 45 วัน

เมื่อถ่ายทอดเชื้อไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (MYMV) ด้วยแมลงหวี่ขาวไปแล้ว 15 วัน มีถั่วเขียว 6 สายพันธุ์ ที่แสดงอาการจุดด่างสีเหลืองเล็กๆ กระจายไปทั่วใบรวม 3 ใบแรก (compound trifoliate leaves) ให้เห็นได้เร็วกว่าสายพันธุ์อื่นๆ ที่นำมาทดสอบ ได้แก่ CN72, KPS2, SUT1 (มทส.1) , ชน.80, NM54 และ NM92 ตามลำดับ และหลังจากถ่ายทอดโรคไปแล้วที่ 45 วันจุดด่างสีเหลืองกระจายไปทั่วทุกใบทั้งต้นจนใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจัดไม่แตกต่างกัน สำหรับถั่วเขียวสายพันธุ์ VC02-3-5, VC-07-1-1 และ Ramzan หลังจากถ่ายทอดโรคไปแล้วที่ 45 วัน พืชแสดงอาการจุดด่างเหลืองกระจายไปทั่วใบ ส่วนถั่วเขียวพันธุ์ 6601 และ NM94-10 หลังจากถ่ายทอดโรคไปแล้วที่ 45 วัน พืชแสดงอาการใบด่างเหลืองน้อยกว่าพันธุ์อื่นๆ ใบพืชพบส่วนสีเขียวปนอยู่มากและอาการด่างที่แสดงไม่ชัดเจนในบางต้น (ภาพที่ 1 A, B, C)



ภาพที่ 1 แสดงอาการใบด่างเหลืองของถั่วเขียว 11 สายพันธุ์ หลังจากถ่ายทอดเชื้อไวรัส MYMV ด้วยแมลงหวี่ขาวไปแล้ว 45 วัน

1-A : ถั่วเขียวสายพันธุ์ CN72, KPS2, SUT1 (มทส.1) , ชน.80, NM54 และ NM92

1-B : ถั่วเขียวสายพันธุ์ VC02-3-5, VC-07-1-1 และ Ramzan

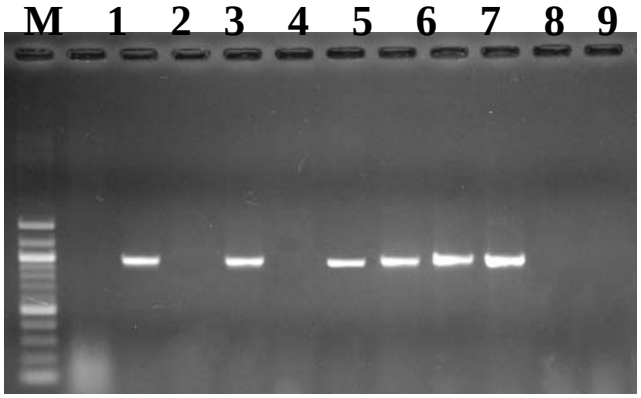
1-C : ถั่วเขียวสายพันธุ์ 6601 และ NM94-10

2. แสดงความต้านทานโรคไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (MYMV) จากคะแนนความรุนแรงของโรค 9 ระดับ ตามวิธีของ M. S. Sadiq *et al.,* 2006 (ตารางที่ 1)

จากการสังเกตอาการโรคด้วยตาเปล่ามีถั่วเขียว 4 สายพันธุ์ ได้แก่ KPS2, CN72, SUT1 (มทส.1), และ ชน.80 พบการเข้าทำลายของโรคไวรัส MYMV เท่ากับ 100 % คะแนนความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 9 หมายถึงพืชแสดงความอ่อนแอต่อโรคมาก ส่วนถั่วเขียวอีก 7 สายพันธุ์ ยังพบถั่วเขียวบางต้นไม่แสดงอาการโรคใบด่างเหลืองให้เห็น ได้แก่ NM94-10 จำนวน 14 ต้น, VC02-3-5 จำนวน 10 ต้น , VC-07-1-1 จำนวน 13 ต้น, NM54 จำนวน 2 ต้น, NM92 จำนวน 7 ต้น, Ramzan จำนวน 8 ต้น และ 6601 จำนวน 16 ต้น และนำใบถั่วเขียวทั้ง 7 สายพันธุ์ไปสกัด ดีเอ็นเอ เพื่อตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

3. ตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วย Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยไพร์เมอร์ที่ออกแบบให้เฉพาะเจาะจงกับเชื้อ (specific primer)

นำดีเอ็นของถั่วเขียวทั้ง 7 สายพันธุ์ มาตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยไพร์เมอร์ที่ออกแบบให้จับเฉพาะเจาะจง (specific primer) กับลำดับนิวคลีไทด์ของเชื้อไวรัส MYMV ที่ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ พบว่าถั่วเขียวสายพันธุ์ 6601 จำนวน 16 ต้น ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส MYMV จำนวน 4 ต้น ถั่วเขียวสายพันธุ์ NM94-10 จำนวน 14 ต้น , Ramzan จำนวน 8 ต้น ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส MYMV สายพันธุ์ละ 2 ต้น (ไม่แสดงภาพ) ถั่วเขียวสายพันธุ์ VC02-3-5 จำนวน 10 ต้น, VC-07-1-1 จำนวน 13 ต้น ตรวจไม่พบเชื้อไวรัส MYMV สายพันธุ์ละ 3 ต้น (ภาพที่ 2) สำหรับถั่วเขียวสายพันธุ์ NM54 และ NM92 ตรวจพบแถบดีเอ็นของเชื้อไวรัส MYMV ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ ในทุกต้นที่ทำการตรวจสอบ (ไม่แสดงภาพ)



ภาพที่ 2 แสดงผลการตรวจสอบเชื้อไวรัสใบด่างเหลืองถั่วเขียว (MYMV) ด้วยเทคนิค PCR ของถั่วเขียวสายพันธุ์ VC02-3-5

ช่องที่ M = Marker 100 bps DNA Ladder
ช่องที่ 1,3 และ 5 = ต้นถั่วเขียวที่ตรวจไม่พบของเชื้อ MYMV
ช่องที่ 2,4 และ 6-8 = ต้นถั่วเขียวที่ตรวจพบของเชื้อ MYMV
ช่องที่ 9 = ถั่วเขียวที่เป็นโรคไวรัส MYMV จะแสดงแถบดีเอ็นเอประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์
ช่องที่ 10 = ต้นถั่วเขียวปกติ
ช่องที่ 11 = น้ำ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การประเมินความรุนแรงโรคจากการสังเกตด้วยตาเปล่าและอ้างอิงตามเกณฑ์ Disease Scoring Scale (1-9) for MYMV (Sadiq *et al*., 2006) พบถั่วเขียว 3 พันธุ์ มีแนวโน้มนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ 6601 มีต้นถั่วเขียวที่ไม่เป็นโรคถึง 16 ต้น คิดการเข้าทำลายของโรคเท่ากับ 20 % ให้คะแนนความรุนแรงของโรคที่ระดับ 4 ถั่วเขียวสายพันธุ์นี้แสดงความต้านทานโรคปานกลาง รองลงมา คือ สายพันธุ์ NM94-10 มีต้นถั่วเขียวที่ไม่เป็นโรค 14 ต้น คิดการเข้าทำลายโรคเท่ากับ 30 % ให้คะแนนความรุนแรงของโรคที่ระดับ 5 ถั่วเขียวสายพันธุ์นี้แสดงความทนทานโรค และสายพันธุ์ VC-07-1-1 มีต้นถั่วเขียวที่ไม่เป็นโรค 13 ต้น คิดการเข้าทำลายของโรคเท่ากับ 35 % ให้คะแนนความรุนแรงของโรคที่ระดับ 6 ถั่วเขียวสายพันธุ์นี้แสดงความทนทานโรคปานกลาง

เมื่อนำดีเอ็นของถั่วเขียวทั้ง 7 สายพันธุ์ มาตรวจหาเชื้อไวรัส MYMV ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ specific primer พบว่าถั่วเขียวสายพันธุ์ 6601 เหลือต้นถั่วเขียวไม่เป็นโรคใบด่างเหลือ เพียง 4 ต้น เท่านั้น สายพันธุ์ VC-07-1-1 และ VC02-3-5 เหลือต้นถั่วเขียวไม่เป็นโรคใบด่างเหลืองสายพันธุ์ละ 3 ต้น ส่วนพันธุ์ NM94-10 และ Ramzan เหลือต้นถั่วเขียวไม่เป็นโรคใบ

ด่างเหลืองสายพันธุ์ละ 2 ต้น เท่านั้น จากผลที่ได้สามารถทำการเก็บเมล็ดจากต้นถั่วเขียวที่ไม่แสดงแถบดีเอ็นเอของเชื้อไวรัส MYMV ขนาดประมาณ 1000 นิวคลีโอไทด์ ให้ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาทนำไปปรับพันธุ์ต่อไป

สรุปได้ว่าการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวด้วยการประเมินความรุนแรงการเข้าทำลายของโรคจากการสังเกตโรคด้วยตาเปล่านั้นยังให้ข้อมูลการประเมินโรคที่ผิดผลาดได้ เนื่องจากการสังเกตโรคด้วยตาของผู้ตรวจสอบแต่ละคนอาจมีมาตรฐานแตกต่างกันไป ดังนั้นการใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเข้ามาช่วยในการตรวจสอบเพื่อคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวที่ต้านทานโรคไวรัส MYMV ทำให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องมากขึ้น เนื่องจากเทคนิค PCR มีความสามารถในการตรวจได้ถึงระดับยีนของเชื้อสาเหตุ จึงทำให้ผลทีได้มีความน่าเชื่อถือสูงขึ้น และข้อมูลที่ได้เป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์พืช

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร. วันเพ็ญ ศรีทองชัย ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ขอขอบคุณคุณสุมนา งามผ่องใส ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ด้านเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว และความช่วยเหลือพร้อมคำแนะ และขอขอบบุคลากรทุกท่านที่ให้ความสะดวกในด้านต่าง ๆ เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

บุษราคัม อุดมศักดิ์ อำภา สืบรสปลื้ม และปรีชา สุรินทร์. 2538 งานวิจัยโรคถั่วเขียว ปี 2518-2538 หน้า 129-146. *ใน* รายงานสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเขียว ครั้งที่ 6. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท.

Chiemsombat, P. 1991. Mungbean yellow mosaic disease in Thailand : review in Mungbean yellow mosaic disease,pp. 54-58. *In* Proceedings of an Internation Workshop July 2-3, 1991. Bangkok. Thailand.

Harrison, B.D. and D.J. Robinson. 2002. Green shoots of geminivirology. Physio. and Mol. Plant Pathology 60 : 215-218.

Nene, Y. L. 1972. A survey fo viral diseases fo pulse crops in Ultar Pradesh. G.B. Plant University of Agricuture and Technology. Pantnagar (Distt. Nainital), U.P. Research Bulletin No. 4. 191 p.

Nene, Y. L. 1973. Viral diseases of some warm weather pules crops in India. Plant Disease report. 57 : 463-467.

Thongmeearkom, P., K. Kittipakorn and P. Surin. 1981 b. Outbreak of mungbean yellow mosaic disease in Thailand. Thai. J. Agric. Sci. 14 : 201-206.

Sadiq, M.S. M. Saleem, S. Haidar and G. Abbas. Niab mung 2006 : A high yielding and disease resistant mungbean variety. J. Agric. Res., 44(2) : 97-103.

ศึกษาการจัดการอารักขาพืชที่เหมาะสมในการผลิตแก้วมังกร

พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
ชนินทร ดวงสอาด
[1]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2]สำนักผู้เชี่ยวชาญ

บทคัดย่อ

ในการศึกษาโรคของแก้วมังกรครั้งนี้ ได้ทำการสำรวจ และการเก็บตัวอย่างส่วนของ ดอก ลำต้น และผล ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 - เดือนกันยายน 2552 จากจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม ราชบุรี ระยอง จันทบุรี นครราชสีมา และเขตภาษีเจริญ กรุงเทพฯ นำมาศึกษาแยกเชื้อโดยวิธี Tissue Transplanting และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound จำแนกชนิดได้รา *Aspergillus niger, Bipolaris cactivora*, *Colletotrichum capsici, Colletotrichum gloeosporioides, Chaonephora* sp. *Dothiorella* sp. *Fusarium* sp. เก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชในพิพิธภัณฑ์โรคพืชและเชื้อบริสุทธิ์ ใน Culture Collection กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รหัสการทดลอง 01-13-52-03-01-01-02-52

คำนำ

แก้วมังกร (Dragon fruit) เป็นพืชในตระกูลกระบองเพชร มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Hylocereus undatus* (Haworth) Britton & Rose มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกากลาง ลำต้นมีลักษณะเป็นแฉก 3 แฉกสีเขียว อวบน้ำ มีหนามกระจุกอยู่ที่ข้างตาเป็นช่วง ๆ เนื้อผลภายในมีสีทั้งสีขาวและแดงขึ้นอยู่กับพันธุ์ และมีเมล็ดเล็กๆสีดำอยู่ในเนื้อผล แก้วมังกรสามารถปลูกได้ดีในทุกสภาพพื้นที่ เกษตรกรนิยมปลูกแก้วมังกรเนื่องจากเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ที่ได้รับความนิยมอย่างสูง ได้มีการขยายพื้นที่ปลูกออกไปในหลายจังหวัดทั่วประเทศไทย ปัจจุบันแก้วมังกรนับเป็นผลไม้ชนิดใหม่ของประเทศไทยที่ได้รับความนิยมสูง มีตลาดภายในประเทศและขยายไปสู่ต่างประเทศ อย่างไรก็ตามการส่งออกแก้วมังกรยังจำกัดอยู่กับเฉพาะบางประเทศเท่านั้น เช่น จีน สิงค์โปร์ และยุโรป แต่หากต้องการขยายตลาดไปยังประเทศที่มีศักยภาพในการซื้อ เช่น สหรัฐอเมริกา หรือ ออสเตรเลีย จำเป็นต้องจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืชเพื่อใช้ในการขอยื่นเปิดตลาดเพื่อที่ประเทศผู้นำเข้าจะนำไปวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืช (Pest Risk Analysis, PRAs) เนื่องจากแก้วมังกรเป็นพืชชนิดใหม่ของประเทศไทยมีรายงานด้านวิชาการด้านต่างๆ เช่น วิธีการปลูก การดูแลรักษา การขยายพันธุ์ เป็นต้น แต่ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับแมลงศัตรูของแก้วมังกร จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการวิจัยเพื่อหาข้อมูลเกี่ยวกับแมลงศัตรูพืชดังกล่าว

แก้วมังกรเป็นพืชตระกูลกระบองเพชร มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Hylocereus undatus* (Haworth) Britton & Rose มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกากลาง ประเทศเม็กซิโก บริเวณแปซิฟิก ประเทศกัวเตลมาลา คอสตาริกา และเลซัลวาดอร์ (http://en.wikipedia.org/Hylocereus undatus) ลำต้นเป็น 3 แฉก ๆ เป็นหยัก ๆ คล้ายครีบมังกร ที่ตาข้างมีหนาม 1-5 หมาม แฉกนั้นอวบน้ำซึ่งเป็นใบที่เปลี่ยนรูป ลำต้นจริงอยู่กึ่งกลางของแฉก เมื่อต้นสมบูรณ์มีอายุราว 2 ปี จากกิ่งปักชำ ต้นแก้วมังกรก็ออกดอกที่มีขนาดใหญ่และยาวราวหนึ่งคืบ ดอกเริ่มบานตอนย่ำค่ำ ดอกบานแล้วดูคล้ายแตรปากบาน กลีบดอกสีขาวนวล ดอกเริ่มหุบเมื่อพระอาทิตย์ขึ้น ตั้งแต่ออกดอกถึงผลแก่เก็บเกี่ยวได้ ใช้เวลาประมาณ 7-8 สัปดาห์ ฤดูกาลของผลแก้วมังกรมีช่วงยาวพอสมควร ตั้งแต่พฤษภาคมถึงตุลาคม (http://aopdh06.doae.go.th/dagonfood5.htm) เนื่องจากเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมสูง เพราะมีสมญานามว่าเป็น ‘ผลไม้สุขภาพ” ของผู้สูงอายุ ผู้ป่วยโรคเบาหวาน คนอ้วนที่ต้องการลดน้ำหนัก และสามารถป้องกันโรคมะเร็งได้ เนื่องจากในเมล็ดมีสารแอนติออกซิเดนซ์สูง (รภัสสา, 2552) ดังนั้นผู้บริโภคจึงนิยมบริโภคแก้วมังกรกันมากขึ้นและยังเป็นที่นิยมของผู้บริโภคในต่างประเทศด้วย จึงมีการขยายไปสู่ตลาดต่างประเทศ และในปัจจุบันแก้วมังกรยังเป็นพืชที่นิยมปลูกเป็นการค้าในอีกหลายประเทศ ได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย บนา ซิลลัมเบีย คอสตาริก้า อียิปต์ อิสราเอล ญี่ปุ่น มัวริเทียส เม็กซิโก นิการากัว ไต้หวัน อเมริกา และเวียดนาม อย่างไรก็ตามการส่งออกแก้วมังกรยังจำกัดอยู่กับเฉพาะบางประเทศเท่านั้น เช่น

จีน สิงค์โปร์ และยุโรป แต่ในประเทศไทยก็มีความพยายามต้องการขยายตลาดไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งจะทำให้การผลิตแก้วมังกรมีความสำคัญมากขึ้น ถ้าเกษตรกรสามารถผลิตแก้วมังกรที่มีคุณภาพดีก็สามารถเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร แต่ในปัจจุบันปัญหาที่สำคัญต่อการผลิตแก้วมังกรที่สำคัญอย่างหนึ่งคือปัญหาด้านโรคพืช โดยพบโรคระบาดทั้งที่ลำต้นและผล ทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก มีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชกันมาก และใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชไม่ถูกต้อง ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง บางสวนต้องรื้อแปลงปลูกทิ้งเลย ข้อมูลการศึกษาทางด้านการจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุของแก้วมังกรในประเทศไทยยังมีการศึกษากันน้อยมาก จึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการวิจัยเพื่อศึกษาสาเหตุของโรคแก้วมังกรเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาวิธีการจัดการอารักขาพืชที่เหมาะสมในการผลิตแก้วมังกรเพื่อการป้องกันกำจัดโรคของแก้วที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพเพื่อเพิ่มผลผลิตและให้ผลผลิตที่มีคุณภาพในการบริโภคภายในประเทศและเพื่อการส่งออก

พรพิมล และคณะ (2550) รายงานการสำรวจโรคแก้วมังกรจากแหล่งปลูกแก้วมังกรในจังหวัด เชียงราย พะเยา ระยอง ราชบุรี และสมุทรสาคร พบโรคของแก้วมังกร 5 ชนิด ได้แก่ โรคเน่าเปียกที่ดอก เกิดจากเชื้อรา *Choanephora* โรคผลเน่า เกิดจากเชื้อรา *Drechsiera cactivora* โรคแอนแทรคโนสที่ผล เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum* sp. โรค stem canker เกิดจากเชื้อรา *Dothiorella* sp. และโรคแอนแทรคโนสบนลำต้น เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides* โดยโรคแก้วมังกรส่วนใหญ่พบในแหล่งปลูกแก้วมังกรในภาคกลางและภาคตะวันออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. สารเคมี ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ: สารละลายคลอร็อกซ์ แอธิลแอลกอฮอล์ 75%

2. อาหารสังเคราะห์ potato dextrose agar (PDA), corn meal agar (CMA), MEA (malt extract agar) และ water agar (WA) เป็นต้น

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

4. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ในห้องปฏิบัติการได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ เครื่องแก้ว กระบอกพลาสติก กรวยแก้ว ขวดดูแรน จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซ็นติเมตร และกระดาษกรอง (Whatman #2) เป็นต้น

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างโรคพืช

เก็บตัวอย่างโรคของแก้วมังกร จากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติค บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และข้อมูลภูมิศาสตร์ นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่ใบอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

2. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

2.1 การศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง

ศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคโดยตรงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เขี่ยเชื้อจากตัวอย่างที่เป็นโรคลงบนแผ่นสไลด์ (slide) แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2.2 การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค

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

4. การพิสูจน์โรค

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อ ทำแผลและไม่ทำแผลอย่างละ 10 เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

เวลาและสถานที่

เริ่มต้น เดือนตุลาคม 2548 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2552

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่างโรคพืช

ผลจากการสำรวจและการเก็บตัวอย่างส่วนของ ดอก ลำต้น และผล ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 - เดือนกันยายน 2552 จากจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม ราชบุรี ระยอง จันทบุรี นครราชสีมา และเขตภาษีเจริญ กรุงเทพฯ นำตัวอย่างมาศึกษาที่ห้องปฏิบัติการโรคพืชและเก็บตัวอย่างแห้งไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

2. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

นำมาตัวอย่างมาศึกษา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และแยกเชื้อสาเหตุโดยวิธี Tissue Transplanting และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound จำแนกชนิดได้รา *Aspergillus niger* แยกได้จากดอก , *Bipolaris cactivora* แยกได้จากผลเน่าและลำต้น, *Colletotrichum capsici* แยกได้จากผลเน่าและที่ลำต้น, *Colletotrichum gloeosporioides* แยกได้จากผลเน่าและลำต้น, *Chaonephora* sp.แยกได้จากดอก *Dothiorella* sp.แยกได้จากผลเน่าและลำต้น แต่ส่วนใหญ่แยกได้จากลำต้น *Fusarium* sp. แยกได้จากโคนของลำต้น เก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชในพิพิธภัณฑ์โรคพืชและเชื้อบริสุทธิ์ ใน Culture Collection กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ทำการสำรวจ และการเก็บตัวอย่างส่วนของ ดอก ลำต้น และผล ระหว่างเดือนตุลาคม 2551 - เดือนกันยายน 2552 จากจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม ราชบุรี ระยอง จันทบุรี นครราชสีมา และเขตภาษีเจริญ กรุงเทพฯ จำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ 7 genera 7 species ดังนี้ รา *Aspergillus niger, Bipolaris cactivora*, *Colletotrichum capsici, Colletotrichum gloeosporioides, Chaonephora* sp. *Dothiorella* sp. *Fusarium* sp. เก็บตัวอย่างแห้งโรคพืชในพิพิธภัณฑ์โรคพืชและเชื้อบริสุทธิ์ ใน Culture Collection กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

รภัสสา จันทาศรี. 2552. แก้วมังกร. สำนักพิมพ์โอดียนสโตร์ กรุงเทพฯ. 94 หน้า.

Alcorn, J.L. 1983. Generic concepts in *Drechslera, Bipolaris* and *Exserohilum*. Mycotaxon 17: 1-86.

Carmichael, J.W., W. Bryce Kendrick, I.L. Conners and Lynne Sigler. 1980 Genera of Hyphmycetes. Univ. of Alberta Press. Edmonton, Alberta, Canada. 386 p.

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

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

Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes fungi imperfecti with pycnidia acervuli and stroma. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey. England. 695 p.

Taba, S., N. miyahira and K. Nasu. 2007. Fruit rot of Strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. J. Gen.Plant Pathol. 73: 374-376.

Wang, C.L. and Lin, C.C. 2005. Fruit rot of pitaya and stem rot of cacti in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 14: 269-274

ผลของสารกำจัดวัชพืชและเวลาการใช้ต่อการควบคุมวัชพืชในการผลิตถั่วเหลือง

Effect of Herbicide and Timing on Weed Control in Soybean Production.

คมสัน นครศรี[1/] จรัญญา ปิ่นสุภา[1/] นงลักษณ์ ปั้นลาย[2/]

1/ กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

2/ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชทั้งประเภทใช้ก่อนและหลังวัชพืช ในถั่วเหลือง วางแผนการทดลอง แบบ RCB มี 4 ซ้ำ จำนวน 13 กรรมวิธี ประกอบด้วย การใช้สาร alachlor, clomazone, oxadiazon, flumioxazin, pendimethalin, fluazifop-butyl, imazethapyr, fenoxaprop-p-ethyl, sethoxydim fomesafen และ haloxyfop-R-methyl+fomesafen อัตรา 336, 141.6, 150, 20, 330, 30, 20 30, 45, 40.5 และ 20.4+ 40.5 กรัมai/ไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน และวิธีไม่กำจัดวัชพืช ทำการระหว่างเดือนกรกฎาคม – ธันวาคม 2552 ที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี จังหวัดลพบุรี พบว่า สารกำจัดวัชพืชเป็นพิษต่อถั่วเหลืองเพียงเล็กน้อยในระยะ 15 วันและไม่พบความเป็นพิษที่ระยะ 30 วันหลังการใช้สาร ส่วนประประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ขณะการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังงอก imazethapyr และ haloxyfop-R-methyl ควบคุมวัชพืชได้ดี และ สาร fomesafen และ fenoxaprop-p-ethyl ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง วัชพืชพบ ได้แก่หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link.)ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacustrum* Linn.) ผักโขมหิน (*Boerhavia diffusa* Linn.) และ แห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.) การกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีไม่ทำให้ความสูง จำนวนกิ่ง จำนวนข้อ จำนวนฝักต่อต้น และผลผลิตของถั่วเหลืองไม่แตกต่างกัน และวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีไม่ทำให้จำนวนต้นต่อไร่ จำนวนเมล็ดต่อต้น และน้ำหนัก 100 เมล็ด แตกต่างกัน การใช้สาร clomazone และการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีผลผลิตถั่วเหลือง

รหัสการทดลอง 01-06-49-02-01-03-10-52

มากที่สุด 287.5 และ 269.5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกับการใช้สาร pendimethalin, fomesafen, alachlor, flumioxazin และ imazethapry มีผลผลิต 259.0, 258.0, 257.5, 257.5 และ 249.5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ขณะวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีผลผลิตน้อยที่สุดเพียง 197.5 กิโลกรัมต่อไร่

คำนำ

ถั่วเหลืองเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญพืชหนึ่งของประเทศ เมล็ดถั่วเหลืองมีโปรตีนและน้ำมันประมาณ 40 และ 20% ตามลำดับ สามารถใช้ประโยชน์ได้หลายรูปแบบ เช่น การสกัดน้ำมัน อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ และผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้ถั่วเหลืองยังเป็นพืชบำรุงดินที่สำคัญในระบบปลูกพืช ในปี 2547/48 มีพื้นที่ปลูกถั่วเหลือง 1.01 ล้านไร่ ให้ผลผลิต 2.4 แสนตัน ได้ผลผลิตเฉลี่ย 237 กิโลกรัมต่อไร่ การผลิตในประเทศไม่พอเพียงต่อความต้องการ จึงต้องนำเข้าจากต่างประเทศ โดยในปี 2548 ได้นำเข้าเมล็ดถั่วเหลือง 1.61 ล้านตัน และกากถั่วเหลือง 1.88 ล้านตัน เมล็ดถั่วเหลืองที่ใช้ในประเทศรวมประมาณ 1.67 ล้านตัน มีการใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารและการบริโภคประมาณ 32% หรือประมาณ 5.6 แสนตัน (นิรนาม, 2549) และความต้องการมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากประชาชนตื่นตัวทางด้านสุขภาพนิยมบริโภคอาหารที่ทำจากถั่วเหลืองมากขึ้น มีหลายปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตถั่วเหลือง วัชพืชเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง ซึ่งวัชพืชที่ขึ้นแข่งขันกับถั่วเหลืองสามารถทำให้ผลผลิตถั่วเหลืองลดลงได้ถึง 40-80 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงต้องหาวิธีการควบคุมวัชพืชในแปลงปลูกถั่วเหลืองเพื่อลดการแข่งขันของวัชพืช การใช้สารกำจัดวัชพืช เป็นวิธีการหนึ่งที่เกษตรกรนิยมใช้ กันมาก เนื่องจากเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ ปฏิบัติได้สะดวก รวดเร็ว และราคาไม่แพงเมื่อเปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน โดยสารกำจัดวัชพืชที่ใช้มีทั้งประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกและประเภทหลังวัชพืชงอก โดยนิรนาม (2538) ได้แนะนำการใช้สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ก่อนวัชพืชงอก ได้แก่ alachlor, metolachlor และ clomazone อัตรา 240-360, 240-360 และ 140 กรัม ai/ไร่ สามารถควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบ เช่น หญ้านกสีชมพู หญ้าตีนนก หญ้าไม้กวาด หญ้าปากควาย ประเภทใบกว้าง เช่น ผักโขม ผักเสี้ยนผี ผักเบี้ยหิน และ โทงเทง ส่วน สุเทพ และ สุภาพรรณ (2551) รายงานว่า การใช้สารหลังวัชพืชมีใบ 3-4 ใบ เช่น สาร cycloxydim อัตรา 24 กรัมai/ไร่ ควบคุมวัชพืชประเภทใบแคบได้ดีแต่ควบคุมวัชพืชประเภทใบกว้างได้เพียงเล็กน้อย

ส่วนสาร acifluorfen อัตรา 240 กรัมai/ไร่ สามารถควบคุมวัชพืชทั้งประเภทใบแคบและใบกว้างได้ดีมาก จึงควรศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืช เพื่อให้ได้สารกำจัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพดีกว่าที่ทางราชการแนะนำ และเวลาการใช้ที่เหมาะสมสำหรับเป็นคำแนะนำเกษตรกรผู้ปลูกถั่วเหลืองต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1.ถั่วเหลืองพันธุ์

2.สารกำจัดวัชพืช

3.สารป้องกันกำจัดโรคและแมลง

4.ปุ๋ยสูตร 15-15-15

5.ถุงกระดาษ

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 ซ้ำ มี 13 กรรมวิธี คือ สาร alachlor, clomazone, oxadiazon, flumioxazin, pendimethalin, fluazifop-butyl, imazethapyr, fenoxaprop-p-ethyl, sethoxydim fomesafen และ haloxyfop-R-methyl+fomesafen อัตรา 336, 141.6, 150, 20, 330, 30, 20 30, 45, 40.5 และ 20.4+ 40.5 กรัมai/ไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน และวิธีไม่กำจัดวัชพืช

การปฏิบัติการทดลองใช้แปลงขนาด 3X6 เมตร หลังการเตรียมดินเสร็จแล้วทำการปลูกถั่วเหลืองใช้ระยะระหว่างแถว 50 ซม. ระหว่างหลุม 20 ซม. ใช้เมล็ดหลุมละ 2-3 เมล็ด จึงพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกทันที ได้แก่ สาร alachlor, clomazone, oxadiazon, flumioxazin และ pendimethalin และพ่นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอกประมาณ 15 วัน ได้แก่สาร fluazifop-butyl, imazethapyr, fenoxaprop-p-ethyl, sethoxydim, fomesafen และ haloxyfop-R-methyl+fomesafen ตามอัตราที่กำหนด หลังจากเมล็ดงอกแล้ว 15 วัน ถอนให้เหลือหลุมละ 2 ต้น และกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานหลังปลูก 30 วัน

การบันทึกข้อมูล ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช ความเป็นพิษ ชนิดและน้ำหนักแห้งวัชพืชจากกรอบขนาด 0.5x0.5 เมตร จำนวน 2 จุด การเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง นำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ อธิบายผลและเขียนรายงานผลการทดลอง

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองใน ระหว่างเดือน กรกฎาคม 2552 ถึง มกราคม 2553 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี จังหวัดลพบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชหลังพ่น 15 วัน พบว่า สาร alachlor, clomazone, oxadiazon, flumioxazin และ pendimethalin ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกเป็นพิษกับถั่วเหลืองเพียงเล็กน้อย มีระดับคะแนนอยู่ระหว่าง 1.0 – 2.3 ส่วนสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก ได้แก่สาร fluazifop-butyl, imazethapyr, fenoxaprop-p-ethyl, sethoxydim, fomesafen และ haloxyfop-R-methyl+fomesafen เป็นพิษกับถั่วเหลืองเพียงเล็กน้อย เช่นเดียวกัน มีระดับคะแนนอยู่ระหว่าง 1.0 - 3.0 (ตารางที่ 1) แต่จะไม่พบความเป็นพิษกับถั่วเหลืองหลังการพ่นสารกำจัดวัชพืช 30 วัน เช่นเดียวกันกับ ทวี และคณะ(2539ก,ข) ที่รายงานว่า สารกำจัดวัชพืชทั้งประเภทใช้ก่อนและหลังวัชพืชงอกจะไม่แสดงอาการเป็นพิษหลังการพ่นสารกำจัดวัชพืช 30 วัน ส่วนประประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี มีระดับคะแนนอยู่ระหว่าง 6.0 – 9.0 ส่วนสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังงอก imazethapyr และ haloxyfop-R-methyl ควบคุมวัชพืชได้ดี สาร fomesafen และ fenoxaprop-p-ethyl ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง และ สาร sethoxydim ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อยโดยมีคะแนนอยู่ระหว่าง 6.5 – 7.0, 4.5 – 5.0 และ 3.8 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

การสุ่มเก็บตัวอย่างวัชพืช พบวัชพืช หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link.) ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacustrum* Linn.) ผักโขมหิน (*Boerhavia diffusa* Linn.) และ แห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.) ส่วนน้ำหนักแห้งวัชพืช พบว่า สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกให้น้ำหนักแห้งของวัชพืชแต่ละชนิดในแต่ละกรรมวิธีไม่แตกต่างกัน ส่วนการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก fluazifop-butyl, imazethapyr, fenoxaprop-p-ethyl, sethoxydim, fomesafen และ haloxyfop-R-methyl+fomesafen ไม่ทำให้น้ำหนักแห้งวัชพืชผักเบี้นหิน ผักโขมหิน และ แห้วหมู แตกต่างกัน สำหรับสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก fluazifop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl และsethoxydim เป็นสารกำจัดวัชพืชใบแคบ

(Anonymous,1994) จึงมีผลให้น้ำหนักแห้งของหญ้านกสีชมพูไม่แตกต่างกันกับสาร imazethapyr และ haloxyfop-R-methyl+fomesafen แต่จะให้น้ำหนักแห้งหญ้านกสีชมพูแตกต่างกันกับการใช้สารกำจัดวัชพืช fomesafen ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชที่มีคุณสมบัติในการกำจัดวัชพืชใบกว้าง (Anonymous,1994) แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีมีน้ำหนักแห้งวัชพืชไม่แตกต่างกับการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน (ตารางที่ 2)

การเจริญเติบโตของถั่วเหลือง พบว่า กรรมวิธีกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีมีความสูงไม่แตกต่างกัน แต่การสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก เช่น fluazifop-butyl, imazethapyr, fenoxaprop-p-ethyl และ sethoxydim มีแนวโน้มว่า ให้ความสูงของถั่วเหลืองต่ำกว่า (ตารางที่ 3) อาจเนื่องสารกำจัดวัชพืชเหล่านี้สามารถกำจัดวัชพืชได้เฉพาะวัชพืชใบแคบ (Anonymous,1994) จึงทำให้มีวัชพืชประเภทใบกว้างยังคงอยู่และสามารถแข่งขันกับถั่วเหลืองจนมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตได้ ขณะสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกสามารถควบคุมวัชพืชได้ทั้งประเภทใบแคบและใบกว้าง ส่วนจำนวนต้นถั่วเหลืองต่อพื้นที่ พบว่า กรรมวิธีการทดลองไม่ทำให้จำนวนต้นถั่วเหลืองแตกต่างกัน โดยกรรมวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีจำนวนต้นต่อพื้นที่น้อยกว่า คือ 24,750 ต้นต่อไร่ สำหรับจำนวนกิ่งและจำนวนข้อต่อต้น พบว่า กรรมวิธีการกำจัดวัชพืชไม่ทำให้จำนวนกิ่งและจำนวนข้อต่อต้นแตกต่างกัน โดยมีจำนวนอยู่ระหว่าง 0.8-1.3 กิ่งต่อต้น และ 15.0-16.5 ข้อต่อต้นตามลำดับ แต่กรรมวิธีการกำจัดวัชพืชจะให้จำนวนกิ่งและจำนวนข้อต้อต้นแตกต่างกันกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช วิ่งมีจำนวน 0.3 กิ่ง และ 14.0 ข้อต่อต้อ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

สำหรับองค์ประกอบผลผลิตและผลผลิต พบว่า กรรมวิธีการจัดการวัชพืชให้จำนวนฝักถั่วเหลืองไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีจำนวนฝักอยู่ระหว่าง 44.0-56.8 ฝักต่อต้น โดยการใช้สาร clomazone มีแนวโน้มให้จำนวนฝักมากกว่า คือ 56.8 ฝักต่อต้น การกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีมีจำนวนฝักต่อต้นแตกต่างกับวิธีไม่กำจัดวัชพืช ซึ่งมีจำนวนฝักน้อยกว่า คือ 40.5 ฝักต่อต้น กรรมวิธีการทดลองไม่ทำให้จำนวนเมล็ดต่อต้น และน้ำหนัก 100 เมล็ด แตกต่างกัน โดยมีจำนวนเมล็ด และน้ำหนัก 100 เมล็ด อยู่ระหว่าง 84.8-144.0 เมล็ดต่อต้น และ 12.6-13.9 กรัม ตามลำดับ ส่วนผลผลิตของถั่วเหลือง พบว่า การใช้สาร clomazone และการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีผลผลิตถั่วเหลืองมากกว่า คือ 287.5 และ 269.5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แต่ก็ไม่แตกต่างกับวิธีการใช้สาร alachlor, oxadiazon, flumioxazin, pendimethalin, fluazifop-butyl, imazethapyr, fenoxaprop-p-ethyl, sethoxydim, fomesafen และ haloxyfop-R-methyl+fomesafen ให้ผลผลิตอยู่ระหว่าง 222.5-

259.0 กิโลกรัมต่อไร่ และวิธีการกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีให้ผลผลิตถั่วเหลืองแตกต่างกับวิธีไม่กำจัดวัชพืชที่ให้ผลผลิตน้อยเพียง 197.5 กโลกรัมต่อไร่ (ตามรงที่ 4) อาจเป็นเพราะมีวัชพืชขึ้นแข่งขันปริมาณมากมีผลกระทบ

ต่อจำนวนต้นต่อพื้นที่ จำนวนกิ่ง และจำนวนข้อต่อต้น (ตารางที่ 3) จำนวนฝัก และ จำนวนเมล็ดต่อต้น (ตารางที่ 4) จึงทำให้ผลผลิตถั่วเหลืองลดลง อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทก่อนวัชพืชงอกจะให้องค์ประกอบผลผลิต เช่น จำนวนฝัก และจำนวนเมล็ดต่อต้น และผลผลิตของถั่วเหลือง มากกว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังวัชพืชงอก อาจเนื่องมาจากสารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกสามารถควบคุมวัชพืชได้ทั้งประเภทใบแคบและใบกว้าง (ตารางที่ 1 และ 2) ขณะการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทหลังวัชพืชงอกจะมีประสิทธิภาพในการควบคุมวัชพืชแตกต่างกัน เช่น สาร fluazifop-butyl, fenoxaprop-p-ethyl และ sethoxydim เป็นสารกำจัดวัชพืชใบแคบ จะสามารถกำจัดได้เฉพาะหญ้านกสีชมพูเท่านั้น แต่ไม่สามารถกำจัดวัชพืช ผักเบี้ยหิน และ ผักโขมหิน ทำให้วัชพืชทั้งผักเบี้ยหิน และ ผักโขมหินแข่งขันได้กับถั่วเหลือง เช่นเดียวกับสาร fomesafen ที่กำจัดวัชพืชใบกว้าง ทำให้มีวัชพืชหญ้านกสีชมพูสามารถแข่งขันกับถั่วเหลืองได้เช่นกัน จึงมีผลกระทบต่อจำนวนฝัก จำนวนเมล็ดต่อต้น และผลผลิตของถั่วเหลือง

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชในถั่วเหลือง พบว่า สารกำจัดวัชพืชทั้งประเภทใช้ก่อนและหลังงอกของวัชพืชเป็นพิษต่อถั่วเหลืองเพียงเล็กน้อยในระยะ 15 วันหลังการใช้สารและไม่พบความเป็นพิษที่ระยะ 30 วัน หลังการใช้สาร ส่วนประประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช พบว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้ก่อนวัชพืชงอกสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ขณะการใช้สารกำจัดวัชพืชประเภทใช้หลังงอก imazethapyr และ haloxyfop-R-methyl ควบคุมวัชพืชได้ดี และ สาร fomesafen และ fenoxaprop-p-ethyl ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง การกำจัดวัชพืชทุกกรรมวิธีไม่ทำให้ความสูง จำนวนกิ่ง จำนวนข้อ จำนวนฝักต่อต้น และผลผลิตของถั่วเหลืองไม่แตกต่างกัน และวิธีการทดลองทุกกรรมวิธีไม่ทำให้จำนวนต้นต่อไร่ จำนวนเมล็ดต่อต้น และน้ำหนัก 100 เมล็ด แตกต่างกัน การใช้สาร clomazone และการกำจัดวัชพืชด้วยแรงงาน มีผลผลิตถั่วเหลืองมากที่สุด 287.5 และ 269.5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกับการใช้สาร

pendimethalin, fomesafen, alachlor, flumioxazin และ imazethapry มีผลผลิต 259.0, 258.0, 257.5, 257.5 และ 249.5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ขณะวิธีไม่กำจัดวัชพืชมีผลผลิตน้อยที่สุดเพียง 197.5 กิโลกรัมต่อไร่ จากผลการทดลองนี้ควรต้องทดสอบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชซ้ำเพื่อให้ผลที่ได้มีความเที่ยงตรงมากยิ่งขึ้นก่อนใช้เป็นคำแนะนำต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ทวี แสงทอง วิโรจน์ วจนานวัช จรูญ อารีย์ และ มาลี พึ่งเจริญ. 2539ก. ผลของสารกำจัดวัชพืชพ่นก่อนการงอกต่อวัชพืชและผลผลิตของถั่วเหลืองฝักสด.หน้า 267-272. *ใน*: รายงานการประชุม วิชาการถั่วเหลืองแห่งชาติ ครั้งที่ 6 ณ โรงแรมดิเอมเพรส จังหวัดเชียงใหม่, 3-6 กันยายน.

ทวี แสงทอง วิโรจน์ วจนานวัช จรูญ อารีย์ และ มาลี พึ่งเจริญ. 2539ข. ผลของสารกำจัดวัชพืชพ่นหลังการงอกต่อวัชพืชและผลผลิตของถั่วเหลืองฝักสด.หน้า 267-272. *ใน*: รายงานการประชุมวิชาการถั่วเหลืองแห่งชาติ ครั้งที่ 6 ณ โรงแรมดิเอมเพรส จังหวัดเชียงใหม่, 3-6 กันยายน.

นิรนาม. 2538. คำแนะนำการควบคุมวัชพืช ปี 2538. กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และ วัชพืช กรมวิชาการเกษตร. 144 หน้า.

นิรนาม. 2549. สถิติการค้าสินค้าเกษตรกรรมไทยกับต่างประเทศปี 2548. ศูนย์สารสนเทศการเกษตรสำนักเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 408 หน้า.

สุเทพ ทองมา และ สุภาพรรณ. 2553. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชไซคลอซิดิมและเอซิฟลูออร์เฟนในแปลงถั่วเหลือง. http://www.lartc.rmutl.ac.th/d_research.php? 22 เมษายน 2553.Anonymous. 1994. Herbicide Handbook.. 7th Edition. Weed Science Society of America.
West University Avenue Champaign, Illinois U.S.A. 352 p.

ตารางที่ 1 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อความเป็นพิษและประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช หลังพ่นสาร 15 วัน ปี 2552

กรรมวิธีการทดลอง	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	ความเป็นพิษต่อพืชปลูก[1/]	ประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช [2/]
alachlor	336	0.8	7.0
clomazone	141.6	0.5	8.8
oxadiazon	150	2.3	6.0
flumioxazin	20	1.0	8.8
pendimethalin	330	2.0	9.0
fluazifop-butyl	30	1.3	5.5
imazethapyr	20	3.0	6.0
fenoxaprop-p-ethyl	30	2.0	5.0
sethoxydim	45	1.0	3.8
fomesafen	40.5	1.3	4.5
haloxyfop-R-methyl+fomesafen	20.4+40.5	2.0	7.0
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	-	0.0	0.0
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	0.0	0.0

1/ คะแนนความเป็นพิษต่อพืชปลูก

0 = ไม่เป็นพิษต่อพืชปลูก

1 – 3= เป็นพิษต่อพืชปลูกเล็กน้อย

4 – 6 = เป็นพิษต่อพืชปลูกปานกลาง

7 – 9 = เป็นพิษต่อพืชปลูกรุนแรง

10 = พืชปลูกตายหมด

2/ คะแนนประสิทธิภาพการควบคุมวัชพืช

0 = ไม่สามารถควบคุมวัชพืชได้

1 – 3 = ควบคุมวัชพืชได้เพียงเล็กน้อย

4 – 6 = ควบคุมวัชพืชได้ปานกลาง

7 – 9 = ควบคุมวัชพืชได้ดี

10 = ควบคุมวัชพืชได้หมด

ตารางที่ 2 ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อน้ำหนักแห้งวัชพืช(กรัม/ตร.ม.) หลังพ่นสาร 45 วัน ปี 2552

กรรมวิธีการทดลอง	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	หญ้านกสีชมพู	ผักเบี้ยหิน	ผักโขมหิน	แห้วหมู
alachlor	336	25.0a[1/]	11.0a	18.0ab	14.5a
clomazone	141.6	20.0a	6.6a	6.0ab	11.5a
oxadiazon	150	48.0a	19.0a	13.0ab	10.5a
flumioxazin	20	28.0a	11.0a	0.0a	16.5a
pendimethalin	330	22.0a	1.0a	4.5ab	23.0a
fluazifop-butyl	30	24.0a	2.0a	12.5ab	1.5a
imazethapyr	20	54.0a	19.0a	6.6.0ab	0.5a
fenoxaprop-p-ethyl	30	2.0a	25.0a	34.0b	15.0a
sethoxydim	45	57.0a	39.0a	30.5ab	2.0a
fomesafen	40.5	127.0b	31.0a	6.0ab	2.0a
haloxyfop-R-methyl+fomesafen	20.4+40.5	11.0a	17.0a	19.0ab	6.5a
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน	-	10.0a	33.0a	15.0ab	3.0a
วิธีไม่กำจัดวัชพืช	-	124.0b	28.0a	69.0c	13.0a
CV(%)		82.8	126.9	113.7	170.0

1/ ค่าเฉลี่ยของความสูงและจำนวนต้นต่อไร่ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

1. หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link.)
2. ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacustrum* Linn.)
3. ผักโขมหิน (*Boerhavia diffusa* Linn.)
4. แห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.)

ตารางที่ 3 ความสูง จำนวนต้น จำนวนกิ่ง และ จำนวนข้อที่ระยะเก็บเกี่ยวของถั่วเหลือง ปี 2552

กรรมวิธีการทดลอง	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	ความสูง (เซนติเมตร)	จำนวนต้น (ต้น/ไร่)	จำนวนกิ่ง (กิ่ง/ต้น)	จำนวนข้อ (ข้อ/ต้น)
alachlor	336	84.6a[1/]	27,100a	0.8ab	15.5abc
clomazone	141.6	82.8a	27,700a	1.3a	16.5a
oxadiazon	150	79.1a	25,300a	1.0ab	15.8abc
flumioxazin	20	83.7a	27,000a	1.0ab	16.0abc
pendimethalin	330	84.0a	25,650a	1.3a	16.3ab
fluazifop-butyl	30	75.1ab	27,000a	1.0ab	15.5abc
imazethapyr	20	73.0ab	27,600a	1.0ab	15.8ab
fenoxaprop-p-ethyl	30	77.6ab	27,750a	1.0ab	15.5abc
sethoxydim	45	71.0ab	24,150a	0.8ab	15.8ab
fomesafen	40.5	81.8a	26,300a	1.0ab	16.0abc
haloxyfop-R-methyl+fomesafen	20.4+40.5	80.0a	27,700a	1.3a	15.8abc
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน		79.8a	25,850a	1.3a	16.2ab
วิธีไม่กำจัดวัชพืช		60.5b	24,750a	0.3b	14.0c
CV(%)		14.2	10.6	59.2	5.3

1/ ค่าเฉลี่ยของความสูงและจำนวนต้นต่อไร่ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

ตารางที่ 4 จำนวนฝัก จำนวนเมล็ด น้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด และผลผลิตถั่วเหลืองปี 2552

กรรมวิธีการทดลอง	อัตราการใช้ (กรัม ai/ไร่)	จำนวนฝัก (ฝัก/ต้น)	จำนวนเมล็ด (เมล็ด/ต้น)	น้ำหนัก 100 เมล็ด(กรัม)	ผลผลิต (กก./ไร่)
alachlor	336	50.5ab[1/]	101.0a	13.1a	255.0ab
clomazone	141.6	56.8a	144.0a	13.8a	287.5a
oxadiazon	150	48.5ab	101.0a	12.9a	235.0ab
flumioxazin	20	50.3ab	102.5a	12.9a	257.5ab
pendimethalin	330	50.0ab	108.8a	13.6a	259.5ab
fluazifop-butyl	30	45.8ab	97.5a	12.6a	222.5ab
imazethapyr	20	46.0ab	90.0a	13.3a	249.5ab
fenoxaprop-p-ethyl	30	44.0ab	89.3a	12.9a	240.0ab
sethoxydim	45	44.5ab	91.8a	13.3a	238.0ab
fomesafen	40.5	48.3ab	98.0a	13.8a	258.0ab
haloxyfop-R-methyl+fomesafen	20.4+40.5	45.8ab	84.8a	12.8a	245.5ab
กำจัดวัชพืชด้วยแรงงานคน		54.3a	106.0a	13.9a	269.5a
วิธีไม่กำจัดวัชพืช		40.5b	95.8a	12.9a	197.5b
CV(%)		17.7	18.0	6.7	17.0

1/ ค่าเฉลี่ยของความสูงและจำนวนต้นต่อไร่ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดย DMRT

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

บทคัดย่อ

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 สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอ คือ cypermethrin / phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ acephate (ACFA 75% SP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยมีต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลง 8.40 และ 12.00 บาทต่อต้นต่อครั้ง ประสิทธิภาพปานกลาง คือ emamectin benzoate (Proclime 019 EC 1.92% EC) profenofos (Supercron 500 50% EC) lamda-cyhalothrin (Karate Zeon 2.5 CS 2.5% CS) และ fipronil (Ascend 5% SC) อัตรา 10, 40, 20 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ มีต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลง 22.00, 8.80, 4.00 และ 16.50 บาทต่อต้นต่อครั้ง และกรรมวิธีที่พ่นสารไม่พบอาการเป็นพิษต่อส้มโอ

คำหลัก : ส้มโอ หนอนเจาะผลส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore การป้องกันกำจัด สารฆ่าแมลง

รหัสการทดลอง 01-10-49-02-03-01-01-49

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)

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 มิลิลิตร/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 เดือนมีนาคม – พฤษภาคม 2551 เดือนมีนาคม –พฤษภาคม 2552 ที่สวนส้มโอของเกษตรกร กิ่งอำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี 2250 (Table 1)

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 ผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลาย 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 (Table 2)

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 เทียบเท่าและไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร 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 แต่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งพบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอสูงถึง 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 และมีการพ่นสารฆ่าแมลงตามกรรมวิธี

ตั้งแต่ผลอายุ 2 สัปดาห์ก่อนการเข้ามาวางไข่ของหนอนเจาะผลส้มโอในแปลง ซึ่งเป็นการพ่นป้องกันก่อนการเข้าทำลาย และแม้จะพ่นสารฆ่าแมลงก่อนการเข้ามาวางไข่ของผีเสื้อหนอนเจาะผลส้มโอ แต่ในกรรมวิธีที่พ่นสารก็ยังพบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ แสดงว่าสารฆ่าแมลงที่นำมาทดสอบไม่สามารถป้องกันการเข้ามาวางไข่ และไม่สามารถฆ่าไข่ผีเสื้อหนอนเจาะผลส้มโอได้ และจากการสังเกตในแปลงทดสอบพบว่า ไข่ที่ฟักออกมาเป็นหนอนในกรรมวิธีที่พ่นสารทุกกรรมวิธี จะพบรอยทำลายที่มีขนาดเล็กมาก แสดงว่าสารฆ่าแมลงมีประสิทธิภาพที่ดีในการป้องกันกำจัดหนอนวัยแรกๆ ซึ่งยังเจาะทำลายในผลส้มโอไม่ลึกนัก

ปี 2252 (Table 3)

การทดลองในปี 2552 ได้เริ่มทำการพ่นสารเมื่อผลส้มโอมีอายุ 2 สัปดาห์ ซึ่งไม่พบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอในทุกกรรมวิธี

หลังการพ่นสารครั้งที่ 1 และ 2 พบว่า ทุกกรรมกรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS และ profenofos 50%EC ไม่พบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอเลย เทียบเท่าและไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร cypermethrin/phosalone 6.25/22.5% EC fipronil 5% SC acephate 75%SP emamectin benzoate 1.92%EC และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบรอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอหลังการพ่นสารครั้งที่ 1 และ 2 0-1.668, 0.385-0.758, 0.0-2.598, 0-3.473 และ 0.833-4.155 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 3 และ 4 พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอดีกว่ากรรมวิธีไม่พ่นสาร กล่าวคือ กรรมวิธีที่พ่นสาร ทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร fipronil 5% SC พบรอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอน้อยที่สุด 1.350 และ 1.350 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น เทียบเท่าและไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS profenofos 50%EC emamectin benzoate 1.92%EC acephate 75%SP และ cypermethrin/phosalone 6.25/22.5% EC ซึ่งพบการทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอหลังการพ่นครั้งที่ 3 และ 4 เท่ากับ 0.640-2.898, 0-3.573, 4.155-4.630, 4.895-5.490 และ 5.563-8.503 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบรอยทำลายหลังการพ่นสารครั้งที่ 3 และ 4 สูงถึง 16.823 และ 24.290 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ

หลังการพ่นสารครั้งที่ 5 แล้ว 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร fipronil 5% SC มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอได้ดีที่สุด โดยพบรอยทำลายเพียง 1.350 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น เทียบเท่าและไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร profenofos 50%EC emamectin benzoate 1.92%EC acephate 75%SP cypermethrin/phosalone 6.25/22.5% EC ซึ่งพบรอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 3.573, 5.395, 6.683 และ 8.503

เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS ซึ่งพบรอยทำลาย 10.265 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบเปอร์เซ็นต์รอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งพบรอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอสูงถึง 35.045 เปอร์เซ็นต์

หลังการพ่นสารครั้งที่ 5 แล้ว 14 วันพบว่า ทุกกรรมวิธีพบรอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอเพิ่มขึ้น กล่าวคือ กรรมวิธีที่พ่นสาร fipronil 5% SC มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอได้ดีที่สุด โดยพบรอยทำลายเพียง 4.490 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น เทียบเท่าและไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร cypermethrin/phosalone 6.25/22.5% emamectin benzoate 1.92%EC และ profenofos 50%EC ซึ่งพบรอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 13.973, 19.075 และ 19.155 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร lambda-cyhalothrin 2.5% CS และ acephate 75%SP ซึ่งพบรอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 19.518 และ 21.170 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอดีกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งพบรอยทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 52.535 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารไม่พบอาการเป็นพิษต่อส้มโอ

ผลการทดลองในปี 2552 จะเห็นได้ว่า ผลการทดลองเห็นความแตกต่างของกรรมวิธีที่ใช้สารฆ่าแมลงและกรรมวิธีไม่พ่นสารอย่างชัดเจนเช่นเดียวกับในปี 2551 อาจจะเนื่องจากในปี 2552 พบการระบาดของหนอนเจาะผลส้มโอปริมาณมากเช่นเดียวกับในปี 2551 และจากการสังเกตช่วงพ่นสารจากผลการทดลองทั้ง 3 ปี พบว่า ควรใช้ช่วงพ่นสารทุก 7 วันครั้ง เนื่องจากเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การเขาทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอที่ 14 วันหลังการพ่นครั้งสุดท้าย จะเห็นว่า มีแนวโน้มสูงขึ้นในทุกกรรมวิธี

จากการพิจารณาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอจากการดำเนินการทดลอง 3 ปี สรุปได้ว่า cypermethrin / phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) อัตรา 40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร และ acephate (ACFA 75% SP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลได้ดี รองลงมา ได้แก่ emamectin benzoate (Proclime 019 EC 1.92% EC) profenofos (Supercron 500 50% EC) lamda-cyhalothrin (Karate Zeon 2.5 CS 2.5% CS) และ fipronil (Ascend 5% SC) อัตรา 10, 40, 20 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ โดยใช้ช่วงพ่นทุก 7 วัน และทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นสารสามารถลดปริมาณการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอได้ดีกว่าและแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารไม่พบอาการเป็นพิษต่อส้มโอ

ต้นทุนสารฆ่าแมลง (Table 4)

จากการวิเคราะห์ต้นทุนสารฆ่าแมลง โดยคิดจากอัตราใช้และอัตราการพ่น (spray volume) 10 ลิตรต่อต้น จากการพ่น 1 ครั้ง พบว่า สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอ คือ cypermethrin / phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ acephate (ACFA 75% SP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร มีต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลง 8.40 และ 12.00 บาทต่อต้นต่อครั้ง ตามลำดับ ส่วนสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพรองลงมา พบว่า สาร lamda-cyhalothrin (Karate Zeon 2.5 CS 2.5% CS) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีต้นทุนการพ่นสารต่ำสุด 4.00 บาทต่อต้น ในขณะที่สาร profenofos (Supercron 500 50% EC) และ fipronil (Ascend 5% SC)) อัตรา 10, 40, 20 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลง 8.80 และ 16.50 บาทต่อต้นต่อครั้ง โดยสารที่มีต้นทุนการพ่นสารสูงสุด คือ emamectin benzoate (Proclime 019 EC 1.92% EC) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร มีต้นทุนการพ่นสาร 22.00 บาทต่อต้นต่อครั้ง

จากผลการทดลองในปี 2550, 2551 และ 2552 จะเห็นว่าสารฆ่าแมลงที่นำมาใช้ทดสอบสามารถลดการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ใช้สารฆ่าแมลงได้ 81.226, 77.283 และ 69.106 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีไม่ใช้สารฆ่าแมลงหนอนเจาะผลส้มโอทำความเสียหายต่อผลผลิตส้มโอสูงถึง 28.017, 49.927 และ 52.535 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ และหากไม่มีการป้องกันกำจัดเลยก็จะเกิดการสะสมการระบาดของหนอนเจาะผลส้มโอ และอาจทำให้ผลผลิตเสียหายได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการจะใช้สารฆ่าแมลงเป็นวิธีการในการป้องกันกำจัดเพียงวิธีเดียวก็อาจจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายได้ดีระดับหนึ่ง แต่เนื่องจากแมลงชนิดนี้มีระยะเวลาการระบาดตลอดช่วงการติดผลผลิต การใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดจึงเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิต เสี่ยงต่อการตกค้างของสารฆ่าแมลงในผลผลิต และเป็นอัตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภคอีกด้วย จึงควรนำวิธีการอื่นๆ มาใช้ร่วมด้วยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผล สอดคล้องกับ ศรีจำนรรจ์ และคณะ (2550) รายงานว่า แนวทางในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอ คือ เก็บผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผล ส้มโอทำลาย และในแหล่งที่มีการระบาดเป็นประจำควรทำการพ่นสารฆ่าแมลงเมื่อส้มโอเริ่มติดผล 4 ครั้งทุก 7 วัน แล้วห่อผล ส้มโอเมื่อผลส้มโออายุ 1 เดือน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอ พบว่า สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ cypermethrin / phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ acephate (ACFA

75% SP) อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยมีต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลง 8.40 และ 12.00 บาทต่อต้นต่อครั้ง 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) และ fipronil (Ascend 5% SC) อัตรา 10, 40, 20 และ 30 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลง 22.00, 8.80, 4.00 และ 16.50 บาทต่อต้นต่อครั้ง ในกรรมวิธีพ่นสารพบผลที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอเข้าทำลายรวมตลอดการทดลองในปี 2550, 2551 และ 2552 เฉลี่ย 5-.260, 11.342 และ 16.230 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีไม่พ่นสารพบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ 28.017, 49.927 และ -52.535 เปอร์เซ็นต์ต่อต้น ตามลำดับ โดยทุกกรรมวิธีที่พ่นสารไม่พบอาการเป็นพิษต่อพืช

เนื่องจากหนอนชนิดนี้พบการเข้าทำลายตลอดช่วงของการติดผล ฉะนั้นการพ่นสารฆ่าแมลงเพียงอย่างเดียวนอกจากจะไม่สามารถป้องกันกำจัดได้ 100 เปอร์เซ็นต์แล้ว หากมีการพ่นสารตลอดช่วงการติดผลยังเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิต และอาจทำให้เกิดการตกค้างของสารฆ่าแมลงในผลผลิตได้ ฉะนั้นในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอควรจะนำวิธีการป้องกันกำจัดวิธีอื่น เช่น การเก็บผลที่ถูกทำลาย การห่อผล มาผสมผสานเพื่อทำให้สามารถป้องกันกำจัดหนอนชนิดนี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น และยังเป็นการลดความเสี่ยงต่อการตกค้างของสารฆ่าแมลงในผลผลิต ตลอดจนปลอดภัยต่อเกษตรกรและผู้บริโภคอีกด้วย

สารฆ่าแมลงที่นำมาทดสอบจัดอยู่ในกลุ่มสารฆ่าแมลง 4 กลุ่ม คือ 1) Pyrethroid (lamda-cyhalothrin) 2) กลุ่ม Organophosphate (profenofos และ acephate) 3) กลุ่ม phenylpyrazole (fipronil) 4) กลุ่ม Avermectin (emamectin benzoate และมีสารผสมระหว่างกลุ่ม Pyrethroid และกลุ่ม Organophosphate 1 ชนิด คือ cypermethrin / phosalone ซึ่งสารที่นำมาทดสอบทั้งหมด มีความเป็นพิษระดับปานกลาง-ร้ายแรง และมีราคาที่แตกต่างกัน ทำให้เกษตรกรและผู้เกี่ยวข้องมีทางเลือกใช้สารฆ่าแมลงโดยคำนึงถึงประสิทธิภาพ ความเป็นพิษ ราคา และสามารถนำไปสลับกลุ่มในการพ่นสารเพื่อลดการเกิดความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของศัตรูพืช

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.

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/] Average from 4 replications (Back transform) transformed by Arcsine (Sqr(x/100))

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

2116

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[2/]	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/] Average from 4 replications (Back transform) transformed by Arcsine (Sqr(x/100))

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

2117

Table 3 Efficacy of insecticides for controlling citrus fruit borer, *Citripestis sagittiferella* Moore at Pummelo's orchard, Koh Chang, Trat , March – May 2009

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	14DAA#5
lamda-cyhalothrin (Karate Zeon 2.5CS 2.5% CS)	20	0	0.000	0.000	0.640 a[2/]	2.898 a	10.265 b	19.518 b
cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC)	40	0	1.668	3.553	5.563 a	5.563 a	8.503 ab	13.973 ab
profenofos (Supercron500 50%EC)	40	0	0.000	0.000	0.000 a	3.573 a	3.573 a	19.155 ab
fipronil (Ascend 5% SC)	30	0	0.385	0.758	1.350 a	1.350 a	1.350 a	4.490 a
acephate (ACFA 75% SP)	50	0	0.000	2.598	4.895 a	5.490 a	6.683 ab	21.170 b
emamectin benzoate (Proclaim 019EC 1.92% EC)	10	0	0.000	3.473	4.155 a	4.630 a	5.395 ab	19.075 ab
Untreated	-	0	0.833	4.155	16.823 b	24.290 b	35.045 c	52.535 c
CV (%)		-						

[1/] **Average** from 4 replications (Back transform) transformed by Arcsine (Sqr(x/100))

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

2118

Table 4 Average cost insecticides per plant for controlling citrus fruit borer *Citripestis sagittiferella* Moore on pommelo

Treatment	Rate of application (g, ml / 20 l)	Cost[1/] (Baht/plant/time)
lamda-cyhalothrin (Karate Zeon 2.5CS 2.5% CS)	20	4.00
cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC)	40	8.40
profenofos (Supercron500 50%EC)	40	8.80
fipronil (Ascend 5% SC)	20	16.50
acephate (ACFA 75% SP)	50	12.00
emamectin benzoate (Proclaim 019EC 1.92% EC)	10	22.00

[1/] Spray volume : 10 liters/plant

ศึกษาชนิด การเข้าทำลาย และการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอ

Studies on Species, Damaged and Control of Fruit Flies in Pummelo

บุษบง มนัสมั่นคง ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา
วิภาดา ปลอดครบุรี เกรียงไกร จำเริญมา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ทำการศึกษาในแปลงส้มโอ พันธุ์ท่าข่อย พันธุ์ขาวแตงกวา และพันธุ์ทองดี ของเกษตรกร ที่ อำเภอโพธิ์ประทับช้าง จังหวัดพิจิตร โดยการสำรวจการทำลายบนต้น และเก็บผลส้มโอในระยะต่างๆ คือก่อนเก็บเกี่ยว 2 เดือน 1 เดือน 21 วัน 14 วัน 7 วัน และในระยะเก็บเกี่ยว ครั้งละ 20 ผล ในแต่ละแปลง จากผลการสำรวจในแปลงส้มโอพันธุ์ท่าข่อย จำนวน 11,898 ผล พบการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ 192 ผล ทำการเก็บผลใส่ถาดคลุมด้วยถุงตาข่าย วางไว้ในห้องอุณหภูมิปกตินาน 7 – 10 วัน นำผลมาผ่าตรวจดูเมื่อพบหนอนเก็บเลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัย พบแมลงวันผลไม้ 2 ชนิด คือ *Bactrocera dorsalis* และ *B. correcta* ส่วนการสำรวจในแปลงส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา และทองดี จำนวน 1,921 และ 5,124 ผล ตามลำดับ ไม่พบการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ การศึกษาโดยการทำแผลบนผลส้มโอทั้ง 3 พันธุ์ ทั้งในแปลงส้มโอ และในห้องปฏิบัติการ พบว่า แมลงวันผลไม้สามารถวางไข่บนรอยแผล และสามารถเจริญเติบโตได้ แต่ไม่สามารถเจาะออกมาเข้าดักแด้นอกผลได้

คำหลัก : แมลงวันผลไม้ (Fruit Flies) ส้มโอ (Pummelo)

รหัสการทดลอง 01-10-49-02-03-01-03-52

คำนำ

แมลงวันผลไม้ (fruit flies) เป็นแมลงที่มีความสำคัญทางด้านการกักกันพืชของหลายๆ ประเทศ ซึ่งในปีที่ผ่านๆ มาในแหล่งปลูกส้มโอเพื่อการส่งออก เมื่อถึงช่วงผลแก่ใกล้เก็บเกี่ยวก็จะมีการใช้สารเคมีอันตราย พ่นเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ จากการวางกับดักสารล่อเพศในแปลงส้มโอ พันธุ์ขาวแตงกวา ที่ จังหวัดชัยนาท ปี 2545 แมลงวันผลไม้ชนิดที่พบมาก คือ *Bactrocera dorsalis* เฉลี่ย 97.0 ตัว/กับดัก รองลงมา คือ *B. correcta* เฉลี่ย 23.0 ตัว/กับดัก พบ *B. cucurbitae* และ *B. papayae* ในปริมาณต่ำ แต่จากการสำรวจในแปลงไม่พบการทำลายบนผลส้มโอ ในขณะที่จากการสำรวจในปี 2549 ที่จังหวัดพิจิตร พบมีการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ในผลส้มโอ ดังนั้นการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับแมลงวันผลไม้ในส้มโอ เพื่อทราบชนิดของแมลงวันผลไม้ที่สามารถใช้ส้มโอเป็นอาหารได้ เป็นข้อมูลยืนยันการเจรจาทางการค้าเพื่อการส่งออก ได้วิธีการป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย เป็นการแก้ไขปัญหาในระดับสวน เพื่อเพิ่มผลผลิตทั้งด้านคุณภาพและปริมาณให้เพียงพอกับความต้องการของตลาดทั้งภายในประเทศและตลาดส่งออก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นส้มโอที่ให้ผลผลิตแล้ว
2. สารฆ่าแมลง malathion (Malathion 83%EC) เหยื่อพิษยีสต์โปรตีนออโตไลเซท
3. อุปกรณ์ชั่ง ตวงสารเคมี
4. กรรไกรตัดกิ่ง
5. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง เช่น กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ยางรัดของ เป็นต้น
6. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาน ดินสอ ปากกาเมจิก เป็นต้น

วิธีการ

ขั้นตอนการทำงานวิจัย มีดังนี้

1. ศึกษาชนิดและการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ในส้มโอสายพันธุ์ต่างๆ

ศึกษาจากแหล่งปลูกส้มโอ โดยการเก็บผลส้มโอในระยะต่างๆ คือ ก่อนเก็บเกี่ยว 2 เดือน 1 เดือน 21 วัน 14 วัน 7 วัน และในระยะเก็บเกี่ยว ครั้งละ 20 ผลในแต่ละแปลง พร้อมทั้งเก็บผลที่ร่วงบริเวณโคนต้น มาศึกษาโดยแยกเป็นผลดีและผลที่มีรอยแผลลักษณะต่างๆ เก็บใส่ถาดคลุมด้วยถุงตาข่าย วางไว้ในห้องอุณหภูมิปกตินาน 7 – 10 วัน นำผลมาผ่าตรวจดูการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ ถ้าพบหนอนแมลงวันผลไม้ นำไปเลี้ยงต่อ เพื่อให้เข้าดักแด้ รอจนฟักนำไปจำแนกชนิดต่อไป

ศึกษาการเข้าทำลายโดยการทำแผลบนผลส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์ ทั้งในแปลง และในห้องปฏิบัติการทำการเจาะรูบนผลส้มโอเปรียบเทียบความลึกถึงเนื้อส้มโอ ไม่ถึงเนื้อส้มโอ และไม่ทำแผล ปล่อยให้แมลงวันผลไม้ลงทำลาย จากนั้นเก็บผล วางไว้ในห้องอุณหภูมิปกติ เพื่อให้หนอนเจาะออกมาเข้าดักแด้ รอจนฟักนำไปจำแนกชนิดต่อไป

2. การป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้ในส้มโอโดยใช้เหยื่อพิษ

การดำเนินงานได้วางแผนการวิจัยโดยใช้แผนการทดลองแบบ RCBD (Randomize Complete Block Design) 4 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น มี 7 กรรมวิธี

ขั้นตอนและวิธีในการวิจัย ดำเนินการตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

ทำการพ่นเหยื่อพิษยีสต์โปรตีนออโตไลเซท อัตรา 200 มล.ผสมสาร malathion 83% EC 20 มล. ผสมน้ำจนครบ 5 ลิตร ทุก 7 วัน จนถึงระยะก่อนเก็บเกี่ยว 7 วัน โดยพ่นภายในทรงพุ่มใต้ใบ ความสูงระดับประมาณ 100 – 150 ซม. จากพื้นดิน พ่นเป็นจุด 1 จุด/ต้น จุดละ 50 มล. เป็นวงกลมรัศมี ประมาณ 0.5 ม. ตามกรรมวิธีที่กำหนด ดังนี้

1. เริ่มพ่นเหยื่อพิษก่อนเก็บเกี่ยวส้มโอ 42 วัน
2. เริ่มพ่นเหยื่อพิษก่อนเก็บเกี่ยวส้มโอ 35 วัน
3. เริ่มพ่นเหยื่อพิษก่อนเก็บเกี่ยวส้มโอ 28 วัน
4. เริ่มพ่นเหยื่อพิษก่อนเก็บเกี่ยวส้มโอ 21 วัน
5. เริ่มพ่นเหยื่อพิษก่อนเก็บเกี่ยวส้มโอ 14 วัน
6. เริ่มพ่นเหยื่อพิษก่อนเก็บเกี่ยวส้มโอ 7 วัน
7. ไม่พ่นเหยื่อพิษ

ทุกครั้งที่ทำการพ่นเหยื่อพิษ สุ่มสำรวจการทำลายของแมลงวันผลไม้บนผล ส้มโอ จำนวน 20 ผล/ต้น ในทุกกรรมวิธี ตรวจนับการทำลายบนผล จนถึงระยะเก็บเกี่ยว สุ่มเก็บผล 20 ผล/ซ้ำ มาใส่กรงตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิปกติ 7 – 10 วัน ผ่าดูการทำลายของแมลงวันผลไม้ นับจำนวนรอยทำลาย และปริมาณแมลงวันผลไม้ที่พบ

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2551 – กันยายน 2552 ที่สวนส้มโอของเกษตรกร อำเภอโพธิ์ประทับช้าง จังหวัดพิจิตร และห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาในแปลงส้มโอ พันธุ์ท่าข่อย พันธุ์ขาวแตงกวา และพันธุ์ทองดี ของเกษตรกร ที่ อำเภอโพธิ์ประทับช้าง จังหวัดพิจิตร โดยการสำรวจการทำลายบนต้น และเก็บผลส้มโอในระยะต่างๆ คือก่อนเก็บเกี่ยว 2 เดือน 1 เดือน 21 วัน 14 วัน 7 วัน และในระยะเก็บเกี่ยว ครั้งละ 20 ผล ในแต่ละแปลง ผลการสำรวจในแปลงส้มโอพันธุ์ท่าข่อย จำนวน 11,898 ผล พบการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ 192 ผล ทำการเก็บผลใส่ถาดคลุมด้วยถุงตาข่าย วางไว้ในห้องอุณหภูมิปกตินาน 7 – 10 วัน นำผลมาผ่าตรวจดูเมื่อพบหนอนเก็บเลี้ยงจนเป็นตัวเต็มวัย พบ แมลงวันผลไม้ 2 ชนิด คือ *Bactrocera dorsalis* และ *B. correcta* การสำรวจในแปลงส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวาและทองดี จำนวน 1,921 และ 5,124 ผล ตามลำดับ ไม่พบการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ ส่วนการศึกษาโดยการทำแผลบนผลส้มโอทั้ง 3 พันธุ์ ทั้งในแปลงส้มโอ และในห้องปฏิบัติการ พบว่าแมลงวันผลไม้สามารถวางไข่บนรอยแผล และสามารถเจริญเติบโตได้ แต่ไม่สามารถเจาะออกมาเข้าดักแด้นอกผลได้ ซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การสำรวจในแปลงส้มโอพันธุ์ท่าข่อย จำนวน 11,898 ผล พบการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้ 192 ผล พบ แมลงวันผลไม้ 2 ชนิด คือ *Bactrocera dorsalis* และ *B. correcta* ในแปลงส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา และทองดี จำนวน 1,921 และ 5,124 ผล ตามลำดับ ไม่พบการเข้าทำลายของแมลงวันผลไม้

ศึกษาประสิทธิภาพการห่อผลส้มโอร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลง ในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ

Study on Using of insecticides and Fruit Wrapping to Protected from Pummelo Fruit Borer

ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา บุษบง มนัสมั่นคง วิภาดา ปลอดครบุรี ศรุต สุทธิอารมณ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาประสิทธิภาพการห่อผลส้มโอร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลงในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอดำเนินการในสวนส้มโอของเกษตรกร กิ่งอำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด ระหว่างเดือนเมษายน –กันยายน 2552 วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น 5 กรรมวิธี คือ (1) พ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อส้มโอเริ่มติดผล จำนวน 4 ครั้งทุกสัปดาห์ จนผลส้มโออายุประมาณ 1.5 เดือน และทำการห่อผลส้มโอด้วยถุงผ้าไนลอนจนถึงระยะเก็บเกี่ยว (2) พ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อส้มโอเริ่มติดผล จำนวน 4 ครั้งทุกสัปดาห์ จนผลส้มโออายุประมาณ 1.5 เดือน และทำการห่อผลส้มโอด้วยถุงเคลือบสารเคมีจนถึงระยะเก็บเกี่ยว (3) พ่นสาร cypermethrin/ phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อส้มโอเริ่มติดผล จำนวน 4 ครั้งทุกสัปดาห์ จนผลส้มโออายุประมาณ 1.5 เดือน และทำการห่อผลส้มโอด้วยถุง spunbonded olefin จนถึงระยะเก็บเกี่ยว (4) พ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อส้มโอเริ่มติดผล จำนวน 4 ครั้งทุกสัปดาห์ จนผลส้มโออายุประมาณ 1.5 เดือน และทำการห่อผลส้มโอด้วยถุงกระดาษห่อผลไจนถึงระยะเก็บเกี่ยว เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่ป้องกันกำจัด พบว่า กรรมวิธีที่มีการพ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ร่วมกับการห่อผลด้วยถุง spunbonded olefin และถุงผ้าไนลอนจนถึงระยะเก็บเกี่ยว สามารถป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอได้ 100% โดยสีผิวของส้มโอใกล้เคียงกับกรรมวิธีที่ไม่มีการป้องกันกำจัด และมีความคงทนต่อสภาพแวดล้อม โดยมีต้นทุน 1 และ 5 บาทต่อถุง

คำหลัก : ส้มโอ หนอนเจาะผลส้มโอ, *Citripestis sagittiferella* Moore การป้องกันกำจัด สารฆ่าแมลง การห่อผล

รหัสการทดลอง 01-10-49-02-03-01-04-52

คำนำ

หนอนเจาะผลส้มโอ *Citripestis sagittiferella* Moore เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งของส้มโอ โดยหนอนจะเจาะกินเข้าไปในผลส้มโอ รอยเจาะและรอยทำลายจะเห็นได้ชัดเจน เพราะมีมูลของหนอนที่ถ่ายออกมา บริเวณรอยแผลมียางไหลเยิ้ม ทำให้ผลเน่าและร่วง โดยหนอนเริ่มเข้าทำลายตั้งแต่ส้มโออายุ 45 วัน จนถึงระยะเก็บเกี่ยว หากมีการระบาดรุนแรงความเสียหายอาจเกิดขึ้นได้ 100% (บุษบง, 2542) วิธีการในการป้องกันกำจัดที่แนะนำในเอกสารเกษตรดีที่เหมาะสมและในเอกสารคำแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช คือ การพ่นสารเมทามิโดฟอส 3-4 ครั้งทุก 10 วัน หลังจากนั้นห่อผลด้วยถุงพลาสติก (กรมวิชาการเกษตร, 2545; กองกีฏและสัตววิทยา, 2545) จากการศึกษาชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนอนเจาะผลส้มโอในปี 2549-2550 พบว่าผีเสื้อเพศเมียวางไข่เป็นกลุ่ม 2-29 ฟอง บริเวณส่วนกลางผลถึงก้นผลหรือส่วนล่างของผลส้มโอในช่วงเวลากลางคืน ไข่มีลักษณะกลมแบนสีขาวเรียงซ้อนทับกันเป็นกลุ่ม ระยะไข่เฉลี่ย 5.30 $\pm$ 0.87 วัน หนอนเมื่อแรกฟักมีสีเหลืองอ่อนเข้าทำลายผลส้มโอตั้งแต่ผลส้มโออายุประมาณ 1 สัปดาห์ ฉะนั้นการใช้สารฆ่าแมลงเพียงอย่างเดียวในการป้องกันกำจัดคงเป็นไปได้ยากและเป็นการสิ้นเปลืองต้นทุนการผลิต ตลอดจนอาจทำให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในผลผลิต การห่อผลเป็นวิธีการหนึ่งในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอได้ ดังนั้นควรทำการวิจัยเพื่อหาวัสดุห่อที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลส้มโอ เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะผลแบบผสมผสาน ที่มีประสิทธิภาพ ประหยัดและปลอดภัยต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงส้มโอ อายุประมาณ 4-10 ปี
2. สารฆ่าแมลง cypermethrin/phosalone (Parzon 6.25/22.5% EC) สารฆ่าไร amitraz (Migreen 20%w/v EC)
3. สารจับใบ
5. เครื่องยนต์พ่นสารแรงดันน้ำสูง (แบบลากสาย)
6. ถุงผ้าไนลอน ถุงพลาสติกเคลือบสาร chlorpyrifos 1% (เทพนาโน) ถุง spunbonded olefin ถุงกระดาษห่อผล (ซุนฟง)
7. ถังพลาสติก กระบอกตวง/บีกเกอร์ ป้าย บันไดอลูมิเนียม
8. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาน, ดินสอ เป็นต้น

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น คือ (1) พ่นสาร

cypermethrin/phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อส้มโอเริ่มติดผล จำนวน 4 ครั้งทุกสัปดาห์ จนผลส้มโออายุประมาณ 1.5 เดือน และทำการห่อผลส้มโอด้วยถุงผ้าไนลอนจนถึงระยะเก็บเกี่ยว (2) พ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อส้มโอเริ่มติดผล จำนวน 4 ครั้งทุกสัปดาห์ จนผลส้มโออายุประมาณ 1.5 เดือน และทำการห่อผลส้มโอด้วยถุงเคลือบสารเคมีจนถึงระยะเก็บเกี่ยว (3) พ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อส้มโอเริ่มติดผล จำนวน 4 ครั้งทุกสัปดาห์ จนผลส้มโออายุประมาณ 1.5 เดือน และทำการห่อผลส้มโอด้วยถุง spunbonded olefin จนถึงระยะเก็บเกี่ยว (4) พ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อส้มโอเริ่มติดผล จำนวน 4 ครั้งทุกสัปดาห์ จนผลส้มโออายุประมาณ 1.5 เดือน และทำการห่อผลส้มโอด้วยถุงห่อผลไม้ “ซุนฟง”จนถึงระยะเก็บเกี่ยว เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่มีป้องกันกำจัด โดยทดสอบในแปลงส้มโอที่ให้ผลผลิตแล้ว จำนวน 24 ต้น ทำการปฏิบัติตามกรรมวิธีต่างๆ ทำการสุ่มสำรวจผลส้มโอที่ถูกทำลาย และสังเกตวัสดุห่อทุกเดือน บันทึกจำนวนผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลทำลายเมื่อผลส้มโออยู่ในระยะเก็บเกี่ยว ศัตรูพืชชนิดอื่น เช่น เพลี้ยแป้ง เพลี้ยหอย ไรสนิม ความทนทานของวัสดุห่อ ต้นทุนการป้องกันกำจัดโดยวิธีต่างๆ ตรวจวัดขนาด น้ำหนัก และสีผิวส้มโอและนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองระหว่างเดือนเมษายน –กันยายน 2552 ที่สวนส้มโอของเกษตรกร กิ่งอำเภอเกาะช้าง จังหวัดตราด

ผลและวิจารณ์

ปี 2252

<u>ผลต่อป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ</u> **(Table 1)**

ก่อนทำการห่อผลได้ทำการพ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร จำนวน 4 ครั้งทุกสัปดาห์ จนผลส้มโออายุประมาณ 1.5 เดือน พบว่า ก่อนพ่นสารทดลอง ทุกกรรมวิธีไม่พบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ

หลังจากพ่นสารทุกครั้งก่อนทำการห่อผล พบว่า ทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นสารไม่พบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอเลย แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีไม่มีการป้องกันกำจัดซึ่งพบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลายหลังการพ่นสารครั้งที่ 1, 2,3 และ 4 ค่อยๆ เพิ่มขึ้น 1.44, 4.29, 6.17 และ 6.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังจากได้ทำการห่อผล จนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิต พบว่า ผลส้มโอจากกรรมวิธีที่พ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75%และห่อผลส้มโอด้วยถุงผ้าไนลอน ถุง spunbonded olefin และถุงห่อผล ไม่พบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอเข้าทำลาย ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่มีการป้องกันกำจัด ซึ่งพบการเข้าทำลายเพียง 7.50 เปอร์เซ็นต์ แต่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีที่พ่นสารและห่อด้วยถุงพลาสติกเคลือบสาร chlorpyrifos 1% ซึ่งพบผลที่ถูกทำลาย 12.50 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาผลส้มโอที่ร่วงในแต่ละกรรมวิธี พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% และห่อด้วยถุงผ้าไนลอนไม่พบผลส้มโอที่ถูกหนอนเจาะผลส้มโอทำลาย ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% และห่อด้วยถุงห่อผล และถุง spunbonded olefin ซึ่งพบผลร่วง 1.25 และ 5.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีที่พ่นสาร cypermethrin/ phosalone 28.75% และห่อผลด้วยถุงพลาสติกเคลือบสารเคมี และกรรมวิธีไม่มีการป้องกันกำจัด ซึ่งพบผลส้มโอร่วงถึง 15.00 และ 41.25 เปอร์เซ็นต์

จากการพิจารณาการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอกับผลส้มโอก่อนการห่อผล จะเห็นได้ว่า การพ่นสาร cypermethrin/phosalone 28.75% ก่อนการห่อสามารถป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่มีการป้องกันกำจัด และเมื่อพิจารณาดูผลส้มโอหลังการห่อผล พบการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอในกรรมวิธีที่ห่อด้วยถุงพลาสติกเคลือบสารเคมี ซึ่งเป็นถุงชนิดเดียวที่ก้นถุงเปิด สอดคล้องกับ ศรี จำนรรจ์และคณะ (2550) ซึ่งรายงานว่า ผีเสื้อเพศเมียวางไข่เป็นกลุ่ม 2-29 ฟอง บริเวณส่วนกลางผลถึงก้นผลหรือส่วนล่างของผลส้มโอในช่วงเวลากลางคืน ทำให้กรรมวิธีที่ห่อด้วยถุงพลาสติกเคลือบสารเคมีไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอ นอกจากนั้นวิธีการนี้ยังทำให้ผลส้มโอร่วงมากกว่ากรรมวิธีที่ห่อผลด้วยวัสดุอื่นๆ

<u>ลักษณะผลส้มโอหลังเก็บเกี่ยว</u> (Table 2, Figure 1)

พบว่าผลส้มโอที่เก็บเกี่ยวได้ในแต่ละกรรมวิธีมีน้ำหนักอยู่ในช่วง 837.20 – 1,017 กรัม/ผล เส้นรอบวง 42.64 – 45.97 เซนติเมตร เมื่อพิจารณาถึงสีผิวผล พบว่าทุกกรรมวิธีมีสีเขียวถึงเขียวอมเหลือง หรืออยู่ในช่วงสี 144a-c, 146a-c,151a-b เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ห่อผลด้วยวัสดุต่างๆ พบว่า กรรมวิธีที่ห่อผลด้วยถุงผ้าไนลอน และกรรมวิธีที่ห่อผลด้วยถุง spunbonded olefin และกรรมวิธีไม่มีการป้องกันกำจัด มีผลส้มโอสีอยู่ในช่วง 114a-c 65 60 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ห่อผลด้วยถุงกระดาษ และ กรรมวิธีที่ห่อด้วยถุงพลาสติกเคลือบสารเคมี ซึ่งพบผลส้มโอ114a-c 50 และ 35 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาศัตรูพืชอื่นๆ พบบนผลส้มโอที่เก็บเกี่ยวแล้ว พบว่า ทุกกรรมวิธีพบศัตรูพืชชนิดอื่นๆ เช่น เพลี้ยหอย เพลี้ยไฟ ราดำ และอาการดาวกระจาย แต่มีปริมาณมากน้อยต่างกัน จากการสังเกตพบว่า กรรมวิธีที่ห่อด้วยถุงผ้าไนลอนพบการเข้าทำลายของเพลี้ยหอยในปริมาณค่อนข้างหนาแน่น ส่งผลให้ผิวของส้มโอไม่สวยงาม ซึ่งอาจจะเกิดจากการผูกปากถุงซึ่งเป็นหูรูดและไม่ค่อยมิดชิดเหมือนหูรูดของถุง spunbonded olefin ทำให้มีช่องว่างให้ตัวอ่อนของเพลี้ยหอย (crawler) เข้าไปในถุงได้

<u>ความคงทนและราคาของถุง</u> (Table 2)

เมื่อพิจารณาความคงทนของถุงห่อทั้ง 4 ชนิด พบว่า ถุงผ้าไนลอน ถุงพลาสติกเคลือบสารเคมี และถุง spunbonded olefin ไม่พบการฉีกขาดเลย ส่วนถุงห่อผลซึ่งทำมาจากกระดาษพบฉีกขาดถึง 38.75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาราคาของถุง พบว่า ถุงพลาสติกเคลือบสารเคมี และ ถุง spunbonded olefin มีราคาถูกที่สุดเพียง 1 บาทต่อถุง ส่วนถุงผ้าไนลอน มีราคาแพงที่สุด 5 บาทต่อถุง (ไม่รวมค่าตัดเย็บ)

จากผลการทดลองทั้งหมดจะเห็นว่า การห่อผลร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลงมีแนวโน้มที่ดีในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอได้ โดยถุงห่อที่ดูมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของหนอนเจาะผลส้มโอได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ตลอดจนสีผิวของส้มโอใกล้เคียงกับสีผิวส้มโอที่ไม่มีการห่อ และมีความคงทนต่อสภาพแวดล้อม ได้แก่ ถุง spunbonded olefin และถุงผ้าไนลอน แม้จะมีแมลงศัตรูพืชขนาดเล็กเขาทำลายทำให้สีผิวไม่สวยงาม แต่ก็อาจจะเนื่องจากวิธีการห่อที่ไม่มิชิด ซึ่งต้องดำเนินการแก้ไขและทดสอบต่อไป อนึ่งการทดลองนี้ไม่มีกรรมวิธีที่พ่นสารฆ่าแมลงตั้งแต่ผลเล็กถึงผลเก็บเกี่ยวเนื่องจากงบประมาณที่ได้ไม่เพียงพอ ทำให้ไม่สามารถทราบประสิทธิภาพและต้นทุนของการพ่นสารฆ่าแมลงได้เพื่อใช้เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ห่อผลร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลง และกรรมวิธีไม่มีการป้องกันกำจัดได้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

คุณสุริยะ เกาะม่วงหมู่ เจ้าหน้าที่วิเคราะห์โครงการ คุณณิชาพร ฉ่ำประวิง 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.

Table 1 Percentage of accumulate damaged fruit cause by citrus fruit borer before bagging fruits and percentage of damaged fruits cause by citrus fruit borer and dropping fruits of harvesting fruits at pummelo's orchard, Koh Chang, Trat , April – September 2009

treatment	before bagging					havesting	
	accumulate damaged fruits/ tree (%) [1/]					damaged fruits / tree (%)[2/]	dropping fruits/tree (%)[2/]
	Before app.	7 DAA#1	7 DAA#2	7 DAA#3	7 DAA#4		
cypermethrin/phosalone 28.75% + nylon cloth bag	0	0 a[3/]	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
cypermethrin/phosalone 28.75% + plastic bag with chlorpyrifos 1%	0	0 a	0 a	0 a	0 a	12.50 b	15.00 b
cypermethrin/phosalone 28.75% + spunbonded olefin bag	0	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	5.00 ab
cypermethrin/phosalone 28.75% + paper bag	0	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	1.25 a
control	0	1.44 b	4.29 b	6.17 b	6.83 b	7.50 ab	41.25 c
CV (%)	-	96.62	17.62	60.49	51.77	22.61	11.08

[1/] Average of whole fruits from 4 replications transformed by Arcsine (Sqr(x/100))

[2/] Average of 80 fruits from 4 replications transformed by Arcsine (Sqr(x/100))

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

2130

Table 2 Size, weight, other pest and colour of havesting fruits and strong, cost of bag in various treatment

treatment	fruit				bag	
	weight (g.)	size (cm)	other pest	color	strong	Cost (Baht/ unit)
cypermethrin/phosalone 28.75% + nylon cloth bag	1,017.00	45.97	scale insect, thrips, sooty mould	144a-c 146b 151a-b	√	5[1/]
cypermethrin/phosalone 28.75% + plastic bag with chlorpyrifos 1%	888.05	43.90	scatter, thrips, ant, sooty mould	144a-c 146b-c 151a-b	√	1
cypermethrin/phosalone 28.75% + spunbonded olefin bag	889.00	43.81	thrips, sooty mould	144a-c 151a-b	√	1
cypermethrin/phosalone 28.75% + paper bag	837.20	43.74	thrips, sooty mould, scatter	144a-b 146a-c 151a	×	2
control	799.00	42.64	thrips, sooty mould, scale insect	-	-	-

[1/] not include sewing price

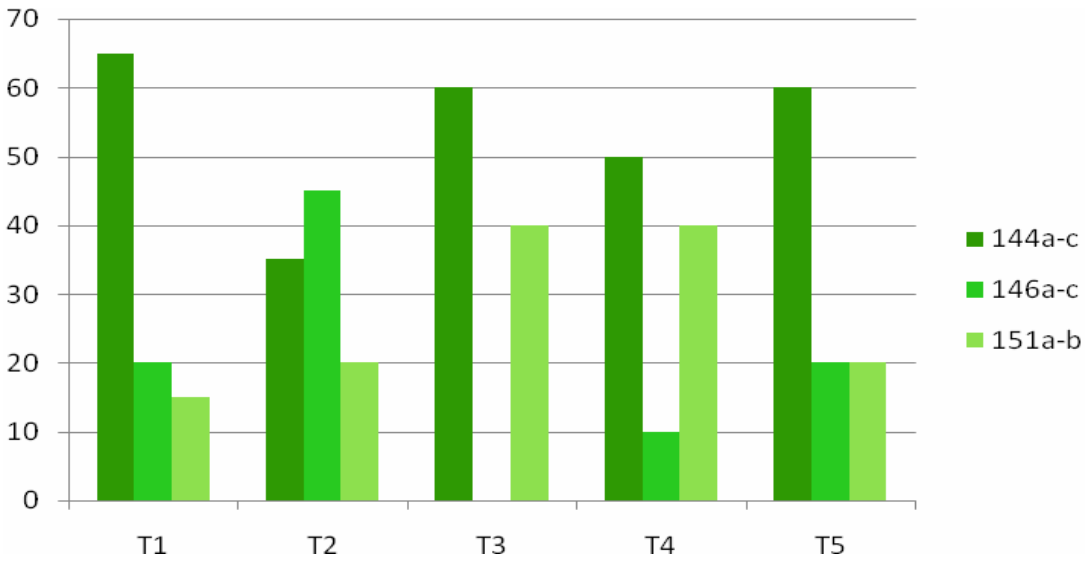


Figure 1 Percentage of colors of havesting fruits in various treatments

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

Controlling Canker Disease on Pomelo by Antagonistic Microorganism

นลินี ศิวากรณ์ สุพัตรา อินทวิมลศรี
วสันต์ ผ่องสมบูรณ์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain WD20 ในรูปผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจากเชื้อที่แยกและจำแนกได้จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย โดยเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อสดของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* strain WD20 ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อกับสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์และน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ โดยดำเนินการทดสอบบนยอดของส้มโอที่แตกใหม่ขนาดความยาว 1.5 นิ้ว และทำให้เกิดโรคแคงเกอร์ด้วยการฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงแกอร์ (*Xanthomonas campestris* pv. *citri*) อัตราความเข้มข้นของเชื้อ 1.179 X 10^{11} cfu/ml และฉีดพ่นด้วยกรรมวิธีต่างๆ ที่ทดสอบสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ในแปลงปลูกส้มโอ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา พบว่า ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ผลิตขึ้นจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* strain WD20 สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ดีที่สุด โดยให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดเท่ากับ 25.61% ซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้ในรูปเชื้อสดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20 ที่เลี้ยงบนอาหาร โดยให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 26.62% นอกจากนี้การฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20 ทั้งในรูปผงเชื้อและเชื้อสดทำให้ต้นส้มโอมีการเจริญเติบโตดี โดยมีผลต่อเนื้อเยื่อพืชทำให้ความยาวลำต้นส่วนยอดเจริญเติบโตขยายตัวยาวกว่าปกติ ใบมีขนาดใหญ่ ต้นมีความสมบูรณ์และแข็งแรง ส่วนคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 51.74% ซึ่งไม่แตกต่างกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ(น้ำ)ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 54.02% แสดงให้เห็นว่า การใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ไม่สามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ และการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจากเชื้อ *B. subtilis* strain WD20 สามารถนำมาใช้และแนะนำให้เกษตรกรใช้ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้อย่างมีประสิทธิภาพ

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) ที่มุ่งใช้เทคโนโลยีทันสมัยเพื่อเพิ่มพูนผลผลิตทางการเกษตรเพื่อให้เพียงพอต่อประชากรโลกซึ่งนับวันจะมีอัตราเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ มิใช่หนทางแก้ไขปัญหาในระยะยาว กลับมีผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมและก่อให้เกิดปัญหาอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นผู้เกี่ยวข้องในวิชาการทุกแขนงทั่วโลกต่างหันมาให้ความสนใจต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น เร่งการวิจัยและพัฒนาการปฏิบัติให้เป็นไปในลักษณะกลับคืนสู่ธรรมชาติ การศึกษาแนวทางการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีวภาพ (ชีววิธี) เริ่มต้นเมื่อกลางปี ค.ศ. 1920 เมื่อมีการค้นพบว่าปัญหาโรคพืชสามารถแก้ไขหรือทำให้ความรุนแรงลดลงได้ด้วยการใช้สารอินทรีย์ใส่ลงไปในดินที่ปลูกพืช โดยมุ่งเน้นการควบคุมโรคโดยอาศัยธรรมชาติจัดการกันเองหรือที่เรียกว่าโดยวิธีธรรมชาติ(สมคิด,2540) การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยชีววิธีก็เป็นกรรมวิธีหนึ่งในการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเพื่อการจัดการโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพป้องกันการดื้อยาของสารเคมีรวมทั้งพิษตกค้างในอาหาร เพิ่มความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เข้าไปครอบครองพื้นที่ก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคจะเข้าทำลาย เพื่อกระตุ้นหรือชักนำให้พืชสร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช ซึ่งการปฏิบัติดังกล่าวจะลดการใช้สารเคมีได้ และลดการระบาดของโรคอย่างรุนแรงได้ ซึ่งวิธีดังกล่าวควรได้ศึกษาเพื่อให้สามารถนำมาใช้ในการจัดการควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ โดยการดัดแปลงหรือพัฒนาให้มีความเหมาะสมต่อสภาพการผลิตส้มโอ อันจะเป็นแนวทางให้เกษตรกรสามารถเลือกและเพิ่มมูลค่าของผลผลิตที่ปราศจากพิษตกค้าง

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกส้มโอที่ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา
2. ผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20
3. เชื้อสดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20
4. สารจับใบ และสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์
5. กล้องจุลทรรศน์, เครื่องแก้ว, ตาชั่ง, เครื่องเขย่า
6. ผงทัลคัม, เมทิลเซลลูโลส, แมกนีเซียมซัลเฟต
7. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย PSA และ PSB

วิธีการ

1.การวางแผนการทดลอง

- วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ยอด

2. การเตรียมผงเชื้อ *B. subtilis* strain WD20

2.1 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20 บนอาหาร PSB ที่บรรจุอยู่ใน flask ขนาด 500 มล. ภายใต้เครื่องเขย่าด้วยอัตราความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที

2.2 หลังจากเชื้อ *B. subtilis* ในข้อ 2.1เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว จึงเติมแมกนีเซียมซัลเฟตลงไปใน flask และตามด้วยเมททิลเซลลูโลส

2.3 นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในผงทัลคัม กวนให้เข้ากัน นำมาผึ่งไว้จนแห้ง และบดเป็นผง

2.4 นำผงเชื้อ *B. subtilis* strain WD20 ในข้อ 2.3 มาผสมน้ำ อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 1 ลิตร ละลายน้ำก่อนนำไปฉีดพ่น 1 วัน และก่อนการฉีดพ่นให้ใส่สารจับใบ อัตรา 1 หยด/น้ำ 20 ซีซี

3. การเตรียมเชื้อสด *B. subtilis* strain WD20

3.1 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20 บนอาหาร PSA เป็นเวลา 4 วัน

3.2 นำเชื้อที่เจริญเติบโตแล้วในข้อ 3.1 มาผสมน้ำ 1 ลิตร และใส่สารจับใบอัตรา 1 หยด/น้ำ 20 ซีซี

4.การเตรียมสารเคมี

- นำสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ อัตรา 4 กรัม/น้ำ 1 ลิตร และใส่สารจับใบอัตรา 1 หยด/น้ำ 20 ซีซี

5. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์

5.1 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ *X. campestris* pv. *citri* โดยวิธี streak plate บนจานอาหาร PSA เป็นเวลา 3 วัน

5.2 นำเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *citri* ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PSA เป็นเวลา 3 วัน มาผสมกับน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ให้ได้ปริมาณเชื้อ 1.179 X 10^{11} cfu/ml

6. การเตรียมต้นส้มโอ

6.1 ตัดแต่งกิ่งส้มโอเพื่อให้ต้นส้มโอแตกยอดใหม่ สำหรับใช้ในการทดลองเนื่องจากใบอ่อนจะอ่อนแอต่อการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

6.2 รดน้ำและใส่ปุ๋ยเพื่อเร่งการเจริญเติบโต

6.3 เมื่อยอดอ่อนแตกออกเป็นพุ่มเล็ก ๆ โดยมีความยาวยอดๆละ 1.5 นิ้ว ทำการปักป้ายในแต่ละยอดโดยเลือกยอดที่มีขนาดเท่า ๆ กัน

7. วิธีดำเนินการทดลอง

7.1 นำสารตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ในข้อ 2, 3 และ 4 ทั้งหมด 3 ชนิด มาฉีดพ่นบนยอดส้มโอตามกรรมวิธีที่กำหนดในแต่ละต้นที่ปักป้ายไว้โดยฉีดพ่น 2 ครั้ง/สัปดาห์ การฉีดพ่นแต่ละครั้งห่างกัน 3 วัน

7.2 ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทำการทดลอง ให้ฉีดพ่นสารตามกรรมวิธีต่าง ๆ 1 วัน ก่อนการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 3 บนยอดทุกยอดที่กำหนดตามกรรมวิธีต่างๆ และหลังจากฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์แล้ว 1 วัน ให้ฉีดพ่นสารตามกรรมวิธีต่างๆ เพื่อป้องกันและกำจัดเชื้อสาเหตุโรคก่อนและหลังการปลูกเชื้อ

7.3 ฉีดพ่นสารตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ในข้อ 2, 3 และ 4 บนยอดส้มโอต่อไปตามกรรมวิธีที่กำหนดเช่นเดียวกับข้อ 7.1 จนยอดส้มโอแสดงอาการเกิดโรค

8. การตรวจและบันทึกผลการทดลอง

8.1 ตรวจนับจำนวนแผลและประเมินระดับคะแนนความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในแต่ละใบบนช่อที่กำหนดในแต่ละกรรมวิธีตามคู่มือการประเมินระดับคะแนนของ James (1971) ดังนี้

0 = ไม่พบเกิดโรคแคงเกอร์

1 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 1-10 %ของพื้นที่ใบ

2 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 11-25 %ของพื้นที่ใบ

3 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 26-50 %ของพื้นที่ใบ

4 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 51-75 %ของพื้นที่ใบ

5 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 76-100 %ของพื้นที่ใบ

8.2 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ผลรวม (ระดับ X จำนวนใบของแต่ละระดับ) X 100}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด X ระดับสูงสุด}}$$

8.3 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ

เวลาและสถานที่ ธันวาคม 2551 - กันยายน 2552

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ. กรมวิชาการเกษตร

แปลงปลูกส้มโอที่ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอโดยเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์และน้ำในแปลงปลูกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา ซึ่งจากการทดลองพบว่า ผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20 ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดเท่ากับ 25.61% และมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคในระดับเดียวกันกับการใช้เชื้อสด *B. subtilis* strain WD20 ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 26.62% นอกจากนี้การฉีดพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20 ทั้งในรูปผงเชื้อและเชื้อสดทำให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ลดลง 28.41 % และ 27.40 % ตามลำดับ และทำให้ต้นส้มโอมีการเจริญเติบโตดี โดยต้นส้มโอมีความสมบูรณ์แข็งแรงกว่าปกติ ใบมีขนาดใหญ่ ส่วนการใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 51.74% ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ(น้ำ) ที่ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 54.02% (ตารางที่ 1) จากการทดลองนี้สามารถพิสูจน์ได้ว่าการใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ไม่สามารถลดความรุนแรงของการเกิดโรคแคงเกอร์ได้เลยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย *B. subtilis* strain WD20 และผลิตขึ้นเป็นผลิตภัณฑ์สามารถลดความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากปีที่ผ่านมาได้แยกและจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* strain WD20 นำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สารชีวภัณฑ์ (ในรูปผงเชื้อ) เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ และได้นำมาทดลองการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอเปรียบเทียบกับสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ โดยฉีดควบคุมโรคก่อนและหลังการฉีดพ่นเชื้อแคงแกอร์โดยฉีดพ่นตามกรรมวิธีต่าง ๆ ที่กำหนดบนใบยอดของส้มโอสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ในแปลงปลูกส้มโอ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา สามารถสรุปได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20 ทั้งในรูปผงเชื้อที่ผลิตขึ้นและเชื้อสดที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถยับยั้งและลด

การเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ดีที่สุด โดยให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรค เท่ากับ 25.61% และ 26.62% ตามลำดับ และยังส่งผลต่อการเจริญเติบโตของต้นส้มโอโดยพบว่า ยอดของส้มโอมีใบขนาดใหญ่ขึ้น และลำต้นมีความแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งคาดว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20 สามารถสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตจึงทำให้ยอดส้มโอมีความใหญ่และแข็งแรงมากกว่าปกติ ในขณะที่การใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรค เท่ากับ 51.74% และกรรมวิธีเปรียบเทียบ ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรค เท่ากับ 54.02% การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* strain WD20 ทั้งในรูปผงเชื้อและเชื้อสดสามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ได้ในระดับ 27-28 % ส่วนสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์สามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้เพียง 2% ดังนั้นการใช้สารชีวภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจากเชื้อ *B. subtilis* strain WD20 ที่แยกได้จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำมาใช้เพื่อป้องกันกำจัดและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้อย่างมีประสิทธิภาพ และไม่ส่งผลกระทบต่อเกษตรกร เนื่องจากไม่มีรายงานการเกิดโรคกับมนุษย์ ส่วนการใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ในแปลงเกษตรกรเป็นการสิ้นเปลืองและเพิ่มต้นทุนการผลิตของเกษตรกรโดยไม่มีความจำเป็นทั้งยังไม่สามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์และสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ต่อโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

กรรมวิธี	ลำดับ	เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคแคงเกอร์	เปอร์เซ็นต์โรคแคงเกอร์เพิ่ม(ลด)
น้ำ (Control)	4	54.02 b	0
คอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์	3	51.74 b	(2.28)
เชื้อสด *B. subtilis* strain WD20	1	26.62 a	(27.40)
ผงเชื้อ *B. subtilis* strain WD20	2	25.61 a	(28.41)
ค่าเฉลี่ย		40.29	

เอกสารอ้างอิง

สมคิด ดิสถาพร.2540. การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี. กรมวิชาการเกษตร. 92 หน้า

James,C. 1971 . A Manual of Assessment Keys for Plant Diseases. The Amarican Phytopathological Society . St. Paul MN 55121 USA. 28 pp.

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.

การใช้พืชสมุนไพรเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

Controlling Canker Disease on Pomelo by Medicinal Plants

นลินี ศิวากรณ์ บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ เพลินพิศ สงสังข์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การใช้สมุนไพรเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ โดยทดสอบสมุนไพรที่ได้คัดเลือกมาจำนวน 3 ชนิด ซึ่งมีน้ำเป็นตัวทำละลายไปฉีดบนยอดของส้มโอที่ทำให้เกิดโรคด้วยการฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงแกอร์ (*X.campestris* pv. *citri*) อัตราความเข้มข้นของเชื้อ 1.179 X 10^{11} cfu/ml บนยอดส้มโอที่แตกใหม่ขนาดความยาว 1.5 นิ้ว และฉีดพ่นสารสกัดสมุนไพรบนยอดส้มโอที่ทำการทดลองก่อนและหลังการปลูกเชื้อสัปดาห์ละ 2 ครั้ง จนกระทั่งยอดส้มโอแสดงอาการเกิดโรค จึงตรวจให้คะแนนและประเมินความรุนแรงของโรค ในแปลงปลูกส้มโอของเกษตรกร อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา พบว่าสารสกัดสมุนไพรจากกระเทียม สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของใบยอดส้มโอ โดยให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 30.20% ซึ่งสามารถลดการโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ 23.82% การใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 51.74% และมีเปอร์เซ็นต์โรคลดลงเพียง 2.28% และกรรมวิธีเปรียบเทียบให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 54.02%

รหัสโครงการ 01 10 49 02

คำนำ

ส้มโอเป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมในต่างประเทศโดยในปี 2550 ไทยได้ส่งส้มโอรวมถึงเกรปฟรุ๊ตไปต่างประเทศปริมาณ 10,071 เมตริกตัน มูลค่า 119,953,000 บาท และปี 2551 มีปริมาณการส่งออกส้มโอรวมถึงเกรปฟรุ๊ตจำนวน 11,218 เมตริกตัน มูลค่า 109,231,000 บาท (นิรนาม, 2551) 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 canker B พบระบาดในอาร์เจนตินา อุรุกวัย และปารากวัย เกิดกับพวกมะนาวหวาน canker C พบระบาดในบราซิล เกิดกับมะนาว Maxican lime (Whiteside *et al*, 1991) การป้องกันกำจัดโรคนี้มีทั้งการใช้วิธีการเขตกรรม การกักกันโรคมิให้แพร่ระบาดเข้ามาในแหล่งปลูก การเผาทำลาย การใช้กิ่งพันธุ์ปลอดโรค รวมทั้งการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดจำพวกคอปเปอร์ ซึ่งการใช้สารเคมีดังกล่าวเพียงเพื่อป้องกันการติดเชื้อและต้องทำอย่างสม่ำเสมอ โดยยังไม่มีสารเคมีชนิดใดที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุได้โดยตรงนอกจากการใช้สารปฏิชีวนะที่ใช้ในมนุษย์เช่น Streptomycin แต่การใช้สารปฏิชีวนะดังกล่าวอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค เนื่องจากสารปฏิชีวนะดังกล่าวจะตกค้างอยู่ในผลิตผลและเมื่อผู้บริโภครับประทานเข้าไปทำให้มีสารปฏิชีวนะตกค้างอยู่ในร่างกายและอาจทำให้ดื้อยาต่อการรักษาโรคเมื่อเกิดการเจ็บป่วยขึ้นในร่างกาย การใช้สมุนไพรจึงเป็นวิธีการที่ปลอดภัยและเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าจะได้นำมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคในพืชเช่นเดียวกับการบำบัดรักษาโรคเบื้องต้นของมนุษย์ที่มีมาตั้งแต่โบราณกาลซึ่งสืบต่อกันมานับเป็นพันปี เช่น ปลาไหลเผือกส่วนของรากใช้แก้ไข้มาลาเรีย (พเยาว์,2529)ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาหาสมุนไพรในการป้องกันและกำจัดเพื่อลดการเกิดโรคแคงเกอร์ และเพื่อหาเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคทดแทนการใช้สารเคมี

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แปลงปลูกส้มโอ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา
2. สมุนไพรที่คัดเลือกมาแล้วจำนวน 3 ชนิดได้แก่ กระเทียม ปลาไหลเผือก และปูนแดง
3. สารจับใบ และสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ PSA
5. เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ของส้มโอ *Xanthomonas campestris* pv. *citri*

วิธีการ

1.การวางแผนการทดลอง

1.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ยอด

2. การเตรียมสมุนไพรและสารเคมี

2.1 นำกระเทียมมาแกะเป็นกลีบและเข้าเครื่องปั่นอัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร

2.2 นำปลาไหลเผือกใส่น้ำร้อนอัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร

2.3 ปูนแดงอัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร

2.4 นำสารสมุนไพรซึ่งใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในข้อ 2.1 -2.3 มาหมักทิ้งไว้ 2 คืน

2.5 สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ อัตรา 4 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร

2.6 นำสารที่เตรียมไว้ในข้อ 2.4 และ 2.5 โดยมีน้ำเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ รวม 5 กรรมวิธี นำมาใส่สารจับใบจำนวน 20 หยดต่อกรรมวิธี

3. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์

3.1 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคแคงเกอร์ *X. campestris* pv. *citri* โดยวิธี streak plate บนจานอาหาร PSA เป็นเวลา 3 วัน

3.2 นำเชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* pv. *citri* ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PSA เป็นเวลา 3 วัน มาผสมกับน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ให้ได้ปริมาณเชื้อ 1.179 X 10^{11} cfu/ml

4. การเตรียมต้นส้มโอ

4.1 ตัดแต่งกิ่งส้มโอเพื่อให้ต้นส้มโอแตกยอดใหม่ สำหรับใช้ในการทดลองเนื่องจากใบอ่อนจะอ่อนแอต่อการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

4.2 รดน้ำและใส่ปุ๋ยเพื่อเร่งการเจริญเติบโต

4.3 เมื่อยอดอ่อนแตกออกเป็นพุ่มเล็ก ๆ ทำการปักป้ายในแต่ละยอดโดยเลือกยอดที่มีขนาดเท่า ๆ กัน โดยมีความยาวยอดๆละ 1.5 นิ้ว

5. วิธีดำเนินการทดลอง

5.1 นำสารตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ในข้อ 2 ทั้งหมด 5 ชนิด มาฉีดพ่นบนยอดส้มโอตามกรรมวิธีที่กำหนดในแต่ละต้นที่ปักป้ายไว้โดยฉีดพ่น 2 ครั้ง/สัปดาห์ การฉีดพ่นแต่ละครั้งห่างกัน 3 วัน

5.2 ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทำการทดลอง ให้ฉีดพ่นสารตามกรรมวิธีต่าง ๆ 1 วัน ก่อนการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 3 และหลังจากฉีดพ่นเชื้อสาเหตุโรคแคงเกอร์แล้ว 1 วัน ให้ฉีดพ่นสารตามกรรมตามวิธีต่างๆ

5.3 ฉีดพ่นสารตามกรรมวิธีที่เตรียมไว้ในข้อ 2 บนยอดส้มโอต่อไปตามกรรมวิธีที่กำหนดเช่นเดียวกับข้อ 5.1 จนยอดส้มโอแสดงอาการเกิดโรค

6. การตรวจและบันทึกผลการทดลอง

6.1 ตรวจนับจำนวนแผลและประเมินระดับคะแนนความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในแต่ละใบบนช่อที่กำหนดในแต่ละกรรมวิธีตามคู่มือการประเมินระดับคะแนนของ James (1971) ดังนี้

0 = ไม่พบเกิดโรคแคงเกอร์

1 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 1-10 %ของพื้นที่ใบ

2 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 11-25 %ของพื้นที่ใบ

3 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 26-50 %ของพื้นที่ใบ

4 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 51-75 %ของพื้นที่ใบ

5 = พบแผลจุดโรคแคงเกอร์ 76-100 %ของพื้นที่ใบ

6.2 คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ผลรวม (ระดับ X จำนวนใบของแต่ละระดับ) X 100}}{\text{จำนวนใบทั้งหมด X ระดับสูงสุด}}$$

6.3 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ

เวลาและสถานที่ ธันวาคม 2551 - กันยายน 2552

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สอพ. กรมวิชาการเกษตร

แปลงปลูกส้มโอที่ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้สมุนไพรเพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอโดยทดสอบสมุนไพรเปรียบเทียบกับการการใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์และน้ำในแปลงปลูกส้มโอพันธุ์ขาวน้ำผึ้งที่ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา ซึ่งจากการทดลองพบว่า สารสกัดจากปลาไหลเผือกสามารถทำให้ส้มโอเกิดโรคน้อยที่สุด คือให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดเท่ากับ 18.77% และมีเปอร์เซ็นต์โรคลดลง 35.25% แต่สารสกัดจากปลาไหลเผือกที่ทดลองด้วยความเข้มข้น 20% ทำให้ใบส้มโอมีรูปร่างผิดปกติ ใบเรียวเล็ก แข็ง และขี้ตั้งขึ้น (malformation) รองลงมาคือสารสกัดจากกระเทียมให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 30.20% และมีเปอร์เซ็นต์โรคลดลง 23.82% ซึ่งสารสกัดจากกระเทียมทำให้ใบส้มโอมีลักษณะใบเขียวเข้มเป็นมัน คล้ายเคลือบด้วยแว็กซ์ และรองลงมาคือน้ำปูนใส ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเท่ากับ 36.94% และมีเปอร์เซ็นต์โรคลดลง 17.07% ส่วนสารคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเท่ากับ 51.74% และมีเปอร์เซ็นต์โรคลดลง 2.28% ซึ่งสารเคมีคอปเปอริออกซี่คลอไรด์มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างกับกรรมวิธีเปรียบเทียบคือให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเท่ากับ 54.02% (ตารางที่ 1)

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดลองสารสกัดสมุนไพรในปีที่ผ่านมา จำนวน 33 ชนิด และได้คัดเลือกเพื่อนำมาทดสอบต่อ จำนวน 3 ชนิด โดยมีน้ำเป็นตัวทะลาย เปรียบเทียบกับสารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ในการควบคุมโรคแคงเกอร์ของส้มโอ โดยฉีดควบคุมโรคก่อนและหลังจากฉีดพ่นเชื้อแคงแกอร์บนใบยอดของส้มโอสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ในแปลงปลูกส้มโอ อ.อุทัย จ.พระนครศรีอยุธยา สามารถสรุปได้ว่าสมุนไพรที่สามารถยับยั้งและลดการเกิดโรคแคงเกอร์ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของใบยอดส้มโอและทำให้ใบมีสีเขียวเป็นมันคล้ายเคลือบด้วยแว๊กซ์ คือ สารสกัดจากกระเทียม โดยให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 30.20% ซึ่งสามารถทำให้โรคแคงเกอร์ของส้มโอลดลงได้ 23.82% โดยกรรมวิธีเปรียบเทียบให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคเท่ากับ 54.02% ส่วนการใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ คือให้เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค เท่ากับ 51.74% และมีเปอร์เซ็นต์โรคลดลง 2.28% ดังนั้นการใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์ในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์จึงไม่มีความจำเป็น ดังนั้นควรแนะนำให้เกษตรกรหันมาใช้สารสกัดจากกระเทียมจะสามารถลดการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้จริงและดีกว่าการใช้สารเคมีคอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์

ตารางที่ 1 แสดงประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ต่อการควบคุมการเกิดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ

กรรมวิธี	ลำดับ	เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคแคงเกอร์	เปอร์เซ็นต์โรคแคงเกอร์เพิ่ม(ลด)
น้ำ (Control)	5	54.02 c	0
คอปเปอร์ออกซี่คลอไรด์	4	51.74 c	(2.28)
น้ำปูนใส	3	36.94 b	(17.07)
สารสกัดจากปลาไหลเผือก	1	18.77 a	(35.25)
สารสกัดจากกระเทียม	2	30.20 ab	(23.82)
ค่าเฉลี่ย		38.33	

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2551. สถิติการค้าสินค้าเกษตรกรรมไทยกับต่างประเทศปี 2551. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร. เอกสารสถิติการเกษตร เลขที่ 405. 115 หน้า.

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. 2529. ตำราวิทยาศาสตร์สมุนไพร. เมลิคัล มีเดีย. กรุงเทพฯ. 135 หน้า.

James,C. 1971 . A Manual of Assessment Keys for Plant Diseases. The Amarican Phytopathological Society . St. Paul MN 55121 USA. 28 pp.

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.

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 สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ (Canker Disease) ของส้มโอที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายในปี 2551-2552 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 ระยะเวลาในการประเมินความรุนแรงของโรค คือ 28 วัน ในปี 2551 พบว่าส้มโอในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 1.64, 2.26, 2.29 และ 2.35 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.05 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน ในปี 2552 พบว่าส้มโอในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยเท่ากับ 1.75, 2.54, 2.30 และ 2.51 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.70 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน

รหัสการทดลอง 01-10-49-02-03-02-07-49

คำนำ

โรคแคงเกอร์หรือโรคขี้กลากของพืชตระกูลส้มมีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Hass) Vauterin พบระบาดทำความเสียหายทั่วไปในส้มเขียวหวาน 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 (อำไพวรรณ และคณะ, 2527; เตือนใจ และคณะ, 2545; Whiteside *et al*., 1988 และ Persley, 1993) ประเทศไทยพบโรคแคงเกอร์ในทุกแหล่งที่ปลูกส้มโอ เช่น จังหวัดนครปฐม สมุทรสงคราม ราชบุรี ชัยนาท พิจิตร เป็นต้น (อำไพวรรณ และคณะ, 2527) โรคแคงเกอร์จะระบาดและทำความเสียหายรุนแรงในช่วงที่มีความชื้นสูงมีพายุหรือฝนตกชุกต่อเนื่องเป็นเวลานาน

ลักษณะอาการที่ใบ ในระยะแรกเป็นจุดแผลกลมเท่าหัวเข็มหมุดใสและฉ่ำน้ำ จุดแผลขยายใหญ่ขึ้นมีลักษณะฟูนูนคล้ายฟองน้ำ แผลปรากฏทั้งด้านบนและด้านล่างของใบ ต่อมาแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มลักษณะฟูนูนยุบลง กลายเป็นสะเก็ดแข็งและขรุขระกลางแผลบุ๋มลงรอบๆ 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 นอกจากใบจะร่วงแล้วผลส้มโอก็อาจจะแตกและร่วงได้ถ้ามีการระบาดของโรครุนแรง แต่ถ้าโรคระบาดไม่รุนแรงก็จะทำให้ใบและผลมีแผลตกสะเก็ดแห้งแข็งสีน้ำตาล ทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพไม่ดี ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดซึ่งการควบคุมโรคแคงเกอร์ให้ได้ผลนั้น วิธีการหนึ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ คือ การใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีสารคอปเปอร์เป็นองค์ประกอบ แต่ช่วงเวลาในการพ่นสารนั้นไม่แน่นอน ทำให้การพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ไม่ได้ผลเท่าที่ควร จึงทำการทดลองเพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ให้มีประสิทธิภาพ และสามารถแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโออย่างได้ผล

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเลือกสวนและต้นส้มโอเพื่อใช้เป็นแปลงทดลอง

ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนตุลาคม 2550 ถึง เดือนกันยายน 2552 โดยเลือกทำการทดลองในสวนส้มโอของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 อำเภอเมือง จังหวัดเชียงรายซึ่งเป็นสวนส้มโอที่มีการระบาดของโรคแคงเกอร์ เลือกต้นส้มโอพันธุ์ขาวทองดีอายุ 3 ปีที่เป็นโรคแคงเกอร์เพื่อใช้ในการทดลอง

1. การเตรียมต้นส้มโอเพื่อใช้ในการทดลอง

เริ่มเตรียมต้นส้มโอในเดือนพฤศจิกายน โดยการตัดแต่งกิ่งส้มโอ และพ่นด้วยสาร 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 จึงเริ่มพ่นสารทดลองครั้งแรกเมื่อส้มโอเริ่มแสดงอาการของโรคคือใบอ่อนเป็นจุดแผลกลมใสและฉ่ำน้ำ โดยพ่นสารทดลองตามแผนการทดลองที่วางไว้ ใช้เครื่องพ่นสารชนิดเครื่องยนต์แบบสะพายหลัง

3. การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์

สุ่มยอดอ่อนที่ใบเริ่มคลี่พร้อมทำเครื่องหมายด้วยการนำป้ายพลาสติกมาผูกไว้จำนวน 10 ยอดต่อต้น ประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในใบเพสลาด โดยประเมินหลังจากผูกยอดอ่อนไว้ 28 วัน และสุ่มยอดอ่อนที่ใบเริ่มคลี่ใหม่ทุก 28 วัน เพื่อใช้ในการตรวจสอบการเกิดโรคในเดือนถัดไป เริ่มตรวจสอบการเกิดโรคแคงเกอร์ครั้งแรกในใบเพสลาดก่อนพ่นสารทดลองครั้งที่ 5 ในกรรมวิธีที่ 1 และตรวจสอบการเกิดโรคในใบเพสลาดที่สุ่มใหม่ทุก 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)

ระยะเวลา

ดำเนินการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2550 ถึง 30 กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ

สวนส้มโอของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1 อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย

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 จึงเริ่มพ่นสารทดลองครั้งแรกในเดือนพฤษภาคม โดยพ่นสารทดลองตามแผนการทดลองที่วางไว้ เริ่มตรวจสอบการเกิดโรคแคงเกอร์ในแปลงส้มโอปลายเดือนมิถุนายน และตรวจสอบการเกิดโรคในใบเพสลาดที่สุ่มใหม่ทุก 28 วัน

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในปี 2551

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ครั้งแรกปลายเดือนมิถุนายน 2551 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.56, 2.08, 1.92 และ 2.03 ตามลำดับ กรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14 และ 28 วัน และกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14 วัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 21 และ 28 วัน และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.32 (ตารางที่ 1)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ปลายเดือนกรกฎาคม 2551 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.84 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน ที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.92,

2.75 และ 2.75 ตามลำดับ และทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.19 (ตารางที่ 1)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ปลายเดือนสิงหาคม 2551 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.70, 2.25, 2.52 และ 2.70 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.85 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14 วัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 21 และ 28 วัน (ตารางที่ 1)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ปลายเดือนกันยายน 2551 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.45, 1.79, 1.99 และ 1.92 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.85 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14 วัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 21 และ 28 วัน (ตารางที่ 1)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 4 เดือน ในปี 2551 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.64, 2.26, 2.29 และ 2.35 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.05 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน (ตารางที่ 1)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในปี 2552

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ครั้งแรกปลายเดือนมิถุนายน 2552 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.46, 2.40, 2.06 และ 2.31 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.41 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 21 วัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14 และ 28 วัน (ตารางที่ 2)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ปลายเดือนกรกฎาคม 2552 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.35, 1.83, 1.67 และ 1.94 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความ

รุนแรงของโรคเท่ากับ 2.77 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน (ตารางที่ 2)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ปลายเดือนสิงหาคม 2552 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.91, 2.88, 2.73 และ 3.00 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.19 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน (ตารางที่ 2)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ปลายเดือนกันยายน 2552 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.27, 3.05, 2.75 และ 2.81 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.43 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน (ตารางที่ 2)

การประเมินความรุนแรงของโรคแคงเกอร์เฉลี่ย 4 เดือน ในปี 2552 พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสาร ทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.75, 2.54, 2.30 และ 2.51 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลองที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.70 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน (ตารางที่ 2)

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ ในปี 2551 และ2552 แสดงให้เห็นว่าวิธีการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชนั้นสามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ดีกว่าวิธีการที่ไม่พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช และในการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช โดยมีการพ่นสาร cuprous oxide 86.2% WG ในช่วงระยะเวลาที่ต่างกัน พบว่าในปี 2551 กรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ดี มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 4 เดือน เท่ากับ 1.64 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21, 28 วัน และกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.26, 2.29, 2.35 และ 4.05 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และพบว่าในปี 2552 กรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ดี มีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 4 เดือน เท่ากับ 1.75 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร

ทดลองทุก 14, 21, 28 วัน และกรรมวิธีไม่พ่นสารทดลอง ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.54, 2.30, 2.51 และ 3.70 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แต่กรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 14, 21 และ 28 วัน ก็สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ ถึงแม้ว่าจะไม่ดีเท่ากรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน ก็ตาม ดังนั้นเกษตรกรจึงควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชกลุ่มที่มีสารประกอบทองแดง (Copper Fungicides) เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ในแปลงส้มโออย่างสม่ำเสมอเนื่องจากส้มโอเป็นพืชตระกูลส้มที่อ่อนแอต่อโรคนี้ สอดคล้องกับนิพนธ์ (2542) และ เตือนใจ และคณะ (2545) ที่แนะนำให้ใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชกลุ่มที่มีสารประกอบทองแดงในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของพืชตระกูลส้ม และช่วงเวลาที่เหมาะสมในการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์นั้น ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค ถ้ามีการระบาดของโรคที่รุนแรงเกษตรกรควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชทุก 7 วัน แต่ถ้าโรคระบาดไม่รุนแรงเกษตรกรควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชอย่างน้อยเดือนละครั้งในช่วงหน้าฝนซึ่งมีการระบาดของโรครุนแรงกว่าช่วงที่ไม่มีฝนตก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของนิพนธ์ (2542) ที่รายงานว่าสภาพที่มีฝนตกชุกทำให้โรคระบาดมาก เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียถูกพัดพาจากเนื้อเยื่อในส่วนของต้นที่เป็นโรคไปยังเนื้อเยื่อส่วนอื่นของลำต้นโดยลมและฝน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอ ในปี 2551-2552 โดยมีการพ่นสาร cuprous oxide 86.2% WG อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ในช่วงระยะเวลาที่ต่างกัน พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7, 14, 21 และ 28 วัน สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ และกรรมวิธีที่พ่นสารทดลองทุก 7 วัน สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ดีที่สุดมีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ย 4 เดือนต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีสารประกอบทองแดง (Copper Fungicides) เป็นองค์ประกอบนั้น สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ของส้มโอได้ ดังนั้นเกษตรกรจึงควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชกลุ่มที่มีสารประกอบทองแดง (Copper Fungicides) เพื่อควบคุมโรคแคงเกอร์ในแปลงส้มโออย่างสม่ำเสมอเนื่องจากส้มโอเป็นพืชตระกูลส้มที่อ่อนแอต่อโรคนี้ และช่วงเวลาที่เหมาะสมในการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์นั้น ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค ถ้ามีการระบาดของโรคที่รุนแรงเกษตรกรควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชทุก 7 วัน แต่ถ้าโรคระบาดไม่รุนแรงเกษตรกรควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชอย่างน้อยเดือนละครั้ง เพื่อป้องกันไม่ให้มีการระบาดของโรคในแปลงส้มโอ

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 และ นิพนธ์ 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.

ตารางที่ 1 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	1.70a	1.45a	1.64a
2. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 14 วัน	15	2.08b	2.92b	2.25ab	1.79ab	2.26b
3. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 21 วัน	15	1.92ab	2.75b	2.52b	1.99b	2.29b
4. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 28 วัน	15	2.03b	2.75b	2.70b	1.92b	2.35b
5. Control (พ่นน้ำเปล่า)	-	3.32c	4.19c	4.85c	3.85c	4.05c
CV (%)		12.83	13.72	14.30	10.12	19.97

2155

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

ตารางที่ 2 ระดับความรุนแรงของโรคแคงเกอร์ในส้มโอพันธุ์ขาวทองดีช่วงเดือนมิถุนายน-กันยายน พ.ศ. 2552

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	1.46a[2/]	1.35a	1.91a	2.27a	1.75a
2. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 14 วัน	15	2.40b	1.83b	2.88b	3.05b	2.54b
3. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 21 วัน	15	2.06ab	1.67b	2.73b	2.75b	2.30b
4. พ่น cuprous oxide 86.2% WG ทุก 28 วัน	15	2.31b	1.94b	3.00b	2.81b	2.51b
5. Control (พ่นน้ำเปล่า)	-	3.41c	2.77c	4.19c	4.43c	3.70c
CV (%)		19.45	22.16	17.12	15.61	25.47

2156

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

การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Controlling Phytophthora Root Rot and Stem Rot of Pummelo by Antagonistic Microorganism

นลินี ศิวากรณ์ เพลินพิศ สงสังข์
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์รวม 8 ไอโซเลท ต่อเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ (*Phytophthora parasitica*) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 8 ไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. parasitica* และเมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการทดสอบในปี 2551-2552 รวมจำนวน 39 ไอโซเลท มาทดสอบด้วยวิธีการ baiting โดยเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 3 ครั้ง ลงไปในดินบ่มเชื้อ(infested soill) พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดและกำจัดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อโดยไม่พบ sporangium ในดินบ่มเชื้อเลย มีจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ไอโซเลท 5102,5807-1,5808-1,5809-1, 5907และ 5908 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค เท่ากับ 0% รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท 5805 และ 5604A มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคเท่ากับ 8.75% ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์เชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 95.00% และเมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในดิน จำนวน 6 ไอโซเลท มาทดสอบการเกิดโรคบนใบส้มโอ พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับส้มโอมีเพียง 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5102 ,5808-1 และ 5809-1 ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ทำให้เกิดโรคบนใบส้มโอโดยแสดงอาการวงสีเหลืองรอบบริเวณที่ทำแผลมีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5807-1, 5907และ 5908 ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอโดยไม่มีผลต่อการทำให้ส้มโอแสดงอาการเกิดโรค ได้แก่ ไอโซเลท 5102 , 5808-1 และ 5809-1 ซึ่งจากการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท นำมาจำแนกชนิดด้วยวิธี 16S rDNA พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ไอโซเลท 5102 เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain WD20 ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อีก 2 ไอโซเลท ได้แก่ 58081- และ 5809-1เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกันทั้ง 2 ไอโซเลท คือ *Bacillus subtilis* strain CMG M8

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 ไทยส่งออกส้มโอรวมถึงเกรปฟรุ๊ตปริมาณ 10,071 เมตริกตัน มูลค่า 119.953,000 บาท และปี 2551ไทยส่งออกส้มโอรวมถึงเกรปฟรุ๊ตปริมาณ 11,218 เมตริกตัน มูลค่า 109,231,000 บาท(นิรนาม,2551)

โรครากเน่าและโคนเน่านับเป็นโรคที่สร้างความเสียหายให้แก่ส้มโอโรคหนึ่ง สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasica* ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของการผลิตส้มโอ เกษตรกรมีวิธีป้องกำจัดเชื้อราดังกล่าวหลายวิธี เช่น การเฉือนเปลือกไม้ส่วนที่เป็นโรคออก ทาแผลและราดดินด้วยสารเคมี แต่โรครากเน่าและโคนเน่ายังคงระบาดเหมือนเดิม ซึ่งการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าจะให้ผลในระยะสั้นๆ และยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้น การควบคุมโดยชีววิธีจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งซึ่งจะนำมาใช้ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่า ในปัจจุบันมีการนำเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการควบคุมโรคนี้ เช่น *Trichoderma* ใส่ดิน เพื่อการควบคุมกันเองทางธรรมชาติระหว่างเชื้อดังกล่าวกับเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่า ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาหาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อื่นๆ ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าโดยไม่พึ่งสารเคมี เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ให้เป็นรูปธรรมได้ต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ *Phytophthora parasitica*
2. ดินอบฆ่าเชื้อ , ข้าวโอ๊ต และถ้วยพลาสติก ขนาด 12X12 เซนติเมตร
3. ต้นส้มโอ, กระถาง, และดินปลูก
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA, PSA
5. กล้องจุลทัศน์ และวัสดุอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

1. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 เลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าที่แยกได้บนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน

1.2 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในหลอดอาหาร PSA เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำมาใส่น้ำ 9 มล. และขูดเชื้อออกจากอาหาร แล้วนำมาปั่นให้เข้ากันด้วย vortex mixer

1.3 นำกระดาษทดสอบ (paper disc) ที่นึ่งฆ่าเชื้อมาวางที่ขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมในข้อ 1.1 โดยวางให้ห่างจากขอบจานอาหารทั้ง 4 ด้านด้านละ 1.5 ซม.

1.4 ดูดสารละลายเชื้อในข้อ 1.2 ด้วย micro pipette จำนวน 1 ไมโครลิตร มาหยดบนกระดาษทดสอบที่วางบนจานอาหารแต่ละจุดในข้อ 1.3

1.5 ในกรรมวิธีเปรียบเทียบจะดูดน้ำนึ่งฆ่าเชื้อด้วย micro pipette จำนวน 1 ไมโครลิตร มาหยดบนกระดาษทดสอบที่วางบนจานอาหารแต่ละจุดในข้อ 1.3

1.6 นำจานอาหารในข้อ 1.4 และ 1.5 มาบ่มที่อุณหภูมิห้องจนเส้นใยของเชื้อราสาเหตุในกรรมวิธีเปรียบเทียบเจริญเติบโตเต็มจานอาหาร

1.7 ทำการตรวจวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุ, เส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และบริเวณยับยั้ง

1.8 ตรวจวิเคราะห์ สรุปผลการทดลองโดยวัดขนาดและหาค่าเปอร์เซ็นต์ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ปฏิกิริยาการยับยั้ง} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A = ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อราในกรรมวิธีเปรียบเทียบ

B = ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อราที่วางเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดเดียวกันทั้ง 4 ด้าน

2. ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าด้วยวิธี Baiting

2.1 การเตรียมดินบ่มเชื้อ

เตรียมอาหาร oat meal medium โดยการบรรจุข้าวโอ๊ต 5 กรัม/น้ำ 20 มล. ใส่จานเลี้ยงเชื้อ แล้วนำมานึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอที่เลี้ยงบนอาหาร PDA มาเลี้ยงบนอาหาร oat meal medium ที่เตรียมไว้ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องจนเส้นใยเจริญเติบโตเต็มจานเลี้ยงเชื้อใช้เวลาประมาณ 10 วัน จากนั้นนำไปปั่นในอัตราส่วนเชื้อรา 1

จานอาหาร / น้ำ 200 มล. และนำไปคลุกกับดิน 1 ก.ก. ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที จำนวน 3 ครั้ง บ่มเชื้อในดิน 4 สัปดาห์

2.2 เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อPSA เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำไปผสมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มล.

2.3 ชั่งดินบ่มเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 2.1 จำนวน 50 กรัม ใส่ในถ้วยพลาสติก ขนาด 12 X 12 ซม. แล้วเติมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ในข้อ 2.2 ลงไป ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบให้เติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มล. โดยไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ บ่มทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง 3 วัน

2.4 เติมน้ำนึ่งฆ่าเชื้อลงไป 50 มล. ตัดใบส้มโอ ขนาด 1 X 1 ซม. ลงไปจำนวน 10 ใบ บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง 3 วัน แล้วนำใบมาตรวจหา Sporangium ของเชื้อรา *P. parasitica* ที่ติดอยู่ขอบใบทั้ง 4 ด้าน

2.5 การประเมินและตรวจให้คะแนนของ Sporangium ที่พบ ดังนี้

ระดับ 0 = ไม่พบ sporangium

ระดับ 1 = พบ sporangium 1 – 10 spores/ใบ

ระดับ 2 = พบ sporangium 11 – 20 spores/ใบ

ระดับ 3 = พบ sporangium 21 – 30 spores/ใบ

ระดับ 4 = พบ sporangium มากกว่า 30 spores/ใบ

2.6 นำมาคำนวณวิเคราะห์เปรียบเทียบหาเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค} = \frac{\text{ผลรวม(ระดับXจำนวนใบที่ baiting ในแต่ละระดับ)X100}}{\text{จำนวนใบที่ baiting ทั้งหมด X ระดับสูงสุด}}$$

3. ทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการก่อให้เกิดโรคกับใบส้มโอ

3.1 ตัดชำใบส้มโอแล้วใช้สำลีพันก้านใบด้วยวิธี detached's leaf จากนั้นนำมาวางในกล่องพลาสติกใสที่มีกระดาษฟางที่เปียกวางให้ความชื้น

3.2 นำ cork borer มาเจาะทำแผลบนใบส้มโอโดยทำแผลระหว่างเส้นกลางใบทั้งสองข้างๆ ละ 2 จุด

3.3 นำเชื้อแบคทีเรียทีมีความสามารถในการลดปริมาณ sporangium ในข้อ 2 มาเลี้ยงบนจานอาหาร PSA เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นใช้ cork borer เจาะแล้วนำไปวางบนใบส้มโอที่ทำแผลเตรียมไว้ในข้อ 3.2 จุดละ 1 ชิ้น

3.4 ส่วนกรรมวิธีเปรียบเทียบ นำอาหารPSAที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียมาเจาะวางบนใบส้มโอโดยทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2 และ 3.3

3.5 ตรวจผลการทำให้เกิดโรคบนแผลที่ปลูกเชื้อแบคทีเรียและกรรมวิธีเปรียบเทียบ

4. จำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5808-1 และ 5809-1 ด้วยวิธี 16S rDNA

โดยส่งเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปจำแนกที่คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2551 – กันยายน 2552

ห้องปฏิบัติงานกลุ่มเทคโนโลยีการจัดการโรคพืช สอพ. กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. **ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ** พบว่า จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์รวม 8 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากส้มโอ จำนวน 6 ไอโซเลท และทุเรียน จำนวน 2 ไอโซเลท พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. parasitica* ที่แยกได้จากแปลงปลูกส้มโอ ได้แก่ ไอโซเลท 5837 , 5803-6 , 5834 , 5828 ,5835 และ 5802-6 ซึ่งให้ปฏิกิริยายับยั้งการเจริญเติบโตโดยสร้างวงใสกว้างขนาด 8.5, 8.3,8.3,7.9,7.1 และ 5.7 มม. ตามลำดับ ส่วนที่แยกได้จากแปลงปลูกทุเรียนในจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ไอโซเลท 5931 และ 5937 สร้างวงใสกว้างขนาด 10.3 และ 8.3 มม. ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

2.**ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ต่อเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าด้วยวิธี** baiting จากการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการทดสอบในปี 2551-2552 จำนวน 39 ไอโซเลท มาทดสอบด้วยวิธีการ baiting พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดปริมาณ sporangium ของเชื้อรา *P. parasitica* ในดินบ่มเชื้อได้ โดยเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 1 ทำให้จำนวน sporangium ลดลงในทุกไอโซเลท และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้มากที่สุด ได้แก่ ไอโซเลท 5808-1 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคต่ำที่สุด คือ 18.75% รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท 5809-1, 5908 มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค คือ 38.75% และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์เชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 100.00% และเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 2 พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้มากที่สุด ได้แก่ ไอโซเลท 5808-1 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคต่ำที่สุด 0% รองลงมา

ได้แก่ ไอโซเลท 5102 มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค 8.75% และรองลงมาอีกได้แก่ ไอโซเลท 5809-1,5908 มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค 11.25 % และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์เชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 96.25% และเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 3 ซึ่งเป็นครั้งสุดท้าย พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถกำจัดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อโดยไม่พบ sporangium ในดินบ่มเชื้อเลย มีจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5102 ,5807-1,5808-1 ,5809-1, 5907และ 5908 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค 0% รองมา ได้แก่ ไอโซเลท 5805 และ 5604A มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค คือ 8.75% ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์เชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 95.00% (ตารางที่ 2)

3. **ทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการก่อให้เกิดโรคกับใบส้มโอ** จากการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอและสามารถกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคในดิน จำนวน 6 ไอโซเลท มาทดสอบการเกิดโรคบนใบส้มโอ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับส้มโอมีเพียง 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5102 ,5808-1 และ 5809-1 ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ทำให้เกิดโรคกับใบส้มโอโดยแสดงอาการวงสีเหลืองรอบบริเวณที่ทำแผลมีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5807-1, 5907และ 5908

4. **จำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5102 ,5808-1 และ 5809-1 ด้วยวิธี 16S rDNA** พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ไอโซเลท 5102 เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain WD20ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท ได้แก่ 58081- และ 5809-1เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกันคือ *Bacillus subtilis* strain CMG M8

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์รวม 8 ไอโซเลท ต่อเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ (*P. parasitica*) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเชื้อราสาเหตุ *P. parasitica* ที่แยกได้จากแปลงปลูกส้มโอ ได้แก่ ไอโซเลท 5837 , 5803-6 , 5834 , 5828 ,5835 และ 5802-6 ซึ่งให้ปฏิกิริยายับยั้งการเจริญเติบโตโดยสร้างวงใสกว้างขนาด 8.5, 8.3,8.3,7.9,7.1 และ 5.7 มม. ตามลำดับ ส่วนที่แยกได้จากแปลงปลูกทุเรียนในจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ ไอโซเลท 5931 และ 5937 สร้างวงใสกว้างขนาด 10.3 และ 8.3 มม.ตามลำดับ และเมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. parasitica* บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการทดสอบในปี 2551-

2552 จำนวน 39 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพด้วยวิธีการ baiting พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดปริมาณ sporangium ของเชื้อรา *P. parasitica* ในดินบ่มเชื้อได้ โดยเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 1 ทำให้จำนวน sporangium ลดลงในทุกไอโซเลท และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้มากที่สุด ได้แก่ ไอโซเลท 5808-1 ทำให้เชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่ามีชีวิตอยู่รอดในดินได้น้อยที่สุด เท่ากับ 18.75% รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท 5809-1 และ 5908 มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคเท่ากับ 38.75% และกรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control)มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 100.00% และเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 2 พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท 5808-1 สามารถลดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อได้มากที่สุด โดยไม่มีเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในดินเหลืออยู่เลย คือมีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรคเท่ากับ 0% รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท 5102, 5809-1และ 5908 มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค เท่ากับ 8.75%,11.25 % และ 11.25 % ตามลำดับ และกรรมวิธีเปรียบเทียบ (Control) มีเปอร์เซ็นต์เชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 96.25% และเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปครั้งที่ 3 ซึ่งเป็นครั้งสุดท้าย พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถกำจัดปริมาณ sporangium ในดินบ่มเชื้อโดยไม่พบ sporangium ในดินบ่มเชื้อเลย มีจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ไอโซเลท 5102,5807-1,5808-1,5809-1, 5907และ 5908 รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท 5805 และ 5604A มีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดของเชื้อราสาเหตุโรค เท่ากับ 8.75% ในขณะที่กรรมวิธีเปรียบเทียบ(Control) มีเปอร์เซ็นต์เชื้อราสาเหตุโรคในปริมาณสูงเท่ากับ 95.00% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใส่ลงในดินบ่มเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอมีประสิทธิภาพดีที่สุดโดยจะทำลายเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอได้จนหมดเมื่อใส่เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงในดินบ่มเชื้ออย่างน้อย 2 ครั้ง และเมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอในดิน จำนวน 6 ไอโซเลท มาทดสอบการเกิดโรคบนใบส้มโอ พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับส้มโอมีเพียง 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5102 ,5808-1 และ 5809-1 ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ทำให้เกิดโรคบนใบส้มโอโดยแสดงอาการวงสีเหลืองรอบบริเวณที่ทำแผลมีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 5807-1, 5907และ 5908 ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอโดยไม่มีผลต่อการทำให้ส้มโอแสดงอาการเกิดโรค ได้แก่ ไอโซเลท 5102 ,5808-1 และ 5809-1 ซึ่งจากการนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท มาจำแนกชนิดด้วยวิธี 16S rDNA พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ไอโซเลท 5102 เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain WD20 ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์อีก 2 ไอโซเลท ได้แก่ 58081- และ 5809-1เป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกันทั้ง 2 ไอโซเลท คือ *Bacillus subtilis* strain CMG M8

ตารางที่1 ปฏิกิริยาของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอ

ไอโซเลท	แหล่งปลูก/พืช	ปฏิกิริยาการยับยั้ง (%)	บริเวณวงใส (มม.)
5802-6	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	54.17	5.7
5803-6	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	57.18	8.3
5828	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	59.03	7.9
5834	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	58.56	8.3
5835	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	58.56	7.1
5837	สมุทรสงคราม/ส้มโอ	60.42	8.5
5931	จันทบุรี/ทุเรียน	58.80	10.3
5937	จันทบุรี/ทุเรียน	59.26	8.3

ตารางที่2 ศึกษาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคในดินบ่มเชื้อ(infested soil) ด้วยวิธี baiting

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ %					
	ครั้งที่ 1	ลำดับที่	ครั้งที่ 2	ลำดับที่	ครั้งที่ 3	ลำดับที่
control	100.00q	24	96.25l	22	95.00p	25
10	78.75l	16	51.25g	12	16.25cd	9
5102	56.25d	5	8.75b	2	0.00a	1
5603	78.75l	16	51.25g	12	13.75bcd	7
5604A	78.75l	16	43.75f	11	8.75b	2
5608A	72.50hij	12	40.00def	9	10.00bc	4
5610A	83.75mh	18	66.25ij	19	15.00bcd	8
5803	73.75ijk	13	55.00gh	14	10.00bc	3
5804	65.00fg	9	38.75def	8	13.75bcd	7
5805	56.25d	5	33.75d	5	8.75b	2
5806	61.25ef	8	36.25de	7	11.25bc	5
5807-1	42.50bc	3	16.25c	4	0.00a	1
5808-1	18.75a	1	0.00a	1	0.00a	1
5809-1	38.75b	2	11.25bc	3	0.00a	1
5824	71.25hi	11	40.00def	9	26.25fg	12

2165

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ %					
	ครั้งที่ 1	ลำดับที่	ครั้งที่ 2	ลำดับที่	ครั้งที่ 3	ลำดับที่
control	100.00q	24	96.25l	22	95.00p	25
5825	86.25no	20	51.25g	12	40.00jk	19
5826	60.00de	7	38.75def	8	13.75bcd	7
5828	86.25no	20	53.75gh	13	35.00hij	16
5834	56.25d	5	36.25de	7	10.00bc	3
5835	77.50kl	15	35.00de	6	23.75ef	11
5837	78.75l	16	60.00hi	16	28.75fg	13
5903	58.75de	6	40.00def	9	12.50bc	6
5904	73.75ijk	13	51.25g	12	35.00hij	16
5906	80.00lm	17	53.75gh	13	46.25lm	21
5907	43.75c	4	16.25c	4	0.00a	1
5908	38.75b	2	11.25bc	3	0.00a	1
5910	92.50p	23	77.50k	21	58.75o	24
5912	68.75gh	10	51.25g	12	18.75de	10
5913	78.75l	16	56.25gh	15	36.25ij	17
5914	73.75ijk	13	40.00def	9	30.00gh	14

2166

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุ %					
	ครั้งที่ 1	ลำดับที่	ครั้งที่ 2	ลำดับที่	ครั้งที่ 3	ลำดับที่
control	100.00q	24	96.25l	22	95.00p	25
5919	85.00n	19	56.25gh	15	40.00jk	19
5920	91.25p	22	70.00j	20	52.50n	23
5922	83.75mn	18	65.00ij	18	42.50kl	20
5923	58.75de	6	40.00def	9	13.75bcd	7
5926	73.75ijk	13	51.25g	12	26.25fg	12
5927	68.75gh	10	43.75f	11	18.75de	10
5931	83.75mn	18	70.00j	20	48.75mn	22
5932	90.00op	21	63.75ij	17	38.75jk	18
5934	76.25jkl	14	41.25ef	10	16.25cd	9
5937	80.00lm	17	51.25g	12	31.25ghi	15
cv	3.2%**		6.6%**		11.6%**	
mean	70.531		45.344		23.659	

2167

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. 2551. การส่งออกสินค้าเกษตรไทย ตอนที่2. หน้า18. สถิติการค้าสินค้าเกษตรไทยกับต่างประเทศปี2551. ศูนย์สาระสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.

รวี เสรฐภักดี.2523.ไม้ผลทางอุตสาหกรรม II (ส้ม).เอกสารประกอบคำบรรยายวิชาพืชสวน 542. ภาควิชาพืชสวน.คณะเกษตร.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.108 หน้า

การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของส้มโอโดยเชื้อราไตรโคเดอร์มา

Biological control *Phytophthora* Foot and Root Rot of Pummelo by *Trichoderma*

สุพัตรา อินทวิมลศรี
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

โรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ พบระบาดทั่วไปในแหล่งปลูกส้มโอ เช่น สมุทรสงคราม ชัยนาท ตราด พิจิตร เชื้อราสาเหตุ คือ *Phytophthora parasitica* โรครากเน่าจะเห็นแผลบริเวณโคนต้นระดับผิวดิน และจะลุกลามเหนือดินและใต้ดิน ดินบริเวณนั้นเมื่อนำมาตรวจในห้องปฏิบัติการก็จะพบอาการโคนเน่าเละ เมื่อขุดรากที่อยู่ผิวดินรากจะมีการเน่าเปื่อยทั้งรากฝอยและรากแขนงพบเชื้อทั้งที่รากและดินบริเวณที่เกิดรากเน่านั้น แปลงทดลองโรครากเน่าส้มโอที่สวนเกษตรกร ต.เที่ยงแท้ อ.สรรคบุรี จ.ชัยนาท แสดงอาการผลร่วง ใบเขียวซีด รากเปื่อยยุ่ย เก็บตัวอย่างดิน จำนวน 37 ตัวอย่าง พบเชื้อ *P. parasitica* ทุกต้นตรวจให้วิธี ใช้เหยื่อล่อ (Baiting technique) และใต้พัฒนาการเชื้อรา *Trichoderma* ที่สามารถขยายเชื้อได้ในบริเวณมาก และใส่เชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสด บริเวณทรงพุ่ม พร้อมใช้ จำนวน 15 กิโลกรัม/ต้น และโรยทับด้วยรำข้าว เปรียบเทียบกับกรรมวิธีใช้สารเมทาแลคซิล 25%WP และไม่ใช้สาร ยังพบเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า ทุกกรรมวิธี

รหัสการทดลอง 01 10 49 02 03 02 10 53

คำนำ

ส้มโอ (Pummelo, *Citrus grandis* Osb) เป็นพืชตระกูลส้มที่มีศักยภาพในการส่งออกมาก มีรสชาติดี และสามารถเก็บรักษาได้นาน ทนทานต่อการขนส่งในระยะทางไกล เพราะมีเปลือกหนาป้องกันการกระทบกระเทือนได้ดี ทั้งตลาดในประเทศและต่างประเทศ และยังมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด ในภาคการผลิตเกษตรกรต้องประสบปัญหาหลายด้าน เรื่องคุณภาพยังเนื้อใน รสชาติ ขนาดของผล และราคา ปัญหาหนึ่งของส้มโอที่ทำความสูยเสียอย่างมากต่อเกษตรกรคือศุตรูพืชด้านโรคพืช ส้มโอก็พบปัญหาหลายโรคและรุนแรงมากคือ รากเน่าโคนเน่า ที่พบทั่วไปในแหล่งปลูกส้มโอ เช่น สมุทรสงคราม ,พิจิตร,ชัยนาท,กำแพงเพชร และตราด ที่พบเชื้อรา *P. parasitica* เข้าทำลายโคนต้นและรากส้มโอ เช่น พันธุ์ทองดี,ขาวแตงกวา,ขาวใหญ่,ขาวน้ำผึ้ง ,ท่าข่อย

โรคโคนเน่าของส้มโอมักเกิดขึ้นในฤดู และพบอาการยางไหล แผลเยิ้มในฤดูแล้ง ซึ่งสังเกตุได้ง่าย แต่เกษตรกรก็ยังไม่มีวิธีจัดการกับโรค ปล่อยให้ต้นส้มโอตายไป แล้วก็ปลูกซ่อมใหม่ สำหรับโรครากเน่ายิ่งเข้าใจยากขึ้นเพราะไม่มีอาการแผลเยิ้มให้เห็น พบแต่อาการทรุดโทรม ใบไม่สดใส มีสีเขียวซีด ผลร่วง ไม่มีผลส้มโอที่คุณภาพดีไปขายและขาดทุน เกษตรกรยอมแพ้ รื้อสวนทิ้ง และหันไปปลูกข้าวแทน เป็นเช่นนี้หลายสวน เกษตรจึงต้องการวิธีการจัดการโรค วิธีการใดวิธีการหนึ่งที่ยั่งยืนต่อการทำสวนส้มโอ การใช้เชื้อราปฏิปักษ์จึงเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาแก้ไขปัญหา และเกษตรกรสามารถผลิตใช้เองได้เป็นการลดต้นทุนการผลิตอีกทางหนึ่ง

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นส้มโอที่เป็นโรครากเน่าโคนเน่าอย่างรนแรง
2. สารป้องกันกำจัดเชื้อโรคพืช เมทาแลกซิล
3. หัวเชื้อราไตรโครเดอร์มา
4. ข้าวฟ่าง และอุปกรณ์การผลิตเชื้อราไตรโครเดอร์มา
5. เชื้อรา *Trichoderma* ในงานเลี้ยงเชื้อ
6. เชื้อรา *Trichoderma* สดพร้อมใช้
7. ถุงพลาสติก มีด

วิธีการ

ดำเนินการในสวนส้มโอที่ให้ผลผลิตแล้วจำนวน 32 ต้น 4 ไร่ ซึ่งเป็นโรครากเน่าอย่างรุนแรง ตรวจพบเชื้อราสาเหตุ *P. parasitica* ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี ใช้เหยื่อล่อ (Baiting technique) และ Tissue Transplanting

แบ่งการทดลองเป็น 4 กรรมวิธี

1. ใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สดพร้อมใช้ต้นละ 15 กิโลกรัม หว่านใต้ทรงพุ่มรัศมี 2 เมตร หว่านทับด้วยรำด้วยรำละเอียด 10 กิโลกรัม/ต้น 4 ครั้งต่อปี

2. ใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต้นละ 10 กิโลกรัม หว่านใต้ทรงพุ่มรัศมี 2 เมตร หว่านทับด้วยรำด้วยรำละเอียด 5 กิโลกรัม/ต้น 4 ครั้งต่อปี

3.ใช้สารฆ่าเชื้อรา เมทาแลคซิล อัตรา 100 กรัม/น้ำ 20 ลิตร รดดินใต้ทรงพุ่ม รัศมี 2 เมตร 3 ครั้งต่อปี

4.กรรมวิธีไม่ใช้สาร (Control)

เวลาและสถานที่ ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนกันยายน 2551 – กันยายน 2552 ที่สวนส้มโอเกษตรกร ต. เที่ยงแท้ อ.สรรคบุรี จ. ชัยนาท

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การควบคุมโรครากเน่าส้มโอ ดำเนินการที่แปลงส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวา ต. เที่ยงแท้ อ. สรรคบุรี จ. ชัยนาท จำนวน 32 ต้น (4 ไร่) ลักษณะอาการของส้มโอที่เด่นชัดคือผลร่วง ใบซีดเขียวออกดอกมาก ติดผลน้อย ผลร่วง เป็นระยะๆ และผลไม่มีคุณภาพ

เมื่อเก็บรากเน่า และดินบริเวณนั้น มาตรวจเชื้อสาเหตุในห้องปฏิปักษ์การ

จำนวน 32 ต้น ตัวอย่างรากเน่า ใช้วิธี Tissue Transplanting ในอาหาร RNV และดิน ใช้วิธีเหยื่อล่อ (Baiting technique) พบเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าส้มโอ ทั้ง 32 ต้น จึงวางแผนการทดลองเป็น 4 กรรมวิธี 8 ซ้ำ

การผลิตเชื้อรา *Trichoderma* สดพร้อมใช้ เริ่มจากนำผงหัวเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ขยายเชื้อรา *Trichoderma* ในอาหารเลี้ยงเชื้อครั้งละ 230 จาน นำไปขยายเชื้อในปริมาณมาก ...พัฒนาการผลิตจากการต้มในหม้อหิ้ว เป็นการผลิตที่ใช้หม้อต้มที่ใหญ่... จะได้อย่างรวดเร็ว และปริมาณมาก

โดยมีขั้นตอนโดยสรุปดังนี้

1.แช่ข้าวฟ่างแดงในน้ำเย็น ให้ข้างฟ่างพองตัวตัวและดูดน้ำเต็มที่

2. ต้มข้าวฟ่างให้พอสุกเป็นเม็ดใสเพื่อฆ่าเชื้อ

3. นำข้าวฟ่างที่ต้มแล้วใส่ภาชนะให้สะเด็ดน้ำ

4.ตักข้าวฟ่างขณะที่ร้อนใส่ถงพลาสติกทนร้อน

5.รัดปากถุงและปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นสนิท

6.เจาะรูถุงพลาสติกด้วยปลายเข็มหมุด จำนวนมากให้กระจายทั่วผิวหน้าถุงพลาสติก

7. นำเชื้อรา *Trichoderma* ที่เลี้ยงไว้จากห้องปฏิบัติการใส่ที่ผิวหน้าข้าวฟ่าง ตัดวุ้นเป็นชิ้นเล็กๆ

8.วางถุงข้าวฟ่างในแนวราบที่มีอุณหภูมิห้อง ประมาณ 7 วัน เชื้อราเต็มที่จะมีสีเขียวเข้มและเป็นเชื้อสดพร้อมใช้

9.นำเชื้อที่ได้หว่านลงดินใต้ทรงพุ่มต้นส้มโอรัศมี 2 เมตร และใช้รำละเอียดหว่านทับอีกครั้งแล้วรดน้ำพอเปียกทั่วๆ

ตรวจผลการทดลองโดยดูลักษณะอาการของต้นส้มโอที่มีใบสดสวยกว่าเดิ และตรวจเชื้อราในดิน ปลายฤดูฝน (ต.ค.52) ยังพบเชื้อสาเหตุโรคในดินทุกกรรมวิธี

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การควบคุมโรครากเน่าของส้มโอที่แปลง ต. เที่ยงแท้ อ.สรรคบุรี จ. ชัยนาท ต้นส้มโอมีการฟื้นตัว แข็งแรงขึ้น ใบสดสวยขึ้น ต้นส้มโอยังไม่สามารถเลี้ยงผลส้มโอได้ ยังพบเชื้อราสาเหตุของโรคในดินทุกกรรมวิธี นั่นคือการทดลอง สามารถลดปริมาณเชื้อราสาเหตุได้ระดับหนึ่ง การลดปริมาณเชื้อต้องทำอย่างต่อเนื่องยาวนาน และต้องฟื้นฟู ต้นส้มโออย่างจริงจัง ซึ่งเกษตรกรประสบปัญหาเรื่องเงินทุน ลบปรมาณที่ได้ มีน้อยไม่สามรถสนับสนุนเกษตรกรได้อย่างเต็มที่ แต่อย่างไรก้ต้องปฏิบัติงานทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

จิระเดช แจ่มสว่าง.2540.การควบคุมโรครากเน่าไฟธอฟธิราของส้มโอโดยชีววิธี.เอกสารประกอบการ ฝึกอบรมวิทยาการส้ม : ทางเลือกปัจจุบันสู่อนาคต. ระหว่างวันที่ 17-21 มีนาคม 2540 ณ โรงแรมเชียงใหม่ออคิด จังหวัดเชียงใหม่ จัดโดยสำนักส่งเสริมและฝึกอบรมกับศูนย์วิจัยและพัฒนาไม้ผลเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จิระเดช แจ่มสว่าง . 2542 . เทคนิคการผลิตหัวเชื้อราไตรโคเดอร์มาและการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มา ชนิดสด. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ โครงการเกษตรกู้ชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร . 11 หน้า

จิระเดช แจ่มสว่าง และคณะ. 2544 . การผลิตและวิธีใช้ไตรโคเดอร์มาชนิดสดควบคุมโรคพืช . ภาควิชาโรคพืช , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

การจัดการโรคจุดดำของส้มโอโดยการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกับการเขตกรรม

The Integrated Pest Management of Black Spot Disease on Pummelo

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ [1/] สุธามาศ ณ น่าน [2/]
[1/]กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
[2/]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่1

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคจุดดำ (Black Spot Disease) ของส้มโอที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Guignardia citricarpa* (*Phyllosticta citricarpa*) ดำเนินการทดลองในแปลงส้มโอของเกษตรกรที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ในปี 2552 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ในส้มโอพันธุ์ขาวทองดี 1 ต้นต่อ 1 ซ้ำ จำนวน 24 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี คือ สารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ชนิด ได้แก่ azoxystrobin, cuprous oxide, mancozeb, carbendazim และ iprodione โดยพ่นสารทดลองร่วมกับการเขตกรรม (การตัดแต่งกิ่งและเก็บใบ กิ่ง รวมทั้งผลที่อยู่บริเวณใต้และรอบๆ ต้นไปทิ้ง) เปรียบเทียบกับการเขตกรรมเพียงอย่างเดียว เริ่มพ่นสารทดลองครั้งแรกเมื่อกลีบดอกของส้มโอร่วง และพ่นสารทดลองทุก 15 วัน จนกระทั่งผลส้มโอมีอายุ 6 เดือน ทำการตรวจสอบการเกิดโรคจุดดำบนผลส้มโอที่เก็บเกี่ยวแล้ว พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสาร azoxystrobin, cuprous oxide, mancozeb, carbendazim และ iprodione มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.02, 1.16, 1.54, 1.34 และ 1.40 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีการเขตกรรม ที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.07 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร azoxystrobin, cuprous oxide, carbendazim และ iprodione และกรรมวิธีที่พ่นสาร azoxystrobin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร cuprous oxide, carbendazim และ iprodione

---

รหัสการทดลอง 01-10-49-02-03-02-10-52

คำนำ

โรคจุดดำ (Black Spot Disease) เป็นโรคที่สำคัญมากของพืชตระกูลส้ม พบระบาดทำความเสียหายกับพืชตระกูลส้มหลายชนิด เช่น *Citrus limonia*, *C. nobilis, C. poonensis*, *C. tangan*, grapefruits (*C. paradisi*), lemons หรือ มะนาว (*C. limon*) limes หรือ มะนาว (*C. aurantifolia*), mandarins (*C. reticulate*), oranges (*C. sinensis*) ส่วนส้มพวก sour oranges นั้นไม่เป็นโรคนี้ นอกจากพืชตระกูลส้มแล้วยังมีพืชชนิดอื่นที่เป็นพืชอาศัยของโรคจุดดำด้วย เช่น อัลมอนด์ อะโวคาโด พืชตระกูลยูคาลิปตัส ฝรั่ง มะม่วง ทับทิม เป็นต้น (Kiely, 1948; Kiely, 1949b; McOnie, 1964a)

โรคจุดดำของพืชตระกูลส้ม (Citrus Black Spot) มีต้นกำเนิดในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังทวีปออสเตรเลีย ทวีปแอฟริกาใต้ และประเทศจีน ประเทศที่มีโรคนี้ระบาด ได้แก่ ประเทศภูฏาน จีน ฮ่องกง อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน เคนยา โมแซมบิก แอฟริกาใต้ แซมเบีย ซิมบับเว ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เป็นต้น (Wager, 1952; McAlpine, 1899; Herbert and Grech, 1985) เชื้อสาเหตุของโรคจุดดำ (Black Spot) คือ เชื้อ *Phyllosticta citricarpa* (McAlpine) Van der Aa (Macroconidial State) ซึ่งมีการสร้าง sexual stage อยู่ใน class Ascomycetes Family Dothideales คือ *Guignardia citricarpa* Kiely (Herbert and Grech, 1985) แต่ถ้าเชื้อสร้าง microconidia จะเรียกว่า Genus *Leptodothiorella* ซึ่งสร้างสปอร์ที่มีรูปร่างเป็น dumb-bell shaped

เชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* สามารถเข้าทำลายใบ กิ่ง และผลส้มได้ โดยทำให้ส้มเกิดแผลและเริ่มแสดงอาการจากจุดแผลเล็กๆ เป็นวงกลมสีน้ำตาล แผลเป็นหลุมลึกลงไปเล็กน้อย บริเวณกลางแผลเป็นหลุมลึกสีเทา-ขาว ขอบแผลสีดำ และมีเนื้อเยื่อสีเขียวล้อมรอบ ต่อมาแผลกลายเป็นจุดกระ (Freckle) สีส้มถึงสีน้ำตาลแดง มีขอบสีดำ ถ้าเป็นโรครุนแรงจะพบแผลมากกว่า 100 แผลในส้ม 1 ผล เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมคือสภาพอากาศร้อนและมีความชื้นสูง แผลจะขยายขนาดอย่างรวดเร็วทำให้แผลลามติดกันจนกลายเป็นแผลที่มีขนาดใหญ่และมีรูปร่างของแผลไม่แน่นอน ทำให้ผลผลิตเสียคุณภาพ ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด

เชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* เข้าทำลายพืชได้โดยการสร้าง macroconidia ซึ่งสามารถงอกได้ทั้งบนผลส้มที่มีและไม่มีบาดแผล เชื้อสามารถแฝงตัวอยู่บนใบส้มโดยไม่ทำให้ต้นส้มแสดงอาการของโรค โดยอยู่ในระยะ macroconidial state เชื้อราชนิดนี้สามารถแฝงตัวอยู่บนผลส้มได้ตั้งแต่ในระยะดอกบานจนกระทั่งผลแก่จึงแสดงอาการของโรคจุดดำให้เห็น ใบส้มที่ร่วงรวมทั้งกิ่งส้มที่ตายแล้วเชื้อในระยะนี้ก็สามารถอาศัยอยู่ได้โดยที่มันยังมีชีวิตอยู่ ส่วนระยะ sexual stage นั้นเชื้อสามารถสร้าง ascocarps ได้ตลอดทั้งปีบนใบที่ร่วงและกิ่งที่ตายแล้ว (Kiely, 1949a)

เชื้อรา *Guignardia citricarpa* เจริญได้ดีบนอาหาร agar media อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 24-27 องศาเซลเซียส (Wager, 1952) และ สร้าง ascospore ซึ่งเป็น airborne และเป็น primary source of inoculum (Kiely, 1949a; McOnie, 1964b) ส่วนเชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* เป็น water borne ซึ่งต้องการหยดน้ำในการแพร่กระจาย

เชื้อราสาเหตุโรคแพร่ได้ง่ายโดยน้ำฝน หยดน้ำ และลม เชื้อเข้าทำลายผลส้มได้ทุกระยะการเจริญเติบโต เชื้อสามารถอยู่ข้ามฤดูได้ทั้งบนใบ กิ่ง และผล อาจเป็นชิ้นส่วนของพืชที่มีชีวิต (parasite) หรือส่วนของพืชที่ตายแล้ว (saprophyte) บางครั้งอาจพบในรูป epiphyte ซึ่งอาจเป็น latent infection และกลายเป็น source of inoculum เข้าทำลายพืชในฤดูต่อมา แต่เชื้อนี้ไม่ติดไปกับเมล็ด โรคจุดดำ (Black Spot Disease) จะระบาดและทำความเสียหายรุนแรงในช่วงที่มีความชื้นสูง และสภาพอากาศร้อน

<u>การป้องกันกำจัด</u>

1. ใช้ต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคในการปลูก เนื่องจากโรคจุดดำสามารถติดไปกับกิ่งพันธุ์และตาพันธุ์ ในสภาพที่เป็น latent infection (Wager, 1952; Whiteside *et al*., 1988)
2. ตัดแต่งใบ กิ่ง และผลที่เป็นโรค ไปเผาทำลาย
3. ทำความสะอาดแปลงและกำจัดซากพืชที่เป็นโรคโดยการนำใบและกิ่งส้มที่ร่วงไปเผาทำลาย (sanitation)
4. พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช เช่น mancozeb, azoxystrobin เป็นต้น (Kellerman and Kotze, 1979)

ในประเทศไทยพบการระบาดทำความเสียหายมากในส้มโอที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ทำให้เกิดปัญหาในการส่งออกส้มโอไปยังประเทศในแถบยุโรป เช่น ประเทศเนเธอร์แลนด์ ฝรั่งเศสและอังกฤษ เป็นต้น เนื่องจากมีการตรวจพบเชื้อสาเหตุของโรคจุดดำ คือเชื้อรา *Guignardia citricarpa* Kiely บนผลส้มโอที่ส่งออกไปยังประเทศเนเธอร์แลนด์ ทำให้บริษัทที่ส่งออกส้มโอมีความเข้มงวดในการรับซื้อส้มโอมาก ถ้าส้มโอมีอาการของโรคจุดดำแม้เพียงเล็กน้อยทางบริษัทก็จะไม่รับซื้อแต่ในปัจจุบันนี้เกษตรกรไม่มีความรู้เรื่องโรคจุดดำและไม่ทราบวิธีการป้องกันกำจัด นอกจากนั้นโรคนี้ยังไม่เป็นที่รู้จักของนักวิชาการมากนัก เนื่องจากไม่พบการระบาดรุนแรงและไม่ก่อให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตทางการเกษตรมาก่อน จึงไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการป้องกันกำจัดโรคนี้ในประเทศไทยดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเพื่อหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคจุดดำที่มีประสิทธิภาพ และเป็นวิธีที่สามารถแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ป้องกันกำจัดโรคนี้ได้

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเลือกสวนและต้นส้มโอเพื่อใช้เป็นแปลงทดลอง

ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนตุลาคม 2551 ถึง เดือนกันยายน 2552 โดยเลือกทำการทดลองในแปลงส้มโอของเกษตรกรที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ซึ่งเป็นสวนส้มโอที่มีการระบาดของโรคจุดดำเลือกต้นส้มโอพันธุ์ขาวทองดีอายุ 6 ปี ที่เป็นโรคจุดดำเพื่อใช้ในการทดลอง

1. การเตรียมต้นส้มโอเพื่อใช้ในการทดลอง

เริ่มเตรียมต้นส้มโอในเดือนพฤศจิกายน โดยการตัดแต่งกิ่งส้มโอ และใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชทาบริเวณแผลที่ตัดแต่งกิ่ง เก็บใบ กิ่ง รวมทั้งผลที่อยู่บริเวณใต้และรอบๆ ต้นไปทิ้ง และเผาทำลายนอกแปลง 1 ครั้งหลังจากตัดแต่งกิ่ง ปรับปรุงดินโดยการใส่โดโลไมท์ 2 กก./ ต้น ใส่ปุ๋ยคอก 20 กก./ ต้น ใส่ปุ๋ยทางดินสูตร 46-0-0 ผสมกับ 15-15-15 อัตราส่วน 1:1 โดยใส่ 2 กก./ ต้น (นิรนาม , 2545) พ่นสารฆ่าแมลง imidacloprid 15 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร และ พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช copper hydroxide 77% WP อัตรา 20 กรัม / น้ำ 20 ลิตรหลังจากตัดแต่งกิ่ง เพื่อป้องกันการระบาดของแมลงและโรค และใส่ปุ๋ยทางดินสูตร 46-0-0 ผสมกับ 15-15-15 อัตราส่วน 1:1 โดยใส่ 2 กก./ ต้น ในทุกๆ เดือน จนกระทั่งผลส้มโออายุ 6 เดือน จึงเปลี่ยนมาใส่ปุ๋ยสูตร 13-13-21 โดยใส่ 2 กก./ ต้น จนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิต และพ่นสารฆ่าแมลงเมื่อพบการระบาดของแมลง ทำความสะอาดแปลงปลูก เก็บเศษซากใบ กิ่งก้าน รวมทั้งผลที่อยู่บริเวณใต้และรอบๆ ต้นไปทิ้ง และเผาทำลายนอกแปลงอย่างสม่ำเสมอ

2. การทดสอบสารป้องกันกำจัดโรคพืช

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยใช้ส้มโอพันธุ์ขาวทองดี 1 ต้นต่อ 1 ซ้ำ จำนวน 24 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี คือ สารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ชนิด โดยพ่นสารทดลองทุก 15 วัน ร่วมกับการเขตกรรม (การตัดแต่งกิ่งและเก็บใบกิ่ง รวมทั้งผลที่อยู่บริเวณใต้และรอบๆ ต้นไปทิ้ง) เปรียบเทียบกับการเขตกรรมเพียงอย่างเดียว โดยมีกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารป้องกันกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% W/V SC + การเขตกรรม พ่นทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 2 สารป้องกันกำจัดโรคพืช cuprous oxide 86.2% WG +การเขตกรรม พ่นทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 3 สารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP. + การเขตกรรม พ่นทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 4 สารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim 50% WP. + การเขตกรรม พ่นทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 5 สารป้องกันกำจัดโรคพืช iprodione 75% WG + การเขตกรรม พ่นทุก 15 วัน

กรรมวิธีที่ 6 การเขตกรรม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) ทุก 15 วัน

ดำเนินงานในแปลงส้มโอของเกษตรกรที่อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ทดลองในส้มโอพันธุ์ขาวทองดี

3. การประเมินความรุนแรงของโรคจุดดำ

สุ่มผลอ่อนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 ซ.ม. ทำเครื่องหมายด้วยการนำป้ายพลาสติกมาผูกไว้จำนวน 50 ผลต่อต้น ประเมินความรุนแรงของโรคจุดดำเมื่อผลแก่ โดยประเมินหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว โดยประเมินความรุนแรงของโรคจุดดำเป็น 7 ระดับ ดังนี้

ระดับที่ 1 ผลส้มโอไม่แสดงอาการโรค

ระดับที่ 2 ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำ 1-5 แผล

ระดับที่ 3 ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำ 6-10 แผล

ระดับที่ 4 ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำ 11-25 แผล

ระดับที่ 5 ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำ 26-50 แผล

ระดับที่ 6 ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำมากกว่า 50 แผล

นำข้อมูลระดับความรุนแรงของโรคที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ระยะเวลา

ดำเนินการทดลองตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2551 ถึง 30 กันยายน 2552

สถานที่ดำเนินการ

แปลงส้มโอของเกษตรกร อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการทดลองทำการตรวจสอบการเกิดโรคจุดดำบนผลส้มโอและประเมินความรุนแรงของโรคเมื่อผลแก่ โดยตรวจสอบการเกิดโรคจุดดำหลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว เนื่องจากเชื้อสาเหตุของโรคจุดดำเข้าทำลายผลส้มโอในช่วงที่เป็นผลอ่อน โดยเริ่มเข้าทำลายผลส้มโอเมื่อกลีบดอกร่วงและแฝงตัวบนผลจนกระทั่งผลแก่ใกล้เก็บเกี่ยว จึงเริ่มแสดงอาการจุดแผลเล็กๆ เป็นวงกลมสีน้ำตาล แผลเป็นหลุมลึกลงไปเล็กน้อย บริเวณกลางแผลเป็นหลุมลึกสีเทา-ขาว ขอบแผลสีดำ และมีเนื้อเยื่อสีเขียวล้อมรอบ ต่อมาแผลกลายเป็นจุดกระ (Freckle) สีส้มถึงสีน้ำตาลแดง มีขอบสีดำ ซึ่งอาการดังกล่าวจะเห็นชัดเจนในช่วงที่ผลส้มโอแก่ จึงจำเป็นต้องประเมินระดับการเกิดโรคในช่วงที่เก็บเกี่ยวผลผลิตส้มโอแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kiely, 1949a ที่รายงานไว้ว่าเชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* เข้าทำลายพืชได้โดยการสร้าง macroconidia ซึ่งสามารถงอกได้ทั้งบนผล

ส้มที่มีและไม่มีบาดแผล เชื้อสามารถแฝงตัวอยู่บนใบส้มโดยไม่ทำให้ต้นส้มแสดงอาการของโรค โดยอยู่ในระยะ macroconidial state เชื้อราชนิดนี้สามารถแฝงตัวอยู่บนผลส้มได้ตั้งแต่ในระยะดอกบานจนกระทั่งผลแก่จึงแสดงอาการของโรคจุดดำให้เห็น ใบส้มที่ร่วงรวมทั้งกิ่งส้มที่ตายแล้ว เชื้อในระยะนี้ก็สามารถอาศัยอยู่ได้โดยที่มันยังมีชีวิตอยู่ ส่วนระยะ sexual stage นั้น เชื้อสามารถสร้าง ascocarps ได้ตลอดทั้งปีบนใบที่ร่วงและกิ่งที่ตายแล้ว

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ชนิด ได้แก่ azoxystrobin, cuprous oxide, mancozeb, carbendazim และ iprodione ร่วมกับการเขตกรรม (การตัดแต่งกิ่งและเก็บใบ กิ่ง รวมทั้งผลที่อยู่บริเวณใต้และรอบๆ ต้นไปทิ้ง) เปรียบเทียบกับการเขตกรรมเพียงอย่างเดียว เริ่มพ่นสารทดลองครั้งแรกเมื่อกลีบดอกของส้มโอร่วง และพ่นสารทดลองทุก 15 วัน จนกระทั่งผลส้มโอมีอายุประมาณ 6 เดือน ทำการตรวจสอบการเกิดโรคจุดดำบนผลส้มโอที่เก็บเกี่ยวแล้ว พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสาร azoxystrobin, cuprous oxide, mancozeb, carbendazim และ iprodione มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.02, 1.16, 1.54, 1.34 และ 1.40 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีการเขตกรรม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) ที่มีระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 2.07 และระดับความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่พ่นสาร mancozeb มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร azoxystrobin, cuprous oxide, carbendazim และ iprodione และกรรมวิธีที่พ่นสาร azoxystrobin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร cuprous oxide, carbendazim และ iprodione

จากการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคจุดดำของส้มโอ ในปี 2552 แสดงให้เห็นว่าวิธีการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกับการเขตกรรม (การตัดแต่งกิ่งและเก็บใบ กิ่ง รวมทั้งผลที่อยู่บริเวณใต้และรอบๆ ต้นไปทิ้ง) นั้นสามารถป้องกันกำจัดโรคจุดดำของส้มโอได้ดีกว่าวิธีการที่ไม่พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช คือ การเขตกรรมเพียงอย่างเดียว และพบว่าในปีที่ทำการทดลองนี้มีการระบาดของโรคน้อย ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากสภาพอากาศที่ไม่เหมาะสมกับการเกิดโรค เนื่องจากเชื้อสาเหตุของโรคจุดดำจะระบาดและทำความเสียหายรุนแรงในช่วงที่มีความชื้นสูง และสภาพอากาศร้อน แต่ในช่วงที่ทำการทดลองนี้ ในแปลงส้มโอมีความชื้นต่ำเนื่องจากมีฝนตกน้อย ทำให้การระบาดของโรคไม่รุนแรง สอดคล้องกับรายงานของ Kiely, 1949a; และ McOnie, 1964b ที่รายงานไว้ว่า เชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* เป็น water borne ซึ่งต้องการหยดน้ำในการแพร่กระจาย และสามารถแพร่ได้ง่ายโดยน้ำฝน หยดน้ำ และลม นอกจากนี้ยังรายงานว่าเชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* จะระบาดและทำความเสียหายรุนแรงในช่วงที่มีความชื้นสูง และสภาพอากาศร้อน และอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้การระบาดของโรคน้อยอาจเนื่องมาจากการเขตกรรมที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ คือ การตัดแต่งใบ กิ่ง และผลที่เป็นโรคไปเผาทำลาย การทำความสะอาดแปลง และกำจัดซากพืชที่เป็นโรคโดยการนำใบและกิ่งส้มที่ร่วงไป

เผาทำลาย (sanitation) ซึ่งเป็นหนึ่งในคำแนะนำในการป้องกันกำจัดโรคจุดดำของ Kellerman and Kotze, 1979

ดังนั้นเกษตรกรจึงควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชร่วมกับการเขตกรรม เพื่อควบคุมโรคจุดดำในแปลงส้มโออย่างสม่ำเสมอ เนื่องจากเชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* สามารถเข้าทำลายใบ กิ่ง และผลส้มได้ เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมคือสภาพอากาศร้อนและมีความชื้นสูง ทำให้ผลผลิตเสียคุณภาพ ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kiely, 1949a และ McOnie, 1964b ที่รายงานว่าเชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* เข้าทำลายพืชได้โดยการสร้าง macroconidia ซึ่งสามารถงอกได้ทั้งบนผลส้มที่มีและไม่มีบาดแผล เชื้อสามารถแฝงตัวอยู่บนใบส้มโดยไม่ทำให้ต้นส้มแสดงอาการของโรค โดยอยู่ในระยะ macroconidial state และเชื้อราชนิดนี้สามารถแฝงตัวอยู่บนผลส้มได้ตั้งแต่ในระยะดอกบานจนกระทั่งผลแก่จึงแสดงอาการของโรคจุดดำให้เห็น ใบส้มที่ร่วง รวมทั้งกิ่งส้มที่ตายแล้วเชื้อในระยะนี้ก็สามารถอาศัยอยู่ได้โดยที่มันยังมีชีวิตอยู่ ส่วนระยะ sexual stage นั้น เชื้อสามารถสร้าง ascocarps ได้ตลอดทั้งปีบนใบที่ร่วงและกิ่งที่ตายแล้ว เชื้อรา *Guignardia citricarpa* สร้าง ascospore ซึ่งเป็น airborne และเป็น primary source of inoculum ส่วนเชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* เป็น water borne ซึ่งต้องการหยดน้ำในการแพร่กระจาย เชื้อราสาเหตุโรคแพร่ได้ง่ายโดยน้ำฝน หยดน้ำ และลม เชื้อเข้าทำลายผลส้มได้ทุกระยะการเจริญเติบโต เชื้อสามารถอยู่ข้ามฤดูได้ทั้งบนใบ กิ่ง และผล อาจเป็นชิ้นส่วนของพืชที่มีชีวิต (parasite) หรือส่วนของพืชที่ตายแล้ว (saprophyte) บางครั้งอาจพบในรูป epiphyte ซึ่งอาจเป็น latent infection และกลายเป็น source of inoculum เข้าทำลายพืชในฤดูต่อมา และเชื้อราสาเหตุโรคจุดดำ จะระบาดและทำความเสียหายรุนแรงในช่วงที่มีความชื้นสูง และสภาพอากาศร้อน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดโรคพืชในการป้องกันกำจัดโรคจุดดำของส้มโอ โดยมีการพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช 5 ชนิด ได้แก่ azoxystrobin, cuprous oxide, mancozeb, carbendazim และ iprodione โดยพ่นสารทดลองร่วมกับการเขตกรรม (การตัดแต่งกิ่งและเก็บใบกิ่ง รวมทั้งผลที่อยู่บริเวณใต้และรอบๆ ต้นไปทิ้ง) เปรียบเทียบกับการเขตกรรมเพียงอย่างเดียว พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นสาร azoxystrobin, cuprous oxide, mancozeb, carbendazim และ iprodione ร่วมกับการเขตกรรม สามารถป้องกันกำจัดโรคจุดดำได้ และกรรมวิธีที่พ่นสาร azoxystrobin ร่วมกับการเขตกรรม สามารถป้องกันกำจัดโรคแคงเกอร์ได้ดีที่สุด มีระดับความรุนแรงของโรคจุดดำต่ำที่สุดดังนั้นเกษตรกรจึงควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช ได้แก่ azoxystrobin, cuprous oxide, mancozeb, carbendazim และ iprodione ร่วมกับการเขตกรรมที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ คือ การตัดแต่งใบ กิ่ง และผลที่เป็นโรคไปเผาทำลาย การทำความ

สะอาดแปลง และกำจัดซากพืชที่เป็นโรคโดยการนำใบและกิ่งส้มโอที่ร่วงไปเผาทำลาย เพื่อลดปริมาณเชื้อสาเหตุของโรคจุดดำในแปลงส้มโอ และควรพ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืชดังกล่าวสลับกันเพื่อป้องกันการดื้อยาของเชื้อสาเหตุโรค

เอกสารอ้างอิง

นิรนาม. 2545. เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับส้มโอ. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. 28 หน้า.

Herbert, J.A. and N.M. Grech. 1985. A strain of *Guignardia citricarpa*, the citrus black spot pathogen resistant to benomyl in South Africa. **Plant Disease.** 69: 1007.

Kellerman and Kotze, 1979. The black spot disease of citrus and it control in South Africa. **Proceedings of the International Society of Citriculture.** 3: 992-996.

Kiely, T. 1948. *Guignardia citricarpa* n.sp. and its relationship to the black spot disease of citrus in coastal orchards of New South Wales. **Journal of the Australian Institute of Agricultural Science.** 14: 81-83.

Kiely, T. 1949a. Preliminary studies on *Guignardia citricarpa* n.sp.: the ascigenous stage of *Phoma citricarpa* McAlp. and its relation to black spot of citrus. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales.** 73: 249-292.

Kiely, T. 1949b. Black spot of citrus in New South Wales coastal orchards. **Agricultural Gazette of New South Wales.** 60: 17-20.

McAlpine, D. 1899. **The fungus diseases of citrus trees in Australia, and there treatment.** Government Printer, Melbourne, Australia.

McOnie, K.C. 1964a. The latent occurrence in citrus and other hosts of a *Guignardia* easily confused with *G. citricarpa,* the citrus black spot pathogen. **Phytopathology.** 54: 40-43.

McOnie, K.C. 1964b. Source inoculum of *Guignardia citricarpa*, the citrus black spot pathogen. **Phytopathology.** 54: 64-67.

Wager, V.A. 1952. The black spot disease of citrus in South Africa. **Science Bulletin, Department of Agriculture, Union of Africa** No. 303: 1-5.

Whiteside, J.O.; Garnsey, S.M. and Timmer, L.W. 1988. **Compendium of Citrus Diseases.** APS Press, St Paul, Minnesota, USA.

ตาราง ระดับความรุนแรงของโรคจุดดำในส้มโอพันธุ์ขาวทองดี อำเภอเวียงแก่น จังหวัดเชียงราย ปี 2552

กรรมวิธี	อัตราที่ใช้ (ซีซี/กรัม) ต่อน้ำ 20 ลิตร	ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคจุดดำของส้มโอ[1/]
1. พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช azoxystrobin 25% W/V SC + การเขตกรรม ทุก 15 วัน	10	1.02a[2/]
2. พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช cuprous oxide 86.2% WG + การเขตกรรม ทุก 15 วัน	15	1.16ab
3. พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช mancozeb 80% WP. + การเขตกรรม ทุก 15 วัน	50	1.54b
4. พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช carbendazim 50% WP. + การเขตกรรม ทุก 15 วัน	20	1.34ab
5. พ่นสารป้องกันกำจัดโรคพืช iprodione 75% WG + การเขตกรรม ทุก 15 วัน	20	1.40ab
6. การเขตกรรม (กรรมวิธีเปรียบเทียบ) ทุก 15 วัน	-	2.07c
CV (%)	-	19.90

2182

หมายเหตุ

1/ = ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคจากการประเมินโรคจุดดำบนผลส้มโอพันธุ์ขาวทองดี 50 ผล ต่อ 1 ซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำต่อ 1 กรรมวิธี โดยมีค่าระดับความรุนแรง ดังนี้

ระดับที่ 1 = ผลส้มโอไม่แสดงอาการโรค ระดับที่ 2 = ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำ 1-5 แผล

ระดับที่ 3 = ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำ 6-10 แผล ระดับที่ 4 = ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำ 11-25 แผล

ระดับที่ 5 = ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำ 26-50 แผล ระดับที่ 6 = ผลส้มโอแสดงอาการโรคจุดดำมากกว่า 50 แผล

2/ = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ Duncan's Multiple Range Test

สาเหตุการเกิดและการป้องกันแก้ไขอาการจุดดาวกระจายบนผลส้มโอ

Cause and Control of Fruit Sacttering Symtom on Pummelo

บุษบง มนัสมั่นคง ศรีจำนรรจ์ ศรีจันทรา
วิภาดา ปลอดครบุรี ศรุต สุทธิอารมณ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาสาเหตุการเกิดและการป้องกันแก้ไขอาการจุดดาวกระจายบนผลส้มโอได้ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2551 – กันยายน 2552 ที่สวนส้มโอของเกษตรกร จังหวัดพิจิตร สมุทรสงคราม นครปฐม และตราด โดยทำการสำรวจ ตรวจนับศัตรูพืช และอาการดาวกระจายที่เกิดบนผลส้มโอ จากผลการสำรวจ ไม่พบว่ามีเพลี้ยจักจั่นและไรเหลืองเข้าทำลายบนผล เมื่อทำการเก็บผลผลิตส้มโอเพื่อตรวจดูอาการดาวกระจาย พบอาการบนผลส้มโอเล็กน้อย แต่พบว่า มีอาการของผลที่ถูกทำลายโดยเพลี้ยไฟขณะที่ผลเล็ก เมื่อผลโตขึ้นมีลักษณะใกล้เคียงอาการดาวกระจาย และพบการทำลายของหนอนปลอกบนผิวผลส้มโอซึ่งมีอาการคล้ายคลึงกัน

คำนำ

ส้มโอเป็นไม้ผลเศรษฐกิจหนึ่งที่มีศักยภาพสูงในการขายทั้งตลาดภายในและต่างประเทศ เช่นประเทศในแถบเอเชีย ยุโรป และสหรัฐอเมริกา ทั้งนี้เนื่องจากส้มโอมีลักษณะเด่นตรงที่มีเปลือกหนา สามารถเก็บรักษาคุณภาพเนื้อได้นาน ทนทานต่อการกระทบกระเทือนทำให้สามารถขนส่งไปได้ไกล และประเทศไทยมีสายพันธุ์ที่มีรสชาติที่อร่อยหลายพันธุ์อยู่แล้ว เมื่อเทียบกับประเทศอื่นที่มีการผลิตส้มโอ พื้นที่ปลูกทั้งประเทศมีประมาณ 206,786 ไร่ ในปี 2547 และในช่วง 4-5 ปีที่ผ่านมาได้มีการขยายย้ายถิ่นปลูกจากภาคกลางขึ้นมาปลูกที่ภาคกลางตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง เช่น จังหวัดชัยนาท อุทัยธานี นครสวรรค์ พิจิตร กำแพงเพชร สุโขทัย และพิษณุโลก เป็นต้น

รหัสการทดลอง 01-10-49-02-03-03-02-51

เนื่องจากพืชตระกูลส้มเป็นพืชที่มีปัญหาศัตรูพืชมาก ทำให้เกิดความเสียหายและผลผลิตในปีหนึ่งๆ คิดเป็นมูลค่าจำนวนมาก นอกจากการจัดการองค์ประกอบอื่นๆ แล้ว เช่น การเลือกทำเลปลูก ระบบปลูก ต้นตอ ดิน น้ำ การระบายน้ำ ธาตุอาหารแล้ว การจัดการศัตรูส้มอย่างมีประสิทธิภาพเป็นสิ่งหนึ่งที่มีความสำคัญมาก แมลง ไรและโรคศัตรูส้มโอสามารถเข้าทำลายทุกระยะการเจริญเติบ โต ของส้มโอ ตั้งแต่การแทงยอดอ่อน ช่อดอก ผลอ่อน ไปจนกระทั่งผลแก่ใกล้เก็บเกี่ยว เช่น เพลี้ยไฟ หนอนชอนใบ หนอนฝีดาษส้ม หนอนเจาะผลส้มโอ ไรแดง ไรขาว โรคแคงเกอร์ โรคเมลาโนส โรครากเน่าโคนเน่า เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบปัญหามีผลผลิตบางส่วนเกิดความเสียหายไม่สามารถที่จะส่งออกได้แม้ขนาดและคุณภาพเนื้อในดี ชาวบ้านเรียกอาการนี้ว่า “จุดดาวกระจาย” โดยพบอาการแผลเป็นจุดสีเหลือง-น้ำตาลอ่อน กระจายทั่วไปบนเปลือกส้มโอมากบ้างน้อยบ้าง แผลบางส่วนยังมีอาการฉ่ำน้ำ เมื่อผ่านกรรมวิธีเคลือบน้ำมันภายหลังการเก็บเกี่ยวจะทำให้ผลดังกล่าวเน่าเสียหายได้ ผลส้มโอเหล่านี้ก็ต้องถูกคัดออก อาการดังกล่าวนี้ยังไม่ทราบสาเหตุที่แท้จริงว่าเกิดจากการทำลายของศัตรูพืชชนิดใด แต่จากการตรวจเอกสารลักษณะการทำลายคล้ายคลึงกับการทำลายของเพลี้ยจักจั่นส้ม (citrus leafhopper) และ ไรแดงเทียม (false spider mite) (smith,1997) จึงควรที่ต้องศึกษาหาสาเหตุที่แท้จริง เพื่อหาแนวทางในการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย เพิ่มปริมาณของผลผลิตที่มีคุณภาพ เพื่อสนับสนุนการส่งออกส้มโอไปจำหน่ายยังต่างประเทศ อันเป็นนโยบายทางการค้าที่สำคัญของประเทศในปัจจุบัน

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. ต้นส้มโอที่ให้ผลผลิตแล้ว
2. บันได
3. กรรไกรตัดกิ่ง
4. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง เช่น กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ยางรัดของ เป็นต้น
5. อุปกรณ์เก็บข้อมูล เช่น กระดาน ดินสอ ปากกาเมจิก เป็นต้น

วิธีการ

ขั้นตอนการทำงานวิจัย มีดังนี้

- *ศึกษาปัจจัยที่คาดว่าเป็นสาเหตุของอาการจุดดาวกระจายบนผลส้มโอ*

คัดเลือกแปลงส้มโอที่มีประวัติการเกิดอาการจุดดาวกระจายบนผล ทำการสำรวจแมลงและไร โดยการสุ่มนับจำนวนและชนิดบนส่วนต่างๆ ของส้มโอ ทุกสัปดาห์ โดยเริ่มการสำรวจเมื่อส้มโอมีการติดผล ไปจนกระทั่งเก็บเกี่ยว รวมทั้งสำรวจลักษณะอาการและปริมาณจุดดาวกระจาย

บนผลส้มโอ จำนวน 10 ผลต่อต้น สำรวจ 10 ต้น เพื่อนำไปหาความสัมพันธ์ระหว่างศัตรูพืช และอาการจุดดาวกระจายบนผลส้มโอต่อไป

บันทึกข้อมูลจำนวน และชนิดศัตรูพืชที่พบ ลักษณะและปริมาณการเกิดจุดดาวกระจายบนผลส้มโอ ระยะการเจริญเติบโตของส้มโอ อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำฝนตลอดการทดลอง และการปฏิบัติต่างๆ ของเกษตรกร เช่น การใส่ปุ๋ย รดน้ำ ใช้สารเคมีต่างๆ

- ศึกษาแนวทางการป้องกันกำจัดอาการจุดดาวกระจายบนผลส้มโอ

เริ่มดำเนินการเมื่อทราบสาเหตุที่แท้จริงของการเกิดอาการจุดดาวกระจาย

สถานที่ทำการศึกษาวิจัย - สวนเกษตรกรจังหวัดพิจิตร สมุทรสงคราม นครปฐม และตราด

- ห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

เวลาและสถานที่

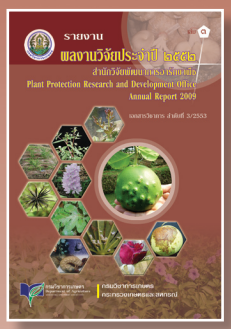
ดำเนินการทดลองระหว่าง เดือนตุลาคม 2551 – กันยายน 2552 ที่สวนส้มโอของเกษตรกร จังหวัดพิจิตร สมุทรสงคราม นครปฐม และตราด และห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาสาเหตุการเกิดและการป้องกันแก้ไขอาการจุดดาวกระจายบนผลส้มโอ โดยทำการสำรวจ ตรวจนับศัตรูพืช และอาการดาวกระจายที่เกิดบนผลส้มโอ จากการสำรวจ ไม่พบว่ามีเพลี้ยจักจั่นและไรเหลืองเข้าทำลายบนผล เมื่อทำการเก็บผลผลิตส้มโอเพื่อตรวจดูอาการดาวกระจาย พบอาการบนผลส้มโอเล็กน้อย แต่พบว่า มีอาการของผลที่ถูกทำลายโดยเพลี้ยไฟขณะที่ผลเล็ก เมื่อผลโตขึ้นมีลักษณะใกล้เคียงอาการดาวกระจาย และพบการทำลายของหนอนปลอกบนผิวผลส้มโอซึ่งมีอาการคล้ายคลึงกัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-



ชื่อหนังสือ ผลงานวิจัยประจำปี 2552
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้จัดพิมพ์ ส่วนบริหารโครงการวิจัย
สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
โทรศัพท์ 0-2579-1061, 0-2579-5583

ลิขสิทธิ์ของ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
ห้ามคัดลอกข้อความ หรือส่วนใดส่วนหนึ่งของหนังสือไปเผยแพร่
และใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต

พิมพ์ครั้งที่ 1 เมื่อ กรกฎาคม 2553
จำนวนพิมพ์ 195 เล่ม
พิมพ์ที่ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด
44/16-17 ถ.เลี่ยงเมืองนนทบุรี ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
โทร. 0-2525-4807-9, 0-2525-4853-4 แฟ็กซ์ 0-2525-4855

PLANT PROTECTION RESEARCH AND DEVELOPMENT OFFICE